

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไม้และเยื่อ

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

1.1 การสุ่มและการเตรียมตัวอย่างไม้และเยื่อสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การสุ่มและการเตรียมตัวอย่างไม้และเยื่อสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามมาตรฐาน TAPPI T257 cm-85 และ TAPPI T264 om-88 หลังจากนั้นนำผงวัตถุดิบร่อนผ่านตะแกรงขนาดหมายเลข 40 mesh และตะแกรงขนาดหมายเลข 60 mesh เก็บผงวัตถุดิบส่วนที่ผ่านตะแกรงหมายเลข 40 mesh และค้างอยู่บนตะแกรงหมายเลข 60 mesh ไว้เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไม้การหาปริมาณความชื้น 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 เปิดดูดโถดูดความชื้นชั่วขณะหนึ่งเพื่อให้อากาศอุณหภูมิลดลงแล้วปิดไว้เหมือนเดิม 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 cm-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. ผงตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 20 กรัม โดยน้ำหนักอบแห้ง

วิธีการ

1. ทำความสะอาดถ้วยแก้วสกัดสารแทรกและอบแห้ง ชั่งน้ำหนักให้แน่นอน
2. ชั่งผงตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักอบแห้งหนัก 20 กรัม โดยเทียบน้ำหนักอบแห้งแล้วใส่ลงในถ้วยกรองพร้อมครอบด้วยตะแกรงละเอียดรูปกรวยแก้ว บรรจุใส่ในเครื่องมือสกัดสารแทรก
3. ติดตั้งเครื่องสกัดสารแทรก สกัดด้วยสารผสมเอทานอล-เบนซีน จำนวน 150 มิลลิลิตร เป็นเวลา 6 – 8 ชั่วโมง โดยรักษาระดับการชะล้างไม่น้อยกว่าชั่วโมงละ 4 ครั้ง
4. กรองผงตัวอย่างโดยเทลงใน Buchner funnel เพื่อดูดตัวทำละลายออก ล้างถ้วยกรอง และผงตัวอย่างด้วยเอทานอลเพื่อไล่เบนซีนออก
5. ใส่ผงดังกล่าวลงในถ้วยกรองอีก บรรจุใส่ในเครื่องมือสกัดสารแทรก
6. ติดตั้งเครื่องสกัดสารแทรก สกัดด้วยเอทานอล เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนกระทั่งเอทานอลไม่มีสี
7. ถ่ายตัวอย่างลงใน Buchner funnel เพื่อดูดตัวทำละลายออก ล้างถ้วยกรองและตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นเพื่อไล่เอทานอลออก
8. ถ่ายตัวอย่างลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นที่กำลังเดือด 500 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแก่ฟลาสก์เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอ่างน้ำร้อน รักษาหน้าที่จุดเดือด และฟลาสก์

อยู่ในอ่างน้ำเค็สด้วย กรองตัวอย่างด้วย Buchner funnel และล้างด้วยน้ำกลั่นที่เค็สดจำนวน 500 มิลลิลิตร ผึ่งตัวอย่างทิ้งไว้ในอากาศให้แห้ง

9. คลุกเคล้าตัวอย่างและเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดมิดชิด หาค่าปริมาณความชื้นของวัตถุดิบที่ปราศจากสารแทรก และนำตัวอย่างที่เตรียมได้นี้ไปใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

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

W_e = น้ำหนักกองแห้งสารสกัด (กรัม)

W_p = น้ำหนักกองแห้งของตัวอย่าง (กรัม)

W_b = น้ำหนักกองแห้งสารที่เหลืออยู่จากการทดลองโดยไม่มีตัวอย่าง (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. ตะเกียบบุนเซน 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 ทิ้งไว้ให้ของผสมเย็นลงเท่าอุณหภูมิปกติ 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 แล้วไปอบและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 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. เมื่อผงตัวอย่างกระจายดีแล้วปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษพิก้า 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. ปลดอยทิ้งให้ตะกอนนอนก้น 1 คืน นำมากรองผ่านด้วยกรองเบอร์ 4 ที่ทราบน้ำหนักแล้ว โดยกรองน้ำใสก่อนแล้วจึงกรองตะกอนลิกนิน
7. ล้างลิกนินให้ปราศจากกรดด้วยน้ำร้อน
8. นำถ้วยกรองที่มีลิกนินอยู่ใต้อบอุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ โดยทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นให้เย็นและชั่ง แล้วคำนวณหาปริมาณลิกนินเป็นร้อยละ

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

W1 = น้ำหนักของลิกนินอบแห้ง (กรัม)

W2 = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

1.4 การหาปริมาณไฮโดรเจนไดออกไซด์

การหาปริมาณไฮโดรเจนไดออกไซด์โดยวิธี Acid chlorite ของ Browning และ Bubnitz (1983)

อุปกรณ์และสารเคมี

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

วิธีการ

1. ชั่งผงตัวอย่างลงในกระดาษฟอยล์ที่ปราศจากสารแทรกโดยน้ำหนักแห้ง 3 กรัม ถ่ายผงเยื่อใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงในขวดรูปกรวย 160 มิลลิลิตร และกรดแอสซิติคเข้มข้นจำนวน 0.5 มิลลิลิตรกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5 กรัม ลงไปด้วยตามลำดับ แล้วใช้ขวดรูปกรวยขนาดเล็กกว่าเอาทางหัวลงปิดปากขวดรูปกรวยที่ใส่ผงตัวอย่างนั้น นำไปตั้งในอ่างที่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 70 – 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยทำการทดลองในตู้ดูดควันพิษ มีการเขย่าเป็นระยะจะได้ก๊าซคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) เกิดขึ้น และมีการทำปฏิกิริยากับลิทมิ้นในผงตัวอย่าง
3. เมื่อครบ 1 ชั่วโมง จะต้องเติมกรดแอสซิติคเข้มข้นจำนวน 0.5 มิลลิลิตรกับโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัมตามลำดับ ลงในขวดรูปกรวย ยังคงเขย่าขวดเป็นระยะ ทำเช่นนี้นาน 1 ชั่วโมง และให้ทำในทำนองนี้ต่อไปอีกชั่วโมงที่ 2, 3 และ 4 หรือจนกว่าผงตัวอย่างจะมีสีขาว
4. เมื่อครบกำหนดเวลา นำขวดรูปกรวยไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเพื่อให้ก๊าซพิษลดการฟุ้งกระจายลงเป็นเวลา 30 นาที
5. กรองผงเยื่อด้วยถ้วยกรองเบอร์ 2 ที่ทราบน้ำหนักแห้งละเอียดถึง 0.1 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องกรองที่มีแรงดูดจากการไหลผ่านของน้ำที่ปั๊มมาจากเครื่องปั๊มลมครบชุด ทำให้ก๊าซพิษที่ฟุ้งกระจายออกจากสารละลายจะได้ถูกดูดและละลายไปกับน้ำ

6. ล้างผงไฮโดรเซลลูโลสด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งมีสีขาว จึงล้างด้วยแอซีโตน และคลุกออกมาให้มากที่สุด
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 และเยื่อตามวิธีมาตรฐาน 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 ซึ่งแช่อยู่ในอ่างน้ำแข็งทำให้มีอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อละลายสมบูรณ์แล้วถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นและเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร
10. กรดแอซิดิกความเข้มข้นร้อยละ 10

วิธีการ

1. ชั่งโซลอสเซลลูโลสที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว จำนวน 2 ± 0.1 กรัมที่เตรียมได้จากข้อ 1.4 โดยน้ำหนักอบแห้งใส่ในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 300 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายโดยเติมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 75 มิลลิลิตร ลงไป และปรับอุณหภูมิของสารละลายโดยนำไปใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 0.2 องศาเซลเซียส
3. คนสารละลายด้วยเครื่องกระจายจนเกิดการกระจายอย่างสมบูรณ์ โดยมีให้เกิดฟองอากาศ 5 นาที
4. ล้างเครื่องกระจายด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 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. ล้างตะกอนต่อไปอีกด้วยกรดแอสติกความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยแช่อยู่นาน 5 นาทีจำนวน 40 มิลลิลิตร
10. ล้างตะกอนครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างนั้นไม่มีสภาพเป็นกรด
11. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น และทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนักคงที่ นำผลมาคำนวณหาปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส

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

$W1$ = น้ำหนักแอลฟาเซลลูโลสอบแห้ง (กรัม)

$W2$ = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

1.6 การหาปริมาณเพนโตแซน

การหาปริมาณเพนโตแซนในวัตถุดิบไม้และ เยื่อตามวิธีมาตรฐาน 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 แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นไม่นานกว่าสองอาทิตย์
13. ผลึกโซเดียมคลอไรด์
14. แอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) บริสุทธิ์มีความเข้มข้นร้อยละ 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 ที่หมายเหตุไว้ก่อน และผสมให้เข้ากันโดยตลอด
6. คูดสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 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 ที่มีฝาปิดป้องกันการระเหยของกรดที่จะกักร้อน เครื่องมือไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร
9. อ่านค่าไซโลสในตัวอย่างจากกราฟ Calibration ที่เตรียมไว้เป็นมิลลิกรัม แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณเพนโตแซนเป็นร้อยละ

$$\% \text{ เพนโตแซน} = W1/10W2$$

W1 = น้ำหนักไซโลสในผงตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

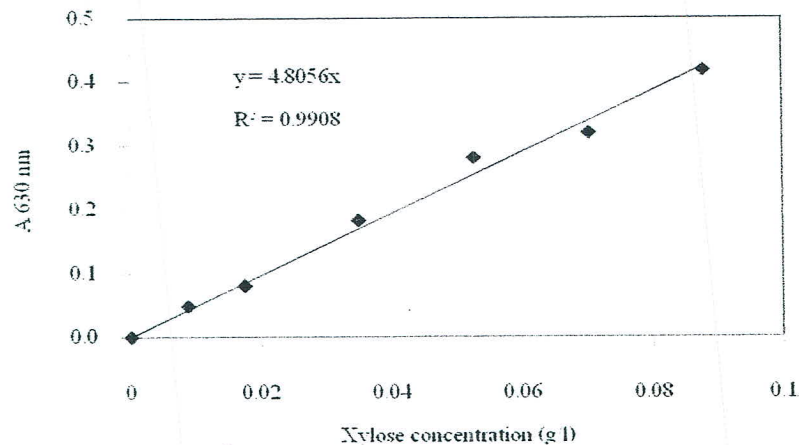
W2 = น้ำหนักแห้งของผงตัวอย่าง (กรัม)

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 การหาปริมาณเถ้าในเนื้อไม้

การหาปริมาณเถ้าในเนื้อไม้ โดยการเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ตามมาตรฐาน TAPPI 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. เทพลงเชื้อใส่ถ้วยกระเบื้อง แล้วชั่งน้ำหนักกระตักกระดาษฟอยล์
5. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมผงเชื้อไปเผาโดยตรงด้วยเปลวไฟอ่อนจากตะเกียงเบนเซน โดยเปิดฝาแก้วไว้ แล้วใส่ในเตาเผาพร้อมนำฝาปิดออก โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 100 องศาเซลเซียส และทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 525+25 องศาเซลเซียส อย่างช้า ๆ จนกระทั่งตัวอย่างเป็นเถ้าปราศจากเปลวไฟอย่างน้อย 6 ชั่วโมง
6. เมื่อครบเวลาและตัวอย่างเผาไหม้สมบูรณ์โดยปราศจากเศษเหลือที่มีสีดำแล้ว นำมาใส่โถคู่ความชื้นอะลูมิเนียม ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแก้วให้ได้ละเอียดถึง 0.1 มิลลิกรัม
7. เตาซ้ำและชั่งซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักของเถ้าคงที่ 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 โดยเลือกกระดับการเจือจางตัวอย่างละ 3 ระดับ แต่ละระดับดูดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงจานเพาะเชื้อ 3 จ้า เกลี่ยด้วยแท่งแก้ว ตามเทคนิคการ spread plate
 2. นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี หากเฉลี่ยจากระดับการเจือจางที่ให้จำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ คำนวณหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อตัวอย่าง 1 ลิตรดังนี้
- $$\text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (เซลล์/ลิตร)} = \text{จำนวนโคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ} \times \text{dilution factor} \times 10,000$$

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

การหาปริมาณเอทานอลโดยวิธี 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. สารละลายเอทานอลมาตรฐานเตรียมโดยเจือจางเอทานอลด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 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 แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ได้ทำการทดลองในระดับฟลอส โดยทั่วไปปริมาณวัตถุดิบ 10% เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการทดลองระดับฟลอสอยู่แล้ว ถ้าจะทำการเพิ่มปริมาณวัตถุดิบให้มากกว่า 10% ต้องมีการลดขนาดของวัตถุดิบก่อน โดยการบดร่อน แล้วยังต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของปริมาณวัตถุดิบที่เพิ่มขึ้นต่อการหมัก
3. ข้อเสนอแนะในการศึกษาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์นั้น ทางคณะผู้วิจัยเห็นด้วยอย่างยิ่ง แต่ทั้งนี้เนื่องจากคณะผู้วิจัยไม่มีความเชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์เท่าที่ควร หากจะทำการวิเคราะห์เพิ่มเติมจำเป็นต้องมีผู้เชี่ยวชาญทางด้านการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์เข้าร่วมวิจัยด้วย และถ้าจะมีการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์นั้น ควรที่จะกำหนดชนิดของวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอลนั้นคือ ลำต้นปาล์มน้ำมัน