

## บทที่ 2

### วิธีการทดลอง

#### 2.1 วัสดุ สารเคมี และอุปกรณ์

##### 2.1.1 วัสดุ

วัสดุที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในงานวิจัยได้แก่ ฟางข้าวของข้าวหอม พันธุ์ปทุมธานี 1 จากจังหวัดเชียงใหม่

##### 2.1.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยแสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	สูตร โมเลกุล	เกรด	บริษัทผู้ผลิต
เอทานอล	$C_2H_5OH$	AR	Carlo Erba Reagents
เบนซีน	$C_6H_6$	AR	Penreac Sintesis
โซเดียมคลอไรด์	NaCl	AR	Merck
กรดไฮโดรคลอริก	HCl	AR	Carlo Erba Reagents
ออลิซีนอล	$CH_3C_6H_3(OH)_2$	AR	Fluka
เฟอริกคลอไรด์	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	AR	Carlo Erba Reagents
ไซโลส	$C_5H_{10}O_5$	AR	Himedia
กรดซัลฟูริก	$H_2SO_4$	AR	Lab-Scan Analytical Sciences
กรดอะซิติก	$CH_3COOH$	AR	Carlo Erba Reagents
โซเดียมคลอไรท์	$NaClO_2$	AR	Ajax Finechem
อะซิโตน	$C_2H_4O$	AR	Fisher Scientific
โซเดียมไฮดรอกไซด์	NaOH	AR	Carlo Erba Reagents
3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก	$C_7H_4N_2O_7$	AR	Fluka
ฟีนอล	$C_6H_5OH$	AR	J.T Baker

ตาราง 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

สารเคมี	สูตรโมเลกุล	เกรด	บริษัทผู้ผลิต
โซเดียมซัลไฟท์	$\text{Na}_2\text{SO}_3$	AR	Scharlau
โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตรด	$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$	AR	Carlo Erba Reagents
ฮิสต์เอ็กซ์แทรก	-	AR	Hardy Diagnostics
เพปโทน	-	AR	Hardy Diagnostics
กลูโคส	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	AR	Ajax Finechem
แอมโมเนียมซัลเฟต	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	AR	BDH Laboratory Supplies
ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	AR	Ajax Finechem
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgHO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	AR	Merck
แคลเซียมคลอไรด์	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	AR	Merck
กรดซิตริก	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	AR	Merck
โซเดียมซิเตรต	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	AR	Ajax Finechem
ทริปโทน	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	AR	Hardy Diagnostics
คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	$[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OH})_2$ $\text{CH}_2\text{COONa}]_n$	AR	Hardy Diagnostics
ทวิน 80	$\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{O}_{26}$	AR	ศรีจันทร์สห ออสถ
เมทิลไอโซบิวทิลโทน	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}$	AR	Ajax Finechem

## 2.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย แสดงดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
เครื่องชั่งละเอียด	BA 210S	Sartorius Basic
เครื่องบด	-	Retch
เครื่องร่อน	AS 200 basis	Retch

ตาราง 2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย (ต่อ)

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
ตะแกรงร่อน	-	Retch
ภาชนะดูดความชื้น	-	Nalgene
เตาอบ	PV-110	Taibai Espect Corp.
เตาเผา	2-525 Series II	Eurotherm Electric Furnace
Bomb washing calorimeter	No. 1341	Parr Instrumentation Company, Inc.
CHNS/O Analysis	CHN 2000	Leco
SEM	JSM 5910 LV	JEOL
UV	HP 8453 UV-VIS	Hewlett Packard
Autoclave	25X-2	Allamerican
ครุชเบ็ด	-	-
ชอกห์เลต	-	Pyrex
รีฟลักซ์	-	Pyrex
ชุดกลั่น	-	Pyrex
กรวยบุนเนอร์	-	HCT
ไมโครปิเปต	Transferpette	Brand
เครื่องปั่นเหวี่ยง	D-78532	Hettich
ตู้ยิวี	SCV-4A1	Streamline
ไวเอล	-	Agilent
Hot Plate	-	LMS
ตู้ควบคุมอุณหภูมิ	LIB-080M	Jlabtech

ตาราง 2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย (ต่อ)

เครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
เครื่องวอร์เทซ	MS1	IKA
เครื่องเขย่า	SK2DO	CTLaboratory
เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ	G1530A	Agilent

## 2.2 วิธีการทดลอง

### 2.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำฟางข้าวไปตากแดดเพื่อไล่ความชื้นออกไปบางส่วน และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นบดฟางข้าวด้วยเครื่องบดดังรูป 2.1 และทำการร่อนผ่านตะแกรงคัดขนาดดังรูป 2.2 ซึ่งฟางข้าวที่ใช้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 250-420 ไมโครเมตร แสดงดังรูป 2.3



รูป 2.1 เครื่องบด



รูป 2.2 เครื่องร่อนคัดขนาด



รูป 2.3 ฟางข้าว

### 2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสาร<sup>(24-26)</sup>

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกลุ่มสารของฟางข้าวทำการวิเคราะห์ตาม ASTM E 870-82 ซึ่งวิธีการทดลองและการคำนวณแสดงดังภาคผนวก ก

### 2.2.3 การวิเคราะห์แบบแยกธาตุ<sup>(27)</sup>

วิธีการวิเคราะห์แบบแยกธาตุของฟางข้าวทำการวิเคราะห์ตาม ASTM D 3176

### 2.2.4 การวิเคราะห์หาค่าความร้อน และหาปริมาณซัลเฟอร์<sup>(28-29)</sup>

#### 2.2.4.1 การวิเคราะห์หาค่าความร้อน

1. ชั่งฟางข้าวที่ผ่านการคัดขนาดแล้วประมาณ 1,0000 กรัม ใส่ในแคปซูล (Combustion Capsule)
2. นำแคปซูลใส่ในบอมบ์ ร้อยลวด (Fuse Wire) ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ผ่านตัวอย่างฟางข้าว
3. ปิดบอมบ์แล้วเติมออกซิเจน 25-35 ความดันบรรยากาศ จากนั้นไล่แก๊สออก แล้วเติมออกซิเจนเข้าไปใหม่อีกครั้ง
4. ใส่บอมบ์ลงในแคลอริมิเตอร์ บั๊กเก็ต (Calorimeter Bucket) ซึ่งอยู่ในแจ็กเก็ต (Jacket)
5. ต่อบางจรสำหรับการฟิวส์ (Fuse) และไบกวน
6. เติมน้ำกลั่นประมาณ 2 ลิตร ลงในบั๊กเก็ต (Bucket)

7. ปิดฝาแคลอริมิเตอร์ แล้วหย่อนเทอร์โมมิเตอร์ลงไป เริ่มกวนใบกวนให้อุณหภูมิคงที่ รอประมาณ 5 นาที
8. เมื่อถึงที่สมดุล (อุณหภูมิคงที่หรือเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย) ให้เริ่มอ่านอุณหภูมิทุกๆ 1 นาที นาน 5 นาที
9. กดปุ่มอิกนิชัน (Ignition) เริ่มเกิดการเผาไหม้ในนาที่ที่ 6 บันทึกอุณหภูมิและเวลาที่อ่านค่า (อ่านค่าทุก 15 วินาที หรือทุก 30 วินาที) ในช่วงนี้อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นอ่านค่าทุกๆ 1 นาที อ่านต่อไปใช้เวลาทั้งหมด 18-20 นาที อุณหภูมิจะเริ่มคงที่ ให้บันทึกอุณหภูมิที่คงที่ติดต่อกัน 5 นาที
10. หยุดใบกวนแล้วเปิดฝาแคลอริมิเตอร์ ยกบอมม์ออก ค่อยๆ ปลดความดันในบอมม์ให้ลดลงจนไม่มีเสียงอากาศออก
11. ล้างภายในบอมม์ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด เก็บน้ำที่ล้างได้ทั้งหมดไว้ในบีกเกอร์ แล้วนำไป ไตเตรทกับ 0.0725 นอร์มอล (N) โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ใช้เมธิลเรด (Methyl Red) หรือเมธิลออเรนจ์ (Methyl Orange) เป็นอินดิเคเตอร์
12. นำสารละลายที่ไตเตรทแล้วไปหาปริมาณซัลเฟอร์
13. วัดผลที่ได้ไม่ถูกเผาไหม้ จากนั้นนำค่าต่างๆ มาคำนวณหาค่าความร้อนของฟางข้าว แสดงดังภาคผนวก ข เครื่องบอมม์แคลอริมิเตอร์ แสดงในรูป 2.4

#### 2.2.4.2 วิธีหาปริมาณซัลเฟอร์ในสารตัวอย่าง

1. นำสารละลายที่ไตเตรทแล้วมาปรับให้มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 5.5-7.0 ด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NH}_4\text{OH}$  dil.) ให้ความร้อนกับสารละลายจนเดือด แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง ล้างด้วยน้ำร้อน 5-6 ครั้ง
2. ปรับให้สารละลายมีปริมาตร 250 มิลลิลิตร และทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$  2.5 M) หรือโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2.0 M)
3. เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl 1:9) 1 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด
4. เติมสารละลายแบริเลียมคลอไรด์ ( $\text{BaCl}_2$  100 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร) 10 มิลลิลิตรอย่างช้าๆ จากปิเปต ต้มต่อเป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง หรือตลอดคืนที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือด
5. กรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.42 หรือใกล้เคียง เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ( $\text{AgNO}_3$ ) 1 หยด ลงไปในของเหลวที่กรองได้ ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งของเหลวใส

6. ใส่กระดาษกรองเปียกที่มีตะกอนของแบเรียมซัลเฟต ( $\text{BaSO}_4$ ) ในถ้วยพอสเลนส์ เเผาในเตาไฟฟ้า (Muffle Furnace) ที่อุณหภูมิ 800-850 องศาเซลเซียส และให้ความร้อนจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักกากที่เหลือ จากนั้นคำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ของฟางข้าว ดังแสดงในภาคผนวก ข



รูป 2.4 เครื่องบอมบ์แคลอริมิเตอร์ (Bomb Calorimeter)

### 2.2.5 การวิเคราะห์ห้องค้ประกอบทางเคมี<sup>(30-34)</sup>

วิธีการวิเคราะห์ห้องค้ประกอบทางเคมีของฟางข้าว ทำการเตรียมตัวอย่างฟางข้าวที่ปราศจากสารแทรก\* ตามวิธี TAPPI T264 cm-88 จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณเพนโตแซน (เฮมิเซลลูโลส) ตามวิธี TAPPI T223 cm-84 วิเคราะห์ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส ตามวิธี TAPPI T203 om-88 และวิเคราะห์ปริมาณลิกนินโดยวิเคราะห์ตาม TAPPI T222 om-88 ซึ่งแสดงวิธีการทดลองและการคำนวณแสดงในภาคผนวก ค

หมายเหตุ \*สารแทรก คือ สารที่ไม่ใช่ห้องค้ประกอบของโครงสร้างของผนังเซลล์ อาจเป็นกรดหรือเป็นกลางก็ได้ มีตั้งแต่ สารไอโซพรีน เทอร์พีน เฮคเตอโรไซคลิก กรดเรซินสารโพลีฟีนอลต่างๆ และอัลคาลอยด์ เป็นต้น และเป็นสารประกอบที่เป็นคุณสมบัติของพันธุ์ไม้แต่ละชนิด สารประกอบเหล่านี้ จะทำให้พืชแต่ละชนิดมีสี กลิ่น รส และความแข็งที่แตกต่างกันออกไป สารพวกนี้มีปริมาณร้อยละ 5 - 30 โดยมวล ซึ่งรวมไปถึง สารส่วนน้อย (Minor Constituent) เป็นสารประกอบที่ก่อให้เกิดเถ้า อันได้แก่ สารประกอบแคลเซียม โปแทสเซียม ฟอสเฟส และซิลิกา เป็นต้น สารพวกนี้มีปริมาณร้อยละ 0.1 – 3 โดยมวล

### 2.2.6 การวิเคราะห์สัณฐานวิทยา

วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของฟางข้าวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) ที่ศูนย์วิจัยและบริการจุลทรรศนศาสตร์อิเล็กตรอน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### 2.3 การปรับสภาพวัตถุดิบ

1. นำฟางข้าวแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. ปรับสภาพฟางข้าวด้วยไอน้ำ ดังรูป 2.5 ที่ความดันประมาณ 1-2 บาร์ อุณหภูมิประมาณ 100-130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2, 4, 6 ชั่วโมง
3. นำฟางข้าวที่ปรับสภาพด้วยไอน้ำ มาปรับสภาพต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อจากความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิประมาณ 75-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสัณฐานวิทยาในส่วนของแข็ง และวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ในส่วนที่เป็นของเหลว



รูป 2.5 เครื่องปรับสภาพด้วยไอน้ำ

### 2.4 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์<sup>(35)</sup>

1. นำตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง



2. เติม 1% สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic Acid Reagent Solution; DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง ปิดปากหลอด แล้วผสมให้เข้ากัน
  3. ต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที
  4. เติม 40% สารละลายโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต 1 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน
  5. ทำให้เย็นโดยผ่านน้ำไหล จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 575 นาโนเมตร
- หมายเหตุ วิธีการเตรียมสารดังแสดงในภาคผนวก ง

## 2.5 การหมักน้ำตาลกลูโคส

### 2.5.1 สภาวะที่ใช้ในการหมักน้ำตาลกลูโคส

เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้มีหลายชนิดดังตาราง 2.3 จึงต้องทำการปรับเปลี่ยน เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลให้ได้ปริมาณที่มากที่สุด สภาวะที่ใช้ในการทดลองนี้ แสดงดังตาราง 2.4

ตาราง 2.3 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

ประเภท	ชื่อ	สัญลักษณ์
ยีสต์	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V1116	S1
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	S2
แบคทีเรีย	<i>Zymomonas sp.</i> TISTR1102	Z1
	<i>Zymomonas mobilis</i> TISTR550	Z2
รา	<i>Mucor indicus</i>	M

ตาราง 2.4 การทดลองเพื่อเลือกสภาวะที่สามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสได้ให้ได้ปริมาณสูงสุด

สภาวะ
1. S1
2. S2
3. Z1
4. Z2
5. M

ตาราง 2.4 การทดลองเพื่อเลือกสภาวะที่สามารถผลิตเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสได้ให้ได้ปริมาณสูงสุด (ต่อ)

สภาวะ	
การทำงานร่วมกันของยีสต์และแบคทีเรีย	6. S1+Z1
	7. S2+Z1
การทำงานร่วมกันของยีสต์และรา	8. S1+M
	9. S2+M
การทำงานร่วมกันของแบคทีเรียและรา	10. Z1+M
การทำงานร่วมกันของยีสต์ แบคทีเรีย และรา	11. S1+Z1+M
	12. S1+Z2+M
	13. S2+Z1+M
	14. S2+Z2+M

### 2.5.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อ และการหมัก

- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแสดงคั่ง ภาคผนวก จ
- นำอาหารที่เตรียมในแต่ละสูตรใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยจุกสำลี พร้อมหุ้มด้วยกระดาษฟอยด์
- นำอาหารเลี้ยงเชื้อไป Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- นำอาหารที่ได้มาเติมจุลินทรีย์ โดยปริมาตรที่ใช้คือ ยีสต์ 150 ไมโครลิตร แบคทีเรีย 300 ไมโครลิตร และรา 450 ไมโครลิตร ในขั้นตอนนี้ให้ทำในตู้ UV Transilluminator จากนั้นปิดด้วยจุกสำลี และฟอยด์เหมือนเดิม
- นำมาเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 ชั่วโมง โดยที่แต่ละเชื้อจะควบคุมอุณหภูมิ คือ ยีสต์ ที่ 30 องศาเซลเซียส แบคทีเรียและรา ที่ 28 องศาเซลเซียส
- เมื่อครบ 30 ชั่วโมง นำเชื้อแต่ละชนิดที่เพาะไว้มาใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร ภายในตู้ UV Transilluminator
- นำไปเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
- เทส่วนที่เป็นสารละลายทิ้งและนำส่วนที่เป็นตะกอนเซลล์มาผ่านเครื่อง Vortex เพื่อที่จะนำตะกอนเซลล์ไปใช้ย่ำขึ้น

9. ชั่งน้ำตาลกลูโคส 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Tween 80 0.1 กรัม พร้อมทั้งเติมตะกอนเซลล์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยพาราฟิล์ม

10. นำมาเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 28 องศาเซลเซียส

11. นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล ในแต่ละระยะเวลาการหมักที่ 2, 3, 4, 5, วัน ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งในแต่ละครั้งของการวิเคราะห์ทำซ้ำ 2 ชุดการทดลอง

## 2.6 การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 2.5.2 แต่ทำการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยใช้สภาวะที่ดีที่สุดของจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ในปริมาณที่สูงที่สุด และทำการเติมแบคทีเรียที่ใช้ในการเปลี่ยนเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย ซึ่งแบคทีเรียที่ใช้มี 4 ชนิด คือ

แบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้มาจากการคัดกรองจากธรรมชาติ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้องปฏิบัติการอนุชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1. *pumilus*
2. *bacilus sp. (1)*
3. *bacilus sp. (2)*
4. *bacilus sp. (3)*

## 2.7 วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล

### 2.7.1 การทำกราฟมาตรฐานเอทานอล

ในขั้นตอนนี้ใช้เมทิลไอโซบิวทิลิตอนเป็นตัวทำละลาย ซึ่งผลการทำกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาคผนวก ฉ

### 2.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง

1. ปิเปตสารละลายปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลายเมทิลไอโซบิวทิลิตอน 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองปิดฝา แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3. ปิ่เปิดสารละลายส่วนบน ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรลงในไวเอล (Vial) แล้วปิ่ดฝาให้สนิท

4. นำไปปิ่ดิวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

## 2.8 สรุปีวิธีการทดลองในงานวิจัย

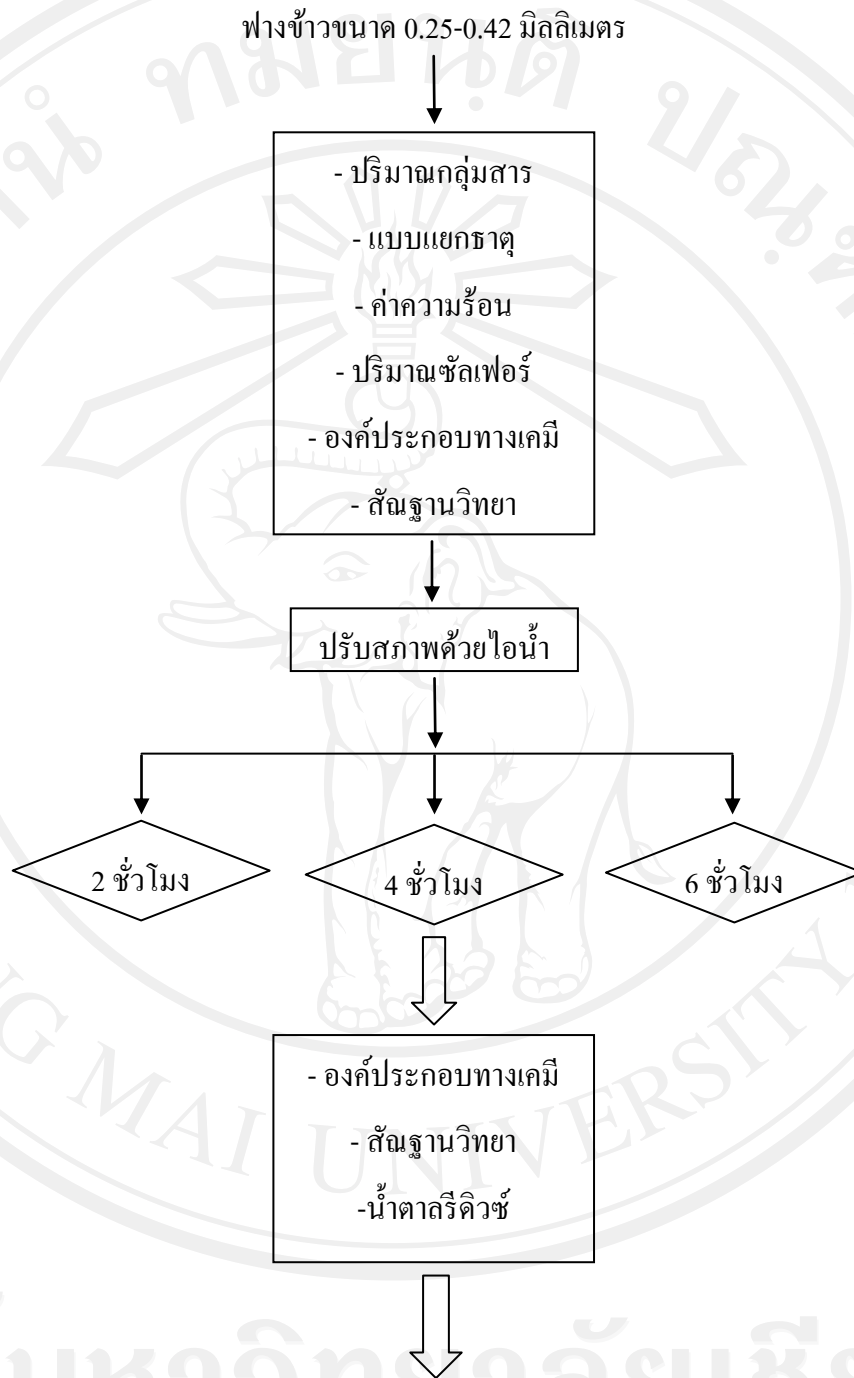
ในงานวิจัยนี้สามารถแบ่งขั้นตอนการทดลองได้เป็น 2 ขั้นตอนหลักได้แก่

1. ขั้นตอนในการปรับสภาพ (Pretreatment)
2. ขั้นตอนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

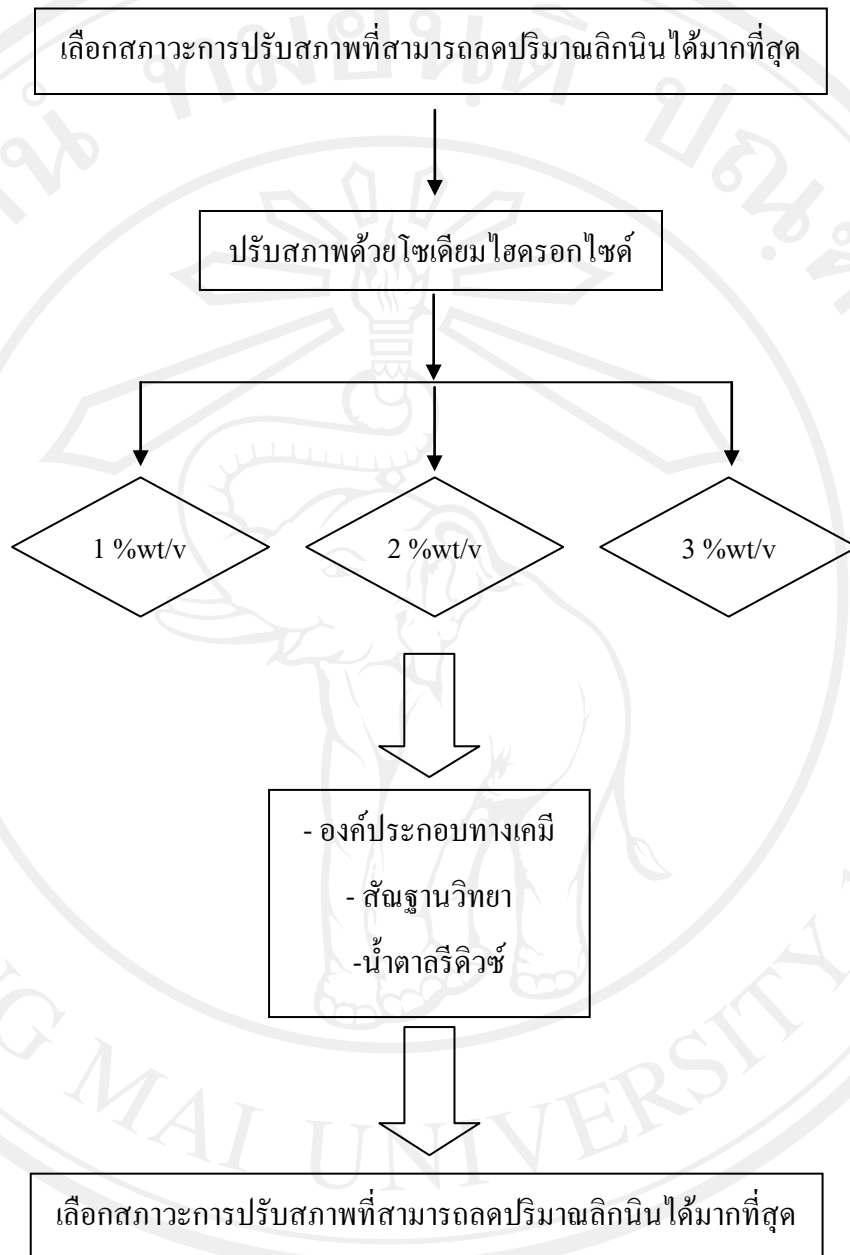
2.1 การหมักน้ำตาลกลูโคส

2.2 การหมักฟางข้าวที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้ว

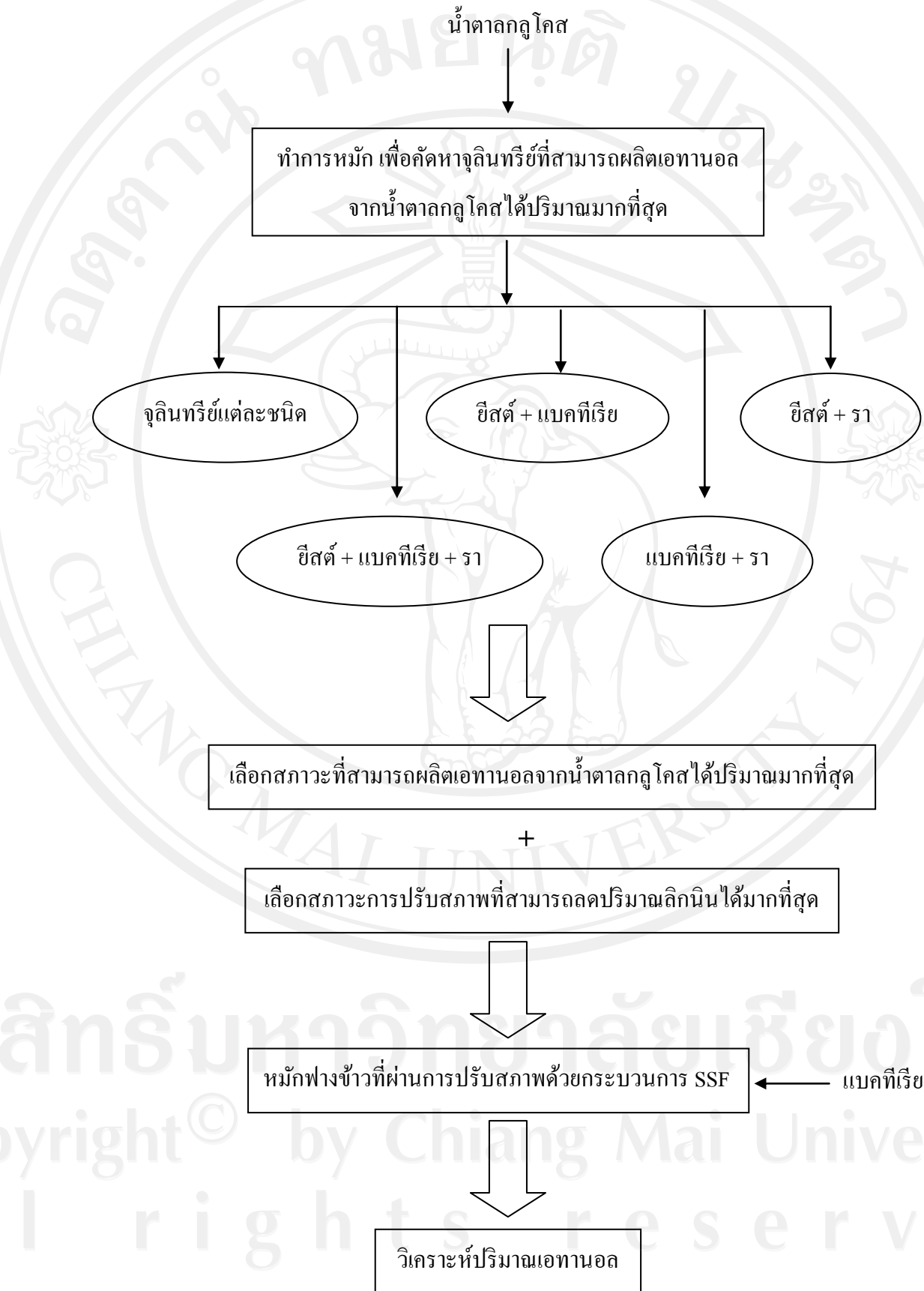
แผนผังสรุปีงานวิจัย แสดงดังรูป 2.6



รูปที่ 2.6 แผนผังสรุปรงานวิจัย



รูปที่ 2.6 แผนผังสรุปงานวิจัยงานวิจัย (ต่อ)



รูปที่ 2.6 แผนผังสรุปงานวิจัยงานวิจัย (ต่อ)