บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การผลิตเอธานอลจากชานอ้อยและผักตบชวา โดยใช้เครื่องมือ , อุปกรณ์และมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี รุ่น 3600 CX ยี่ห้อ Varian
2. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง
3. เครื่องให้ความร้อน
4. เครื่องบด
5. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น EB – 3300 ยี่ห้อ LIBROR
6. ตู้อบ รุ่น DO6062 Model 600 ยี่ห้อ MEMMERT
7. หม้อเคลือบ
8. แท่งแก้ว
9. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร
10. ช้อนตักสาร
11. ตะแกรงร่อน ขนาด 0.5 มิลลิเมตร
12. บีกเกอร์
13. ขวดน้ำกลั่น
14. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
15. ปิเปต ขนาด 1 , 3 , 5 , 10 มิลลิลิตร
16. กระบอกตวง
17. ชุดการกลั่น
18. ขาตั้ง
19. ที่ยึด
20. เทอร์โมมิเตอร์
21. กระดาษกรอง เบอร์ 5
22. กรวยกรอง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก 0.5 % และ 1.5 % (0.5 %,1.5 % H_2SO_4) A.R. GRADE
2. สารละลายเอธานอล 99.8% (Absolute ethanol) A.R. GRADE
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
4. น้ำกลั่น 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง (Distillation water)
5. ยีสต์ Saccharomyces cerevisiae

3.3 วิธีการดำเนินงาน

3.3.1 การเก็บและการเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างชานอ้อยและผักตบชวา จากนั้นนำไปผึ่งลม แล้วสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดชานอ้อยและผักตบชวาให้ละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร คลุกเคล้าแต่ละตัวอย่างให้เข้ากัน เก็บทั้ง 2 ตัวอย่าง ไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดปากสนิท

3.3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.5% ปริมาตร 4000 มิลลิลิตร

ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 97 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (conc. H_2SO_4 A.R. Grade) มาจำนวน 20.6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 ครั้ง แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง

สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.5% ปริมาตร 3000 มิลลิลิตร

ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 97 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (conc.H_2SO_4 A.R. Grade) มาจำนวน 46.4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 ครั้ง แล้วปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.3.3 การย่อยชานอ้อยและผักตบชวา

1. นำชานอ้อยและผักตบชวาที่ร่อนแล้ว มาย่อยเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส โดยเติมกรดซัลฟิวริก 0.5 % จำนวน 300 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที

2. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 เก็บสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ไว้

3. นำส่วนที่อยู่บนกระดาษกรองไปทำการย่อยอีกครั้ง โดยเติมกรดซัลฟิวริก 1.5 % จำนวน 200 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที

3. นำส่วนที่อยู่บนกระดาษกรองไปทำการย่อยอีกครั้ง โดยเติมกรดซัลฟิวริก 1.5 % จำนวน 200 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที

4. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 หลังจากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ในครั้งที่ 2รวมกับสารละลายที่กรองได้ในครั้งแรก แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 150 มิลลิลิตร โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการย่อยตัวอย่างละ 6 ขวด แล้วปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 4 – 4.5

5. เก็บสารละลายที่ได้ เพื่อนำไปทำการหมักต่อไป

3.3.4 การเตรียมยีสต์ที่ใช้ในการหมัก

นำเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae มา 2 ขวด เกลี่ยเชื้อยีสต์ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายของชานอ้อยและผักตบชวาที่ทำการย่อยและปรับค่า pH แล้ว จะอยู่ในช่วง 4 – 4.5 โดยปริมาตรของทั้ง 2 ขวดคือ 150 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง สามารถนำหัวเชื้อที่ได้ไปทำการหมักได้

3.3.5 การหมักสารละลายชานอ้อยและผักตบชวา

1. ปิเปตหัวเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae ใส่ในขวดทั้ง 12 ขวด โดยแยกเป็นเชื้อยีสต์จากชานอ้อยและผักตบชวา ขวดละ 10 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยพลาสติกใส และปิดทับด้วยกระดาษฝอย

2. หมักตัวอย่างเป็นเวลา 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 และ 7 วัน

3. นำน้ำหมักในแต่ละวันมากลั่นที่อุณหภูมิ 80 – 85 องศาเซลเซียส โดยปิเปตแต่ละขวดมา 15 มิลลิลิตร (โดย 2 ขวดคิดเป็น 1 ซ้ำ)

4. เก็บตัวอย่างที่กลั่นได้ในแต่วันไว้ เพื่อวัดหาปริมาณเอธานอลต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

3.3.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอธานอล

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอธานอล ความเข้มข้น 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ1.0% ตามลำดับ จาก แอ๊บโซลูทเอธานอล (A.R. GRADE) 99.8 % เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน

2. นำสารละลายมาตรฐานรวมทั้งสารตัวอย่างที่กลั่นได้ในแต่ละวัน ไปวัดหาปริมาณเอธานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3. วิเคราะห์โครมาโตแกรมที่ได้

ขั้นตอนแสดงการทดลอง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY