การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน

Ethanol production from Jackfruit seeds

บัญชา โลหรัตน์

Bancha Lolharat

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Engineering in Chemical Engineering
Prince of Songkla University
2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน
ผู้เขียน นายบัญชา โลหรัตน์
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….....
(ดร.สินินาฏ จงคง)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

…….....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

คณะกรรมการสอบ

…….....……ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ)

……..……...กรรมการ
(ดร.สินินาฏ จงคง)

……..……....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์)

…..……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์)

...……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

……
(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน

ผู้เขียน นายบัญชา โลหรัตน์

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

เมล็ดขนุนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 36.38 และเส้นใยร้อยละ 1.27 สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการสกัดพรีไบโอติกส์แล้วโดยการทดลองจะเริ่มด้วยการศึกษาอุณหภูมิต้ม 70-90 องศาเซลเซียส และเวลาในการต้ม 5-20 นาที ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก โดยทำการทดลองในชุดขวดหมัก (Air Lock) ปัจจัยสำคัญที่ศึกษาคือ ปริมาณลูกแป้งร้อยละ 1-6 โดยน้ำหนัก เวลาในการหมัก 1-10 วัน ค่าพีเอช 3.0-5.5 อัตราการเขย่า 60-120 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้องจนถึง 40 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่ให้ผลผลิตเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์สูงสุดคือ การนำเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว มาต้มด้วยอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปหมักกับลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 4 เป็นเวลา 6 วัน ที่ค่า พีเอช 5.0 อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ16.0 โดยปริมาตร ในสภาวะเดียวกันเมื่อนำเมล็ดขนุนสดไปหมัก จะได้เอทานอลร้อยละ 9.4 โดยปริมาตร

และได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ โดยแบ่งการศึกษาเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือการเตรียม และย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะไมเลส ทำการออกแบบการทดลองด้วย Response surface methodology (RSM) ขั้นตอนที่สองคือการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในชุดขวดหมัก (Air Lock) จากการทดลองพบว่าสภาวะขั้นตอนแรกที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนสดในการเตรียมหรือปรับสภาพวัตถุดิบด้วยการใช้แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90.9 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เป็นระยะเวลา 160 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 3.2 กรัมต่อลิตร และสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลสคือ ร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 เป็นระยะเวลา 360 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาล

รีดิวซ์สูงสุด 83 กรัมต่อลิตร ขั้นตอนที่สองคือการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสำหรับเมล็ดขนุนสดจะต้องใช้เชื้อยีสต์ร้อยละ 0.4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการหมัก 2 วัน ได้เอทานอลร้อยละ 10.5 โดยปริมาตร และสภาวะขั้นตอนแรกที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มาทำการปรับสภาพและย่อย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพคือ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.17 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เป็นระยะเวลา 240 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 3.04 กรัมต่อลิตร และสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยคือ กลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.13 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 เป็นระยะเวลา 360 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 35.13 กรัมต่อลิตร ขั้นตอนที่สองคือการหมักด้วยเชื้อยีสต์ พบว่าสำหรับการใช้เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ จะต้องใช้เชื้อยีสต์ร้อยละ 0.4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการหมัก 3 วัน จะได้เอทานอลร้อยละ 9.0 โดยปริมาตร

ผลผลิตที่ได้จากการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจะถูกเพิ่มความบริสุทธิ์ของเอทานอลด้วยการกลั่นจนเป็นร้อยละ 95 โดยปริมาตร ด้วยเครื่องกลั่นแบบแพ็คคอลัมน์

Thesis Title	Ethanol production from Jackfruit seeds
Author	Mr. Bancha Lolharat
Major Program	Chemical Engineering
Academic Year	2011

Abstract

Jackfruit seeds, which are agricultural residue, consist of 36.38% carbohydrates and 1.27% fibers. They could be the suitable raw materials for ethanol production. Comparisons of the ethanol production processes from the fresh jackfruit seeds and prebiotic extracted jackfruit seeds (PEJS) were investigated by using co-culture (Loog Pang Khaw Mark) and enzymes in this work. For the pretreatment and physical hydrolysis, the seeds were boiled initially at a temperature of 70 to 90°C for a boiling time of 5 to 20 min. After the pretreated seeds that were fermented in air-locked 250-ml Erlenmeyer flasks, which were immersed in a water bath. The significant studied parameters were Loog-Pang amount of 1 to 6 %w (weight of Loog-Pang to weight of the seeds), fermentation time of 1 to 10 days, pH of 3.0 to 5.5, shaking rates of 60 to 120 rpm at a room temperature up to 40°C. For the optimum conditions using co-culture, PEJS were boiled at a temperature of 90°C for 15 min and then they were fermented with Loog-Pang amount of 4 %w for 6 days, pH of 5.0, at a temperature of 30°C and a shaking rate of 100 rpm. It could provide 16.0 %v ethanol product. At the same condition, it could provide 9.4 %v ethanol product for using the fresh jackfruit seed raw.

The ethanol productions using enzymes were also investigated by response surface methodology (RSM). The pretreatment, hydrolysis and fermentation processes were carried out by using alpha-amylase enzyme, glucoamylase enzyme and *Saccharomyces cerevisiae* yeast, relatively. The optimum conditions for using the fresh seeds were at a temperature of 90.9°C for 160 min, pH of 6.0 and alpha-amylase amount of 0.13 %w in the pretreatment or the liquefaction. Glucoamylase amount of 0.13 %w for 360 min, pH of 4.0 and a temperature of 60°C were used in the hydrolysis or saccharification. After then, yeast amount of 0.4 %w/v, a temperature of 30°C and a time of 2 days were operated in the fermentation. These could provide 10.5 %v ethanol

product. In addition, the optimum conditions for using PEJS were at a temperature of 80°C for 240 min, pH of 6.0 and alpha-amylase amount of 0.17 %w in the liquefaction. The 0.13% glucoamylase amount, 360 min, 4.0 (pH) and 50°C were used in the saccharification. After then, the 0.4% yeast amount, 30°C and 3 days were operated in the fermentation. These could provide 9.0 %v ethanol product.

The fermented products, which were carried out by the appappropriate conditions, were purified to reach 95 %v ethanol by distillation in a packing column distillator.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
รายการตาราง	(12)
รายการภาพประกอบ	(17)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
2.1 ขนุน	3
2.2 เอทานอล	5
2.3 เทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเอทานอล	5
2.3.1 กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล	7
2.3.2 กระบวนการหมักเอทานอล	10
2.3.3 กระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล	11
2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล	13
2.4 ลูกแป้ง	15
2.4.1 กรรมวิธีในการทำลูกแป้ง	16
2.4.2 องค์ประกอบต่างๆที่สำคัญในการทำลูกแป้ง	16
2.4.3 ลักษณะที่ดีของลูกแป้ง จากการสังเกตด้วยตา	17
2.4.4 เชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง	17
2.5 เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์	18
2.6 สารสกัดพรีไบโอติกส์	18
2.7 การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์	18
2.8 วัตถุดิบที่มีศักยภาพผลิตเป็นเอทานอลในประเทศไทย	20
2.9 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology)	21
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	27
3.1 วัสดุ	27
3.2 อุปกรณ์	27
3.3 การเตรียมวัสดุดิบ	28
3.4 วิธีการทดลอง	28
3.4.1 ศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดขนุน	28
3.4.2 ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของราและเชื้อยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก	29
3.4.2.1 ศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพ	29
3.4.2.1.1 ศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน	29
3.4.2.1.2 ศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน	29
3.4.2.2 ศึกษาการย่อยทางชีวภาพและการหมักเอทานอล	30
3.4.2.2.1 ศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน	30
3.4.2.2.2 ศึกษาอัตราในการเขย่าของ Water bath	30
3.4.2.2.3 ศึกษาระยะเวลาในการหมัก	30
3.4.2.2.4 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุน	31
3.4.2.2.5 ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุน	31
3.4.3 ศึกษาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์	32
3.4.3.1 ศึกษาการปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบ	32
3.4.3.1.1 ศึกษาการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส	32
3.4.3.1.2 ศึกษาการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	34
3.4.3.2 ศึกษาการหมักเอทานอล	36
3.4.3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อ เมล็ดขนุน	36
3.4.3.2.2 ศึกษาหาระยะเวลาในการหมัก	36

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.4.4 ศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตเอทานอลด้วยการกลั่น	36
3.4.5 สร้างชุดเครื่องมือสำหรับการหมักและการทำบริสุทธิ์เอทานอลในระดับโรงงานจำลอง	37
3.4.5.1 สร้างชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร	37
3.4.5.2 สร้างชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร	37
3.4.6 ทดลองใช้ชุดเครื่องมือที่สร้างขึ้น พร้อมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติที่จำเป็นต่างๆ ของผลผลิต	38
3.4.6.1 การทดลองใช้ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	38
3.4.6.2 การทดลองใช้ชุดเครื่องกลั่นผลผลิตเอทานอลขนาด 5 ลิตร	38
3.4.7 การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่เหมาะสมที่สุด	38
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	39
4.1. องค์ประกอบของเมล็ดขนุน	39
4.2. ปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของราและยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก	41
4.2.1 การปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพ	41
4.2.1.1 ผลของระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน	41
4.2.1.2 ผลของอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน	42
4.2.2 การย่อยทางชีวภาพและการหมักเอทานอล	43
4.2.2.1 ผลของอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน	43
4.2.2.2 ผลของอัตราในการเขย่าของ Water bath	44
4.2.2.3 ผลของระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุน	45
4.2.2.4 ผลของพีเอชในการหมักของเมล็ดขนุน	46
4.2.2.5 ผลของอุณหภูมิในการหมักของเมล็ดขนุน	48

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.3. ปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอล โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์	49
4.3.1 การปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบ	49
4.3.1.1 ผลของการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	49
4.3.1.2 ผลของการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	60
4.3.2 การหมักเอทานอล	71
4.3.2.1 ผลของอัตราส่วนเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน	71
4.3.2.2 ผลของระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสม	72
4.4. ผลของการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น	73
4.5. สร้างชุดเครื่องมือสำหรับการหมักและการทำบริสุทธิ์เอทานอล ในระดับโรงงานจำลอง	75
4.5.1 ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร	75
4.5.2 ชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร	80
4.6. ทดลองใช้ชุดเครื่องมือที่สร้างขึ้น พร้อมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบ และสมบัติที่จำเป็นต่างๆ ของผลผลิต	83
4.7. การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่เหมาะสมที่สุด	87
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	116
เอกสารอ้างอิง	119
ภาคผนวก	129
ภาคผนวก ก	130
ภาคผนวก ข	142
ประวัติผู้เขียน	170

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 คุณค่าทางโภชนาการของขนุน ซังขนุน และเมล็ดขนุน	4
2 สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาค	5
3 เปรียบเทียบปริมาตรของเอทานอลที่ผลิตได้จากวัตถุดิบชนิดต่างๆ	6
4 เอนไซม์แหล่งของจุลินทรีย์และคุณสมบัติบางประการ	9
5 พารามิเตอร์ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการประมาณค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส	19
6 ราคาวัตถุดิบต่างๆและราคาเอทานอลซึ่งเป็นราคาในปี ค.ศ. 2002-2005	21
7 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	32
8 แสดงสภาวะในการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส	33
9 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	34
10 แสดงสภาวะในการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	35
11 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนสดและเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์แล้ว	40
12 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	51
13 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้วด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	56
14 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	61
15 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้วด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	66
16 ร้อยละผลได้ของวัตถุดิบเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส	70

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
17 แสดงร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆจากการกลั่นที่ขนาด Packing 1 นิ้ว	85
18 แสดงร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆจากการกลั่นที่ขนาด Packing 0.5 นิ้ว	86
19 ส่วนผสมและราคาต้นทุนของลูกแป้งข้าวหมาก	89
20 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	90
21 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	91
22 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	92
23 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	93
24 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร	97
25 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	99
26 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	101
27 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	103
28 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆซึ่งหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	104

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
29 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆซึ่งหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	104
30 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	109
31 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	110
32 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	111
33 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	112
34 สรุประยะเวลาในการคืนทุนในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งขึ้นกับราคาขายเอทานอลต่อลิตร	115
ก-1 แสดงค่า Reflextive index ณ ร้อยละโดยปริมาตร ต่างๆ	140
ข-1 ผลจากการวิเคราะห์เมล็ดขนุนสดจากการทดสอบต่างๆ	142
ข-2 ผลจากการวิเคราะห์เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์จากการทดสอบต่างๆ	143
ข-3 ผลการศึกษาร้อยละเอทานอลจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ที่ปริมาตรต่างกัน	144
ข-4 ผลการศึกษร้อยละเอทานอลจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ที่ปริมาตรต่างกัน	144
ข-5 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที	145

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข-6 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที	146
ข-7 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที	147
ข-8 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที	148
ข-9 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด	149
ข-10 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	150
ข-11 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของ Water bath	151
ข-12 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	152
ข-13 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนสด	153
ข-14 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	154
ข-15 ผลการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนสด	155
ข-16 ผลการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	156
ข-17 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุนสด	157
ข-18 ผลการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	158
ข-19 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง ของกระบวนการปรับสภาพของเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	159
ข-20 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร	160
ข-21 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร	161
ข-22 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส	162

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ข-23 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยของเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร 163

ข-24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส แล้วตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร 164

ข-25 ผลการศึกษาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนสด 165

ข-26 ผลการศึกษาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 166

ข-27 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนสด 167

ข-28 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 168

ข-29 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ด้วยการกลั่นซึ่งหลังจากการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก 169

ข-30 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ด้วยการกลั่น ซึ่งหลังจากการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 169

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
1 ลักษณะของเมล็ดขนุน	3
2 ผลผลิตการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส	9
3 เครื่องกลั่นสุราแบบหม้อต้ม	12
4 การแบ่งระยะการเติบโตของจุลินทรีย์	15
5 ประสิทธิภาพของพลังงานจากวัตถุดิบเพื่อผลิตเอทานอล (ซ้าย) และปริมาณไฟฟ้าที่ใช้เพื่อผลิตเอทานอล (ขวา) ซึ่งใช้ระยะเวลาในการผลิตเอทานอล (ระยะสั้น ระยะกลาง และระยะยาว) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแปลงรวมบนพื้นฐานการใช้ไฟฟ้าเพื่อผลิตโดยส่วนแรก η=45% และส่วนที่เหลือเปลี่ยนเป็นเอทานอล	20
6 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยปริมาณลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก	41
7 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก	42
8 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส	44
9 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของ Water bath เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก	45
10 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมัก 1-10 วัน ด้วยปริมาณลูกแป้งข้าวหมาก ร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	46
11 ผลการศึกษาค่าพีเอชของการหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิที่หมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก	47
12 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักในระยะเวลา 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก	48

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

13 เมล็ดขนุนที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (a) ก่อนการเติม DNS และ (b) หลังการเติม DNS 49

14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกับค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression 50

15 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสดเมื่อมีอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล 52

16 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสดด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 53

17 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยเมล็ดสด จากอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 150 นาที 54

18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการไฮโดรไลซีสเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกับค่าจากการทำนาย 55

19 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล 57

20 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 58

21 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 150 นาที 59

22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสกับค่าจากการทำนาย 60

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

23 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยใช้ร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล 62

24 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 63

25 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 360 นาที 64

26 แสดงผลผลิตเมื่อผ่านกระบวนการย่อยต่างๆหลังเติมสารละลาย DNS (ภาพซ้ายผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคสอะไมเลส, ภาพขวาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส) 65

27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสกับค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression 65

28 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยใช้ร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล 67

29 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 68

30 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 360 นาที 69

31 โครงสร้างของข้าวโพด ซึ่งถูกย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง 70

32 โครงสร้างของข้าวโพด ซึ่งถูกย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง 70

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ หน้า

33 ผลการศึกษาอัตราส่วนเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน เวลาหมัก 3 วัน อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 5.0 72

34 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมัก โดยอัตราส่วนร้อยละเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน 0.4 โดยน้ำหนัก อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 5.0 72

35 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น ซึ่งหลังได้ผ่านการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก 73

36 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น ซึ่งหลังได้ผ่านการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 74

37 แผนภาพกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล 75

38 ชุดปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร 76

39 ตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร 76

40 แผนภาพชุดควบคุมพีเอชของตัวปฏิกรณ์ชีวภาพ 77

41 ชุดควบคุมพีเอชของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 77

42 โปรแกรมควบคุมพีเอชของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 78

43 ชุดควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 78

44 ชุดฝาถังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 79

45 ชุดกวนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 80

46 แผนภาพกระบวนการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ของเอทานอล 80

47 ชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร 81

48 คอลัมน์ของเครื่องกลั่นเอทานอล 81

49 ชุดควบแน่นของเครื่องกลั่นเอทานอล 82

50 หม้อต้ม และชุดควบคุมอุณหภูมิของเครื่องกลั่นเอทานอล 82

51 ผลการศึกษาของอุณหภูมิในการกลั่นเอทานอล ณ เวลาต่างๆที่ Packing 1 นิ้ว 84

52 ผลการศึกษาของอุณหภูมิในการกลั่นเอทานอล ณ เวลาต่างๆที่ Packing 0.5 นิ้ว 85

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า
53 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	87
54 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก	88
55 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	96
56 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	98
57 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	100
58 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร	102
59 แผนภาพค่าใช้จ่ายในการลงทุนเพื่อผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน	108
ก-1 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์	137
ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละเอทานอล กับ ค่า Refractive index	141

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของงานวิจัย

ปัจจุบันปัญหาด้านพลังงานถือเป็นปัญหาใหญ่ระดับประเทศ เนื่องจากพลังงานส่วนใหญ่ที่ใช้คือพลังงานที่ผลิตจากน้ำมันปิโตรเลียมซึ่งมีราคาแพงขึ้นอย่างต่อเนื่องและนับวันก็จะค่อยๆ หมดไปจากโลก ทั้งยังเป็นพลังงานที่ก่อมลพิษไปทั่วโลก ชีวิตประจำวันของมนุษย์จำเป็นต้องใช้พลังงานแต่ละวันเป็นมหาศาล ประเทศต่างๆ ทั่วโลกจึงเห็นความจำเป็นและหาทางผลิตพลังงานเพื่อทดแทนพลังงานจากน้ำมันปิโตรเลียมดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่ต้องนำเข้าพลังงาน ดังเช่นประเทศไทย ซึ่งให้ความสำคัญในการผลิตพลังงานทดแทนเพื่อลดรายจ่ายในการนำเข้าและลดการพึ่งพาจากผู้ผลิต โดยการพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทนจากวัตถุดิบทางการเกษตรที่สามารถผลิตได้เองภายในประเทศ โดยแหล่งพลังงานทดแทนที่สำคัญอันหนึ่งคือ พลังงานชีวมวล ซึ่งหมายถึงพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต จุดเด่นของพลังงานชีวมวลคือ สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ทั้งยังช่วยลดการเกิดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม และช่วยกระจายรายได้สู่เกษตรกร พลังงานชีวมวลที่สำคัญและสามารถนำมาใช้เพื่อเป็นเชื้อเพลิงเครื่องยนต์มีอยู่ 2 ประเภทหลัก คือ เอทานอล และไบโอดีเซล

เอทานอล หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ไม่มีสี ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงินที่ไม่มีควัน เอทานอลบริสุทธิ์มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซสเซียส ซึ่งเราสามารถที่จะใช้ประโยชน์จากเอทานอลได้ในหลายรูปแบบ อย่างเช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงเพื่อทดแทนน้ำมันเบนซิน ใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ (Gasohol) หรือผสมกับน้ำมันดีเซล เรียกว่า ดีโซฮอล์ (Desohol) ใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันให้กับเครื่องยนต์ ได้แก่ Ethyl tert-butyl ether (ETBE) เป็นต้น

ในการผลิตเอทานอลเราสามารถที่จะใช้วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพได้ ซึ่งในปัจจุบันจะเป็นการผลิตโดยวิธีทางชีวภาพเป็นส่วนมาก สำหรับการผลิตเอทานอลโดยใช้วิธีทางชีวภาพ หรือการผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลนั้น จะมีวัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตเอทา-นอล ได้ 3 ชนิด คือ วัตถุดิบประเภทน้ำตาล แป้ง และลิกโนเซลลูโลส

เนื่องจากก่อนหน้านี้ได้มีงานวิจัยการสกัดพรีไบโอติกส์จากเมล็ดขนุนเพื่อให้เกิดประโยชน์จากวัตถุดิบสูงสุด โครงการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว และเมล็ดขนุนสด โดยในเมล็ดขนุนนั้นส่วนมากจะประกอบด้วยแป้ง ซึ่งเป็นประเภทของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล ดังนั้นจะทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล แล้วจึงทำการหมักจากน้ำตาลที่ได้ให้เปลี่ยนไปเป็นเอทานอล เพื่อให้ได้ผลได้ของเอทานอลที่เหมาะสมคุ้มค่าแก่การลงทุน

1.2 วัตถุประสงค์

(1) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว และเมล็ดขนุนสด

(2) เปรียบเทียบการผลิตด้วยเชื้อผสม และเชื้อบริสุทธิ์

(3) เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตและหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการผลิตเอทานอล

(4) เพื่อออกแบบและสร้างชุดเครื่องมือสำหรับผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนและชุดเครื่องมือสำหรับการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตเอทานอล

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

(1) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเมล็ดขนุน ซึ่งเป็นการสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร

(2) เพื่อเป็นข้อมูลให้กับผู้ที่สนใจในการลงทุนในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน

(3) เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นพลังงานทดแทน

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ขนุน (Jackfruit)

ขนุนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus heterophyllus, Lamk*. อยู่ในตระกูล Moraceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย ขนุนเป็นไม้ยืนต้น อายุยืน ลำต้นสูงประมาณ 10-25 เมตร ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ในทุกสภาพพื้นที่ของประเทศไทย สภาพดินที่เหมาะสมในการใช้ปลูกควรมีค่าพีเอช อยู่ระหว่าง 5.5-7.5 และดินควรเป็นดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำได้ดี อายุการให้ผลจะเริ่มให้ผลเมื่ออายุประมาณ 4 ปี โดยสามารถให้ผลต่อไปได้อย่างต่อเนื่องไม่ต่ำกว่า 25 ปี อายุตั้งแต่เริ่มออกดอกถึงดอกบาน 20-25 วัน หลังดอกบานผลจะแก่เมื่ออายุ 120-150 วัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นเมื่ออายุประมาณ 10 ปี อยู่ระหว่าง 25-30 ผล ลักษณะเมล็ดขนุนแสดงดังภาพประกอบที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของขนุน ซังขนุน และเมล็ดขนุนแสดงในตารางที่ 1

ภาพประกอบที่ 1 ลักษณะของเมล็ดขนุน

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของขนุน ซังขนุน และเมล็ดขนุน (นฤชิต, 2529)

องค์ประกอบ	ขนุนแก่	ซังขนุน	เมล็ดขนุน
ความชื้น (ร้อยละ)	72.90	66.60	60.70
ไขมัน (ร้อยละ)	0.30	0.00	0.20
คาร์โบไฮเตรต (ร้อยละ)	23.70	29.20	30.60
เส้นใย (ร้อยละ)	0.90	1.80	1.60
โปรตีน (ร้อยละ)	1.70	1.40	5.50
ค่าพลังงานความร้อน (Kcal/g)	94.00	122.00	146.00
แคลเซียม (mg/100g)	27.00	21.00	0.00
ฟอสฟอรัส (mg/100g)	38.00	13.00	105.00
เหล็ก (mg/100g)	0.60	0.20	2.90
วิตามินบี2 (mg/100g)	0.11	0.15	0.02
วิตามินซี (mg/100g)	9.00	13.00	3.25
วิตามินเอ (หน่วยสากล)	392.00	0.00	22.00

ขนุนที่ปลูกกันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 ประเภท คือ ขนุนหนังและขนุนละมุด แต่ที่นิยมปลูกกันในปัจจุบันเป็นพันธ์ขนุนหนัง สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาคแสดงดังตารางที่ 2

จากการสำรวจเมื่อปี 2540 พบว่า พื้นที่เพาะปลูกขนุนทั้งประเทศประมาณ 251,978 ไร่ (ที่มา: http://www.doae.go.th/plant/kanun.htm) และในปี พ.ศ. 2542 แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สถิติการปลูกขนุนหนังแยกรายภาค (ฝ่ายข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงานกรมส่งเสริมการเกษตร, 2542)

ภาค	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)			ผลผลิต		ราคาขายได้ที่สวน (บาท/กก.)			
						สูงสุด		ต่ำสุด	
	ให้ผลแล้ว	ยังไม่ให้ผล	รวม	ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)	ราคา	เดือน	ราคา	เดือน
เหนือ	24,418	12,237	36,655	3,351	81,831.98	6.45	พ.ค.	3.67	มิ.ย.
ตะวันออกเฉียงเหนือ	32,861	32,920	69,781	2,952	106,820.06	8.18	-	4.69	-
กลาง	8,682	4,855	13,537	2,600	22,577.7	7.83	พ.ค.	4.29	ธ.ค.
ตะวันออก	66,981	41,509	108,490	3,382	226,581.08	11.55	มี.ค.	5.09	พ.ค.
ตะวันตก	30,788	20,799	51,567	3,034	93,429	8.46	ธ.ค.	4.26	มิ.ย.
ใต้	13,380	3,835	17,215	2,326	31,152.62	10.99	-	6.64	-
รวมทั้งประเทศ	181,110	116,135	297,245	3,116	564,382.43	8.52	-	4.74	-

2.2 เอทานอล

เอทิลแอลกอฮอล์เรียกอีกชื่อว่า เอทานอล เป็นสารประกอบอินทรีย์มีคุณสมบัติเป็นของเหลวไม่มีสี จุดติดไฟง่าย มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซลเซียส เอทานอลบริสุทธิ์มีเนื้อแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 99.7 โดยปริมาตร โดยทั่วไปมีน้ำเจือปนไม่เกินร้อยละ 0.5 เอทานอลละลายได้ดีในน้ำ และตัวละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น เมทิลแอลกอฮอล์ อีเทอร์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น (สาวิตรี, 2540)

2.3 เทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลมีอยู่หลายวิธี มีทั้งจากการสังเคราะห์ทางเคมี และจากผลผลิตทางการเกษตร เช่น

1. กระบวนการการสังเคราะห์ทางเคมีใช้วัตถุดิบที่เป็นผลผลิตของน้ำมันปิโตรเลียม

นั่นคือ เอธีลีน โดยใช้กระบวนการแคตาไลติก ไฮเดรชั่น (Catalytic hydration) ได้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ (ธงชัย และสุพล, 2525) ปฏิกิริยาเคมีเขียนได้ดังสมการ 1

$$CH_2= CH_2 + H_2O \xrightarrow{H_3PO_4} C_2H_5OH \qquad \text{(สมการ 1)}$$

2. การหมักโดยใช้จุลินทรีย์ โดยใช้น้ำตาลเป็นวัตถุดิบซึ่งอาจเป็นน้ำตาลที่ได้จากพืชโดยตรง เช่น จากอ้อย หัวผักกาดหวาน หรือเป็นน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งหรือเซลลูโลส ซึ่งได้จากวัตถุดิบทางการเกษตร เอทานอลที่ได้นี้เรียกว่า ไบโอเอทานอล (Bio-ethanol) วัตถุดิบทางการเกษตรที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งได้ดังนี้ (ดุษณี, 2539)

- วัตถุดิบประเภทที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ อ้อย ข้าวฟ่างหวาน และกากน้ำตาล

- วัตถุดิบประเภทที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ผลผลิตทางการเกษตรพวกธัญพืช เช่น ข้าวเหนียว ข้าวจ้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสัมปะหลัง มันฝรั่ง เป็นต้น

- วัตถุดิบประเภทที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ต้นไม้ เศษวัสดุทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด รำข้าว วัชพืช ขี้เลื่อย เป็นต้น

เทคโนโลยีที่นำมาใช้ผลิตเอทานอลจะมีความแตกต่างกันไปตามประเภทของวัตถุดิบและให้ผลผลิตเอทานอลที่แตกต่างกันตามตัวอย่างที่แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาตรของเอทานอลที่ผลิตได้จากวัตถุดิบชนิดต่างๆ (ธีรภัทร, 2546)

Raw material (one ton)	Ethanol yield (liters)
Molasses	250
Fresh cassava	155
Sorghum	70
Grain(e.g., rice, corn)	385
Coconut juice	83

สำหรับการผลิตเอทานอลจากผลผลิตทางการเกษตรมีกระบวนการผลิตโดยสังเขปดังนี้

2.3.1 กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

กระบวนการนี้เป็นกระบวนการเริ่มต้นของพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น มันสำปะหลัง, ข้าวโพดและข้าว เพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยการใช้เอนไซม์ที่ได้จากราในตระกูล Phycomycetes และ Ascomycetes หรือถ้าใช้กรดเกลือโดยนำไปใส่ในแป้ง แล้วนำไปต้มให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) จะทำให้ได้น้ำตาลที่มีโมเลกุลเล็กกว่าการใช้เอนไซม์ในการไฮโดรไลซิส แต่ต้องใช้ปริมาณกรดและปรับความเป็นกรดและด่างที่เหมาะสม ตามทฤษฎีการเปลี่ยนแป้งให้เป็นเอทานอล แป้ง 90 กรัม จะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคส 100 กรัม จากนั้นเชื้อยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์ 51.1 กรัม และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 กรัม (Rose and Harrison, 1993) ซึ่งสามารถเขียนปฏิกิริยาได้ดังสมการ 2

$$(-C_6H_{10}O_5-)_n + nH_2O \xrightarrow{\text{Enzyme/acid}} nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{Yeast}} 2nCH_3CH_2OH + 2n\,CO_2 \qquad \text{(สมการ 2)}$$

Starch	Water	Glucose	Ethanol	Carbon dioxide
90	10	100	51.1	48.9

แต่ในทางปฏิบัติมีน้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้นที่จะเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ นอกจากนั้นยีสต์จะใช้สำหรับการเจริญเติบโตของมันเองและเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่นๆ (Paturau, 1969) ได้แก่ อะซีตัลดีไฮด์ร้อยละ 0-0.03 กรดน้ำส้มร้อยละ 0.05-0.25 กลีเซอรีนร้อยละ 2.5- 3.6 กรด-แลคติก ร้อยละ 0-0.2 กรดซัคซินิคร้อยละ 0.5-0.77 น้ำมันฟิวเซลหรือฟิวเซลออยล์ร้อยละ 0.25-0.5 และ ฟิวเฟอรัล จำนวนเล็กน้อย โดยการหมักแอลกอฮอล์นั้น สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

1. การหมักแบบกะ (Batch fermentation) เป็นกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ โดยอาศัยการเติมวัตถุดิบสารอาหารและหัวเชื้อ ลงไปในถังหมักเพียงครั้งเดียวตลอดการหมัก

2. การหมักแบบเฟสแบท (Fed batch fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารลงไปในถังหมักมากกว่า 1 ครั้ง ขึ้นไปเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบและสารอาหารได้ในปริมาณสูงขึ้น

3. การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารเข้าไปในถังหมักตลอดเวลา ขณะเดียวกันก็มีการแยกเอาผลิตภัณฑ์ออกมาตลอดเวลาเช่นกัน ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูงสุดในระยะเวลาเท่ากันเมื่อเทียบกับการหมักทั้งสองชนิดที่กล่าวมา อย่างไรก็ตามการหมักแอลกอฮอล์ในประเทศไทย เช่น การผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทำสุราเป็นต้น ส่วนใหญ่ยังเป็นการหมักแบบครั้งคราว การหมักในสถานะของแข็ง (Solid state fermentation) ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีศักยภาพทางเทคโนโลยี เป็นกระบวนการหมักที่มีสารตั้ง

ต้นมีความชื้นมากเกินพอในการเจริญเติบโตและกระบวนการ Metabolism (Pandey, 2001) สามารถนำมาใช้ในการผลิตด้านจุลินทรีย์ เช่น ด้านอาหาร อุตสาหกรรมเคมี เภสัชกรรม และยังมีอีกมากมาย ส่วนใหญ่จะใช้ในทางชีวเคมี การหมักในสถานะของแข็งจำเป็นต้องมีการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งวัสดุที่นำมาใช้ทั่วไปคือ แก้ว เหล็กไร้สนิม หรือทองแดง ที่นิยมใช้ระดับห้องปฏิบัติการ คือแก้วหรือเหล็กไร้สนิม แต่ขนาดใหญ่ขึ้นมักใช้เหล็กไร้สนิม บางแห่งก็ใช้โลหะหุ้มด้วยแก้ว หรือบางทีก็เป็นเหล็กหุ้มด้วย Phenolic epoxy มักนิยมใช้เหล็กไร้สนิมเพราะมีอายุการใช้งานมากกว่าทนกว่า Glacken และคณะ (1983) เสนอข้อพิจารณาพื้นฐานในการออกแบบถังหมักดังต่อไปนี้

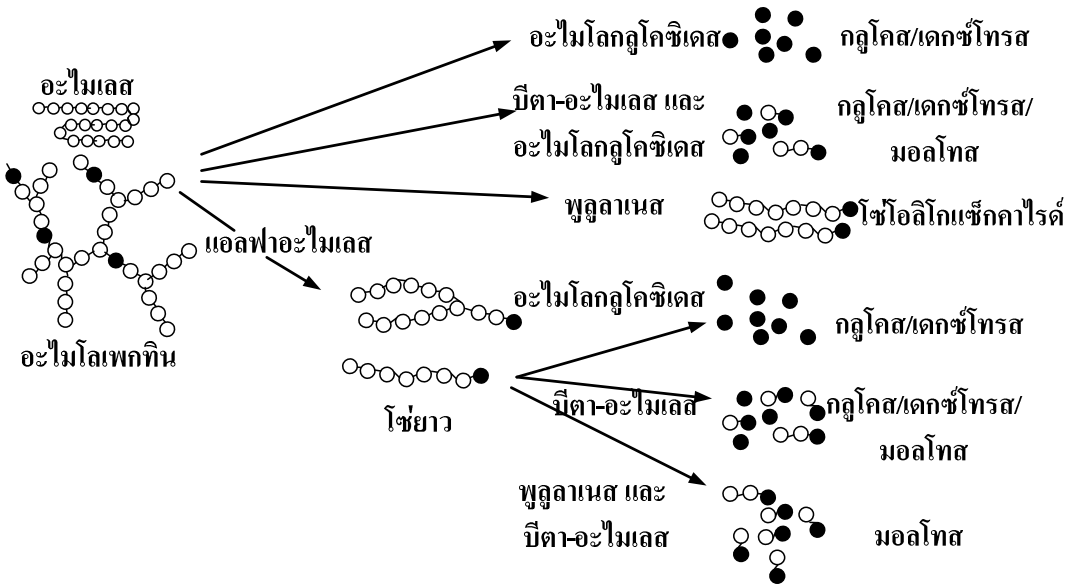
1. คุณลักษณะทางชีวเคมีของเซลล์
2. คุณลักษณะอุทกพลศาสตร์ (Hydrodynamic)
3. คุณลักษณะมวลสารและ ความร้อนของถังหมัก
4. จลนพลศาสตร์ (Kinetics) ของการเจริญของเซลล์ และการสร้างสารผลผลิต
5. ความคงตัวด้านพันธุกรรมของระบบเซลล์
6. การออกแบบเครื่องมือแบบปลอดเชื้อ
7. การควบคุมสิ่งแวดล้อมของถังหมัก (ทั้งสิ่งแวดล้อมใหญ่และเล็ก)
8. การออกแบบถังหมัก เพื่อการแยกสาร
9. ค่าใช้จ่ายในการลงทุน และค่าเดินเครื่องถังหมัก
10. ศักยภาพการขยายขนาดของถังหมัก

กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตรซึ่งมี แป้ง และน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก มีรายละเอียดของขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการผลิตดังนี้

(1) เตรียมวัตถุดิบก่อนเข้ากระบวนการ ต้องทำการปอกเปลือกและล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปบดให้ละเอียด เพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีขึ้นในกระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล เมื่อถึงกระบวนการเปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาลนั้นอาจจะใช้กรดหรือเอนไซม์ เป็นตัวย่อยแป้ง ซึ่งในทางปฏิบัติอาจจะใช้ทั้งกรดและเอนไซม์ หรือเอนไซม์อย่างเดียวโดยตลอดก็ได้ ซึ่งในกระบวนการที่ใช้เอนไซม์อย่างเดียวประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ

(1.1) การต้มสุกและย่อยแป้ง (Cooking) เนื่องจากแป้งมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กมาก มีองค์ประกอบที่ซับซ้อนและมีพันธะยึดติดกันอย่างมั่นคง จึงทำให้แป้งละลายน้ำได้น้อยมาก จนเอนไซม์ไม่สามารถย่อยสลายโมเลกุลของแป้งที่อุณหภูมิห้องได้ แต่ถ้าทำให้แป้งร้อนจนมีอุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ขึ้นไป เส้นใยของแป้งจะบวมและมีความหนืดสูงมากขึ้นเป็นลักษณะของแป้งเปียก กระบวนการที่ทำให้แป้งเกิดลักษณะดังกล่าวเรียกว่า เจลลาติไนเซชัน (Gelatinization) และถ้านำแป้งเปียกนี้ไปทำปฏิกิริยากับ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase) ตามภาพประกอบ

ที่ 2 โดยเอนไซม์นี้จะทำการย่อยสลายโมเลกุลของแป้ง และทำให้ความหนืดลดลง ซึ่งจะได้แป้งที่มีโมเลกุลเล็กลง ขั้นตอนดังกล่าวเรียกว่า ลิควิดแฟคชัน (Liquefaction) ทั้งสองกระบวนการสามารถทำได้พร้อมกัน หรือคนละขั้นตอนกันก็ได้ ซึ่งตารางที่ 4 แสดงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งจากเอนไซม์ชนิดต่างๆ



ภาพประกอบที่ 2 ผลผลิตการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส (ปราณี, 2547)

ตารางที่ 4 เอนไซม์แหล่งของจุลินทรีย์และคุณสมบัติบางประการ (Nagam and Singh, 1995)

Microbial sources	Molecular weight	Optimum temp. (°C)
α-amylase		
B. amyloliguefaciens	49,000	70
B. licheniformis	62,000	90
β-amylase		
B. cereus	35,000	50
B. circulans	53-63,000	60
Pseudomonas sp. BQ 6	37,000	45-55
Glucoamylase		
Aspergillus awamori	83,700-88,000	60
A. niger I	99,000	
A. oryzae I	76,000	60

(1.2) แซคคาริฟิเคชั่น (Saccharification) เป็นกระบวนการที่ทำต่อจากกระบวนการย่อยแป้ง โดยการปรับอุณหภูมิ และพีเอชลง เนื่องจากเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamaylase) ทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิ และพีเอชต่ำกว่า โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะทำหน้าที่ตัดโมเลกุลของแป้งให้เล็กลงจนกลายเป็นน้ำตาลกลูโคส (ทรัพย์, 2525)

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง (พักตร์ประไพ, 2546) แหล่งของเอนไซม์สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดด้วยกัน ดังแสดงในตารางที่ 5 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง แบ่งออกได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

1. Endoamylase ได้แก่ แอลฟาอะไมเลสผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำงานของแอลฟา-อะไมเลส คือ Oligosaccharide และ α-limit-dextrins

2. Exoamylase ได้แก่ กลูโคสอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และ แอลฟากลูโคซิเดส

3. Debranching enzyme ได้แก่ ไอโซอะไมเลส และ พูลูแลนเนส

4. Transferase ได้แก่ Amylomaltase และ Cyclodextrin glucosyltransferase

2.3.2 กระบวนการหมักเอทานอล

ถ้าพืชที่ใช้มีน้ำตาลอยู่แล้วเช่น อ้อย ก็สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักได้เลย ส่วนพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ หลังจากผ่านกระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลแล้วก็นำมาหมัก ได้เช่นกัน ซึ่งทั้งสองกรณีจะใช้ยีสต์ในการหมัก ยีสต์ที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปคือ *Saccharomyces cerevisiae* กระบวนการหมักสามารถเป็นได้ทั้งกระบวนการแบบกะ (Batch) และกระบวนการแบบต่อเนื่อง (Continuous) ซึ่งมีการใช้ยีสต์ใหม่ และมีการรีไซเคิลยีสต์ สารที่ผ่านกระบวนการหมักนี้จะมีความเข้มข้นของ เอทานอล 8-12 ร้อยละโดยปริมาตร ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงได้ดังสมการ 3

$$\underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{Ethanol}}{2C_2H_5OH} + 2CO_2 \qquad \text{(สมการ 3)}$$

ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลในสารละลายที่ใช้ในกระบวนการหมักต่างกันจะทำให้ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้มีค่าไม่เท่ากันคือ เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลในสารละลายมีค่าสูงขึ้น ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้ตามทฤษฎีจะมีค่าลดลง เนื่องจากการที่กลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นสูง ทำให้ความสามารถในการหายใจของเชื้อยีสต์เสียไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณเอทานอลน้อยลง และหากเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักมีความเข้มข้นสูงค่าใช้จ่ายในการกลั่นแยกเอทานอลก็จะลดลง

2.3.3 กระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอล

กระบวนการกลั่นที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันจะมีอยู่หลายขนาดด้วยกันตั้งแต่กระบวนการกลั่นขนาดเล็กในห้องทดลองหรือในโรงงานจำลองซึ่งมีการป้อนสารในปริมาณน้อยจนกระทั่งถึงการกลั่นขนาดใหญ่ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียมที่มีกำลังการผลิตสูง กระบวนการกลั่นแยกที่ดีจะต้องดำเนินกระบวนการแบบต่อเนื่องซึ่งจะทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการรวมทั้งมีการใช้พลังงานได้อย่างคุ้มค่าและให้กำลังการผลิตที่สูง ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพและคุณภาพการกลั่นได้แก่ สมบัติทางกายภาพของสารที่จะนำมากลั่น เช่นความดันไอ สมดุลไอของเหลว ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความดันไอ และสภาพการระเหย รวมถึงลักษณะเครื่องกลั่น เช่น คอลัมน์ วัสดุบรรจุ รีฟลักซ์ เป็นต้น

ขบวนการกลั่นแยกน้ำออกจากเอทานอล ซึ่งเมื่อถึงความเข้มข้นของสารละลายที่ร้อยละ 95 โดยน้ำหนักจะเกิดรูป Azeotrope ของสารละลายซึ่งการกลั่นแยกน้ำออกธรรมดาไม่สามารถแยกเอทานอลบริสุทธิ์ได้ การแยกออกจากเอทานอลจนได้ที่ร้อยละ 99.5 นั้นปัจจุบันมีกระบวนการแยก 3 วิธีคือ

1. การแยกน้ำโดยการกลั่นด้วยการเติมสารตัวที่ 3 วิธีนี้ใช้พลังงานมากและมีต้นทุนสูงโดยใช้สารเติมเพื่อแยกเอทานอลจากน้ำ คือ เบนซิน (Benzene) ต่อมาพบว่าเป็นสารที่อันตรายมากจึงเปลี่ยนไปใช้ สารจำพวกไซโคลเฮกเซน (Cyclo-hexane) แล้วจึงกลั่นแยกออกมาจากสารที่เติมเข้าไป

2. กระบวนการแยกด้วยวิธีโมเลคูลาซีฟ (Molecular sieve separation) โดยการให้เอทานอลมีน้ำ (Hydrous ethanol) ผ่านวัสดุที่มีรูพรุนสูง เช่น Zeolite เพื่อให้รูพรุนนั้นดักเอาน้ำออก

3. การแยกน้ำโดยการใช้ Membrane ขบวนการ Pervaporation วิธีนี้มีความสะดวกใช้พลังงานน้อย และได้สารที่บริสุทธิ์เช่นเดียวกับวิธีอื่น และมีส่วนช่วยทางด้านการประหยัดพลังงานและสิ่งแวดล้อม การแยกน้ำโดยกระบวนการ Pervaporation จะไม่ขึ้นอยู่กับสมดุลของเทอร์โม-ไดนามิกส์ แต่จะอาศัยองค์ประกอบที่ต่างชนิดกันในสารละลายที่มีความสามารถในการละลายหรือแพร่ ผ่าน Membrane ไม่เท่ากัน หรือกล่าวว่ามีผลต่างของศักยภาพเคมีเป็นแรงขับ (Driving force) ทำให้ในการใช้งาน Pervaporation จะใช้ได้ดีในกรณีที่แยกสารโดยวิธีการกลั่นนั้นทำได้ยากและมีราคาสูง แต่กระบวนการ Pervaporation จะไม่มีปัญหาในกรณีนี้ และลดความจำเป็นที่ต้องเติมสารอื่นหรือต้องกำจัดสารอื่น และยังลดการใช้พลังงานในกระบวนการมากกว่าการกลั่น

โดยทั้ง 3 กระบวนการดังกล่าวมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป การพิจารณาเลือกใช้จึงขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ของเอทานอลที่ได้รับว่าจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมประเภทใด ความสะดวกในการปฏิบัติงาน และต้นทุนค่าใช้จ่ายในการดำเนินการด้วย

มีงานวิจัยที่ออกแบบเครื่องกลั่นสุราแบบหม้อต้มดังภาพประกอบที่ 3 โดยติดตั้งเทอร์โมมิเตอร์ชนิดสแตนเลสไว้ที่หม้อต้ม และเทอร์โมมิเตอร์ชนิดแก้วไว้ที่ชุดควบแน่น เพื่อใช้ควบคุมการระเหยของน้ำสุราหลักการระเหยของสารเคมีที่อุณหภูมิต่างกัน การกลั่นจะควบคุมไม่ให้อุณหภูมิน้ำหมักในหม้อต้มเกิน 95 องศาเซลเซียส และจะเก็บน้ำสุราที่อุณหภูมิไอระเหยระหว่าง 78 - 85 องศาเซลเซียส ชุดควบแน่นจะมีน้ำหล่อเย็นไหลผ่านตลอดโดยใช้ระบบน้ำหมุนวนระบายความร้อนด้วยอากาศ

ภาพประกอบที่ 3 เครื่องกลั่นสุราแบบหม้อต้ม (สมบัติ, 2548)

โดยปกติแล้วการกลั่นที่สมบูรณ์จะประกอบด้วยเครื่องให้ความร้อนแก่สารป้อน ถังเก็บสารป้อน คอลัมน์กลั่น เครื่องควบแน่น ผลผลิตยอดหอ เครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนของผลผลิตทั้งสองเพื่อลดอุณหภูมิให้สามารถเก็บในถังเก็บได้ คอลัมน์เป็นเครื่องมือหลักของระบบการกลั่นจึงต้องระบุรายละเอียดของคอลัมน์ซึ่งต้องพิจารณาการเลือกชนิดของอุปกรณ์เพิ่มการสัมผัส ซึ่งอาจเป็นชนิดเพลทหรือวัสดุบรรจุ (Packing) และการเลือกความสามารถของคอลัมน์ให้รองรับการไหลของไอ-ของเหลวที่ต้องการ ในขณะเดียวกันต้องมีการถ่ายโอนมวลสารออกแบบคอลัมน์ที่ให้ประโยชน์สูงสุด และสิ่งที่กำหนดความสามารถในการแยกของคอลัมน์จะเพิ่มขึ้นจากการเพิ่มค่าอัตราส่วนรีฟลักซ์และอัตราส่วนการต้มซ้ำ (Reboiler) ซึ่งจะส่งผลต่อการสิ้นเปลืองพลังงานที่มากขึ้น ดังนั้นการกลั่นแยกจะเกิดขึ้นจากข้อจำกัดดังนี้

1. ความสามารถของเครื่องควบแน่น จะต้องออกแบบให้เครื่องควบแน่นสามารถรองรับการควบแน่นของคอลัมน์ในรูปของรีฟลักซ์ยังคงอยู่ในสถานะไอซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกลั่นแยกลดต่ำลงได้

2. ความสามารถของเตาเผามีความสามารถในการให้ความร้อนไม่เพียงพอกับกำลังการผลิตของการกลั่น จะทำให้ผลผลิตส่วนล่างที่ส่งกลับเข้าคอลัมน์ยังคงอยู่ในสถานะของเหลว ส่งผลให้ไม่เกิดการระเหยของสารและไม่เกิดการกลั่นแยกขึ้น

รีฟลักซ์เป็นของเหลวที่ได้จากการควบแน่นของไอที่ออกมาจากส่วนบนของคอลัมน์ โดยใช้เครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนภายนอก การควบแน่นนี้อาจจะเป็นการควบแน่นแบบบางส่วนหรือแบบทั้งหมด ดังนั้นรีฟลักซ์จึงอาจจะเป็นของเหลวที่จุดฟองอันเกิดจากการควบแน่นบางส่วนโดยของเหลวส่วนนี้จะสมดุลกับไอที่ไม่ถูกควบแน่น หรือรีฟลักซ์อาจจะเป็นของเหลวที่ผ่านการควบแน่นของไอและดึงความร้อนออกต่อไปจนมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดฟอง ข้อจำกัดในการออกแบบคอลัมน์คือ การดำเนินการที่รีฟลักซ์ต่ำสุด (Minimum reflux) และรีฟลักซ์ทั้งหมด (Total reflux) ในการออกแบบคอลัมน์จึงต้องกำหนดรีฟลักซ์ก่อนทำการคำนวณเพื่อให้ผลผลิตของคอลัมน์อยู่ภายในช่วงของข้อจำกัดทั้งสองนี้ การพิจารณาเลือกช่วงรีฟลักซ์ที่เหมาะสมจะมีประโยชน์ในทางเศรษฐศาสตร์ของกระบวนการเป็นอย่างมาก คอลัมน์วัสดุบรรจุ (Packed column) คอลัมน์อีกชนิดหนึ่งที่ให้พื้นที่ผิวสัมผัสมากภายในคอลัมน์วัสดุบรรจุจะเต็มไปด้วยอุปกรณ์เพื่อเพิ่มการสัมผัสของมวลสารที่เรียกว่าวัสดุบรรจุ ซึ่งอุปกรณ์นี้จะมีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกันออกไปตามลักษณะของการออกแบบให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสให้มากที่สุดเพื่อเพิ่มการถ่ายโอนของมวลและพลังงานรวมทั้งยังทำให้มีกระแสของไอไหลขึ้นอย่างสม่ำเสมอและมีกระแสรีฟลักซ์ที่ไหลลงอย่างสม่ำเสมอ ทำให้เกิดเป็นระบบกระแสไหลสวนทางกัน วัสดุที่ใช้ทำวัสดุบรรจุจะต้องสามารถทนต่อการกัดกร่อนอันเนื่องจากการไหลผ่านของสารได้อย่างดี วัสดุบรรจุที่มีใช้อยู่โดยทั่วไปในทางการค้าได้แก่ วงแหวนริชชิง วงแหวนพอลล์ อานม้าอินทาลอกซ์ อานม้าเบอล์ อุปกรณ์เหล่านี้จะบังคับให้ของเหลวไหลลงอย่างช้าๆ ผ่านคอลัมน์ และไอจะไหลผ่านสิ่งกีดขวางไปรอบๆ ซึ่งจะเกิดการสัมผัสระหว่างไอและของเหลวได้ดีกว่าคอลัมน์ชนิดอื่น (สุธารักษ์, 2547)

2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล

1. ผลของอุณหภูมิ มีความสำคัญมากต่อกระบวนการหมักเอทานอล เนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักเอทานอลจะมีความร้อนเกิดขึ้นในระบบ ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของเชื้อยีสต์ โดยการหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสจะเกิดความร้อน 140.2 แคลอรี่ต่อกรัมกลูโคส ดังนั้นจึงถ่ายเทลงสู่น้ำหมักทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้นซึ่งจะมีอุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส เป็นผลให้เชื้อยีสต์หยุดการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้ เช่น *K. marxianus* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส และผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Hughes, 1984)

2. ผลของพีเอช โดยปกติเชื้อยีสต์จะเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่เป็นกรดคือ ในระดับพีเอชอยู่ในช่วง 3.0-6.5 ถ้าต่ำกว่า 3.0 การเจริญของเชื้อจะลดลง (Rose and Harrison, 1987)

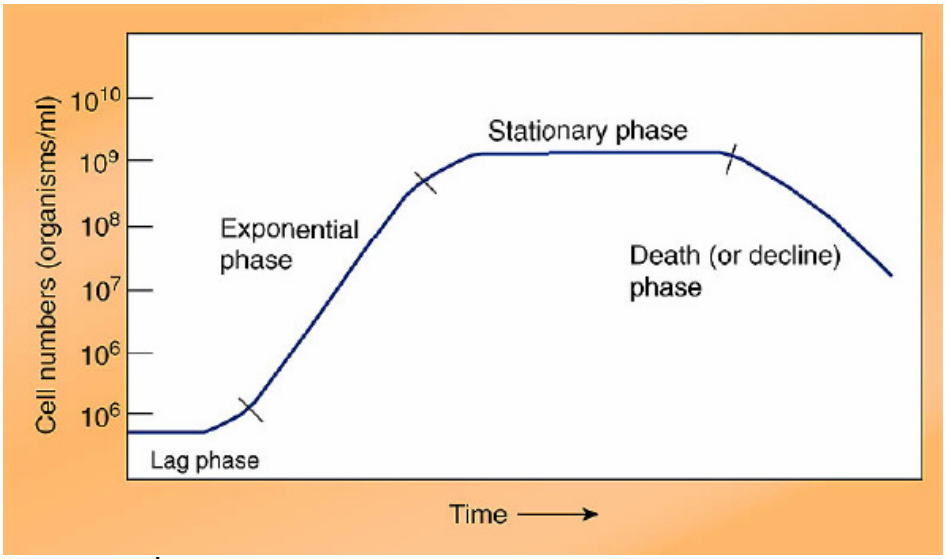
3. ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ กล่าวคือ การที่กลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นสูง ทำให้ความสามารถในการหายใจเสียไป หรือที่เรียกว่า Crabtree effect หรือ Glucose effect ซึ่งเป็นการกดดันแคตาบอไลต์ ที่เกิดขึ้นเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีคาร์โบไฮเดรตความเข้มข้นระดับหนึ่ง คือมีกลูโคสหรือซูโครสความเข้มข้นสูงกว่า 0.02-0.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ทำให้การหายใจถูกยับยั้งอย่างรุนแรง (สาวิตรี, 2549)

4. ผลของชนิดของแหล่งไนโตรเจน

5. ความเข้มข้นของแป้ง

6. สารอื่นๆ Dombek and Ingram (1986) พบว่าการเติมแมกนีเซียม 0.5 mM ช่วยให้เจริญในระยะ Exponential นานขึ้นส่งผลให้ผลผลิตเอทานอลสูงขึ้นด้วย และยังมีธาตุอื่นๆ เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี และทองแดง ช่วยให้การเจริญของยีสต์ดีขึ้นด้วย (วิลาวัณย์, 2539)

จลนพลศาสตร์การเติบโตของจุลินทรีย์ (Microbial growth kinetics) การเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมตามภาพประกอบที่ 4 แบ่งออกได้เป็น 6 ระยะด้วยกัน คือ หลังจากการถ่ายเชื้อ (Inoculation) แล้ว จุลินทรีย์จะยังคงไม่มีการเติบโต เป็นระยะที่จุลินทรีย์ปรับตัวให้เข้าสภาพแวดล้อมใหม่ จึงเรียกระยะนี้ว่า ระยะปรับตัว (Lag phase) จากนั้นจึงจะมีการเติบโตเริ่มเพิ่มจำนวนเซลล์ในระยะต้นที่เรียกว่า ระยะเร่งตัว (Acceleration phase) อัตราการเติบโต (Growth rate) จะเพิ่มขึ้นสูงสุดและคงที่เข้าระยะที่เรียกว่า ระยะเติบโตทวีคูณ (Log หรือ Exponential phase) จากการที่จุลินทรีย์เติบโตอย่างรวดเร็วนี้เองทำให้สารอาหารเริ่มไม่เพียงพอและเกิดสภาวะการสะสมของผลิตผลที่เกิดขึ้นจากการสร้างและสลายของเซลล์ เช่น เอทานอล กรดแอซีติก เป็นต้น ดังนั้นอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์จึงลดลง เรียกระยะนี้ว่า ระยะถดถอย (Deceleration phase) จนกระทั่งอัตราการเติบโตเท่ากับเท่ากับอัตราการตาย (Death rate) ทำให้ปริมาณเซลล์อยู่ในสภาพคงที่ ระยะนี้จึงถูกเรียกว่า ระยะคงที่ (Stationary phase) เมื่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนี้ยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้จุลินทรีย์สลายเซลล์ตัวเอง ปริมาณเซลล์ลดลงเรื่อยๆ จึงเป็นระยะที่เรียกว่า ระยะตาย (Death หรือ Declining phase)



ภาพประกอบที่ 4 การแบ่งระยะการเติบโตของจุลินทรีย์ (สาโรจน์ และประวิทย์, 2538)

2.4 ลูกแป้ง

ลูกแป้งเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บไว้ในรูปเชื้อแห้ง คนในสมัยโบราณคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ในรูปแบบของลูกแป้ง นำมาผลิตอาหารหมักหลายชนิด ในประเทศแถบเอเชียเข้าใจว่าลูกแป้งมีกำเนิดมาจากประเทศจีนแล้วเผยแพร่ไปยังประเทศต่างๆ รวมทั้งประเทศไทย ลูกแป้งมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไป (กอ, 2545) เช่น ประเทศอินเดีย ประเทศเนปาล และประเทศภูฐาน เรียก “Marcha” ประเทศอินโดนีเซียเรียก “Ragi” ประเทศฟิลิปปินส์ เรียก “Bubod” ประเทศเกาหลีเรียก “Nuruk” ประเทศไต้หวัน เรียกว่า “Chinese yeast” (Tsuyoshi, 2005) ประเทศเวียดนามเรียก “Banhmen” ประเทศญี่ปุ่นเรียก “Koji” และประเทศมาเลเซียเรียก “Ragi tapai” (Limtong, 2005)

ลูกแป้งมีหลายชนิด เช่น ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งน้ำส้มสายชู และลูกแป้งขนมถ้วยฟู ซึ่งในปัจจุบันลูกแป้งน้ำส้มสายชูและลูกแป้งขนมถ้วยฟูหาแทบไม่ได้แล้ว สำหรับลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากยังพอหาได้ในท้องถิ่นต่างๆ แต่เป็นที่น่าเสียดายว่ามีผู้ชำนาญด้านการผลิตลูกแป้งข้าวหมากลดน้อยลง ไปเนื่องจากในช่วงที่ผ่านมารัฐบาลมีกฎหมายห้ามผลิตครอบครองและจำหน่ายโดยไม่ได้รับอนุญาต อีกทั้งกรรมวิธีการทำลูกแป้งต้องอาศัยความชำนาญมาก ประกอบกับผู้ที่มีความรู้ทางด้านนี้ในสมัยก่อนมักปิดบังวิชาไม่ค่อยถ่ายทอดมากนัก โดยมากจะถ่ายทอดให้เฉพาะทายาทหรือผู้ใกล้ชิดเท่านั้น ทำให้เชื้อรา ยีสต์ และสูตรลูกแป้งดีๆ สูญหายไปอย่างน่าเสียดาย

ลักษณะลูกแป้งจะแตกต่างกันไปแต่ละพื้นที่ ไม่ว่าจะเป็นขนาดของลูกแป้ง สีของลูกแป้ง น้ำหนักของลูกแป้ง กลิ่นรสของลูกแป้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการผลิต และองค์ประกอบที่ใช้ในการทำลูกแป้งของแต่ละพื้นที่

2.4.1 กรรมวิธีในการทำลูกแป้ง (กอ, 2545)

1. นำข้าวเหนียวหรือข้าวจ้าวมาซาวน้ำให้สะอาด แช่น้ำให้อ่อนนุ่ม 2-3 ชั่วโมง นำขึ้นมาทำให้สะเด็ดโดยใส่ตะแกรงวางไว้ให้น้ำหยดผ่านไปได้ จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด โดยใช้การโม่ด้วยเครื่องหรือตำด้วยครก เสร็จแล้วให้นำเนื้อแป้งขึ้นมาห่อด้วยผ้าวางทับด้วยของหนักๆ จะเป็นหินหรือเขียงไม้ก็ได้จนน้ำแห้ง แล้วนำมาร่อนด้วยกระชอน ถ้ายังมีแป้งที่ติดค้างอยู่บนกระชอนให้นำกลับไปบดใหม่ จนกว่าจะร่อนผ่านกระชอนได้หมด

2. บดสมุนไพรให้ละเอียดจนสามารถร่อนผ่านกระชอนได้ ถ้าไม่ผ่านให้นำกลับไปบดใหม่แล้วชั่งให้ได้น้ำหนักตามที่ต้องการ

3. บดลูกแป้งเก่าให้ละเอียด

4. นำส่วนผสมทั้งสามอย่างมารวมกัน คือ แป้งข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้า สมุนไพร และลูกแป้งเก่า คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็นอย่างดี

5. นวดแป้ง เพื่อที่จะปั้นเป็นลูกแป้ง

6. ปั้นเป็นลูกแป้งกลมๆ บ่มไว้ 2-3 วัน เมื่อลูกแป้งมีราสีขาวเกิดขึ้น จึงจะนำไปตากแดดให้แห้ง

2.4.2 องค์ประกอบต่างๆที่สำคัญในการทำลูกแป้ง (กอ, 2545) ได้แก่

1. แป้ง ใช้ได้ทั้งแป้งข้าวเจ้า หรือแป้งข้าวเหนียว หรือแป้งข้าวเจ้าผสมแป้งข้าวเหนียวควรใช้แป้งสดที่เตรียมใหม่ๆ และบดแป้งใช้เป็นครั้งๆ ไป ไม่นิยมใช้แป้งสำเร็จ เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และหลีกเลี่ยงกรดโพรพิโอนิกที่เป็นสารยับยั้งเชื้อรา ซึ่งมักใส่ลงในแป้งสำเร็จ (นภา, 2537)

2. เครื่องเทศหรือสมุนไพร จะทำหน้าที่คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่ต้องการและควบคุมยับยั้งจุลินทรีย์ตัวอื่นๆ ที่เราไม่ต้องการ ทั้งชนิดและปริมาณการใช้เครื่องเทศขึ้นอยู่กับแต่ละสูตร

3. น้ำมีความสำคัญมากในการควบคุมความชื้นของลูกแป้ง ผู้ทำต้องกะให้เหมาะ ไม่แฉะจนเกินไปซึ่งจะทำให้ลูกแป้งเหม็นเปรี้ยวและเสียได้ หรือแห้งจนเกินไปจนได้ลูกแป้งแตกหรือราเจริญในลูกแป้งได้ไม่ดี นอกจากนี้ความชื้นที่พอเหมาะ สำหรับลูกแป้งอยู่ประมาณ 45%

4. เชื้อจุลินทรีย์ จะได้จากลูกแป้งเดิม ต้องเป็นลูกแป้งที่ไม่เก็บไว้นานจนเกินไป หรือถูกมอดกิน และไม่มีเชื้อราอื่นปนเปื้อนอยู่ภายนอกจนเห็นได้ชัด

5. อื่นๆ เช่น บางแห่งอาจใส่รำหยาบหรือแกลบ ใส่เพื่อให้ลูกแป้งโปร่งมีอากาศเข้าได้มาก ทำให้จุลินทรีย์สำคัญสามารถเจริญได้ดี (สมพร, 2544)

2.4.3 ลักษณะที่ดีของลูกแป้ง จากการสังเกตด้วยตา (ยุพกนิษฐ์, 2545)

1. มีน้ำหนักเบา ฟู มีโพรงอากาศข้างใน แสดงถึงกิจกรรมสร้างก๊าซ CO_2 ที่ดีของยีสต์

2. มีกลิ่นหอม แสดงถึงประสิทธิภาพของเครื่องเทศยังแรงอยู่

3. บิ้ดูเห็นใยของรากระจายตัวดีเกาะกับผงแป้งป่นแสดงถึงปริมาณราเริ่มต้นที่เหมาะสม

4. ชิมดูมีรสหวาน แสดงถึงประสิทธิภาพในการสร้างน้ำตาลของรา

5. ไม่เหม็นเปรี้ยว แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียน้ำส้ม

6. มีสีขาวนวลเป็นสีเดียวกันทั้งลูก ไม่มีสีดำ หรือเขียวปะปนแสดงว่าไม่เกิดการปนเปื้อนของราชนิดอื่น

2.4.4 เชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง

จุลินทรีย์ที่พบมากในลูกแป้งจะมีทั้งราและยีสต์ ซึ่งราที่พบมากที่สุดอยู่ในตระกูล *Amylomyces sp.* จะพบในลูกแป้งข้าวหมากมากกว่าลูกแป้งเหล้า รองลงมาคือตระกูล *Aspergillus* sp. ส่วน *Rhizopus sp.* จะพบในลูกแป้งเหล้ามากกว่าลูกแป้งข้าวหมาก (กอ, 2545) อีกทั้งยังพบตระกูล *Mucor* (วิลาวัณย์, 2536) และพบว่ายีสต์ในตระกูล *Saccharomycopsis sp.* และ *Pichia sp.* พบมากในลูกแป้งข้าวหมาก ส่วน *Saccharomyces sp.* พบมากในลูกแป้งเหล้า โดยเชื้อราจะทำหน้าที่หลักในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์ทำหน้าที่หลักในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ลูกแป้งแต่ละชนิดจะมีสมุนไพร และเครื่องเทศที่เป็นตัวควบคุมเชื้อยีสต์หรือเชื้อราให้ได้ตามที่ต้องการ

2.5 เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการผลิตเอทานอล ได้แก่ แบคทีเรียและเชื้อยีสต์ โดยเชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้ได้แก่ *Zymomonas mobilis, Clostridium sporogenes, Spirochaeta aurantia* และ *Leuconostoc mesenteroides* สำหรับเชื้อยีสต์ที่นิยมใช้ได้แก่ *Saccharomyces cerecisiae, S. fragillis, Nematospora sp.* และ *Kluyveromyces fragillis* อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้ออาจไม่จำเป็นต้องมี หากมีการนำเอาเชื้อจุลินทรีย์แห้งในปริมาณที่ต้องการผสมกับวัตถุดิบในถังหมักได้เลย

2.6 สารสกัดพรีไบโอติกส์

เป็นสารประกอบพวกโอลิโกแซกคาไรด์ ซึ่งเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยและไม่ดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน และสามารถผ่านไปสู่บริเวณลำไส้ใหญ่ได้ในสภาพที่สมบูรณ์ มีประโยชน์ในการช่วยป้องกันและลดอาการท้องเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันโรคลำไส้อักเสบ ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และช่วยให้ระบบเมตาบอลิซึมของไขมันดีขึ้น จึงมีงานวิจัยต่างๆที่จะสกัดสารพรีไบโอติกส์ออกมาจากผลไม้ ผัก และรากพืชต่างๆ

2.7 การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์

การคำนวณราคาต้นทุนของการผลิตเอทานอล โดยหาค่าใช้จ่ายรวมประจำปี แต่ละระบบที่ใช้การผลิตเอทานอล ค่าใช้จ่ายประจำปีประกอบไปด้วย เงินลงทุน ค่าบำรุงรักษา รวมไปถึงค่าการบำรุงรักษาสิ้นเปลืองการจัดการของเสียจากกระบวนการผลิต และค่าไฟฟ้า พารามิเตอร์เหล่านี้มีส่วนในค่าใช้จ่ายประจำปี ซึ่งแสดงในตารางที่ 5 จากตารางไม่รวมเงินเฟ้อ และราคาของบางอย่างอาจไม่ตรง มีราคาแพงกว่า เพราะเนื่องจากจากการขึ้นลงของราคาน้ำมันหรือมาตรการด้านสิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 5 พารามิเตอร์ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการประมาณค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส (Hamelinck et al., 2005)

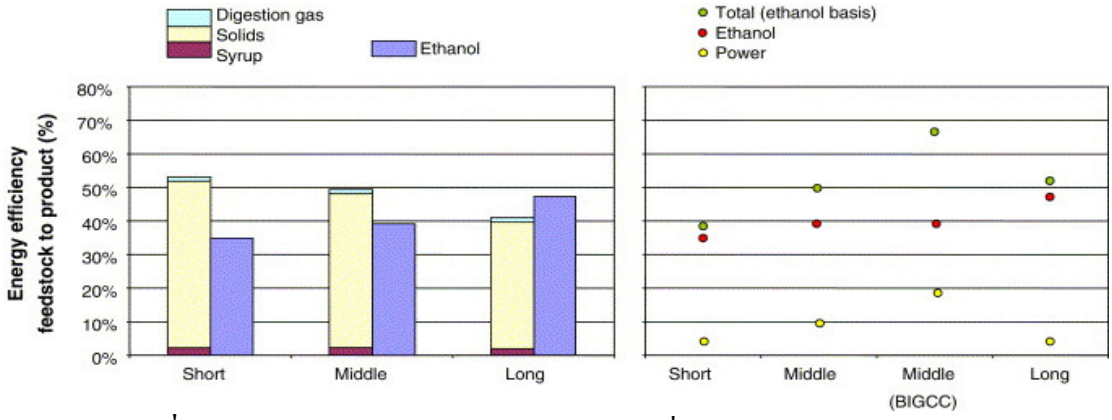
Interest rate		10%
Economical lifetime		15 years
Technical lifetime		25 years
Investment path		20% in first year, 30% in second and 50% in last year
Operational costs		
Fixed Variable		
	Maintenance	3% of TCI
	Labour	0.5% of TCI at 400 MW_{HHV} input decreasing with scale (R=0.25)
	Gas cleaning	0.5% of BIG/CC capital investment
	Insurance	0.1% of TCI
Consumables		
	Dilute acid	0.82 €/$tonne_{dry}$ biomass
	Lime	0.87 €/$tonne_{dry}$ biomass
	Cellulase	0.13⟶0.044⟶0.013 €/l ethanol (purchase)
	Ammonia	0.24 €/kg, consumption is 0.062 kg/l ethanol (cellulase production integrated)
	CSL	0.20 €/kg, consumption is 0.086 kg/l ethanol (cellulase production integrated)
	Dolomite	50 €/tonne, dolomite use is 0.3 kg/kg clean dry wood
Biomass		3 $€_{2002}/GJ_{HHV}$ (short term), 2.5 $€_{2002}/GJ_{HHV}$ (medium), 2 $€_{2002}/GJ_{HHV}$ (long)
Electricity (reimbursement)		0.03 €/kWh
Annual load		8000 h (91% of time)

หมายเหตุ $1€_{2003}$ = 1 $US\$_{2003}$, TCI: The total capital investment

€ คือ เงินสกุลของสหภาพยุโรป

US$ คือ เงินสกุลของประเทศสหรัฐอเมริกา

แบบจำลองทางเศรษฐศาสตร์ และความว่องไวต่อพารามิเตอร์ที่ใช้ในวัตถุดิบ ในภาพประกอบที่ 5 แสดงผลการผลิตเอทานอลที่เพิ่มขึ้นจากระยะสั้นไปจนถึงระยะยาว ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการลดลง และพลังงานที่ใช้ในกระบวนการผลิตประสิทธิภาพของกราฟนี้ความเที่ยงตรงอยู่ประมาณร้อยละ 88-89 เพราะขึ้นอยู่กับปริมาณเฮมิเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซีส



ภาพประกอบที่ 5 ประสิทธิภาพของพลังงานจากวัตถุดิบเพื่อผลิตเอทานอล (ซ้าย) และปริมาณไฟฟ้าที่ใช้เพื่อผลิตเอทานอล (ขวา) ซึ่งใช้ระยะเวลาในการผลิตเอทานอล (ระยะสั้น ระยะกลาง และระยะยาว) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแปลงรวมบนพื้นฐานการใช้ไฟฟ้าเพื่อผลิต โดยส่วนแรก η=45% และส่วนที่เหลือเปลี่ยนเป็นเอทานอล (Hamelinck et al., 2005)

2.8 วัตถุดิบที่มีศักยภาพผลิตเป็นเอทานอลในประเทศไทย (กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน, 2010)

วัตถุดิบในการผลิตเอทานอลในสถานะที่เป็นอยู่ในปัจจุบันประเทศไทยมีวัตถุดิบหลักที่สามารถใช้เพื่อการผลิตเอทานอลอย่างพอเพียง คือ พืชในกลุ่มแป้งและน้ำตาล เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง อ้อย ถ้าไม่นับข้าวที่สามารถใช้บริโภคได้โดยตรงและข้าวโพดที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ซึ่งจะมีคุณค่าทางเศรษฐกิจมากกว่าการนำมาผลิตเป็นเอทานอล ประเทศไทยส่งออกวัตถุดิบจากการเกษตรที่มีศักยภาพที่จะป้อนให้อุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาทต่อปี จากข้อมูลกรมศุลกากรในปี 2547 มีการส่งออกผลผลิตการเกษตรหลัก คือ มันสำปะหลัง อ้อย กากน้ำตาล ไปต่างประเทศ ซึ่งหากนำมาผลิตเอทานอลบริสุทธิ์จะได้ปริมาณรวมกันมากกว่า 5,000 ล้านลิตร และมีมูลค่ารวมกันประมาณ 70,000 ล้านบาท เมื่ออ้างอิงด้วยราคาเอทานอลในประเทศที่ ระดับราคา 12.75 บาทต่อลิตร (ราคาปี 2546 ซึ่งราคาปี 2548 อยู่ที่ 15-18 บาทต่อลิตร) ขณะที่พืชที่เป็นวัตถุดิบที่ส่งออกเหล่านี้มีมูลค่าเพียง 65,000 ล้านบาท ตามสภาพที่เป็น

สินค้าเกษตรแปรรูปขั้นต้น ปริมาณวัตถุดิบที่สามารถนำมาผลิตเอทานอลจะลดลงเหลือเพียงประมาณครึ่งเดียวหรือเป็นเอทานอล 2,500 ล้านลิตรต่อปี เทียบได้ปริมาณ 7 ล้านลิตรต่อวัน หากไม่นับรวมน้ำอ้อยส่วนที่จำเป็นต้องใช้ในการผลิตน้ำตาลทรายในกรณีที่ราคาน้ำตาลในตลาดโลกสูงกว่า 9 บาทต่อกิโลกรัม ราคาวัตถุดิบต่างๆ และราคาเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆที่ผลิตได้ในปี ค.ศ. 2002-2005 แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ราคาวัตถุดิบต่างๆและราคาเอทานอลซึ่งเป็นราคาในปี ค.ศ. 2002-2005 (Suthanmma and Chumnong, 2007)

วัตถุดิบ	ค่ามากที่สุด		ค่าน้อยที่สุด		ค่าเฉลี่ย	
	บาท/ตันวัตถุดิบ	บาท/ลิตรเอทานอล	บาท/ตันวัตถุดิบ	บาท/ลิตรเอทานอล	บาท/ตันวัตถุดิบ	บาท/ลิตรเอทานอล
มันสำปะหลัง	1,370	8.56	920	5.75	1,096	6.85
ข้าวโพด	4,800	12.8	4,472	11.92	4,668	12.45
ข้าว	5,698	15.19	4,106	10.95	4,728	12.61
อ้อย	577	8.24	440	6.29	494	7.06
กากน้ำตาล	4,800	20	3,000	12.5	3,800	15.83

2.9 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)

วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองเป็นการรวบรวมข้อมูลทางสถิติและเทคนิคทางคณิตศาสตร์เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนา เพิ่มประสิทธิภาพและหาสภาวะที่เหมาะสม ประกอบด้วยกลุ่มของตัวแปรตามหลักคณิตศาสตร์และสถิติ ใช้หลักการเหล่านี้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนองและตัวแปรอิสระ โดยประกอบขึ้นจากผลตัวแปรอิสระ ซึ่งอาจมีตัวแปรเดียวหรือหลายตัวแปร ในการวิเคราะห์ผลของตัวแปรอิสระจากผลการทดลองมาสร้างเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ในรูปผลตอบสนองของพื้นผิวตอบสนอง การออกแบบการทดลองด้วยเทคนิค RSM มีขั้นตอน ดังนี้

การกำหนดตัวแปรที่จะศึกษาประกอบด้วยตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม ซึ่งกระบวนการทางเคมีและชีวเคมีที่มีผลกระทบจากตัวแปรต่างๆ มากมาย เนื่องจากเป็นไปไม่ได้ที่จะระบุผลกระทบต่างๆ ที่เกิดขึ้นได้จากทุกตัวแปรที่เกี่ยวข้อง ความจำเป็นที่เลือกตัวแปรบางตัวที่มีผลกระทบโดยตรง ในการทดลองมีความสำคัญที่ระบุตัวแปรอิสระ จะสามารถกำหนดทิศทางในการพัฒนาระดับความสำคัญของตัวแปรได้ เพราะจะเกี่ยวข้องต่อความสำเร็จในการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยตรงผลการทดลองของตัวแปรอิสระแสดงในการพล็อตพื้นผิว (Surface plot) และมี

การพล็อตแบบโครงร่าง (Contour plot) โดยการพล็อตแบบโครงร่างจะแสดงรูปร่างและตำแหน่งของการพล็อตพื้นผิวได้แม่นยำขึ้นการ Regression analysis แบบจำลองของสมการกำลังสอง (Quadratic equation) ดังสมการ 4 โดยค่า Y เป็นตัวแปรตาม b_0, b_i, b_{ii} และ b_{ij} เป็นค่าสัมประสิทธิ์แบบจุดตัด (Intercept) สัมประสิทธิ์เชิงเส้น (Linear) สัมประสิทธิ์กำลังสอง (Quadratic) และสัมประสิทธิ์เชิงซ้อน (Interaction) ตามลำดับ ขณะที่ X_i และ X_j เป็นตัวแปรอิสระ ($i \neq j$) สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จำนวน 3 ตัวแปร

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{33} X_3^2$$

$$+ b_{12} X_1 X_2 + b_{23} X_2 X_3 + b_{13} X_1 X_3 \qquad \text{(สมการ 4)}$$

วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองมีประโยชน์มากเมื่อเปรียบเทียบกับการหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีดั้งเดิม ได้แก่ การออกแบบด้วยวิธีการพื้นผิวผลตอบสนองมีจำนวนชุดการทดลองน้อยกว่าวิธีดั้งเดิม ซึ่งแบบดั้งเดิมจะมีจำนวนการทดลองที่มากกว่าเพื่ออธิบายถึงพฤติกรรมของระบบ แต่วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองมีความเป็นไปได้ที่เจอผลกระทบภายใน (Interactive effect) จากตัวแปรอิสระจากกระบวนการทางชีวเคมี ในสมการอย่างง่ายของวิธีการพื้นผิวผลตอบสนองจะเพิ่มความเข้าใจผลที่เกิดจากการผสมกันของตัวแปรอิสระต่าง ๆ จากสมการพบว่ามีผลตอบสนองสอดคล้องกับการทดลองของตัวแปรอิสระต่างๆ จึงกล่าวได้ว่าเทคนิค RSM เป็นเครื่องมือที่เป็นประโยชน์มากต่อการหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการทางชีวเคมีและกระบวนการทางเคมี

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลงานวิจัยนักเรียนเฉลิมขวัญสตรีพิษณุโลก (2551) ได้ทำการเลือกเมล็ดขนุนโดยเปรียบเทียบกับเงาะและทุเรียนแล้วพบว่ามีปริมาณแป้งมากที่สุด ขั้นตอนต่อไปคือ การทดสอบเพื่อหาปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้หลักการเหมือนกับการผลิตสุราพื้นบ้านในการกลั่นแอลกอฮอล์จากแป้ง โดยการนำเมล็ดขนุนต้มสุกมาบดละเอียด ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 300 กรัม เติมน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร หมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก 1 ก้อนในขวด เป็นเวลา 2 วันพบว่ามีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นเมื่อหมักต่อไปอีก 3 วันพบว่ามีเอทานอลเกิดขึ้น และได้ทำการทดสอบเพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมคือ ในเนื้อแป้งจากเมล็ดขนุนจำนวน 300 กรัม นำมาผสมกับลูกแป้งข้าวหมาก จำนวน 2 ก้อน (4.6 กรัม) หมักทิ้งไว้ 7 วันได้เอทานอลถึงร้อยละ 42.36 โดยปริมาตร โดยทางผู้ทำได้เลือกใช้เมล็ดขนุนหนัง และลูกแป้งที่มีส่วนผสมของ ชะเอม กระเทียม ดีปลี ขิงแห้ง พริกไทย แป้งข้าวเจ้า

ซึ่งพบว่ามีเชื้อราชนิดแอสเพอร์จิลลัส (*Aspergillus*) และอะมัยโลมัยซีส (*Amylomyces*) ที่สามารถย่อยแป้งในเมล็ดพืชให้กลายเป็นน้ำตาล จากนั้นยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมากชนิดเอนไซม์โดมัยคอพ-ซิส (*Endomycopsis sp.)* และแซ็กชาโรมัยซีส (*Saccharomyces sp.)* จะปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยน้ำตาล จนได้เอทานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงาน โดยในกระบวนการหมักเมื่อนำเอารำข้าวมาเป็นส่วนผสมจะทำให้ได้เอทานอลเร็วและมากขึ้นเนื่องจากในรำข้าวประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรต และไนอะซินสูง เมื่อได้เอทานอลออกมาแล้วต้องทำการกลั่นเพื่อให้ได้เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 และผ่านกระบวนการกลั่นขั้นสูงเพื่อให้ได้เอทานอลร้อยละ 99.5

ไกรยศ แซ่ลิ้ม (2550) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อยีสต์จากลูกแป้ง โดยทำการเก็บตัวอย่างลูกแป้ง 10 ชนิดในเขตภาคใต้ ซึ่งสามารถนำมาแยกได้ทั้งหมด 74 ไอโซเลตด้วยกัน เมื่อนำไปคัดเลือกหาเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติย่อยแป้งมันสำปะหลังได้ดีที่สุดคือเชื้อยีสต์ YCY1 คือเชื้อ *Saccharomycopsis sp.* และเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ดีสุดคือเชื้อยีสต์สาย*พันธุ์ Pichia anomala* ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมคือ การหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยวหรือเชื้อ *Saccharomycopsis sp.* YPY1 ลงในอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 5 ซึ่งมีปริมาณยีสต์สกัดร้อยละ 0.3 มอลสกัดร้อยละ 0.3 และเปปโตนร้อยละ 0.5 โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 3 และปิดจุกฟลาสต์ด้วย air lock บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด

ธีรภัทร และคณะ (2549) การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทยซึ่งได้นำกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์เพื่อการผลิตเอทานอลได้โดยผ่านขั้นตอนการ Pretreatment ด้วยการไฮโดรไลซ์โดยใช้กรดหรือเอนไซม์เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลการใช้วิธีไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ผสม พบว่าการใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเพคติเนส ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 4.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตามด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 5.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 4.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นสภาวะ ที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งได้น้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 6.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และการนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ร้อยละ 8.92 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ไปหมักกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5596 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร จะได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด ร้อยละ 3.62 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

Suthanmma และ Chumnong (2007) ได้รวบรวมข้อมูลราคาในการผลิตเอทานอลในประเทศไทยในปี ค.ศ. 2002-2005 เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นการผลิตแก๊สโซฮอล์ ได้แก่ วัตถุดิบทางการเกษตร ราคาเอทานอล รวบไปถึงการสร้างโรงงานเพื่อผลิตเอทานอล

Hamelinck และคณะ (2005) งานวิจัยนี้ได้ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากลิกโน-เซลลูโลส โดยกระบวนการไฮโดรไลซ์ด้วยกรด<1 ซัลฟิวริก ที่ 215 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาทีได้ปริมาณกลูโคสร้อยละ 50-70 และกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ 70 องศาเซลเซียส เวลา 1.5 วัน ได้ปริมาณกลูโคสร้อยละ 75-95 แสดงให้เห็นว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ดีกว่าได้ปริมาณกลูโคส และดีต่อสิ่งแวดล้อม กระบวนการย่อยที่ดี สามารถช่วยลดเงินทุน สามารถขยายกำลังการผลิตได้สูงขึ้น และยังศึกษาการวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ของการผลิตเอทานอลโดยคำนึงถึงกระบวนการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสอย่างเหมาะสมและให้สอดคล้องกับระยะเวลาในการผลิตเอทานอล (ระยะสั้น 5 ปี ระยะกลาง 10 ปี และ ระยะยาว 10 ปี)

Altintas และคณะ (2002) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยใช้รีคอมบีแนนท์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YPB-G ซึ่งได้รับการปรับแต่งยีนให้มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส พบว่าปริมาณที่เหมาะในการผลิตเอทานอลจากเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YPB-G คือ 40 กรัมต่อลิตร และพบว่าถ้าเริ่มต้นเติมน้ำตาลกลูโคสลงไป 4 กรัมต่อลิตร จะช่วยทำให้เชื้อผลิตเอทานอลสูงขึ้นจาก 0.118 เป็น 0.183 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Ulgen และคณะ (2002) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ YPG/AB ซึ่งผ่านการปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีคุณสมบัติในการย่อยแป้ง พบว่าเชื้อจะผลิตเอทานอลสูงสุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งอยู่ 40 กรัมต่อลิตร และมีการเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปในระยะเริ่มต้นปริมาณ 4 กรัมต่อลิตร และปรับพีเอชเป็น 4.5 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อแบบ Batch และเมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อแบบ Batch และแบบ Fed-batch พบว่าการเลี้ยงแบบ Fed-batch ให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบ Batch โดยให้ปริมาณเอทานอลถึง 47.5 กรัมต่อลิตร และ 15.6 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

Amutha และ Gunasekaran (2001) ทำการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยหมักแบบแยกกระบวนการหมัก กล่าวคือ ในขั้นต้นจะย่อยแป้งมันสำปะหลังเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลโดยจะใช้ปริมาณแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 20 โดยปริมาตร จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 45 DUN/g และแคลเซียมคลอไรด์ 0.3 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1.0-1.5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่แรงเหวี่ยง 1000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที แล้วจึงนำน้ำหมักที่ได้ไปผลิตเอทานอล โดยเปรียบเทียบระหว่างการตรึงเซลล์ชนิดเดียว (*Saccharomyces diastaticus*) กับการตรึงเซลล์ชนิดร่วม (*Saccharomyces diastaticus* กับ *Zymomonas mobilis*) พบว่าการตรึงเซลล์ชนิดร่วมจะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการตรึงเซลล์ชนิดเดียว กล่าวคือการตรึงเซลล์ชนิดร่วมจะให้ปริมาณเอทานอล 46.7 กรัมต่อลิตร ส่วนการตรึงเซลล์ชนิดเดียวจะให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 37.5 กรัมต่อลิตร

Nakamura และคณะ (1997) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้รีคอมบีแนนท์ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* SR93 ซึ่งได้ปรับปรุงคุณสมบัติให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่าเมื่อให้ความเข้มข้นของแป้งสูงขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น แต่เมื่อปริมาณเอทานอลสูงกว่า 15 กรัมต่อลิตร เอทานอลที่ได้จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยความเข้มข้นของแป้งที่เหมาะสำหรับการผลิตเอทานอลจากรีคอมบีแนนท์ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* SR93 อยู่ในช่วง 30-50 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเจริญของเชื้อ พบว่า ความเข้มข้นของแป้งที่มีปริมาณต่ำกว่า 30 กรัมต่อลิตร น้ำตาลที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะถูกใช้ในการเจริญของเซลล์ก่อนที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ส่วนความเข้มข้นของแป้งที่สูงกว่า 50 กรัมต่อลิตร น้ำตาลกลูโคสที่ถูกย่อยจะถูกสะสมและกลายเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก เป็นต้น

Ward และคณะ (1995) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้ง 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในระหว่างการหมักด้วยเชื้อทนร้อน *Kluyveromyces marxianus* IMB3 และมีการเติมเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อ *Talaromyces emersoni* CBS 814.70 พบว่า เชื้อ *Kluyveromyces marxianus* IMB3 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 74 ของค่าทางทฤษฎี ที่ระยะการบ่มที่ 40 ชั่วโมง

Piršelovâ และคณะ (1993) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยการหมักแบบใช้เชื้อร่วมระหว่าง *Saccharomycopsis fibuligera* กับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบใช้เชื้อร่วมคือ ปริมาณแป้งเริ่มต้น 20 ถึง 30 กรัมต่อลิตร พีเอชของอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 5.8 ถึง 6.0 จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 13.7 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 88 ของค่าทางทฤษฎี

Sato และคณะ (1992) ผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสโดยใช้เชื้อ *Clostridium thermocellum* I-1-B พบว่าการให้ปริมาณยีสต์สกัดที่สูงขึ้นจะทำให้ปริมาณเอทานอลสูงขึ้น การให้ปริมาณยีสต์สกัดร้อยละ 1.4 เชื้อจะผลิตเอทานอลได้สูงสุด คือ 86.8 มิลลิโมลาร์ แต่ถ้าให้ปริมาณยีสต์สกัดสูงกว่าร้อยละ 1.4 จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลลดลง

Laluce และคณะ (1988) แยกเชื้อยีสต์จากโรงงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในประเทศบราซิล พบว่าเชื้อยีสต์ DI-10 มีความสามารถในการย่อยแป้งได้อย่างรวดเร็ว หลังจากนำเชื้อยีสต์ DI-10 มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา พบว่าเชื้อยีสต์ดังกล่าวคือเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces serevisiae var. diastaticus* เมื่อนำเชื้อยีสต์ดังกล่าวมาศึกษาการหมักแป้งที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อยีสต์ DI-10 สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 2 หลังจากบ่มที่ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Abouzied และ Reddy (1987) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันฝรั่งระหว่างการหมักแบบใช้เชื้อเดียวกับแบบใช้เชื้อร่วม โดยใช้เชื้อ *Saccharomycopsis fibuligera หรือ Lipomyces kononenkoae* กับ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าการหมักแบบใช้เชื้อร่วมจะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบใช้เชื้อเดียว และพบว่าการหมักแบบใช้เชื้อร่วมระหว่าง *Saccharomycopsis fibuligera* กับ *Saccharomyces cerevisiae* ให้ปริมาณเอทานอล 17.7 กรัมต่อลิตร สูงกว่าการหมักแบบใช้เชื้อร่วมระหว่าง *Lipomyces kononenkoae* กับ *Saccharomyces cerevisiae*ให้ปริมาณเอทา-นอล 12.7 กรัมต่อลิตร

Abouzied และ Reddy (1986) เปรียบเทียบกระบวนการหมักเอทานอลโดยตรงจากแป้งมันฝรั่งระหว่างการหมักแบบใช้เชื้อเดียว (*Aspergillus niger*) กับแบบการใช้เชื้อร่วม (*Aspergillus niger* กับ *Saccharomyces cerevisiae*) โดยใช้ปริมาณแป้งมันฝรั่งเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าการผลิตเอทานอลแบบใช้เชื้อร่วมจะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการผลิตเอทานอลแบบใช้เชื้อเดียว โดยการหมักแบบใช้เชื้อเดียวให้ปริมาณเอทานอล 2.7 กรัมต่อลิตร และแบบใช้เชื้อร่วมจะได้ปริมาณเอทานอล 19 กรัมต่อลิตร

Lezinou และคณะ (1985) เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากข้าวฟ่างระหว่างการหมักแบบใช้เชื้อเดียว (*Fusarium oxysporum* F3) กับแบบใช้เชื้อร่วม (*Fusarium oxysporum* F3 กับ *Saccharomyces cerevisiae* 2541) พบว่าการหมักแบบใช้เชื้อเดียว และแบบใช้เชื้อร่วมจะได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 24.4 และ 33.5 กรัมต่อ 100 กรัมของข้าวฟ่าง ตามลำดับ

Saha และ Ueda (1983) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันฝรั่งดิบ โดยเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* ร่วมกับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อ *Endomycopsis fibuligera* (*Saccharomycopsis fibuligera*) และเอนไซม์ Cellulisine HC ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูโลส เอนไซม์เฮมิเซลลูโลส เอนไซม์ไซลาเนส เอนไซม์เปคติเนส เป็นต้น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันฝรั่งดิบ 50 กรัม คือใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 1,000 ยูนิต เอนไซม์ Cellulisine HC 100 มิลลิกรัม เติมสาร Potassium pyrosulfite 50 มิลลิกรัม และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ปริมาณ 3 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปรับค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 แล้วนำไปบ่มที่ 38 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ผลผลิตเอทานอล (Ethanol yield) สูงสุดเท่ากับร้อยละ 93

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1. วัสดุ

3.1.1 เชื้อผสม

ลูกแป้งข้าวหมากซึ่งมีเชื้อรา *Aspergillus sp.* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces sp.* เป็นเชื้อหลัก ซื้อมาจากกลุ่มแม่บ้านตำบลน้ำน้อย จังหวัดสงขลา

3.1.2 เชื้อบริสุทธิ์

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จากเชื้อ *Bacillus licherifromis* ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich

เอนไซม์กลูโคสอะไมเลส จากเชื้อ *Aspergillus niger* ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich

3.1.3 วัตถุดิบ

เมล็ดขนุนสด พันธุ์ทองประเสริฐ ซื้อจากกลุ่มแปรรูปผลผลิตขนุนกระป๋อง จังหวัดสงขลา

เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว พันธุ์ทองประเสริฐ จากกลุ่มวิจัยผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

3.1.4 สารเคมี

สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- Dinitrosalicylic acid
- Phenol
- Sodium sulfite
- Sodium hydroxide
- Sodium potassium tartrate

3.2. อุปกรณ์

- ชุดขวดหมัก (Air lock ขนาด 250 ml)
- ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
- ชุดเครื่องกลั่น (Packing column)

- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer)
- เครื่องวัดดัชนีหักเห Refractometer
- เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC 6890 flame ionization detector, Hewlett Packard, USA)

3.3. การเตรียมวัตถุดิบ

3.3.1 เมล็ดขนุนสด

นำเมล็ดขนุนสดมาล้างให้สะอาด ปลอกเปลือก และบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร

3.3.2 เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่มีขนาด 1 มิลลิเมตร มาทำความสะอาดเพื่อล้างเอทานอลที่เหลือจากการกระบวนการสกัดสารพรีไบโอติกส์ออก แล้วนำมาต้มด้วยน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90 เซลเซียส ระยะเวลา 15 นาที ตั้งให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

3.3.3 ลูกแป้งข้าวหมาก

นำลูกแป้งข้าวหมากมาบดให้เป็นผงละเอียด

3.4. วิธีการทดลอง

3.4.1 ศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุนมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบของ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณความชื้น ปริมาณเส้นใย ค่าพลังงาน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
ซึ่งมีรายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงดัง ภาคผนวก ก

3.4.2 ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของราและยีสต์จากลูกแป้งข้างหมาก

โดยจะนำเมล็ดขนุน และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว มาศึกษาสภาวะเดียวกันดังนี้

3.4.2.1 ศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพ

3.4.2.1.1 ศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร แล้วนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที แล้วนำเมล็ดขนุนที่ได้หลังการต้มแล้ว ที่เวลาต่างๆ และเติมลูกแป้งข้าวหมากขวดละ 0.9 กรัม ใส่ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก และนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน เพื่อให้ได้สารละลายที่ไม่มีของแข็งปนอยู่ แล้วนำผลผลิตมาหาค่า Reflective index ด้วยเครื่อง Refractometer เพื่อใช้เป็นตัวเทียบค่าในการหาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.1.2 ศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร แล้วนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 70, 75, 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากหัวข้อ 3.4.2.1.1แล้วนำเมล็ดขนุนที่ได้จากการต้มแล้ว ณ อุณหภูมิต่างๆมาเติมลูกแป้งข้าวหมากขวดละ 0.9 กรัม ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นมาเติมไนไตรเจนแล้วนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งใช้อุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.2 ศึกษาการย่อยทางชีวภาพและการหมักเอทานอล

3.4.2.2.1 ศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร และใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพจากข้อ 3.4.2.1.1 และ 3.4.2.1.2 มาเติมลูกแป้งข้าวหมากด้วยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน 1:100, 2:100, 3:100, 4:100, 5:100 และ 6:100 ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นมาเติมไนไตรเจน หมักเป็นระยะเวลา 5 วัน โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.2.2 ศึกษาอัตราในการเขย่าของ Water bath

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกัน และใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพจากข้อ 3.4.2.1.1 และ 3.4.2.1.2 ด้วยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากที่เหมาะสมดังข้อ 3.4.2.2.1 จากนั้นมาเติมไนไตรเจน นำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ควบคุมอุณหภูมิในการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่า 60, 80, 100 และ120 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.2.3 ศึกษาระยะเวลาในการหมัก

นำผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพ และย่อยทางกายภาพด้วยการต้มภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.2.1.1, 3.4.2.1.2 และ 3.4.2.2.1 มาศึกษาระยะเวลาในการหมัก 1-10 วัน และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่าที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.2.2.2 และค่าพีเอช 6.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.2.4 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการหมัก

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกัน และใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพจากข้อ 3.4.2.1.1 และ 3.4.2.1.2 ด้วยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2.2.1 มาเติมไนไตรเจน นำไปหมักเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2.2.3 โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่าที่เหมาสมจากข้อ 3.4.2.2.2 ซึ่งควบคุมค่าพีเอชตลอดการหมักที่ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.2.2.5 ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก

นำเมล็ดขนุน 30 กรัม ผสมน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกัน และใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพจากข้อ 3.4.2.1.1 และ 3.4.2.1.2 ด้วยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2.2.1 จากนั้นมาเติมไนไตรเจน นำไปหมักเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2.2.3 โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมักที่ต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเขย่าที่เหมาสมจากข้อ 3.4.2.2.2 ซึ่งควบคุมค่าพีเอชตลอดการหมักที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2.2.4 จากนั้นนำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.3 ศึกษาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอลด้วยใช้เชื้อบริสุทธิ์

ทำการศึกษาทั้งเมล็ดขนุนสด และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว ที่สภาวะเดียวกันดังต่อไปนี้

3.4.3.1 ศึกษาการปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบ

3.4.3.1.1 ศึกษาการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase)

การปรับสภาพเมล็ดขนุนให้พร้อมในการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปัจจัยที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อย 80 – 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสต่อเมล็ดขนุน 0.0005:1 – 0.002:1 และเวลาในการย่อย 1 – 4 ชั่วโมง ที่ค่าพีเอชคงที่ 6 ซึ่งใช้โปรแกรมการออกแบบวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) ช่วยในการออกแบบการทดลอง สภาวะดังกล่าวได้จากการออกแบบการทดลองแบบ แบบ Central composite design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 7 ทำให้ได้จำนวนและสภาวะในการทดลอง 17 การทดลอง ดังตารางที่ 8 ทำการทดลองในขวด Screw-capped ขนาด 250 มิลลิลิตร และควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath

ตารางที่ 7 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ปัจจัย	สัญลักษณ์	ค่าระดับ				
		-1	-0.59	0	0.59	1
เวลา (นาที)	X_1	60	96	150	204	240
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X_2	80	84	90	96	100
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	X_3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.2

ตารางที่ 8 แสดงสภาวะในการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรของกระบวนการย่อย (Hydrolysis) เมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

การทดลองที่	X_1	X_2	X_3
1	96	96	0.08
2	204	96	0.17
3	96	96	0.17
4	150	90	0.13
5	150	90	0.05
6	150	90	0.13
7	204	84	0.17
8	150	80	0.13
9	96	84	0.17
10	60	90	0.13
11	150	90	0.13
12	96	84	0.08
13	204	96	0.08
14	150	90	0.20
15	150	100	0.13
16	240	90	0.13
17	204	84	0.08

3.4.3.1.2 ศึกษาการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส (Gluco-amylase)

การย่อยแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ปัจจัยที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งของเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส 50 – 70 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ต่อเมล็ดขนุน 0.0005:1 – 0.002:1 และเวลาในการย่อย 4 – 8 ชั่วโมง ที่ค่าพีเอชคงที่ 4.5 ซึ่งใช้โปรแกรมการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) ช่วยในการออกแบบการทดลอง สภาวะดังกล่าวได้จากการออกแบบการทดลองแบบ แบบ Central composite design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 9 ทำให้ได้สภาวะในการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง ดังตารางที่ 10 ทำการทดลองในขวด Screw-capped ขนาด 250 มิลลิลิตร และควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath

ตารางที่ 9 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

ปัจจัย	สัญลักษณ์	ค่าระดับ				
		-1	-0.59	0	0.59	1
เวลา (นาที)	X_1	240	290	360	430	480
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X_2	50	55	60	65	70
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)	X_3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.2

ตารางที่ 10 แสดงสภาวะในการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปรของกระบวนการย่อย (Hydrolysis) เมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

การทดลองที่	X_1	X_2	X_3
1	290	65	0.08
2	430	65	0.17
3	290	65	0.17
4	360	60	0.13
5	360	60	0.05
6	360	60	0.13
7	430	55	0.17
8	360	50	0.13
9	290	55	0.17
10	240	60	0.13
11	360	60	0.13
12	290	55	0.08
13	430	65	0.08
14	360	60	0.20
15	360	70	0.13
16	480	60	0.13
17	430	55	0.08

3.4.3.2 ศึกษาการหมักเอทานอล

3.4.3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อ เมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งแอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะ-ไมเลส ซึ่งเป็นสภาวะที่ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด นำมาเติมยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายร้อยละ 0.1 – 0.5 ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมไนไตรเจน แล้วนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 5.0 นำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.3.2.2 ศึกษาหาระยะเวลาในการหมัก

นำเมล็ดขนุนสดที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งแอลฟาอะไมเลสและกลูโคสอะไมเลสซึ่งเป็นสภาวะที่ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์มากที่สุด นำมาเติมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยอัตราส่วนร้อยละเชื้อยีสต์ต่อเมล็ดขนุนสดจากสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.3.2.1 ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นมาเติมไนไตรเจน แล้วนำไปหมักเป็นระยะเวลา 1-5 วัน ควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 5.0 นำผลผลิตที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.4 ศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตเอทานอลด้วยการกลั่น

นำผลผลิตของเหลวใส มาทดลองกลั่นด้วยเครื่องกลั่นแบบแพ็คคอลัมน์ความจุ 2 ลิตร โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 นาทีนำมาวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในผลผลิต

3.4.5 สร้างชุดเครื่องมือสำหรับการหมักและการทำบริสุทธิ์เอทานอลในระดับโรงงานจำลอง

3.4.5.1 สร้างชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร

การสร้างจะเลือกใช้วัสดุที่ทำมาจากแก้วเพื่อทนต่อการกัดกร่อน และสามารถมองเห็นปรากฏการณ์ภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพได้ โดยมีขนาด 5 ลิตร ลักษณะของถังจะมีระบบน้ำไหลวนรอบตัวถังเพื่อควบคุมอุณหภูมิภายในถัง ส่วนฝาปิดจะทำจากพลาสติกชนิด พอลีโพรเพลีน ที่ทนต่อการกัดกร่อน

ระบบของปฏิกรณ์ชีวภาพจะประกอบด้วยชุดควบคุมต่างๆ ได้แก่ ชุดควบคุมค่าพีเอช, ชุดควบคุมความเร็วรอบของมอเตอร์ และชุดควบคุมอุณหภูมิ

3.4.5.2 สร้างชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร

การสร้างชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร จะทำจากแก้วเพื่อให้มองเห็นปรากฏการณ์ต่างๆ ในระหว่างการกลั่น ชนิดของแพ็ค (Packing) จะทำจากแก้วเช่นเดียวกันเพื่อให้ทดทานต่อการกัดกร่อน การออกแบบสร้างจะคล้ายกับเครื่องกลั่นแบบแพ็คคอลัมน์ความจุ 2 ลิตร

3.4.6 ทดลองใช้ชุดเครื่องมือที่สร้างขึ้น พร้อมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติที่จำเป็นต่างๆ ของผลผลิต

3.4.6.1 การทดลองใช้ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

นำสภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็กมาใช้กับชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตรที่สร้างขึ้น แล้วทำการเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอล

3.4.6.2 การทดลองใช้ชุดเครื่องกลั่นผลผลิตเอทานอล ขนาด 5 ลิตร

นำสภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็กมาใช้กับชุดเครื่องกลั่นเอทานอล ขนาด 5 ลิตรที่สร้างขึ้น แล้วทำการเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์หาปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอล

3.4.7 การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่เหมาะสมที่สุด

นำรายละเอียดแต่ละกระบวนมาเปรียบเทียบกระบวนการผลิตโดยคำนึงถึง ต้นทุนการผลิตและระยะเวลาในการคืนทุน หากจะทำการสร้างโรงงานผลิตเอทานอล ขนาด 13,200 ลิตร กระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนจะแบ่งออกเป็นสองแบบ คือ แบบแรกคือกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และแบบที่สองคือกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสม ซึ่งแต่ละกระบวนการจะขยายกำลังการผลิตเอทานอลจากขนาด 5 ลิตรเป็น 13,200 ลิตร โดยเทียบจากปริมาณการปลูกขนุนที่ปลูกภายในภาคใต้ปี 2542

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1. องค์ประกอบในเมล็ดขนุน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุดิบเมล็ดขนุนสด และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรี-ไบโอติกส์ แสดงดังตารางที่ 11 พบว่ามีองค์ประกอบทำนองเดียวกัน กล่าวคือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลได้ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีค่า 282.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าประมาณเป็นสองเท่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเมล็ดขนุนสด ดังนั้นเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์น่าจะสามารถผลิตเป็นเอทานอลได้มากกว่าเมล็ดขนุนสด

จากงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งใช้วัตถุดิบทางการเกษตร ประเภทที่มีองค์ประกอบหลักเป็นคาร์โบไฮเดรต (Mohan Jain, 2010) พบว่าวัตถุดิบจากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบหลักคือคาร์โบไฮเดรตคิดเป็นร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเมล็ดขนุนที่ได้ศึกษาในงานวิจัยนี้ อีกทั้ง Vanna และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของเมล็ดขนุนสดพบว่า มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 82.25 โปรตีนร้อยละ 11.17 ไขมันร้อยละ 0.99 ขี้เถ้าร้อยละ 3.92 และไฟเบอร์ร้อยละ 1.67 โดยน้ำหนัก และมีค่าพีเอชประมาณ 5.68 ความสามารถในดูดซับน้ำร้อยละ 205 และความสามารถในการดูดซับน้ำมันร้อยละ 92.6 โดยน้ำหนัก ซึ่งสัดส่วนโดยน้ำหนักของคาร์โบไฮเดรต โปรตีนหรือส่วนประกอบอื่นจะมีค่าต่างจากงานวิจัยนี้ค่อนข้างมากทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของเมล็ดขนุนที่ใช้ต่างกัน ทำให้ได้ค่าที่ต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตมีสัดส่วนมากที่สุดสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ เพราะฉะนั้นเมล็ดขนุนเป็นวัตถุทางเลือกที่น่าสนใจอีกทางหนึ่งของการนำวัตถุดิบทางการเกษตรมาเพิ่มมูลค่าเป็นพลังงานทดแทน

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดขนุนสดและเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์แล้ว

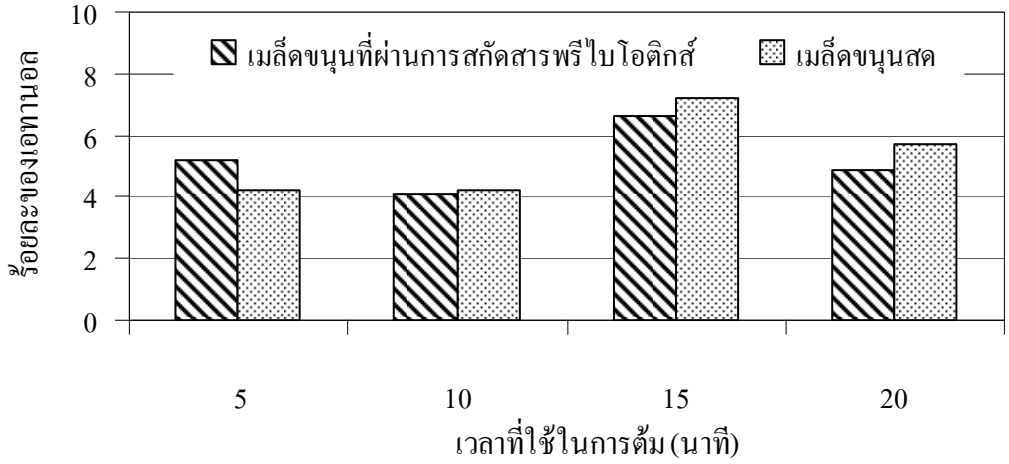
องค์ประกอบ (ร้อยละ)	เมล็ดขนุนสด	เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์
โปรตีน	5.48	4.99
ไขมัน	0.21	0.23
ความชื้น	56.51	58.83
ขี้เถ้า	1.42	0.75
เส้นใย	1.27	2.20
คาร์โบไฮเดรต	36.38	35.20
ค่าพลังงาน	169.33 กิโลแคลอรี่	162.83 กิโลแคลอรี่
น้ำตาลทั้งหมด	0.60	0.40
น้ำตาลรีดิวซ์	133.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	282.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2. ปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของรา และยีสต์จากลูกแป้งข้างหมาก

4.2.1 การปรับสภาพวัตถุดิบและการย่อยทางกายภาพ

4.2.1.1 ผลของระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน

จากการทดลองพบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการต้มแล้วจะมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด เนื่องจากเส้นใยของแป้งจะเกิดการบวม ส่งผลให้มีความหนืดสูงมากขึ้น ลักษณะเหมือนแป้งเปียก ซึ่งกระบวนการที่ทำให้แป้งเกิดลักษณะดังกล่าวเรียกว่า เจลาติไนเซชั่น (Gelatinazation) เป็นจุดซึ่งทำให้โครงสร้างโมเลกุลของแป้งเมล็ดขนุนมีความพร้อมที่จะถูกย่อยเป็นน้ำตาล แต่เมื่อทำการหมักไปเป็นเวลา 5 วัน สังเกตได้ว่าของผสมมีความหนืดน้อยลง เนื่องจากแป้งถูกย่อยให้มีโมเลกุลเล็กลง และมีเอทานอลเกิดขึ้นบางส่วน เนื่องจากเอทานอลเป็นของเหลว จึงทำให้มีความหนืดลดลง ขั้นตอนดังกล่าวเรียกว่า ลิควิดแฟคชั่น (Liquefaction) ซึ่งผลการศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชั่นของงานวิจัยนี้แสดงได้ดังภาพประกอบที่ 6 และ 7



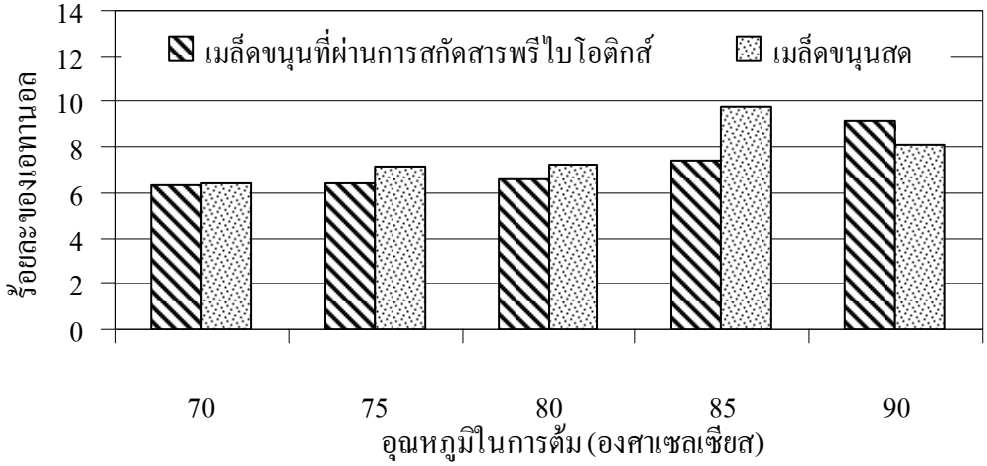
ภาพประกอบที่ 6 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยปริมาณลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก

ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสดแสดงดังภาพประกอบที่ 6 พบว่าการต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้เวลาที่เหมาะสมในการต้มคือ 15 นาที ซึ่งจากการหมักเป็นเวลา 5 วัน จะได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 7.2 โดยปริมาตร และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหาก

ระยะเวลาในการต้มน้อยเกินไป การย่อยโมเลกุลของแป้งจะเกิดได้ไม่ดี และถ้าต้มนานเกินไปก็มีผลทำให้เกิดผลผลิตเอทานอลน้อยลง อาจเนื่องมาจากโมเลกุลของแป้งที่หนืดเกินไป จึงไม่เหมาะสมต่อการหมัก

4.2.1.2 ผลของอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน

การศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสดที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการต้มเมล็ดขนุนสดคือ 85 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงได้ดังภาพประกอบที่ 7 ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เกิดเจลาติไนเซชั่น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chantana และคณะ (2009) ที่ทดลองหาอุณหภูมิที่ก่อเจลลาติไนเซชั่น เมื่อวัดด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimetry (DSC) และพบว่าแป้งเมล็ดขนุนมีอุณหภูมิที่ก่อเจลลาติไนเซชั่นที่ 87.49 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิจุดแรกที่ก่อเจลลาติไนเซชั่น (On-set) อยู่ที่ 84.92 องศาเซลเซียส และจุดสุดท้าย (End-set) ที่ 90.42 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Kategunya และ Sanguansri (2008) ก็ได้ศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชั่นของเมล็ดขนุนพบว่า จุดแรกคือที่อุณหภูมิประมาณ 65 องศาเซลเซียส และจุดที่สองประมาณ 80 องศาเซลเซียส



ภาพประกอบที่ 7 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุน เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก

ขนุนที่ผ่านการให้ความร้อน ถึงระดับหนึ่งจะเกิดการพองตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นเร็วมาก อุณหภูมิที่ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้เรียกว่า Pasting temperature และความหนืดจะเพิ่มขึ้นจนถึงความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) จากนั้นอาจลดลงหรือคงที่ขึ้นกับชนิดของแป้ง การที่แป้งมีความหนืดสูงสุดเนื่องจากเมื่อเม็ดแป้งมีการพองตัวมากขึ้น และมีชิ้นส่วนของเม็ดแป้ง และหรือโมเลกุลของอะไมโลส และอะไมโลเพคตินบางส่วนที่แตกสลายออกมาอยู่ในสารละลาย เมื่อส่วนที่แตกสลายและละลายออกมามีมากกว่าการพองตัวที่เพิ่มขึ้นความหนืดจะเริ่มลดลง

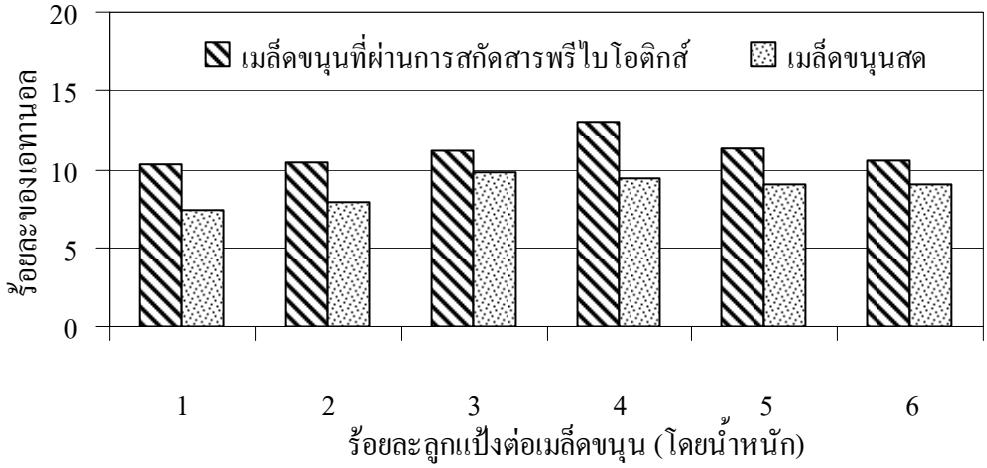
เมื่อลดอุณหภูมิลง โมเลกุลอิสระที่กระจัดกระจายออกมา (โดยเฉพาะส่วนของอะไมเลส) ถ้ามีขนาดโมเลกุลที่เหมาะสม คือ ไม่สั้นและยาวเกินไปก็จะสามารถเคลื่อนที่เข้ามาจับกัน และกักน้ำไว้ได้ทำให้ความหนืดสูงขึ้นอีก ความหนืดที่กลับสูงขึ้นมาอีกนี้เรียกว่า Setback และปรากฏการณ์นี้ก็คือ การคืนตัวของแป้ง (Retrogradation) ในการศึกษาของ Vanna และคณะ (2002) พบว่าแป้งเมล็ดขนุนการคืนตัวต่ำกว่าเมื่อเทียบกับมันสำปะหลังและแป้งข้าวโพด ปริมาณอะไมเลสในเมล็ดขนุนมีค่าร้อยละ 32 โดยน้ำหนัก สูงกว่าค่าเฉลี่ยที่พบในแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีปริมาณอะไมเลสร้อยละ 17 โดยน้ำหนัก และในแป้งข้าวโพดมีปริมาณร้อยละ 26 โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามแป้งมีการคืนตัวอัตราค่อนข้างต่ำ อาจเป็นผลเนื่องจากความแตกต่างในน้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสและความสามารถของแป้งในการชะออกจากเม็ดสตาร์ช

4.2.2 การย่อยทางชีวภาพและการหมักเอทานอล

4.2.2.1 ผลของอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน

จากภาพประกอบที่ 8 พบว่าที่อัตราส่วนลูกแป้งร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก จนถึงร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก ได้ค่าร้อยละของเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และลดลงหลังจากลูกแป้งร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก แสดงให้เห็นว่าปริมาณลูกแป้งร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนัก เป็นปริมาณที่น้อยเกินไปไม่เพียงพอต่อการหมัก และการลดลงของร้อยละของเอทานอลซึ่งอาจเกิดจากปริมาณลูกแป้งมากเกินไปทำให้เชื้อกินกันเอง ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักคือ ลูกแป้งร้อยละ 4 สำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ได้เอทานอลร้อยละ 13 โดยปริมาตร และสำหรับเมล็ดขนุนสด คือ ลูกแป้งร้อยละ 3 ได้เอทานอลร้อยละ 9.8 โดยปริมาตร ดังนั้นเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีความพร้อมที่จะเกิดเป็นเอทานอลได้มากกว่า โดยสังเกตได้จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีค่ามากกว่าเมล็ดขนุนสด นอกจากนี้ ไกรยศ (2550) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นต่อการเจริญ พบว่าเมื่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้นอัตราการผลิตเอทานอลก็จะสูงขึ้น แต่

เมื่อปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมีค่าสูงกว่า 18 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลจะลดลง ทั้งนี้มาจากผลของปริมาณน้ำตาลที่กดดันการเจริญของเชื้อ

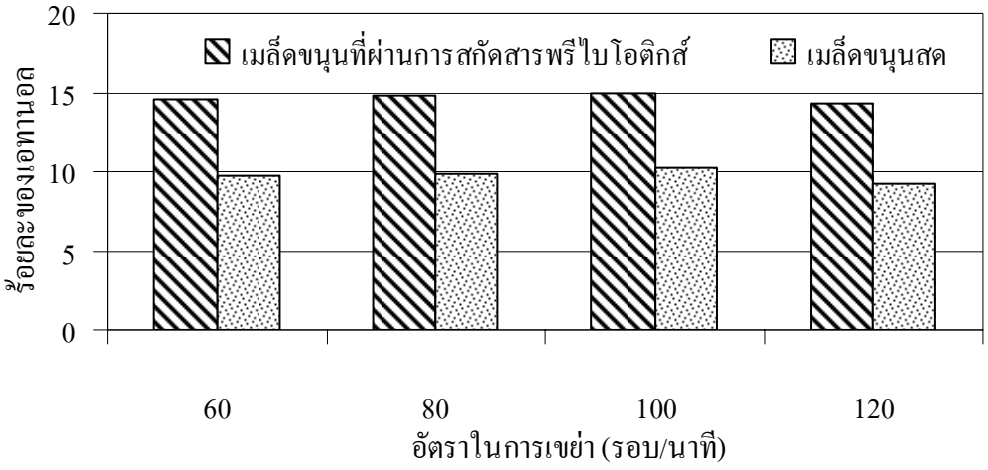


ภาพประกอบที่ 8 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส

4.2.2.2 ผลของอัตราการเขย่าของ Water bath

จากภาพประกอบที่ 9 ศึกษาอัตราการเขย่าที่เหมาะสมในการหมัก โดยใช้ร้อยละลูกแป้งต่อเมล็ดขนุน เท่ากับ 4 โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการหมัก 5 วัน พบว่า อัตราการเขย่าที่เหมาะสม คือ 100 รอบต่อนาที ซึ่งจะให้ผลผลิตเอทานอลมากที่สุด สำหรับทั้งเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดสารพรีไบโอ-ติกส์และเมล็ดขนุนสด ได้ค่าประมาณเอทานอลร้อยละ 14.9 และ10.2 โดยปริมาตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเขย่าเมล็ดขนุนชนิดเดียวกัน จะเห็นได้ว่าเอทานอลที่ได้หลังจากการหมักได้ค่าที่ไม่แตกต่างกันมาก และสังเกตที่อัตราการเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที พบว่าเปอร์เซ็นต์เอทานอลน้อยกว่าที่อัตราการเขย่า 60, 80 และ100 รอบต่อนาที เนื่องจากอัตราการเขย่าที่มากเกินไปส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ที่อยู่ในลูกแป้ง จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของไกรยศ (2550) ที่ศึกษาการผลของอัตราในการเขย่าต่อการเจริญผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยนี้ อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของเมล็ดขนุนมีความต้องการในการผสมมากกว่ามันสำปะหลัง และงานวิจัยของ Dostalek และ Hoggstrom (1983) ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* ในถังหมักที่อัตราการกวนที่แตกต่างกัน คือ 200, 350 และ 500 รอบต่อนาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ 500 รอบนาที ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยนี้เช่นกัน ซึ่งต้องกวนในอัตราที่สูง เพื่อให้ผลผลิตที่สูง อาจเนื่องมาจากเชื้อภายในลูกแป้งข้าวหมากมีความอ่อนไหวต่อการกวนผสม ถ้ามาก

เกินไปทำให้ผลผลิตเอทานอลน้อยลง ดังนั้นจึงควรหาสภาวะที่เหมาสมในการหมักเพื่อให้ได้ผลิตเอทานอลที่มากที่สุด

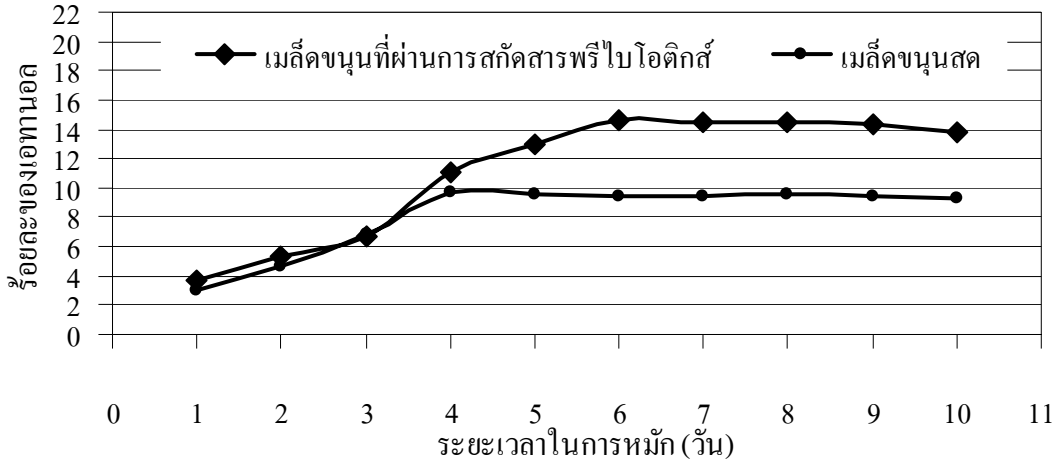


ภาพประกอบที่ 9 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของ Water bath เวลาต้ม 15 นาที เวลาหมัก 5 วัน อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก

4.2.2.3 ผลของระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุน

จากภาพประกอบที่ 10 พบว่าแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของเมล็ดขนุนจะถูกเมทาบอลิซึมด้วยยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก ส่งผลให้ได้ร้อยละของเอทานอลที่มากขึ้น เรียกว่าอยู่ในช่วง Exponential phase ของอัตราการเติบโตของยีสต์ ซึ่งจะเพิ่มขึ้นสูงสุดแล้วจะคงที่ โดยระยะเวลาที่ยีสต์เติบโตอย่างรวดเร็วนี้เองทำให้สารอาหารเริ่มไม่เพียงพอและเกิดสภาวะการสะสมของผลิตผลที่เกิดขึ้นจากการสร้างและสลายของเซลล์ ส่งผลให้อัตราการเติบโตของยีสต์ลดลงจนกระทั่งอัตราการเติบโตเท่ากับอัตราการตาย ทำให้ปริมาณเซลล์อยู่ในสภาพคงที่ เมื่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนี้ยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง จะทำให้ยีสต์สลายเซลล์ตัวเอง ปริมาณเซลล์ลดลงเรื่อยๆ จากงานวิจัยของ Wanderley (2004) พบว่าในลูกแป้งมียีสต์และเชื้อราอยู่หลายชนิด เช่น *Aspergillus niger* และ *Amylomyces fibuligera* สามารถย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลและเมื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลแล้วก็จะใช้น้ำตาลที่ได้ผลิตขึ้นมาเป็นอาหาร ซึ่งอาจทำให้ยีสต์ชนิด *Endomycopsis spp.* และ *Saccharomyces spp.* เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ ระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ และเมล็ดขนุนสดคือ 6 วัน และ 4 วัน และจะได้เอทานอลร้อยละ 14.6 และ 9.6 โดยปริมาตร ตามลำดับ การที่เมล็ดขนุนที่ผ่านการ

สกัดพรีไบโอติกส์ได้ร้อยละเอทานอลมากกว่า เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบมากกว่าเมล็ดขนุนสดนั้นเอง

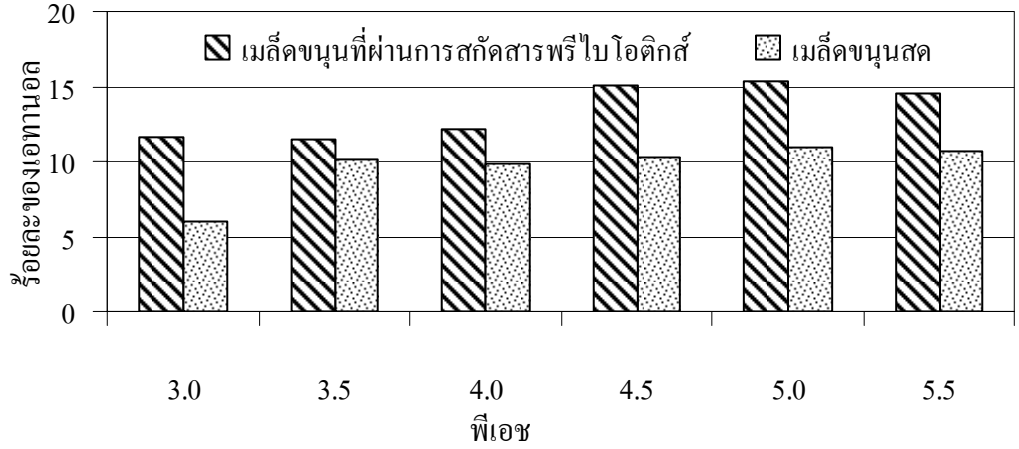


ภาพประกอบที่ 10 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมัก 1-10 วัน ด้วยปริมาณลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

4.2.2.4 ผลของพีเอชในการหมักของเมล็ดขนุน

จากภาพประกอบที่ 11 ค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการหมักเมล็ดขนุนโดยใช้ลูกแป้งในอัตราส่วนร้อยละ 3 อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เวลาหมัก 5 วัน คือ พีเอช 5.0 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และราในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยร้อยละเอทานอลมากที่สุดคือ 10.9 และ 15.3 โดยปริมาตรตามลำดับ เมล็ดขนุนที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 5 วัน ได้ทำการปรับค่าพีเอชด้วยบัฟเฟอร์จนมีค่าพีเอช 3.0-4.0 ซึ่งเป็นช่วงพีเอชที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อยีสต์จากลูกแป้ง เพราะได้ร้อยละเอทานอล น้อยกว่าในช่วงพีเอช 4.5-5.5 และการหมักช่วงพีเอช 4.5-5.5 ค่าร้อยละของเอทานอลจะมีค่าใกล้เคียงกันอีกทั้งการเปลี่ยนแปลงของพีเอชจะน้อยมากในช่วงเวลาหมัก 5 วัน และการที่พีเอชจาก 5.5 จะลดลงอย่างช้าๆเหลือ 4.9 เนื่องมาจากผลผลิตที่เชื้อยีสต์สร้างขึ้นมาในระหว่างกระบวนการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dodić (2009) พบว่าพีเอชของการหมักมีค่าลดลงจาก 5.0 เหลือ 4.8 อีกทั้งไกรยศ (2550) ศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญเติบโตโดยปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 4.5, 5.5 และ 6.5 ซึ่งนำไปหมักที่อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าพีเอชมีผลต่อการเจริญเติบโต และการผลิตเอทานอล โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ เท่ากับ 5.5 และเมื่อค่าพีเอชลดลงอัตราการผลิตเอทานอลก็จะลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ดังนั้นค่าพีเอชจึงมีผลต่ออัตราการผลิตเอทานอล อีก

ทั้งยังมีบทบาทในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นอีกด้วย กล่าวคือโดยปกติเซลล์เมม-เบรนของจุลินทรีย์จะยอมให้ปะจุไฮโดรเจนหรือประจุไฮดรอกซิลผ่านเข้าออกได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ยังมีระบบบัฟเฟอร์เพื่อควบคุมการเปลี่ยนแปลงพีเอช (วราวุฒิ, 2538) สำหรับงานวิจัยของสิทธิศักดิ์ (2548) พบว่ากระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccaromyces cerevisiae* ค่าพีเอช 4-5 ซจะได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ระยะเวลาหมัก 7-8 วัน มีค่าประมาณร้อยละ 10.48-12.46 โดยปริมาตร และปริมาณเอทานอลที่ได้จะมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ เนื่องจากปริมาณคาร์โบไฮเดรตของมันสำปะหลังกับเมล็ดขนุนสด มีค่าใกล้เคียงกัน

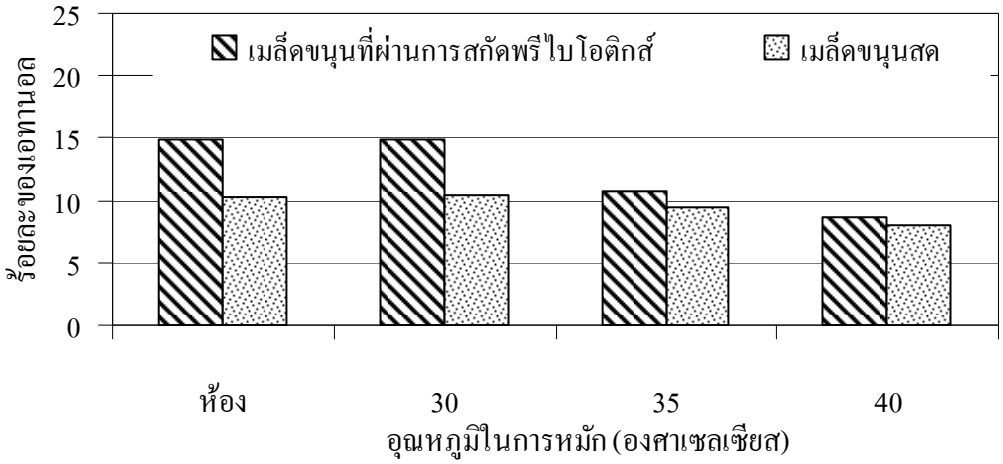


ภาพประกอบที่ 11 ผลการศึกษาค่าพีเอชของการหมัก 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที อุณหภูมิที่หมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก

4.2.2.5 ผลของอุณหภูมิในการหมักของเมล็ดขนุน

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุน แสดงดังภาพประกอบที่ 12 พบว่าอุณหภูมิที่ให้ผลผลิตเอทานอลมากที่สุด เท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งการหมักด้วยเมล็ดขนุนสดจะได้เอทานอลร้อยละ 10.4 โดยปริมาตร และการหมักด้วยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอ-ติกส์จะได้เอทานอลร้อยละ 14.9 โดยปริมาตร และจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการหมักจะพบว่าผลผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าที่ใกล้เคียงกันซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักมากกว่าที่อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ให้ผลผลิตเอทานอลน้อยลง นอกจากนี้ Ado (2009) ได้ศึกษาอุณหภูมิในการหมักของมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล ที่ช่วงอุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการผลิต

เอทานอล ซึ่งในการหมักนี้ได้ใช้เชื้อยีสต์ *Saccaromyces cerevisiae* เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล โดยสอดคล้องกับงานวิจัย อาจเป็นเพราะเชื้อยีสต์ที่เหมือนกันจึงทำให้อุณหภูมิที่เหมาะสมที่เหมือนกัน



ภาพประกอบที่ 12 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักในระยะเวลา 5 วัน อัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ด้วยลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก

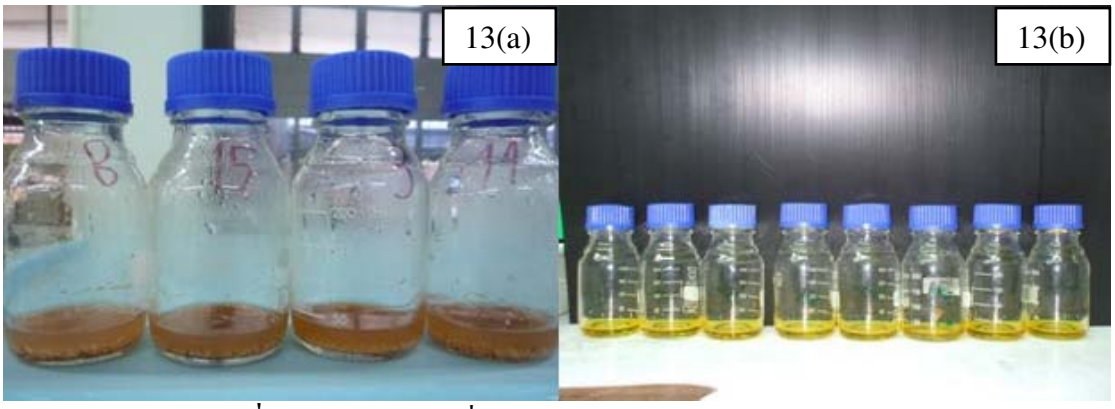
4.3. ปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอลด้วยการใช้เชื้อบริสุทธิ์

4.3.1 การปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบ

4.3.1.1 ผลของการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

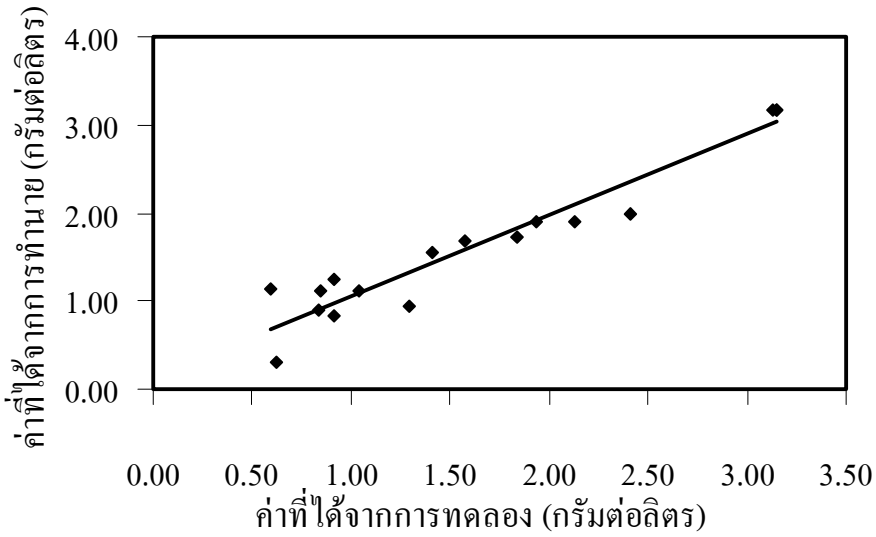
4.3.1.1.1 เมล็ดขนุนสด

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ผลการทดลองแสดงเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นดังตาราง ข-20 (ในภาคผนวก ข) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลองคือ สภาวะที่ 4 ซึ่งใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อย 150 นาที และร้อยละของแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3.15 กรัมต่อลิตร



ภาพประกอบที่ 13 เมล็ดขนุนสดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (a) ก่อนการเติม DNS และ (b) หลังการเติม DNS

จากการสังเกตระหว่างการทดลองเมื่อผ่านการย่อยมีลักษณะดังภาพประกอบที่ 13(a) คือ มีสีน้ำตาลแต่เมื่อนำไปต้มแล้วเติมสารละลาย DNS (Dinitrosalicylic acid) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ สีของสารละลายจะเปลี่ยนไปเป็นเหลืองแกมน้ำตาลซึ่งมีลักษณะสีดังภาพประกอบที่ 13(b) จากการทดลองพบว่าถ้าตัวอย่างในการทดลองมีสีน้ำตาลเข้ม จะแสดงถึงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงขึ้นด้วย เพราะตัวสารละลาย DNS จะไปทำปฏิกิริยากับน้ำตาลนั่นเอง



ภาพประกอบที่ 14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกับค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression

จากนั้นนำผลการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์จากโปรแกรม Essential regression ดังสมการ 5 แสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 (Multiple correlation coefficient) เท่ากับ 0.92 แสดงดังภาพประกอบที่ 14 และค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (Adjusted R^2 = 0.90) ซึ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของแบบจำลองส่วนค่า Adjusted R^2 หากมีค่าใกล้เคียงกับค่า R^2 แสดงว่าแต่ละตัวแปรในแบบจำลองที่ได้ล้วนส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

$$Y = -135.19 + 0.124\,X_1 + 2.581\,X_2 + 189.05\,X_3 - 0.000222\,X_1^2 - 0.01325\,X_2^2 -$$

$$400.50\,X_3^2 - 0.000474\,X_1\,X_2 - 0.874\,X_1\,X_3 - 0.06634\,X_2\,X_3 \qquad \text{(สมการ 5)}$$

เมื่อ Y คือ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

X_1 คือ เวลา (นาที)

X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

X_3 คือ ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)

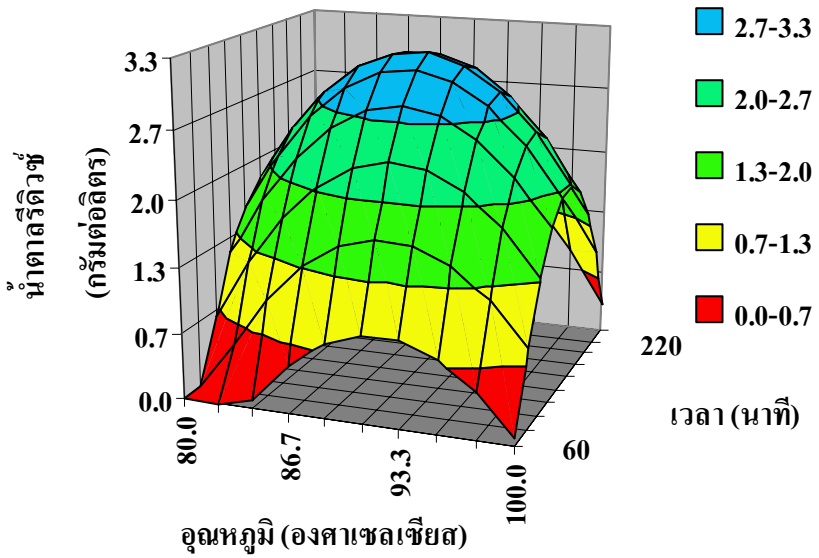
จากสมการที่ 4-1 เป็นสมการ Essential regression จากเทคนิค RSM ที่สามารถทำนายผลจากตัวแปรทั้งสามต่อประสิทธิภาพการย่อย แสดงดังค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ Regression analysis เมื่อพิจารณาสัมประสิทธิ์ของแต่ละตัวแปรที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวแปร เนื่องจากระดับแปรผันของตัวแปรที่เข้ารหัส คือ -1 และ 1 หากสัมประสิทธิ์ของตัวแปรใดตัวแปรหนึ่งมีค่าสูงกว่าตัวแปรอื่น (ไม่คิดเครื่องหมายบวกหรือลบ ซึ่งเครื่องหมายแสดงถึงผลของตัวแปรอิสระจะแปรผันตรงหรือแปรผกผันกับตัวแปรตาม ตามลำดับ) แสดงถึงตัวแปรนั้นมีผลต่อค่า *Y* สูงกว่าอีกค่าหนึ่ง ซึ่งแบบจำลองของสมการ Essential regression ที่ได้ในรูปสมการกำลังสอง (Quadratic equation)

ตารางที่ 12 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

Term	*Coefficient*	*Value*	*Standard error*	*t-value*	*P-value*
ค่าคงที่	b0	-135.19	27.65	-4.890	0.001*
เวลา	b1	0.124	0.04053	3.049	0.01*
อุณหภูมิ	b2	2.581	0.584	4.418	0.003*
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b3	189.05	48.64	3.887	0.006*
เวลา X เวลา	b4	-0.0002	0.00003	-5.611	0.0008*
อุณหภูมิ X อุณหภูมิ	b5	-0.0132	0.00321	-4.135	0.004*
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b6	-400.50	56.99	-7.028	0.0002*
เวลา X อุณหภูมิ	b7	-0.0004	0.00042	-1.121	0.2
เวลา X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b8	-0.874	0.507	-1.722	0.1
อุณหภูมิ X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b9	-0.0663	0.05638	-1.177	0.2

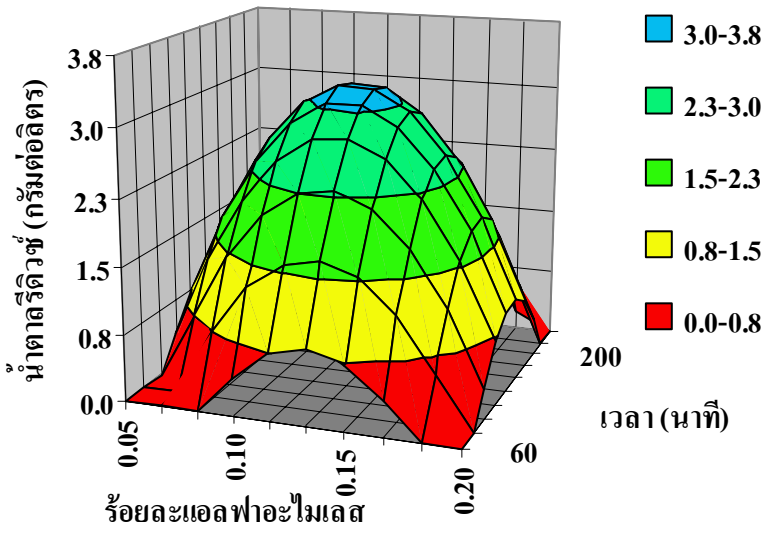
*ค่าที่ P value น้อยกว่า 0.05

นอกจากนี้การพิจารณาค่า P value ของตัวแปร โดยพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองเทอมที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเมล็ดขนุนสดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่า P value ต่ำกว่า 0.01 แสดงดังตารางที่ 12 ที่สามารถพิจารณาค่าของแต่ละเทอมโดยค่า P value ยิ่งน้อย ตัวแปรนั้นจะมีอิทธิพลยิ่งมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยมากที่สุดจากแบบจำลอง คือ เวลา ซึ่งเป็นตัวแปรกำลังสอง



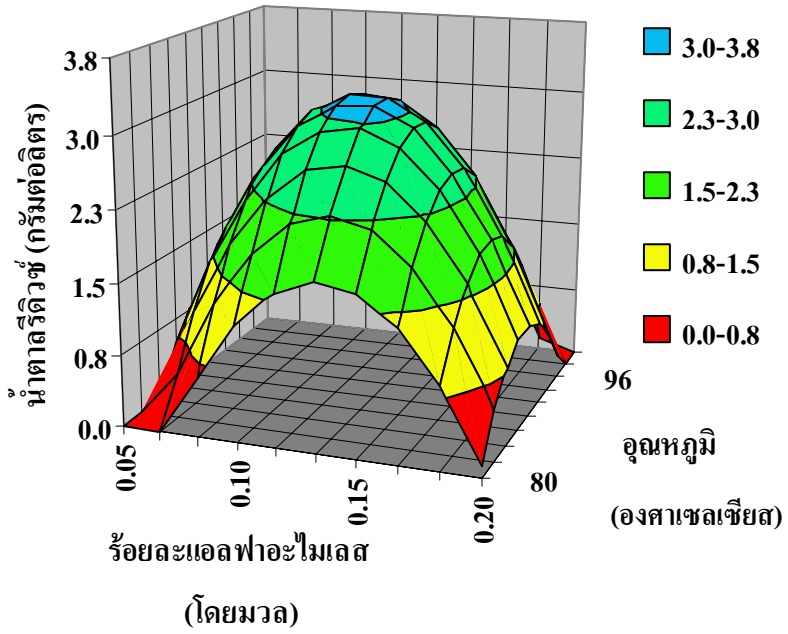
ภาพประกอบที่ 15 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด เมื่อมีอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการย่อยเมล็ดขนุนสด แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวภาพประกอบที่ 15 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการย่อยน้อยเกินไปเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพน้อยและถ้ามากเกินไปเอนไซม์จะไม่ทำงานเพราะเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสม ซึ่งจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 160 นาที



ภาพประกอบที่ 16 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสดด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลส และระยะเวลาในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 16 พบว่าการเพิ่มร้อยละแอลฟาอะไมเลส และเวลาในการย่อย ต้องมีความเหมาะสม เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ดังนั้นจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM สภาวะในการย่อยที่เหมาะสม ควรใช้ปริมาณร้อยละของแอลฟาอะไมเลส ประมาณ 0.13 โดยมวล และเวลาในการย่อย 150 นาที



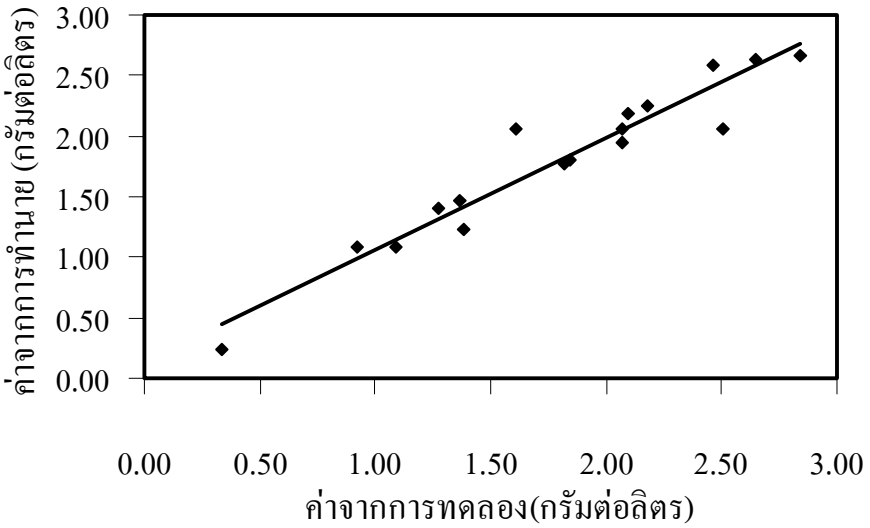
ภาพประกอบที่ 17 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยเมล็ดสดจากอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 150 นาที

ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลส และอุณหภูมิในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 17 พบว่าการเพิ่มร้อยละแอลฟาอะไมเลส และอุณหภูมิในการย่อย ต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ดังนั้นจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM สภาวะที่เหมาะสมในการย่อย ควรใช้ปริมาณของร้อยละแอลฟาอะไมเลส ประมาณ 0.13 โดยมวล และอุณหภูมิในการย่อย 90 องศาเซลเซียส

การหาค่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการย่อยสูงสุดขึ้นอยู่กับการกำหนดขอบเขตที่สนใจ แสดงดังตาราง ข-19 (ในภาคผนวก ข) พบว่าขอบเขตสภาวะที่ตั้งเหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสูงสุด ซึ่งแสดงผลด้วยค่าปริมาณรีดิวซ์ที่สูงสุด เมื่อใช้โปรแกรม Excel ภายใต้สมมุติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ ซึ่งผลการคำนวณของสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ในสภาวะการย่อย ที่ระยะเวลา 160 นาที อุณหภูมิ 90.9 องศาเซลเซียส และร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล สารที่ผ่านการย่อยจะได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 3.2 กรัมต่อลิตร

4.3.1.1.2 เมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

จากการทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอ-ติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ผลการทดลองแสดงเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ดังตาราง ข-21 (ในภาคผนวก ข) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลองที่สภาวะที่ 7 อุณหภูมิ 84 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อย 204 นาที และร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.17 โดยมวล ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 2.85 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนสด พบว่าอุณหภูมิที่ใช้จะน้อยกว่าเมล็ดสด เนื่องมาจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อน



ภาพประกอบที่ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกับค่าจากการทำนาย

$$Y = 15.03 - 0.03931\,X_1 - 0.262\,X_2 + 48.61\,X_3 + 0.0000428\,X_1^2 + 0.00114\,X_2^2 -$$

$$247.56\,X_3^2 + 0.000127\,X_1\,X_2 + 0.141\,X_1\,X_3 - 0.02434 X_2\,X_3 \qquad \text{(สมการ 6)}$$

เมื่อ Y คือ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

X_1 คือ เวลา (นาที)

X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

X_3 คือ ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)

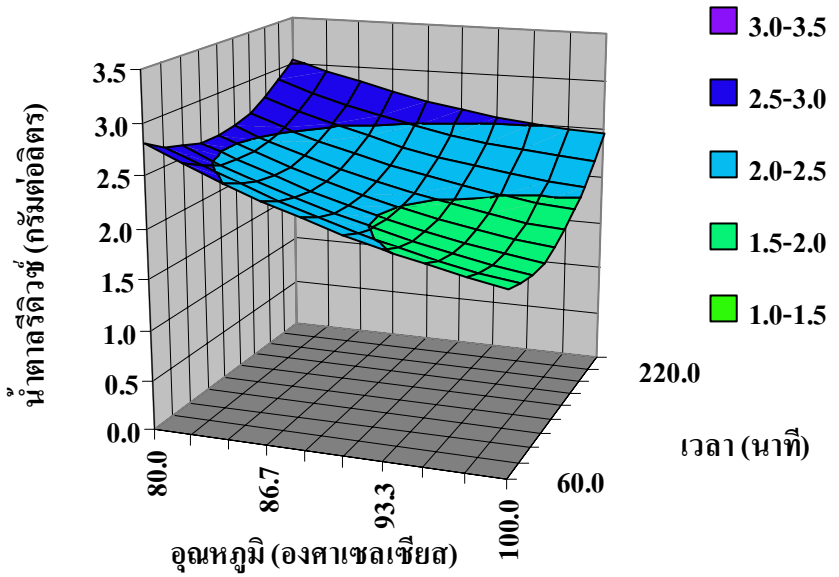
จากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.921 แสดงดังภาพประกอบที่ 18 และค่า Adjusted R^2 = 0.82 ซึ่งมีความน่าเชื่อถือของแบบจำลองส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆในสมการ 6

ตารางที่ 13 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้วด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

Term	*Coefficient*	*Value*	*Standard error*	*t-value*	*P-value*
ค่าคงที่	b0	15.03	20.78	0.723	0.4
เวลา	b1	-0.0393	0.030	-1.291	0.2
อุณหภูมิ	b2	-0.262	0.439	-0.596	0.5
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b3	48.61	36.56	1.330	0.2
เวลา X เวลา	b4	4.3E-05	0.000029	1.439	0.1
อุณหภูมิ X อุณหภูมิ	b5	0.0011	0.00241	0.474	0.6
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b6	-247.56	42.83	-5.78	0.0006*
เวลา X อุณหภูมิ	b7	0.0001	0.00031	0.398	0.7
เวลา X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b8	0.141	0.04238	3.325	0.01*
อุณหภูมิ X ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b9	-0.024	0.381	-0.063	0.9

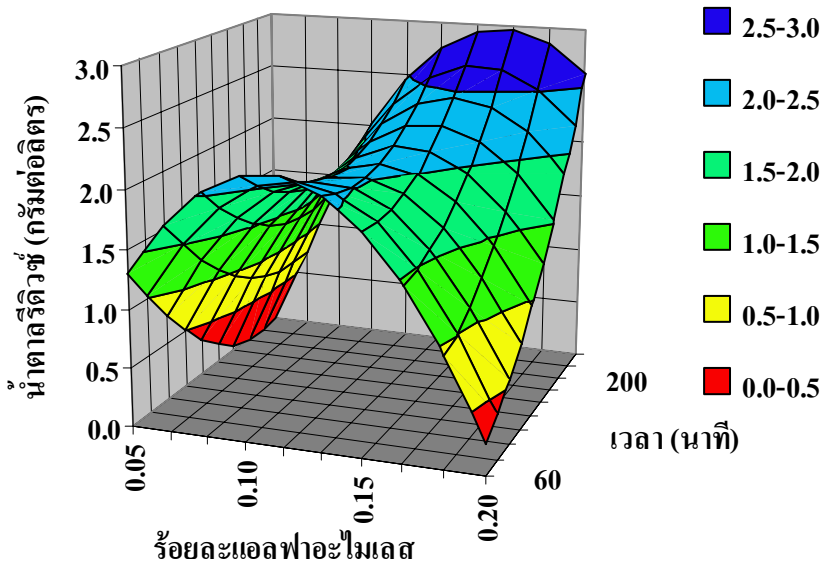
*ค่าที่ P value น้อยกว่า 0.05

การพิจารณาค่า P value ของตัวแปร พิจารณาตามความเหมาะสมของแบบจำลอง โดยเทอมที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์อย่างมีนัยสำคัญ จะมีค่า P value ต่ำกว่า 0.01 แสดงดังตารางที่ 13 ที่ได้พิจารณาค่าของแต่ละเทอม ค่า P value ยิ่งน้อย ตัวแปรนั้นจะมีอิทธิพลยิ่งมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยมากที่สุดจากแบบจำลอง คือ ร้อยละกลูโคสอะไมเลส ซึ่งเป็นแบบตัวแปรกำลังสอง ได้ค่า P value เท่ากับ 0.0006



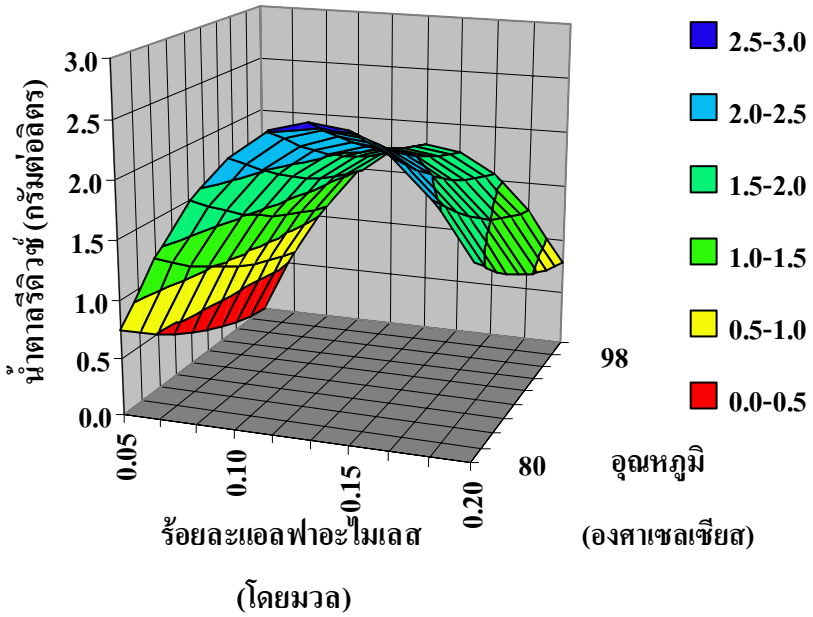
ภาพประกอบที่ 19 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 19 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งน้อยกว่าเมล็ดขนุนสดเพราะเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้วในระหว่างการสกัดสารพรีไบโอติกส์ และเมื่อพิจารณาการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยพบว่าระยะเวลามากสามารถทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย



ภาพประกอบที่ 20 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส

ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลส และระยะเวลาในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 20 พบว่าการเพิ่มร้อยละแอลฟาอะไมเลส ต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ส่วนการเพิ่มเวลาในการย่อยส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM ในสภาวะในการย่อยที่เหมะสม ควรใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลสประมาณ 0.13 โดยมวล และเวลาในการย่อย 220 นาที



ภาพประกอบที่ 21 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 150 นาที

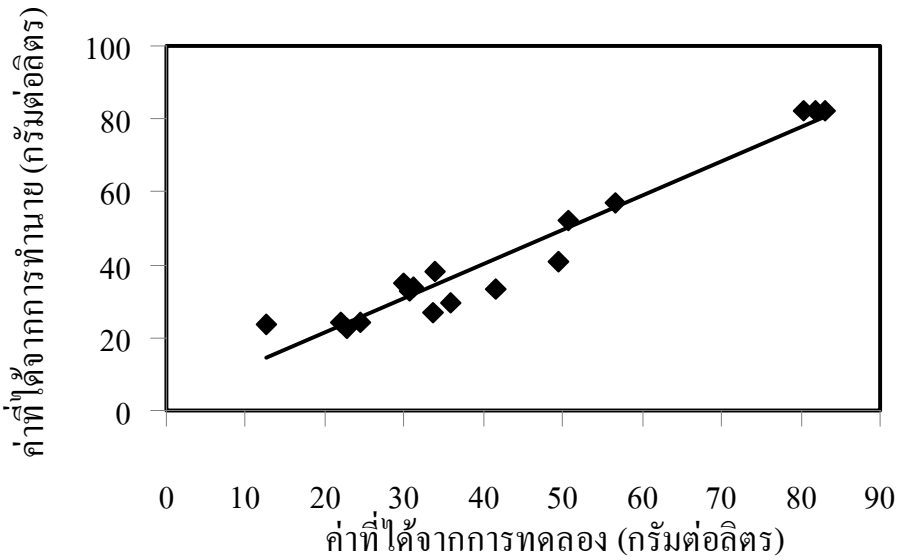
ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลส และอุณหภูมิในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 21 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยทำให้ปริมาณรีดิวซ์ลดลง และเมื่อพิจารณาร้อยละแอลฟาอะไมเลส พบว่าปริมาณเอนไซม์ต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะเป็นถ้าน้อยเกินไปเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพน้อยและถ้ามากเกินไปเอนไซม์จะเกิดการยับยั้งกันเอง ดังนั้นจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM จะได้สภาวะในการย่อย ซึ่งใช้เอนไซม์ร้อยละแอลฟาอะไมเลส ประมาณ 0.13-0.17 โดยมวล อุณหภูมิในการย่อย 80 นาที

สภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ในสภาวะการย่อยที่ ระยะเวลา 240 นาที อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และร้อยละแอลฟาอะเลส 0.17 โดยมวล สารที่ผ่านการย่อยจะได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 3.04 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนสดพบว่าปริมาณรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีค่าที่ใกล้เคียงกัน แต่สภาวะการย่อยจะมีความแตกต่างกัน

4.3.1.2 ผลของการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

4.3.1.2.1 เมล็ดขนุนสด

จากสภาวะ 4.3.1.1.1 ที่มีความเหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะ-ไมเลส แล้วนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสต่อ พบว่าผลการทดลองแสดงเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ดังตาราง ข-20 (ในภาคผนวก ข) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลองที่สภาวะ 4 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อย 360 นาที และร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 82.98 กรัมต่อลิตร



ภาพประกอบที่ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสกับค่าจากการทำนาย

$$Y = -1676.1 + 1.968\,X_1 + 48.11\,X_2 - 256.11\,X_3 - 0.000383\,X_1^2 - 0.453\,X_2^2 -$$

$$6972.5\,X_3^2 + 0.00916\,X_1\,X_2 + 20.69\,X_1\,X_3 + 1.762\,X_2\,X_3 \qquad \text{(สมการ 7)}$$

เมื่อ Y คือ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

X_1 คือ เวลา (นาที)

X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

X_3 คือ ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)

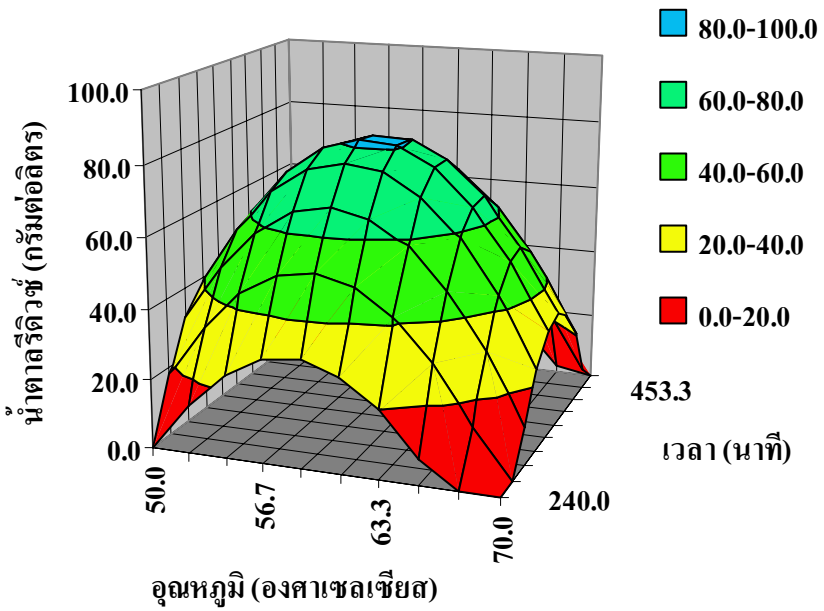
จากนั้นนำผลการทดลองไปวิเคราะห์ ANOVA พบว่าเมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.945 แสดงดังภาพประกอบที่ 22 และค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (Adjusted R^2 = 0.874) ซึ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของแบบจำลองส่วนค่า Adjusted R^2 หากมีค่าใกล้เคียงกับค่า R^2 แสดงว่าแต่ละตัวแปรในแบบจำลองที่ได้ล้วนส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆในสมการ 7

ตารางที่ 14 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

Term	*Coefficient*	*Value*	*Standard error*	*t-value*	*P-value*
ค่าคงที่	b0	-1676.1	309.72	-5.412	0.0009*
เวลา	b1	1.968	0.518	3.796	0.006*
อุณหภูมิ	b2	48.11	8.274	5.815	0.0006*
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b3	-256.11	752.42	-0.340	0.7
เวลา X เวลา	b4	-0.0038	0.00045	-8.464	0.00006*
อุณหภูมิ X อุณหภูมิ	b5	-0.453	0.06523	-6.947	0.0002*
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b6	-6972.5	1159.7	-6.012	0.0005*
เวลา X อุณหภูมิ	b7	0.0091	0.0064	1.419	0.1
เวลา X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b8	20.69	10.33	2.003	0.08
อุณหภูมิ X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b9	1.762	0.861	2.047	0.07

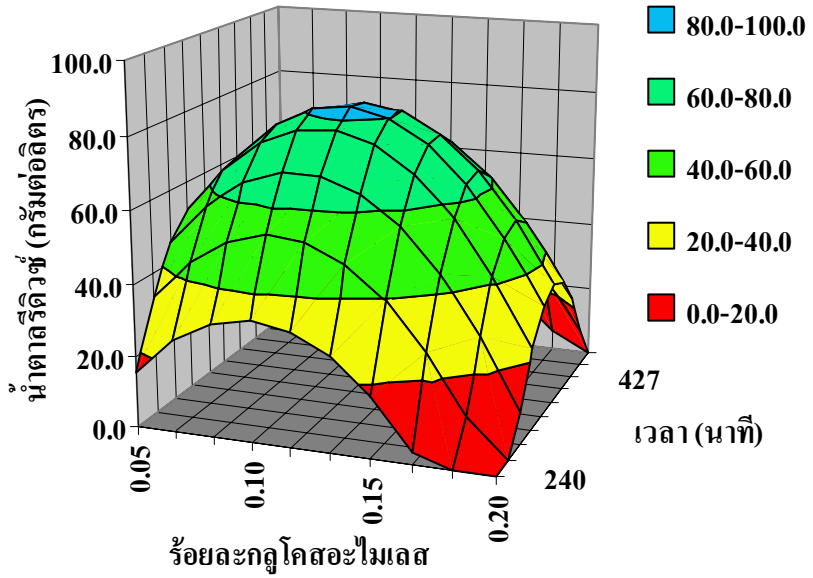
*ค่าที่ P value น้อยกว่า 0.05

การพิจารณาค่า P value ของตัวแปร โดยพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลอง เทอมที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเมล็ดขนุนสดอย่างมีนัยสำคัญ มีค่า P value ต่ำกว่า 0.01 แสดงดังตารางที่ 14 สามารถพิจารณาค่าของแต่ละเทอม ค่า P value ยิ่งน้อยตัวแปรนั้นจะมีอิทธิพลยิ่งมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยมากที่สุดจากแบบจำลอง คือ เวลาเป็นแบบตัวแปรกำลังสอง ได้ค่า P value เท่ากับ 0.00006



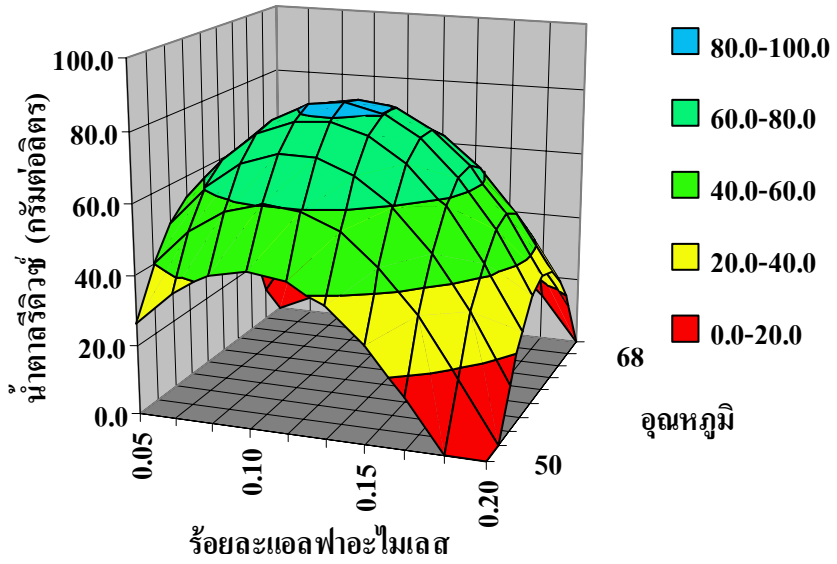
ภาพประกอบที่ 23 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยใช้ร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการย่อยเมล็ดขนุนสด แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 23 พบว่าอุณหภูมิในการย่อยต้องมีความเหมาะสม ไม่เช่นนั้นจะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมคือประมาณ 60 องศาเซลเซียส และเมื่อพิจารณาเพิ่มระยะเวลาในการย่อยพบว่า ระยะเวลาต้องมีความเหมาะสมเช่นเดียวกับอุณหภูมิ



ภาพประกอบที่ 24 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ผลของร้อยละกลูโคสอะไมเลส และระยะเวลาในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 24 พบว่าการเพิ่มร้อยละกลูโคสอะไมเลสต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ซึ่งจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM สภาวะในการย่อยที่เหมาะสม ควรใช้ร้อยละของกลูโคสอะไมเลส ประมาณ 0.13 โดยมวล และเวลาในการย่อย 360 นาที



ภาพประกอบที่ 25 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนสด ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 360 นาที

ผลของร้อยละของกลูโคสอะไมเลส และอุณหภูมิในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 25 พบว่าอุณหภูมิและปริมาณเอนไซม์ต้องมีความเหมาะสม เช่นเดียวกับภาพประกอบที่ 23 และ24

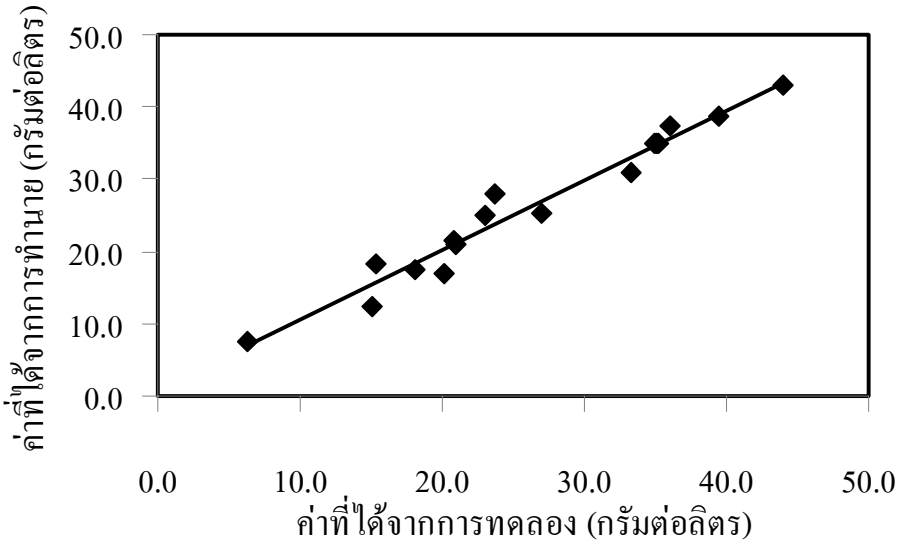
พบว่าสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ในสภาวะการย่อยที่ ระยะเวลา 360 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และร้อยละของกลูโคสอะไมเลส 0.13โดยมวล และสารที่ผ่านการย่อยจะได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 83.0 กรัมต่อลิตร

4.3.1.2.2 เมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

จากสภาวะ 4.3.1.1.2 ที่มีความเหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะ-ไมเลส แล้วนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส พบว่าผลการทดลองแสดงเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ดังตาราง ข-21 (ในภาคผนวก ข) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลองที่สภาวะ 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อย 360 นาที และ ร้อยละของกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 45.13 กรัมต่อลิตร

ภาพประกอบที่ 26 แสดงผลผลิตเมื่อผ่านกระบวนการย่อยต่างๆหลังเติมสารละลาย DNS (ภาพซ้ายผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคสอะไมเลส, ภาพขวาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส)

จากการสังเกตระหว่างการทดลองเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์เมื่อผ่านการย่อยจะมีสีน้ำตาลแต่เมื่อนำไปต้มแล้วเติมสารสารละลาย DNS เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบสีหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ต่างกันแสดงดังภาพประกอบที่ 26



ภาพประกอบที่ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจากการทดลองของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสกับค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression

$$Y = -164.51 + 0.101\,X_1 + 3.806\,X_2 + 1529.1\,X_3 - 0.000383\,X_1^2 - 0.04301\,X_2^2 -$$

$$3636.1\,X_3^2 + 0.00326\,X_1\,X_2 - 8.355\,X_1\,X_3 - 0.06601\,X_2\,X_3 \qquad \text{(สมการ 8)}$$

เมื่อ Y คือ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

X_1 คือ เวลา (นาที)

X_2 คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

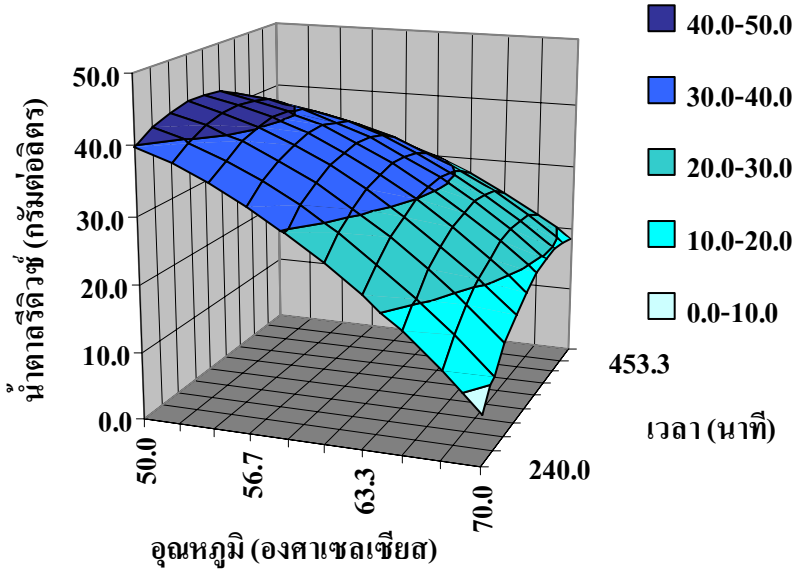
X_3 คือ ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)

จากนั้นนำผลการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ ANOVA ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ นำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังสมการ 8 แสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.963 แสดงดังภาพประกอบที่ 27 และค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (Adjusted R^2 = 0.916) ซึ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของแบบจำลองส่วนค่า Adjusted R^2 หากมีค่าใกล้เคียงกับค่า R^2 แสดงว่าแต่ละตัวแปรในแบบจำลองที่ได้ล้วนส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

ตารางที่ 15 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้วด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

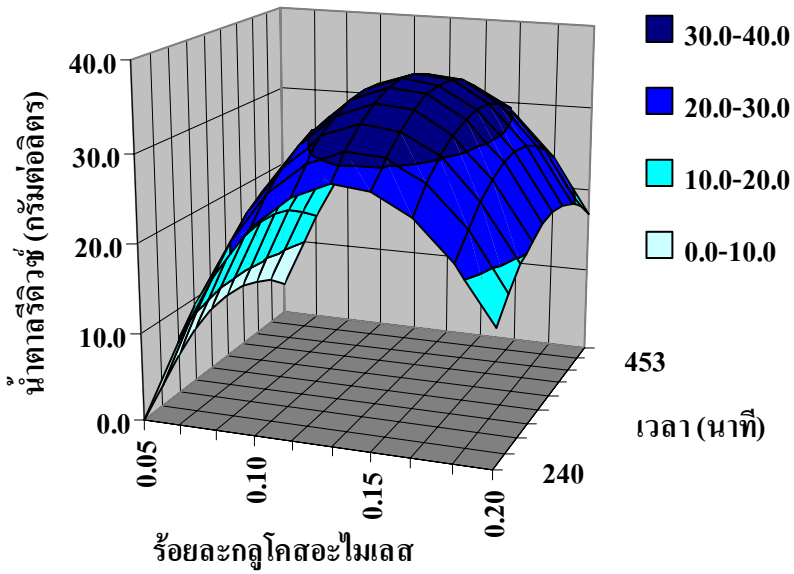
Term	*Coefficient*	*Value*	*Standard Error*	*t-value*	*P-value*
ค่าคงที่	b0	-164.51	118.96	-1.383	0.209
เวลา	b1	0.101	0.199	0.510	0.626
อุณหภูมิ	b2	3.806	3.178	1.198	0.270
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b3	1529.1	288.99	5.291	0.00113*
เวลา X เวลา	b4	-0.000383	0.000174	-2.202	0.05*
อุณหภูมิ X อุณหภูมิ	b5	-0.04301	0.02505	-1.717	0.130
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b6	-3636.7	445.42	-8.165	0.00008*
เวลา X อุณหภูมิ	b7	0.00326	0.00248	1.315	0.230
เวลา X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b8	-8.355	3.966	-2.107	0.05*
อุณหภูมิ X ร้อยละกลูโคสอะไมเลส	b9	-0.06601	0.331	-0.200	0.847

การพิจารณาค่า P value ของตัวแปร โดยพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลอง เทอมที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีค่า P value ต่ำกว่า 0.01 แสดงดังตารางที่ 15 สามารถพิจารณาค่าของแต่ละเทอม ซึ่งค่า P value ยิ่งน้อยตัวแปรนั้นจะมีอิทธิพลยิ่งมาก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยมากที่สุดจากแบบจำลอง คือ ร้อยละกลูโคสอะไมเลส เป็นแบบตัวแปรกำลังสอง ได้ค่า P value เท่ากับ 0.00008



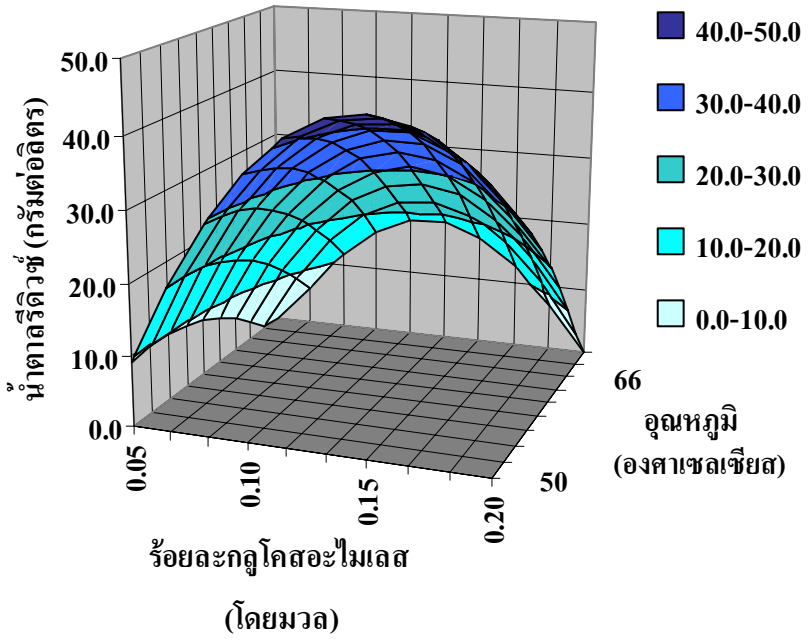
ภาพประกอบที่ 28 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลาและอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยใช้ร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการย่อยเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวแสดงดังภาพประกอบที่ 28 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งน้อยกว่าเมล็ดขนุนสดเพราะเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์แล้ว ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้วในระหว่างการสกัดสารพรีไบโอติกส์จึงถูกย่อยไปแล้วบางส่วน และเมื่อพิจารณาการเพิ่มระยะเวลาในการย่อยพบว่าระยะเวลามากสามารถทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย



ภาพประกอบที่ 29 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยอิทธิพลระหว่างเวลา และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ผลของร้อยละกลูโคสอะไมเลส และระยะเวลาในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 29 พบว่าการเพิ่มร้อยละกลูโคสอะไมเลสต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ซึ่งจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM พบว่าสภาวะในการย่อยที่เหมาะสม ควรใช้ร้อยละของกลูโคสอะไมเลส ประมาณ 0.13 โดยมวล และเวลาในการย่อย 373 นาที



ภาพประกอบที่ 30 กราฟพื้นผิวแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสารที่ผ่านการย่อยจากเมล็ดที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ด้วยอิทธิพลระหว่างอุณหภูมิ และร้อยละกลูโคสอะไมเลส ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 360 นาที

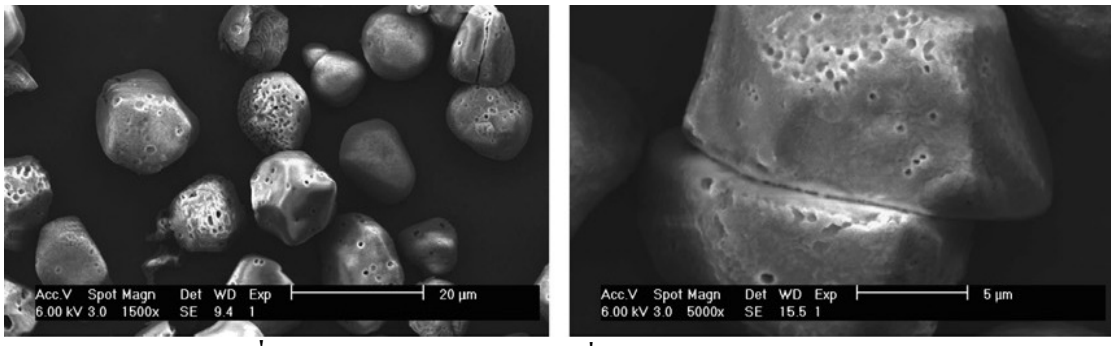
ผลของร้อยละกลูโคสอะไมเลส และอุณหภูมิในการย่อย แสดงในค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังกราฟพื้นผิวดังภาพประกอบที่ 30 พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง และเมื่อพิจารณาร้อยละกลูโคสอะไมเลส ต้องมีความเหมาะสมไม่น้อยหรือมากจนเกินไป เพราะถ้าใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยหรือมากเกินไปจะทำให้มีประสิทธิภาพน้อย ดังนั้นจากการทำนายด้วยเทคนิค RSM พบว่าสภาวะในการย่อยที่เหมาะสม ควรใช้ร้อยละของกลูโคสอะ-ไมเลส ประมาณ 0.13-0.17 โดยมวล และอุณหภูมิในการย่อย 50 องศาเซลเซียส

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยการออกแบบแบบ CCD คือ ในสภาวะการย่อยที่ ระยะเวลา 360 นาที อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล สารที่ผ่านการย่อยจะได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 35.13 กรัมต่อลิตร เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนสดพบว่าปริมาณรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสมีค่าที่สูงกว่าเพราะเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์แล้วได้ผ่านการให้ความร้อนมาแล้วในระหว่างการสกัด จึงถูกย่อยไปแล้วบางส่วน

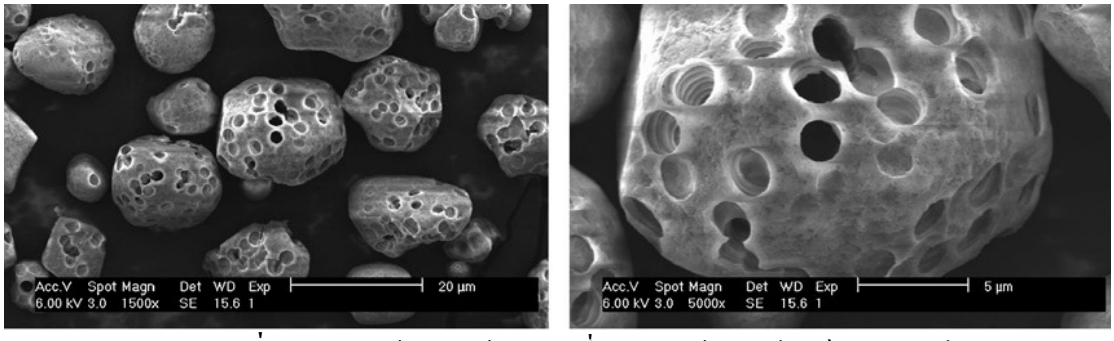
ตารางที่ 16 ร้อยละผลได้ของวัตถุดิบเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส

วัตถุดิบ	ร้อยละผลได้ของเอนไซม์		
	แอลฟาอะไมเลส	กลูโคสอะไมเลส	รวม
เมล็ดขนุนสด	7.00	34.84	41.84
เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	6.20	13.86	20.06

เมื่อพิจารณาถึงร้อยละผลได้จากกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ แสดงดังตารางที่ 16 ประสิทธิภาพในการย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลสสูงกว่าแอลฟาอะไมเลสซึ่งสูงเป็นสองเท่าซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Stephen และ Ya-Jane (2008) ได้ศึกษาการย่อยข้าวโพดและมันฝรั่งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะไมเลส พบว่าโครงสร้างของแป้งจะเปลี่ยนไปเมื่อถูกย่อยจะมีลักษณะเป็นรูที่ใหญ่ขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง (ภาพประกอบที่ 31 และภาพประกอบที่ 32)



ภาพประกอบที่ 31 โครงสร้างของข้าวโพด ซึ่งถูกย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 32 โครงสร้างของข้าวโพด ซึ่งถูกย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง

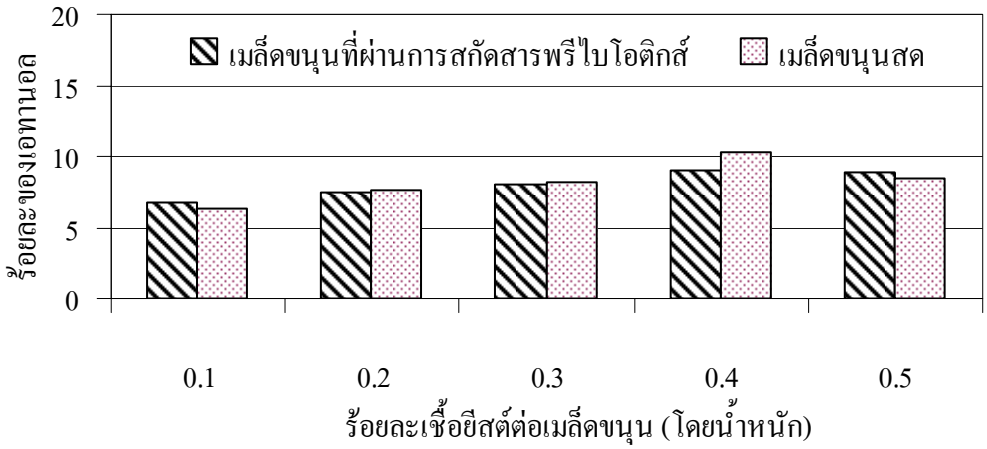
Soni และคณะ (2003) ได้ศึกษาสภาวะการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะไมเลส ค่าพีเอชแต่ละกระบวนการจะแตกต่างกัน ช่วงแรกย่อยด้วยแอลฟาอะไมเลส มีค่าพีเอช 6.0 และช่วงหลังย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลสมีค่าพีเอช 5.0 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังกล่าวถึงอุณหภูมิและเวลาในช่วงหลัง ซึ่งเป็นกระบวนการ Saccharification มีอุณหภูมิที่เหมาะสม เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าอุณหภูมิ ที่เหมาะสมในการย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลสเท่ากับงานวิจัยนี้ แต่ใช้เวลาที่มากกว่าการย่อยมากเมล็ดขนุน อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของข้าวโพดมีความแข็งแรงมากกว่าเลยต้องใช้เวลามากกว่า

บางงานวิจัย เช่นของ Anto และคณะ (2006) พบว่าอุณหภูมิของกระบวนการ Saccharification เท่ากับ 55 องศาเซลเซียส สำหรับ Srinorakutara และคณะ (2004) ได้ศึกษาได้ทำการไฮโดรไลซิสของเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก นำมาย่อยด้วยเอนไซม์ผสม Cellulase และ Pectinase ที่พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 28 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อด้วยแอลฟาอะไมเลส ที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสุดท้ายใช้กลูโคสอะไมเลส ที่พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงกว่าวิจัยนี้ทั้งสภาวะในการย่อยด้วยแอลฟาอะไมเลสและกลูโสอะไมเลส อาจเพราะแป้งมันสำปะหลังจุดเจลาติไนเซชั่นสูงกว่าเมล็ดขนุน จึงต้องให้ความร้อนที่มาก

4.3.2 การหมักเอทานอล

4.3.2.1 ผลของอัตราส่วนเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน

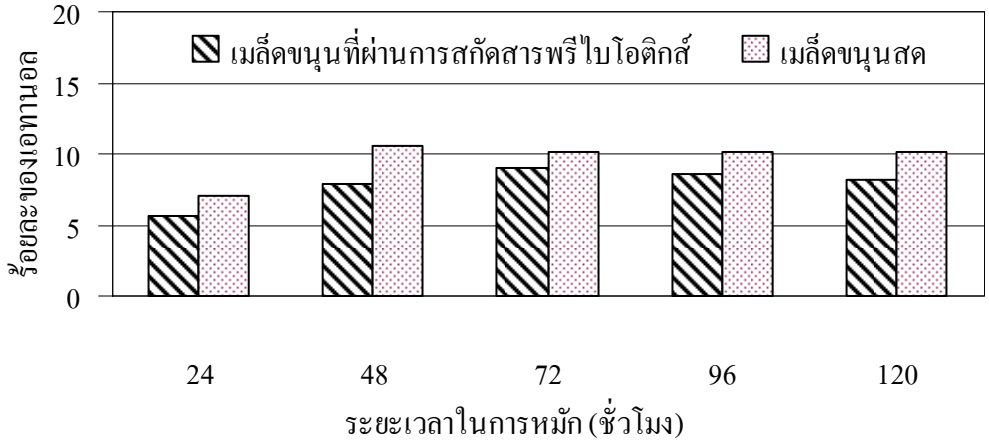
จากภาพประกอบที่ 33 พบว่าการใช้อัตราส่วนยีสต์ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จนถึงร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนัก ได้ค่าร้อยละของเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และลดลงหลังจากใช้ยีสต์ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก แสดงให้เห็นว่าเชื้อยีสต์ร้อยละ 0.1-0.3 โดยน้ำหนัก เป็นปริมาณที่น้อยเกินไปไม่เพียงพอต่อการหมัก และการลดลงของร้อยละของเอทานอลซึ่งอาจเกิดจากปริมาณเชื้อยีสต์ที่มากเกินไปทำให้เชื้อยับยั้งและขัดขว้างการผลิตเอทานอลกันเอง หรือในอีกแง่หนึ่งคือปริมาณน้ำตาลมีไม่เพียงพอ ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักคือ เชื้อยีสต์ร้อยละ 0.4 สำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ได้เอทานอลร้อยละ 8.95 โดยปริมาตร และสำหรับเมล็ดขนุนสด คือ เชื้อยีสต์ร้อยละ 0.4 ได้เอทานอลร้อยละ 10.24 โดยปริมาตร



ภาพประกอบที่ 33 ผลการศึกษาอัตราส่วนเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน เวลาหมัก 3 วัน อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 5.0

4.3.2.2 ผลของระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสม

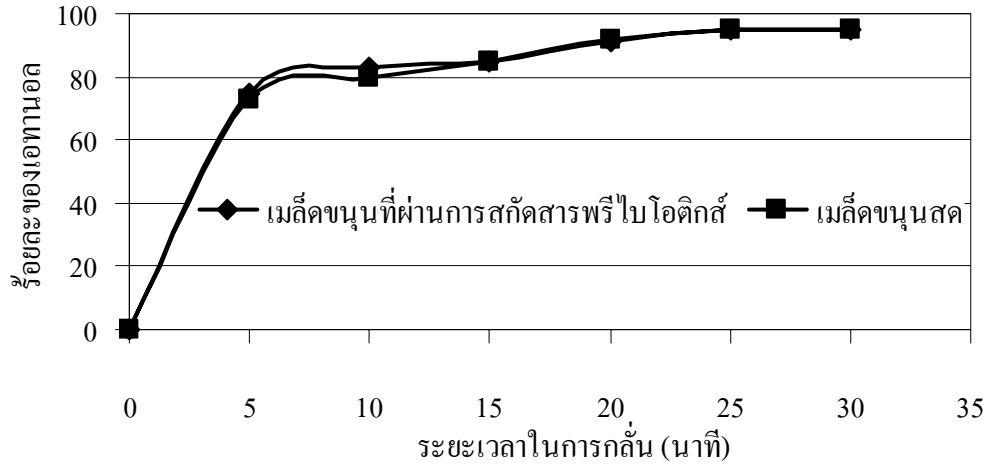
จากภาพประกอบที่ 34 พบว่าระยะเวลาในการหมักเมล็ดขนุนสดที่ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลมากที่สุดคือ 2 วัน ได้เอทานอลร้อยละ 10.50 โดยปริมาตร และระยะเวลาในการหมักเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลมากที่สุดคือ 3 วันได้เอทานอลร้อยละ 9.0 โดยปริมาตร จากการหมักถ้าใช้เวลาในการหมักมากเกินไปทำให้ปริมาณเอทานอลน้อยลง ซึ่งเกิดจากการตายหรือเกิดการกินเซลล์ยีสต์กันเอง



ภาพประกอบที่ 34 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมัก โดยอัตราส่วนร้อยละเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อเมล็ดขนุน 0.4 โดยน้ำหนัก อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิหมัก 30 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 5.0

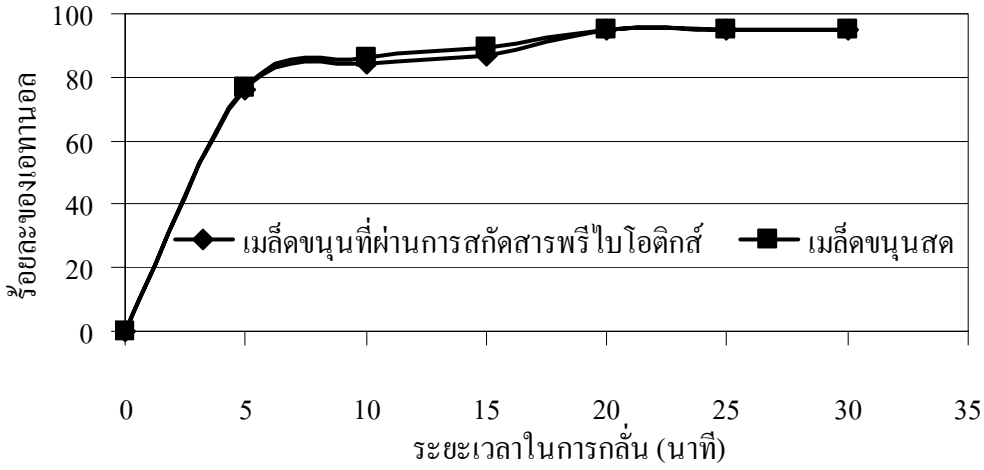
4.4. ผลของการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น

จากภาพประกอบที่ 35 พบว่าระยะเวลาในการกลั่นน้ำหมักที่ได้จากการใช้ลูกแป้งข้าวหมากโดยกำหนดอุณหภูมิของไอตรงทางออกก่อนการควบแน่นเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาในการกลั่นเพิ่มทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นด้วยแต่จะเริ่มคงที่เอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร เพราะถึงจุดอะซีโอโทรป (Azeotrope) คือจุดที่ไม่สามารถกำจัดออกน้ำออกจากเอทานอลได้มากกว่านี้ และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตหลังการกลั่นระหว่างน้ำหมักเมล็ดขนุนสดกับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก จะเห็นว่าเอทานอลที่กลั่นได้มีค่าไม่แตกต่างกัน และเวลาในการกลั่นควรใช้เวลา 25 นาทีถึงจะเหมาะสมที่สุด



ภาพประกอบที่ 35 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น ซึ่งหลังได้ผ่านการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก

จากภาพประกอบที่ 36 พบว่าระยะเวลาในการกลั่นน้ำหมักที่ได้จากการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เมื่อเวลาในการกลั่นเพิ่มทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นด้วยแต่จะเริ่มคงที่ ที่เอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร เช่นเดียวกับน้ำหมักที่ใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก เพราะถึงจุดอะซีโอโทรปของเอทานอลแล้ว และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตหลังการกลั่นระหว่างน้ำหมักเมล็ดขนุนสดกับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมัก จะเห็นว่าเอทานอลที่กลั่นได้มีค่าไม่แตกต่างกัน และเวลาในการกลั่นควรใช้เวลา 20 นาทีถึงจะเหมาะสมที่สุด

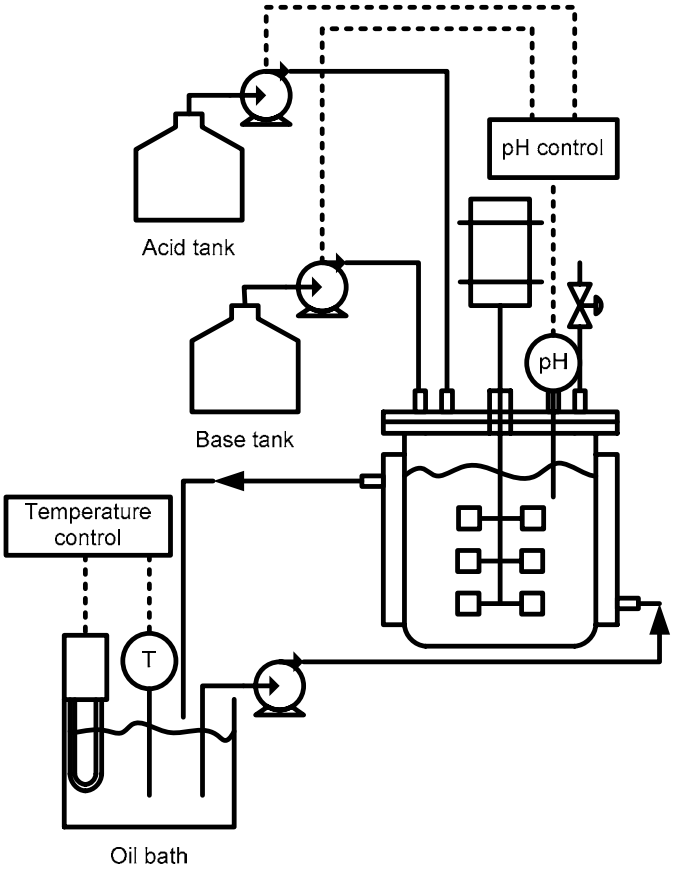


ภาพประกอบที่ 36 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น ซึ่งหลังได้ผ่านการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

4.5. สร้างชุดเครื่องมือสำหรับการหมักและการทำบริสุทธิ์เอทานอลในระดับโรงงานจำลอง

4.5.1 ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร

ระบบของถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร มีส่วนประกอบ ได้แก่ ตัวถัง, ชุดควบคุมพีเอช, ชุดควบคุมอุณหภูมิ, ชุดฝาถัง และ ชุดกวน ซึ่งแสดงดังภาพประกอบที่ 37 และภาพประกอบที่ 38 ส่วนรายละเอียดแต่ละส่วนประกอบแสดงดังภาพประกอบที่ 39-45



ภาพประกอบที่ 37 แผนภาพกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล

ภาพประกอบที่ 38 ชุดปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร

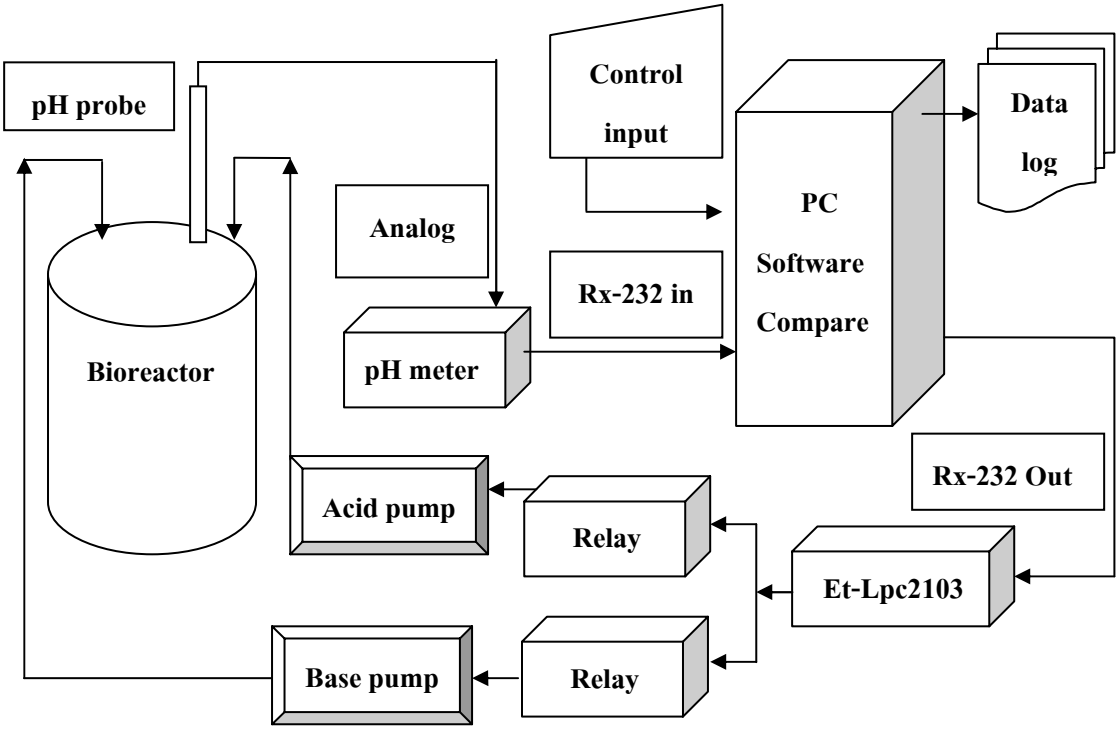
4.5.1.1 ตัวถัง

ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เป็นถังสำหรับหมักเพื่อผลิตเอทานอล ตัวถังทำมาจากแก้ว ความหนาของแก้ว 6 มิลลิเมตร มีสองชั้น ชั้นในไว้สำหรับหมัก ส่วนชั้นนอกจะมีน้ำไหลวนเพื่อเป็นตัวควบคุมอุณหภูมิ ถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเป็นระบบปิดเพื่อป้องกันไม่ให้อากาศเข้าไปในระบบ แต่แก๊สที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักสามารถ (ภาพประกอบที่ 39)

ภาพประกอบที่ 39 ตัวถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ขนาด 5 ลิตร

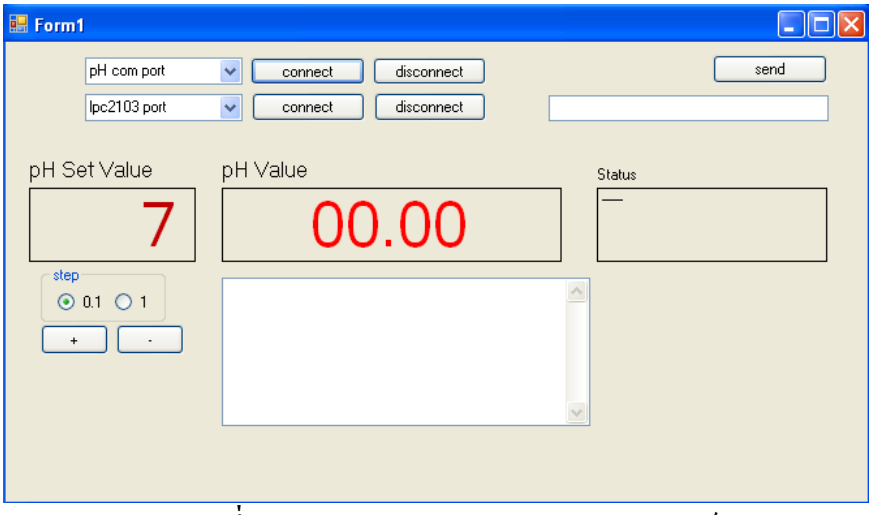
4.5.1.2 ชุดควบคุมพีเอช

ชุดควบคุมพีเอช จะประกอบด้วยหัววัดพีเอช, เครื่องวัดค่าพีเอช, เครื่องสั่งและปรับค่าพีเอช ซึ่งควบคุมโดยคอมพิวเตอร์, โปรแกรมเก็บข้อมูลค่าพีเอชโดยทำการเก็บค่าที่วัดได้ทุกๆ 1 วินาที เขียนจากโปรแกรม Visual basic, วงจรที่รับค่าแล้วมาควบคุมปั้มกรดและปั้มเบส (ภาพประกอบที่ 40-42)



ภาพประกอบที่ 40 แผนภาพชุดควบคุมพีเอชของตัวปฏิกรณ์ชีวภาพ

ภาพประกอบที่ 41 ชุดควบคุมพีเอชของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ



ภาพประกอบที่ 42 โปรแกรมควบคุมพีเอชของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.5.1.3 ชุดควบคุมอุณหภูมิ

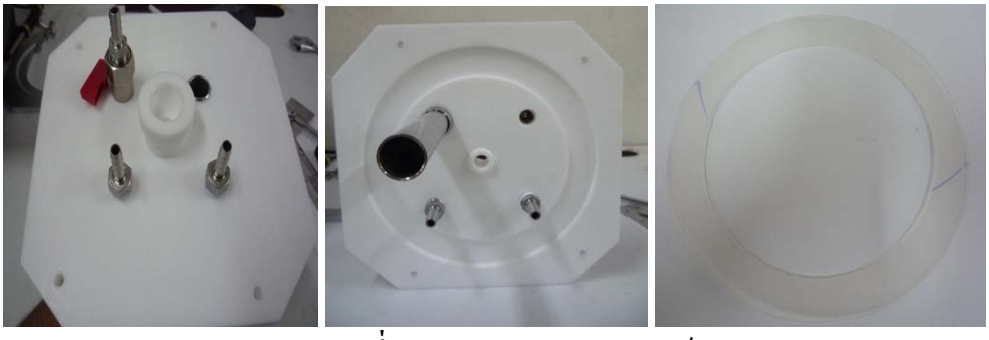
ชุดควบคุมอุณหภูมิจะประกอบด้วยหัววัดอุณหภูมิ, ถังน้ำ, ตัวควบคุมอุณหภูมิ และปั๊มน้ำ (ภาพประกอบที่ 43) ซึ่งหัววัดอุณหภูมิจะวัดอุณหภูมิภายในถังน้ำ ถังน้ำทำจากสแตนเลสมีความจุ 30 ลิตร โดยมีปั๊มดูดน้ำจากถังน้ำเข้าสู่โถแก้วชั้นนอกของ Bioreactor ภายในถังน้ำจะมีขดลวดให้ความร้อนขนาด 1 กิโลวัตต์ ติดตั้ง พร้อมด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ

ภาพประกอบที่ 43 ชุดควบคุมอุณหภูมิของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.5.1.4 ชุดฝาถัง

ชุดฝาถัง จะประกอบด้วยฝาถังที่มีการเจาะช่องจะมีทั้งหมด 5 ช่อง ซึ่งมีขนาดที่ต่างกัน ช่องแรกจะใส่วาล์วสำหรับปล่อยก๊าซที่เกิดจากการหมักออกจากระบบ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 มิลลิเมตร ช่องที่สองเป็นที่ใส่หัววัดค่าพีเอชจะมีลักษณะเป็นท่อสแตนเลสเส้นผ่านศูนย์กลาง 16

มิลลิเมตร ยาว 140 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันการกระแทกระหว่างใบกวนกับหัววัดพีเอช ช่องที่สามและช่องที่สี่เป็นที่ใส่หางปลาไหลเพื่อทำการต่อกับท่อสายยางสำหรับป้อนกรดและเบสเพื่อปรับค่าพีเอช ช่องที่ห้าเป็นที่ใส่ใบกวนและตัวกันอากาศ และอีกส่วนหนึ่งที่สำคัญ คือแผ่นยางใส่ (O-ring) ซึ่งรองระหว่างตัวถังกับฝาถังเพื่อป้องกันอากาศเข้าและออกในตัวถัง (ภาพประกอบที่ 44)



ภาพประกอบที่ 44 ชุดฝาถังของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.5.1.5 ชุดกวน

ชุดกวน จะประกอบด้วยใบกวน, แกนหนุนใบกวน, มอเตอร์ที่ขับเคลื่อนใบกวน และตัวควบคุมความเร็วรอบในการกวน มีรายละเอียดดังนี้ (ภาพประกอบที่ 45)

ใบกวนเป็นแบบ Blade impeller ทำจากสแตนเลส มี 3 State สามารถปรับระยะได้ ใบกวนยาว 500 มิลลิเมตร ด้านปลายบนของใบกวนจะเคลือบด้วยพลาสติกเพื่อลดการเสียดสีระหว่างฝาถังกับใบกวน

แกนหนุนใบกวน เพื่อลดแรงเหวี่ยงของมอเตอร์ จะประกอบด้วยเหล็กตัน และสายไฮโดร-ลิก ซึ่งเหล็กตันมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร ยาว 100 มิลลิเมตร ไว้สำหรับต่อกับมอเตอร์กวน ส่วนสายไฮโดรริกมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 มิลลิเมตร ยาว 100 มิลลิเมตร ไว้สำหรับต่อกับใบกวน

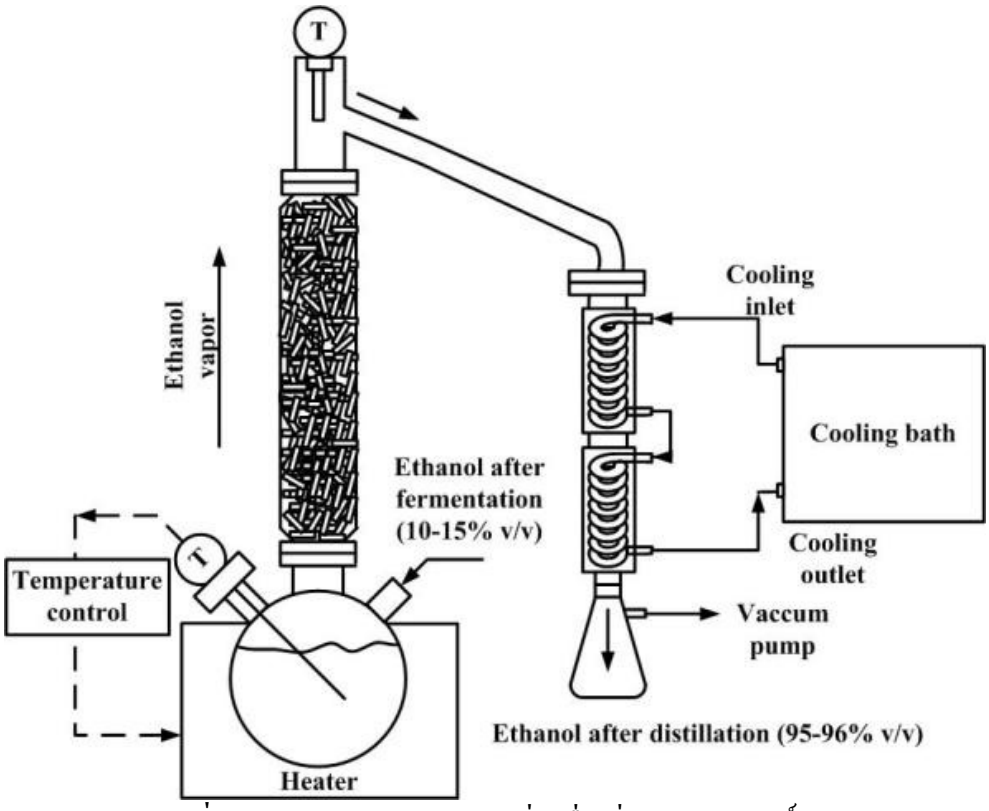
มอเตอร์ที่ขับเคลื่อนใบกวน ยี่ห้อ Guiseley ชนิด GL 71-4B กำลังไฟฟ้า 0.37 กิโลวัตต์ สามารถใช้ความเร็วรอบได้มากสุด 1600 รอบต่อนาที

เครื่องปรับความเร็วรอบของมอเตอร์กวน ยี่ห้อ Topvert ชนิด E1 กำลังไฟฟ้า 0.75 กิโลวัตต์

ภาพประกอบที่ 45 ชุดกวนของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

4.5.2 ชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร

ระบบของเครื่องกลั่นขนาด 5 ลิตร มีส่วนประกอบ ได้แก่ คอลัมน์ของหอกลั่น, ชุดควบแน่น, หม้อต้มและชุดควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งแสดงดังภาพประกอบที่ 46-47 และรายละเอียดแต่ละส่วนประกอบแสดงดังภาพประกอบที่ 48-51



ภาพประกอบที่ 46 แผนภาพกระบวนการกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์ของเอทานอล

ภาพประกอบที่ 47 ชุดเครื่องกลั่นความจุ 5 ลิตร

4.5.2.1 คอลัมน์ของหอกลั่น

คอลัมน์ของหอกลั่น เป็นแบบ Packing ซึ่งเป็นท่อแก้วขนาด 0.5 นิ้ว และขนาด 1 นิ้ว บรรจุภายในคอลัมน์จำนวน 550 อัน คอลัมน์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 มิลลิเมตร สูง 600 มิลลิเมตร (ภาพประกอบที่ 48)

ภาพประกอบที่ 48 คอลัมน์ของเครื่องกลั่นเอทานอล

4.5.2.2 ชุดควบแน่น

เครื่องควบแน่นจะประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ ตัวให้ความเย็น และคอนเดนเซอร์ ตัวให้ความเย็นมีขนาด 70 ลิตร สามารถปรับอุณหภูมิของน้ำหล่อเย็นได้ถึง 0 องศาเซลเซียส คอนเดนเซอร์ไส้เกลียว (Condenser with Coiled Inner Tube) ขนาด 300 มิลลิเมตร มีสองตัว เพื่อแลกเปลี่ยนความร้อน ทำให้ไอของเอทานอลควบแน่นกลายเป็นของเหลว (ภาพประกอบที่ 49)

ภาพประกอบที่ 49 ชุดควบแน่นของเครื่องกลั่นเอทานอล

4.5.2.3 หม้อต้มและชุดควบคุมอุณหภูมิ

หม้อต้มมีลักษณะเป็นแก้วกลม ขนาด 5 ลิตร ตัวให้ความร้อนแก่หม้อ คือ Heating Mantles รุ่น E107 กำลังไฟฟ้าที่ใช้ 800 วัตต์ สามารถให้ความร้อนได้ถึง 400 องศาเซลเซียส และตัวควบคุมอุณหภูมิเป็นยี่ห้อของ DIGICON รุ่นMD-400N (ภาพประกอบที่ 50)

ภาพประกอบที่ 50 หม้อต้ม และชุดควบคุมอุณหภูมิของเครื่องกลั่นเอทานอล

4.6. ทดลองใช้ชุดเครื่องมือที่สร้างขึ้น พร้อมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติที่จำเป็นต่างๆ ของผลผลิต

4.6.1 การทดลองใช้ชุดถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

4.6.1.1 เชื้อผสมของยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

เมล็ดขนุนสดนำไปหมักกับลูกแป้งข้าวหมาก โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็ก สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 11.9 โดยปริมาตร จากการสังเกตระหว่างการทดลองพบว่าค่าพีเอชจะลดลงเร็วกว่าชุดทดลองขนาดเล็ก ดังนั้นระหว่างชุดทดลองขนาดโรงงานจำลองจะมีการปรับค่าพีเอชด้วยสารเคมีเพื่อให้ค่าพีเอชคงที่ที่ 5.0 ก๊าซที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักจะเกิดปริมาณมากขึ้นโดยสังเกตจากฟองก๊าซจำเป็นต้องมีการปล่อยก๊าซที่เกิดขึ้นทุกวัน วันละ 5 นาที เพื่อให้ก๊าซที่เกิดขึ้นไม่รบกวนต่อการผลิตเอทานอล ส่วนความเร็วรอบในการกวน จะใช้ความเร็วที่ 120 รอบต่อนาที และอัตราการไหลของน้ำวนเท่ากับ 9 ลิตรต่อนาที ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์นำไปหมักกับลูกแป้งข้าวหมาก โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็ก สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 16.0 โดยปริมาตร เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เมล็ดขนุนสดเป็นวัตถุดิบ พบว่าจะได้ผลผลิตเอทานอลมากกว่าเมล็ดขนุนสดเช่นเดียวกับชุดทดลองขนาดเล็ก

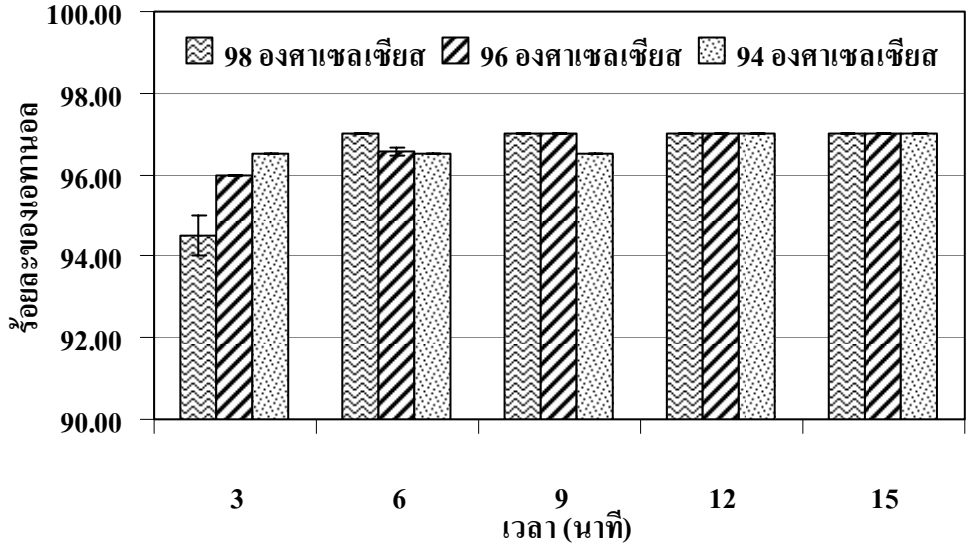
4.6.1.2 เชื้อยีสต์บริสุทธิ์

เมล็ดขนุนสดนำไปหมักกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็ก สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 10.5 โดยปริมาตร และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์นำไปหมักกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากชุดทดลองขนาดเล็ก สามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 9.0 โดยปริมาตร พบว่าจะได้ผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับชุดทดลองขนาดเล็ก

และเมื่อไปเปรียบเทียบชนิดของยีสต์ที่นำมาศึกษา เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ค่าร้อยละเอทานอลที่น้อยว่าเชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก อาจเนื่องมาจากเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอลมีขีดจำกัดการทนต่อร้อยละเอทานอลได้ประมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตร

4.6.2 การทดลองใช้ชุดเครื่องกลั่นผลผลิตเอทานอล ขนาด 5 ลิตร

จากการกลั่นสภาวะบรรยากาศโดยมี ขนาด Packing 1 นิ้ว โดยความสูงคอลัมน์ 50 เซนติเมตร อัตราการไหลของน้ำหล่อเย็นเพื่อทำหน้าที่ควบแน่นไอของเอทานอลเท่ากับ 5 ลิตรต่อนาที สภาวะที่ทำการศึกษาคือ อุณหภูมิภายในหม้อต้ม 94, 96 และ 98 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 นาที ในช่วงเวลา 3-6 นาที ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส จะให้ร้อยละเอทานอลน้อยกว่าอุณหภูมิ 94, 96 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเวลาผ่านไป 9-15 นาที จะให้ร้อยละเอทานอลมากกว่าอุณหภูมิ 94, 96 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ความบริสุทธิ์เอทานอลมากที่สุดถึง ร้อยละ 97 โดยปริมาตร และเมื่อพิจารณาระหว่างอุณหภูมิ 94 กับ 96 องศาเซลเซียส พบว่าให้ความบริสุทธิ์เอทานอล ณ เวลาต่างๆ ร้อยละ 94-97 โดยปริมาตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน (ภาพประกอบที่ 51) แต่เมื่อพิจารณาถึงการกลั่นปริมาณมากๆ ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสมที่สุด เพราะค่าความร้อนในการให้กับระบบน้อยที่สุด



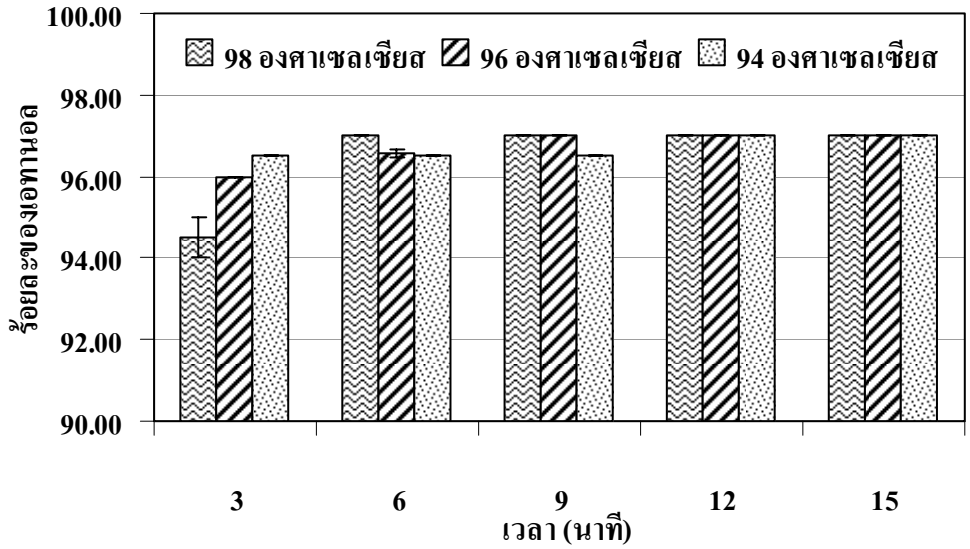
ภาพประกอบที่ 51 ผลการศึกษาของอุณหภูมิในการกลั่นเอทานอล ณ เวลาต่างๆที่ Packing 1 นิ้ว

ตารางที่ 17 แสดงร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆจากการกลั่นที่ Packing 1 นิ้ว

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละผลได้
94	68.0
96	70.0
98	76.3

จากการกลั่นจะให้ร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังตารางที่ 17 จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส ให้ร้อยละผลได้มากที่สุดถึงร้อยละ 76.3

ทดลองลดขนาด Packing เป็น 0.5 นิ้ว เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวการสัมผัส จากการกลั่นสภาวะบรรยากาศโดยขนาด Packing 0.5 นิ้ว โดยความสูงคอลัมน์ 50 เซนติเมตร สภาวะที่ทำการศึกษาคืออุณหภูมิภายในหม้อต้ม 94, 96 และ 98 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 นาที ในช่วงเวลา 3-6 นาที ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส จะให้ร้อยละเอทานอลน้อยกว่าอุณหภูมิ 94, 96 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเวลาผ่านไป 9-15 นาที จะให้ร้อยละเอทานอลที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 94, 96 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ความบริสุทธิ์เอทานอลมากที่สุดถึง ร้อยละ 97 โดยปริมาตร แต่เมื่อพิจารณาถึงการกลั่นปริมาณมากๆ ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุด เพราะค่าความร้อนในการให้กับระบบน้อยที่สุด (ภาพประกอบที่ 52)



ภาพประกอบที่ 52 ผลการศึกษาของอุณหภูมิในการกลั่นเอทานอล ณ เวลาต่างๆที่ขนาด Packing 0.5 นิ้ว

ตารางที่ 18 แสดงร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆจากการกลั่นที่ขนาด Packing 0.5 นิ้ว

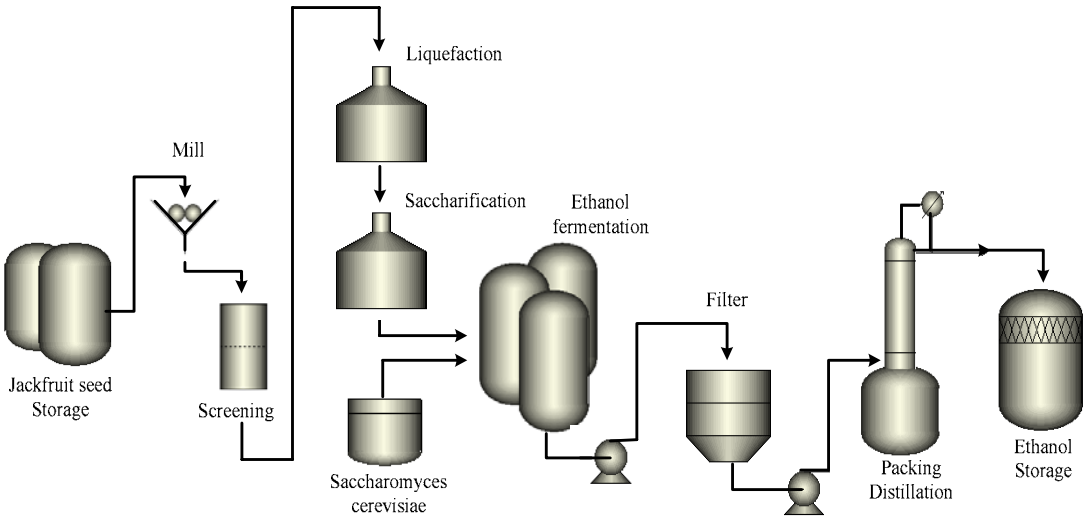
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละผลได้
94	82.3
96	82.1
98	82.3

จากการกลั่นจะให้ร้อยละผลได้ ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังตารางที่ 18 จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิทั้งสาม มีค่าร้อยละผลได้ที่ได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าร้อยละผลได้ประมาณ 82

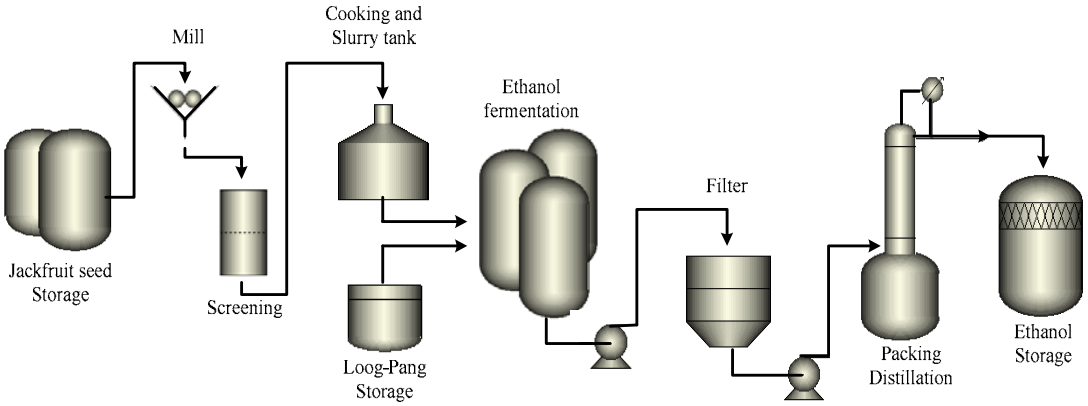
เมื่อเปรียบเทียบระหว่างขนาดของแพ็คคอลัมน์ จะเห็นได้ว่าขนาด Packing จะให้ร้อยละเอทานอลที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาร้อยละผลได้เมื่อใช้ขนาด Packing 0.5 นิ้ว จะสูงกว่าขนาด Packing 1 นิ้ว เพราะขนาด Packing 0.5 นิ้ว มีพื้นที่ในการสัมผัสกับมากกว่าที่ขนาด Packing 1 นิ้ว

4.7. การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ เพื่อเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่เหมาะสมที่สุด

กระบวนการผลิตเอทานอล ประกอบด้วย กระบวนการเตรียมวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล กระบวนการหมัก การแยกผลิตภัณฑ์เอทานอล และการทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบนั้น ถ้าเป็นประเภทแป้งหรือเซลลูโลส เช่น มันสำปะหลัง และธัญพืช จะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยแป้ง หรือ เซลลูโลส ให้เป็นน้ำตาลก่อน ด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ ส่วนวัตถุดิบประเภทน้ำตาลเช่น กากน้ำตาลหรือน้ำอ้อย เมื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมแล้วสามารถนำไปหมักได้ในกระบวนการหมัก จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองแบบ แบบแรกคือ กระบวนการผลิตเอทานอลเป็นจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์และราจากลูกแป้งข้าวหมาก และแบบที่สองคือ กระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แสดงดังภาพประกอบที่ 53 และภาพประกอบที่ 54 ตามลำดับ ส่วนสภาวะในการผลิตเอทานอลแต่ละกระบวนแสดงดังตารางที่ 20-23



ภาพประกอบที่ 53 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*



ภาพประกอบที่ 54 แผนภาพกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

กระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะประกอบด้วยกระบวนการหลักๆ ดังนี้

1. การรับซื้อวัตถุดิบ จะมีการรับซื้อเมล็ดขนุนจากเกษตรกร
2. กระบวนการบด เพื่อให้เมล็ดขนุนมีขนาดเล็กลง และเหมาะสมในการผลิตเอทานอล ซึ่งเมล็ดขนุนบดควรมีขนาด 1 มิลลิเมตร
3. กระบวนการลิควิดแฟคชั่น เป็นกระบวนการเตรียมโมเลกุลของแป้งให้พร้อมที่จะถูกย่อยเป็นน้ำตาล
4. กระบวนการแซคคาริฟิเคชั่น เป็นกระบวนการปรับปรุงโมเลกุลของแป้งกลายเป็นน้ำตาล ซึ่งพร้อมที่จะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลต่อไปโดยกระบวนการเมตาบอลิ-ซึมของยีสต์
5. กระบวนการหมัก จะหมักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งมีระบบควบคุมอุณหภูมิ, พีเอช และอัตราการกวน
6. กระบวนการแยก โดยให้เครื่องแยกของแข็งออกจากของเหลว ซึ่งเอทานอลที่ผลิตได้จะอยู่ในชั้นของเหลว
7. กระบวนการเพิ่มความบริสุทธิ์ จะเพิ่มความบริสุทธิ์ด้วยการกลั่น

กระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมจากลูกแป้งข้าวหมาก จะประกอบด้วยกระบวนการหลักคล้ายกับการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แตกต่างกันในกระบวนการลิควิดแฟคชั่น และกระบวนการแซคคาริฟิเคชั่น จะเป็นการต้มแทน เพราะกระบวนการลิควิดแฟคชั่น และกระบวนการแซคคาริฟิเคชั่น เป็นกระบวนการย่อย แต่การใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ไม่จำเป็นต้องย่อยด้วยเอนไซม์ เพราะในตัวของลูกแป้งข้าวหมากมีราที่สามารถย่อยได้อยู่แล้ว และขั้นตอนการรับซื้อ กระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อยีสต์และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก จะต้องซื้อวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของลูกแป้งข้าวหมากด้วย ส่วนผสมของลูกแป้งข้าวหมากแสดงในตารางที่ 19 จะเห็นได้ว่าราคาของลูกแป้งข้าวหมากประมาณ 30 บาท/กิโลกรัม ถ้าเราผลิตลูกแป้งข้าวหมากเองได้ในราคาประมาณ 30 บาทต่อกิโลกรัม สามารถช่วยลดต้นทุนอีกประการหนึ่งได้

ตารางที่ 19 ส่วนผสมและราคาต้นทุนของลูกแป้งข้าวหมาก

วัตถุดิบ	ปริมาณ (กรัม)	ราคา (บาท/กิโลกรัม)	คิดเป็นเงิน (บาท)
กระเทียม	15	15	0.22
ชะเอม	15	12	0.18
หัวขิง	15	50	0.75
หัวข่า	15	40	0.60
แป้งข้าวเจ้า	1,500	28	42.0
ดีปลี	3.3	80	0.26
พริกไทย	3.3	20	0.06
รวม	1566.6	245	44.07

ตารางที่ 20 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

กระบวนการ	การควบคุม
1.วัตถุดิบ	เมล็ดขนุนสด
2.การเตรียมก่อนการหมัก	
การบด	บดแบบหยาบ และบดละเอียด ให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร
กระบวนการย่อยแบบลิควิดแฟคชั่น (Liquefaction)	
สาร	แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	90 องศาเซลเซียส
พีเอช	6.0
เวลา	160 นาที
กระบวนการย่อยแบบแซคคาริฟิเคชั่น (Saccharification)	
สาร	กลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	60 องศาเซลเซียส
พีเอช	4.0
เวลา	360 นาที
3.กระบวนการหมัก	
สาร	เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	30 องศาเซลเซียส
พีเอช	5.5
เวลา	48 ชั่วโมง
ร้อยละเอทานอล	10.5 โดยปริมาตร
4.กระบวนการกลั่น	
ชนิด	แบบแพ็ค คอลัมน์
ร้อยละเอทานอล	95 โดยปริมาตร
เวลา	15 นาที
อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 21 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

กระบวนการ	การควบคุม
1.วัตถุดิบ	เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์
2.การเตรียมก่อนการหมัก	
กระบวนการย่อยแบบลิควิดแฟคชั่น (Liquefaction)	
สาร	แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.17 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	80 องศาเซลเซียส
พีเอช	6.0
เวลา	240 นาที
กระบวนการย่อยแบบแซคคาริฟิเคชั่น (Saccharification)	
สาร	กลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	50 องศาเซลเซียส
พีเอช	4.0
เวลา	360 นาที
3.กระบวนการหมัก	
สาร	เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	30 องศาเซลเซียส
พีเอช	5.5
เวลา	72 ชั่วโมง
ร้อยละเอทานอล	9 โดยปริมาตร
4.กระบวนการกลั่น	
ชนิด	แบบแพ็ค คอลัมน์
ร้อยละเอทานอล	95 โดยปริมาตร
เวลา	15 นาที
อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 22 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

กระบวนการ	การควบคุม
1.วัตถุดิบ	เมล็ดขนุนสด
2.การเตรียมก่อนการหมัก	
การบด	บดแบบหยาบ และบดละเอียด ให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร
การต้ม	
อุณหภูมิ	85 องศาเซลเซียส
เวลา	15 นาที
3.กระบวนการหมัก	
สาร	เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	30 องศาเซลเซียส
พีเอช	5.0
เวลา	96 ชั่วโมง
ร้อยละเอทานอล	11.9 โดยปริมาตร
4.กระบวนการกลั่น	
ชนิด	แบบแพ็ค คอลัมน์
ร้อยละเอทานอล	95 โดยปริมาตร
เวลา	15 นาที
อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 23 ข้อมูลหลักในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

กระบวนการ	การควบคุม
1.วัตถุดิบ	เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์
2.การเตรียมก่อนการหมัก	
การต้ม	
อุณหภูมิ	90 องศาเซลเซียส
เวลา	15 นาที
3.กระบวนการหมัก	
สาร	เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมากร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก
อุณหภูมิ	30 องศาเซลเซียส
พีเอช	5.0
เวลา	144 ชั่วโมง
ร้อยละเอทานอล	16.0 โดยปริมาตร
4.กระบวนการกลั่น	
ชนิด	แบบแพ็ค คอลัมน์
ร้อยละเอทานอล	95 โดยปริมาตร
เวลา	15 นาที
อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส

4.7.1 การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ของกระบวนการผลิตเอทานอลขนาดโรงงานจำลอง

การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์ของกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงนั้น จำเป็นต้องทราบรายละเอียดของแต่ละกระบวนการผลิตได้แก่ ปริมาณที่ใช้แต่ละกระบวนการ, เวลาที่ใช้ และราคาต่อหน่วยของวัตถุดิบ เพื่อคำนวณค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร ซึ่งไม่รวมค่าแรงในการผลิต และค่าบำรุงรักษาเครื่องจักร ซึ่งแสดงดังตารางที่ 24-27 โดยนำค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตไปเปรียบเทียบกับค่าราคาเอทานอลที่ขายได้ ซึ่งคิดจากปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้หลังการกลั่นคูณด้วยราคาขายของเอทานอล ในที่นี้จะคิดราคาขายของเอทานอล 30 บาทต่อลิตร และอีกประการหนึ่งคือ ร้อยละผลได้ของแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนแสดงดังภาพประกอบที่ 55-58 ซึ่งแสดงถึงปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ และประสิทธิภาพของแต่ละกระบวนการในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน

ราคาต่อหน่วยของวัตถุดิบได้แก่ ค่าไฟฟ้าที่ใช้จะคิดที่ 1.8 บาทต่อยูนิต สำหรับการใช้ไฟฟ้าเพื่อประกอบธุรกิจขนาดเล็ก (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2554)

ค่าน้ำที่ใช้จะคิดที่ 1.02 บาทต่อลิตร สำหรับการใช้เพื่อประกอบธุรกิจขนาดเล็ก (การประปาส่วนภูมิภาค, 2554)

จากตารางที่ 20 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร พบว่าค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตมีราคา 38.83 บาท ซึ่งแพงกว่าราคาเอทานอลที่ขายได้ 8.7 บาท ดังนั้นกระบวนการผลิตที่ไม่ควรลงทุน หรืออาจจะต้องปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อให้กระบวนการนี้เป็นไปได้ในการลงทุน ในที่นี้คือค่าไฟฟ้าที่เกิดจากการกวนในระหว่างการหมัก ซึ่งในกระบวนนี้จะกวน 8 ชั่วโมงต่อวัน ก็ยังมีค่าใช้จ่ายจากส่วนนี้มากกว่าค่าอื่นๆ อาจจะต้องปรับลดระยะเวลากวนในระหว่างการหมัก

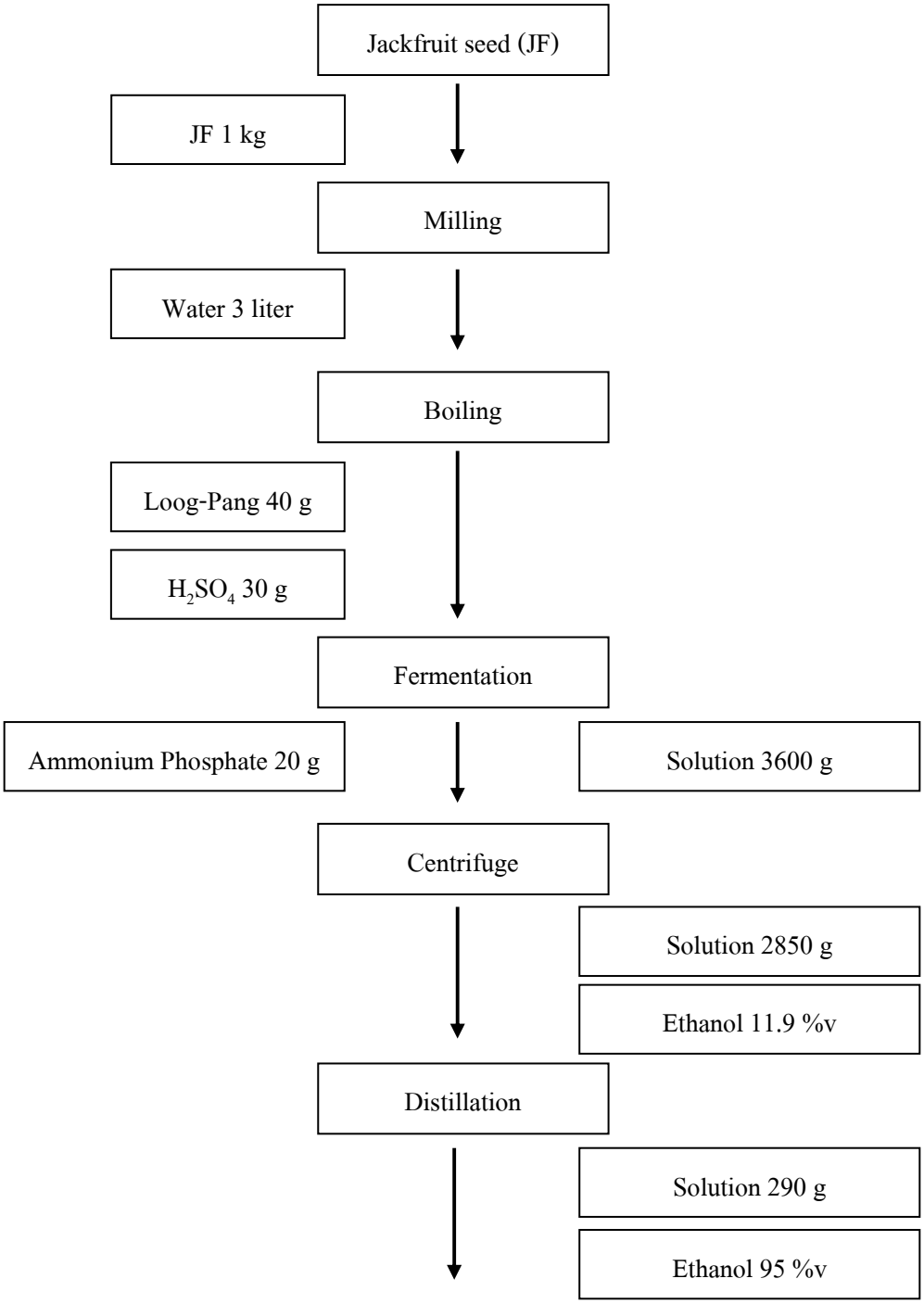
ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร (ตารางที่ 21) ก็มีค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตมีราคาที่แพงกว่าราคาเอทานอลที่ขายได้ ดังนั้นจะต้องปรับปรุงกระบวนการผลิตเช่นเดียวกันในกระบวนการผลิตเอทานอลที่ใช้เมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

จากตารางที่ 22 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร มีค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตมีราคาที่แพงกว่าราคาเอทานอลที่ขายได้ จะต้องปรับปรุงกระบวนการผลิตในกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งใช้ปริมาณความร้อนที่สูงและ

ระยะเวลานาน อาจจะต้องใช้ Boiler ในการผลิตไอน้ำเพื่อให้ความร้อนแก่ระบบ สามารถช่วยลดค่าใช้จากส่วนนี้ได้

ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร (ตารางที่ 23) มีค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตมีราคาที่แพงกว่าราคาเอทานอลที่ขายได้จะต้องปรับปรุงกระบวนการผลิตเช่นเดียวกันกับกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมัก

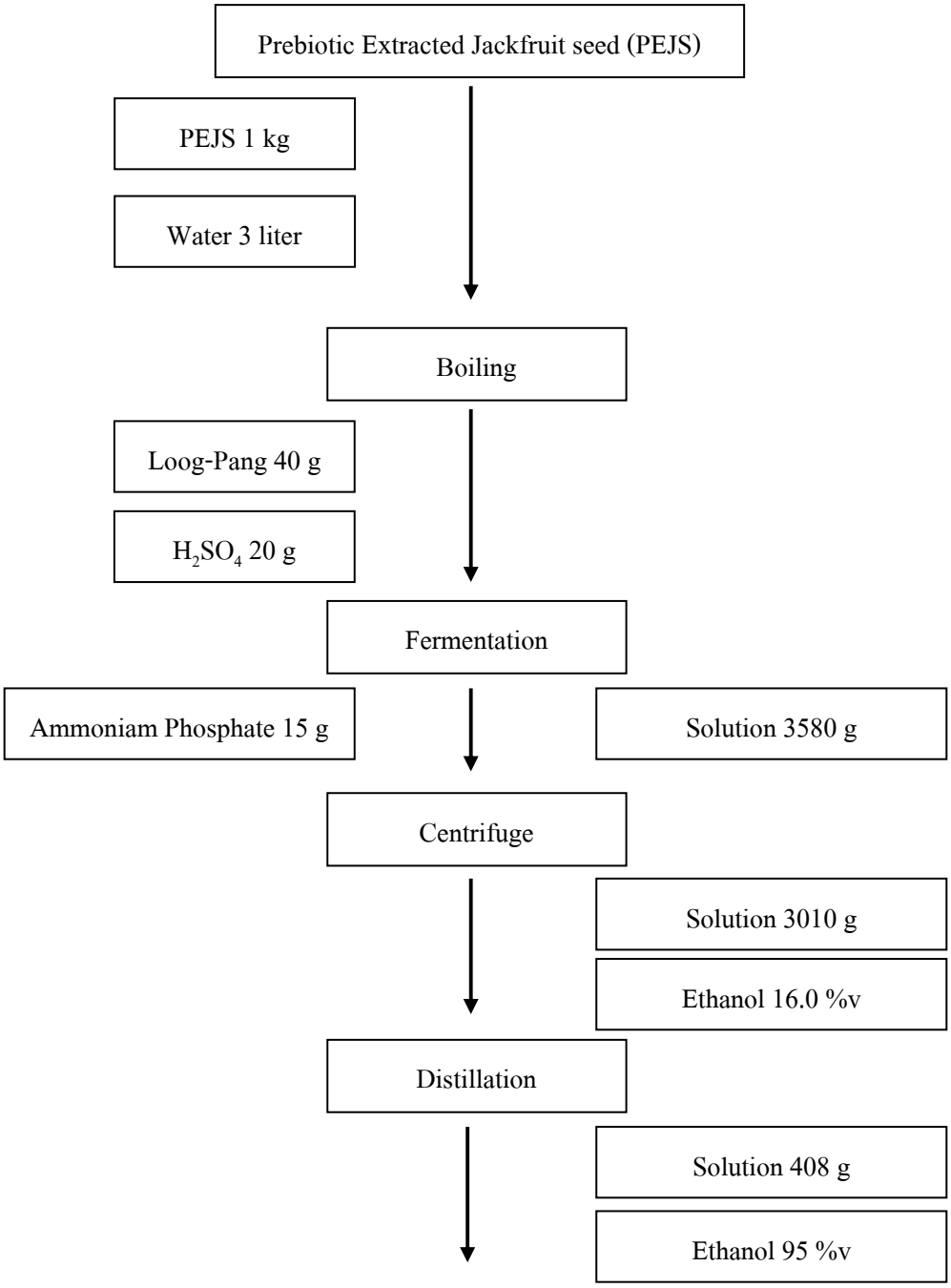
สรุปกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร จะต้องมีการปรับปรุงระบบเพื่อให้คุ้มกับการลงทุน และสามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ในอนาคต การปรับปรุงระบบนี้อาจรวมไปถึงการขยายกำลังการผลิตเพื่อลดต้นทุนในการผลิต



ภาพประกอบที่ 55 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 24 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

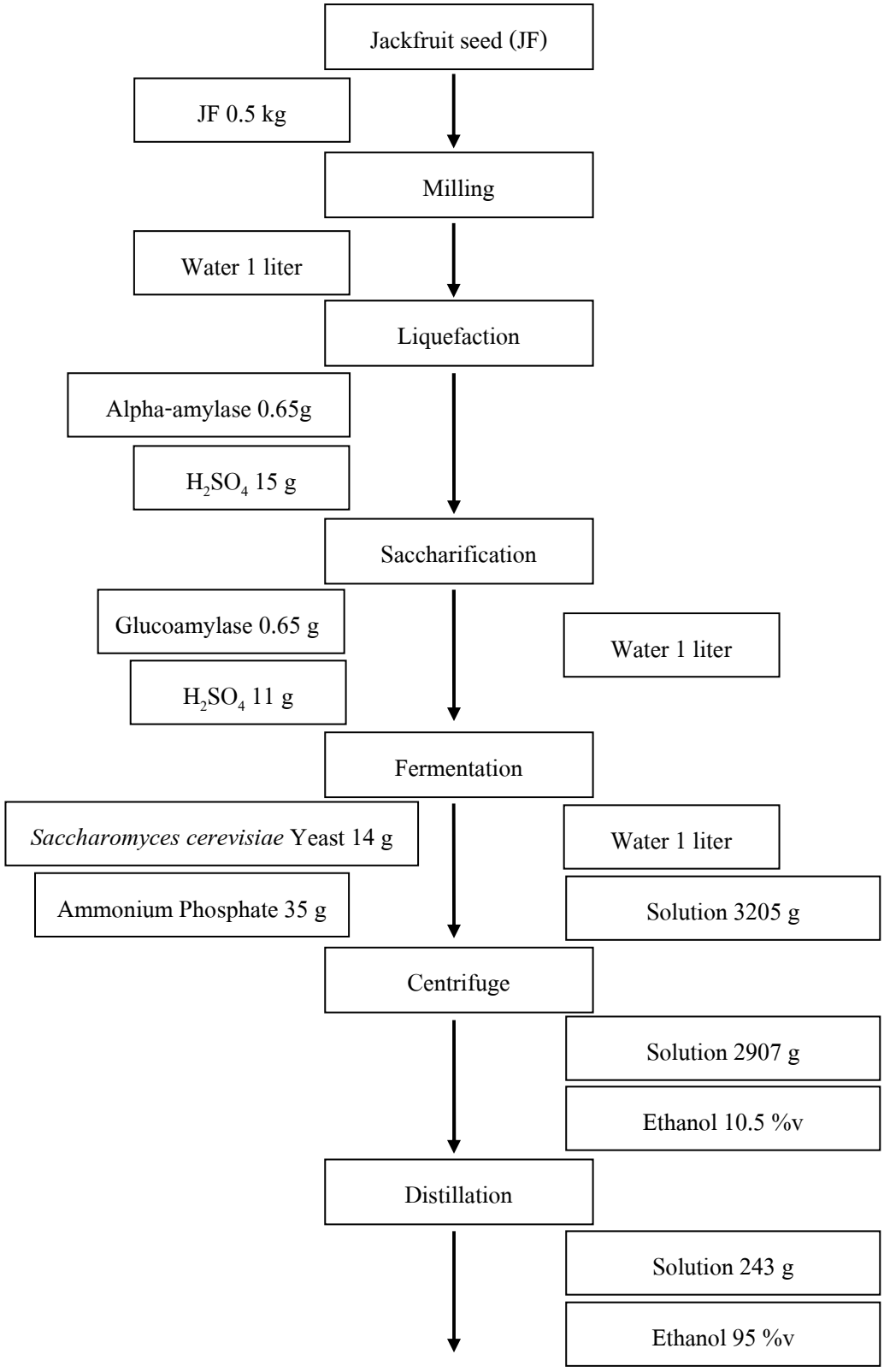
Item	Unit	Quantity	Time	Baht
Jackfruit seed	10 Baht/kg	1 kg	-	10.00
Miller	1.8 Baht/unit	0.746 kW	3 min	0.07
Water supply	1.020 Baht/liter	3 liter	-	3.06
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	15 min	0.34
Pump	1.8 Baht/unit	0.5 kW	15 min	0.34
Loog-Pang	30 Baht/kg	40 g	-	1.20
Sulfuric acid	35 Baht/liter	30 g	-	1.05
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	20 g	-	0.72
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	32 h	21.31
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	3.3 h	0.39
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	15 min	0.36
Operating Cost (Baht)				38.83
Product Cost (Baht)				8.7



ภาพประกอบที่ 56 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 25 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร

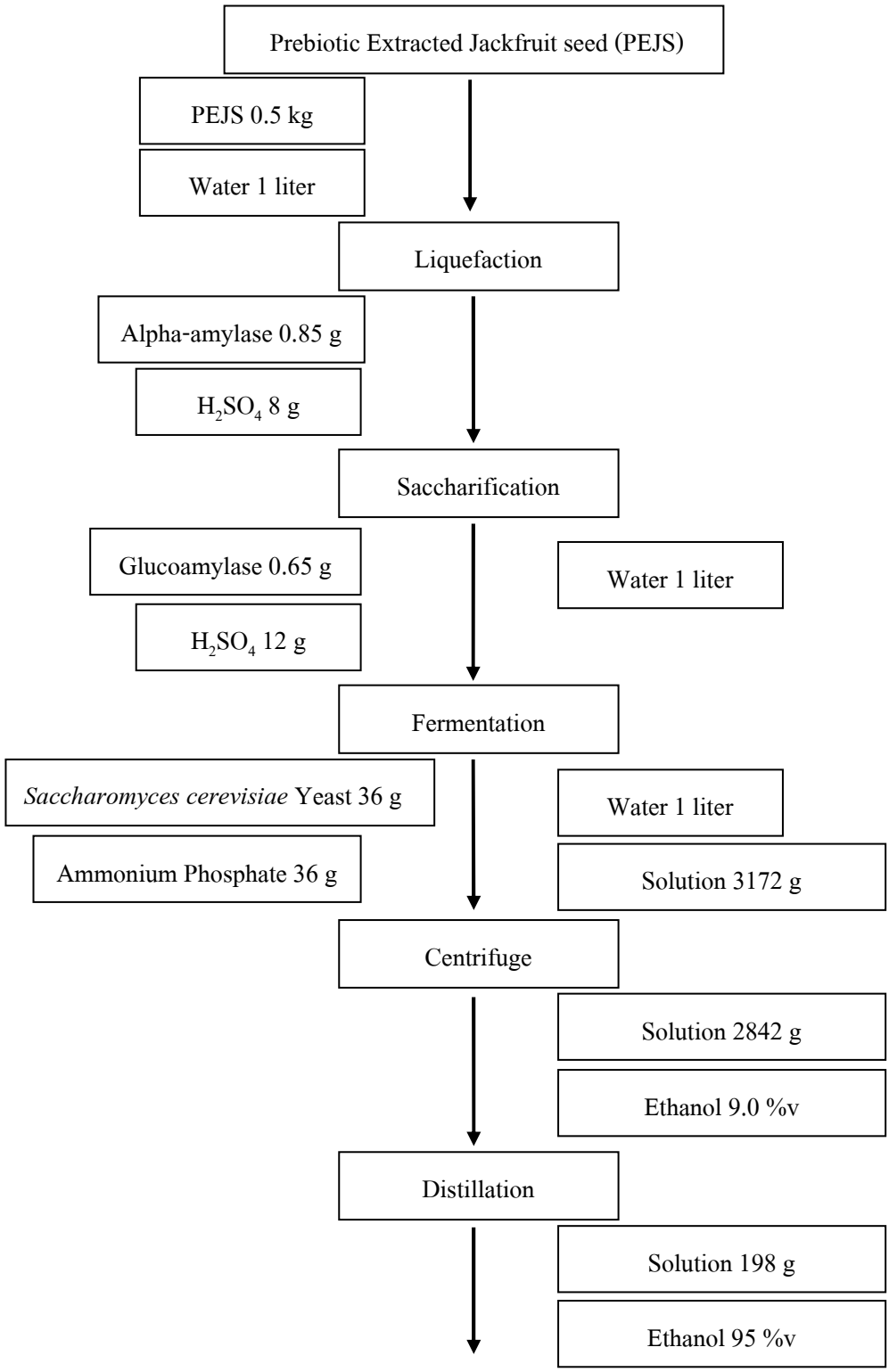
Item	Unit	Quantity	Time	Baht
PEJS	0 Baht/kg	1 kg	-	0
Water supply	1.020 Baht/liter	3 liter	-	3.06
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	15 min	0.337
Pump	1.8 Baht/unit	0.5 kW	15 min	0.337
Loog-Pang	30 Baht/kg	40 g	-	1.2
Sulfuric acid	35 Baht/liter	20 g	-	0.7
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	15 g	-	0.54
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	48 h	31.968
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	3.3 h	0.3861
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	15 min	0.36
Operating Cost (Baht)				38.89
Product Cost (Baht)				12.2



ภาพประกอบที่ 57 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 26 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

Item	Unit	Quantity	Time	Baht
Jackfruit seed	10 Baht/kg	0.5 kg	-	5.00
Miller	1.8 Baht/unit	0.746 kW	3 min	0.07
Water supply	1.020 Baht/liter	3.0 liter	-	3.06
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	8.5 h	15.30
Alpha-amylase	200 Baht/kg	0.65 g	-	0.13
Glucoamylase	250 Baht/kg	0.65 g	-	0.16
Yeast	250 Baht/kg	14 g	-	3.50
Sulfuric acid	35 Baht/liter	26 g	-	0.91
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	35 g	-	1.26
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	16 h	10.66
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	3.3 h	0.39
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	15 min	0.36
Operating Cost (Baht)				40.79
Product Cost (Baht)				7.29



ภาพประกอบที่ 58 แผนภาพแสดงแต่ละกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 27 ค่าใช้จ่ายในการผลิตและปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร

Item	Unit	Quantity	Time	Baht
PEJS	0 Baht/kg	0.5 kg	-	0.00
Water supply	1.020 Baht/liter	3.0 liter	-	3.06
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	10 h	18.00
Alpha-amylase	200 Baht/kg	0.85 g	-	0.17
Glucoamylase	250 Baht/kg	0.65 g	-	0.16
Yeast	250 Baht/kg	14 g	-	3.50
Sulfuric acid	35 Baht/liter	20 g	-	0.70
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	36 g	-	1.30
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	24 h	15.98
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	3.3 h	0.39
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	15 min	0.36
Operating Cost (Baht)				43.62
Product Cost (Baht)				5.94

จากตารางที่ 28 แสดงการเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆซึ่งหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าจากถ้าเมล็ดขนุน 1 ตัน สามารถผลิตได้มากกว่าวัตถุดิบอื่นๆ อาจเนื่องจากเมล็ดขนุนมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต และปริมาณน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณที่มากจึงสามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณที่มากกว่าวัตถุดิบอื่นๆ

ตารางที่ 29 แสดงการเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ได้ปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อตันมากกว่าเนื่องมาจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์สามารถถูกย่อยได้ง่ายซึ่งเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ได้ผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้วในการระหว่างการสกัดสารพรีไบโอติกส์ และเมื่อเปรียบเทียบกระบวนการต่างๆพบว่ากระบวนที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะให้ปริมาณเอทานอลที่มากกว่ากระบวนที่ไม่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 28 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆซึ่งหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

วัตถุดิบ	ผลผลิต (ลิตร/ตัน)	อ้างอิง
เมล็ดขนุนสด	486	ในงานวิจัยนี้
เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	396	ในงานวิจัยนี้
มันสำปะหลัง	160	(Suthamma, 2007)
ข้าวโพด	375	(Suthamma, 2007)
ข้าว	375	(Suthamma, 2007)
อ้อย	70	(Suthamma, 2007)
กากน้ำตาล	240	(Suthamma, 2007)

ตารางที่ 29 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆซึ่งหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

วัตถุดิบ	ผลผลิต (ลิตร/ตัน)	อ้างอิง
เมล็ดขนุนสด	290	ในงานวิจัยนี้
เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	408	ในงานวิจัยนี้

4.7.2 การขยายกำลังการผลิตเอทานอล

เป็นที่ทราบกันดีว่าประเทศไทยยังเป็นผู้นำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงเป็นหลัก หากมีการพัฒนาในเรื่องของพลังงานทดแทนอย่างต่อเนื่อง และให้มีประสิทธิภาพโดยการผลักดันจากทางภาครัฐอย่างจริงจังในการพัฒนาพลังงานทดแทน เอทานอลก็เป็นทางเลือกหนึ่งที่นิยมมาเป็นทางเลือกประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีพืชพันธุ์ทางการเกษตรหลากหลาย จึงมีความได้เปรียบทางวัตถุดิบเพื่ออุตสาหกรรมเอทานอลให้เกิดการขยายตัวอย่างกว้างขวาง งานวิจัยนี้ได้นำเมล็ดขนุนเป็นวัตถุดิบ 1 กิโลกรัม ใช้กับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร ปริมาตรในการดำเนิน 4 ลิตร จากงานวิจัยนี้ได้นำค่าต่างๆมาวิเคราะห์เป็นฐานข้อมูลเพื่อที่จะขยายกำลังการผลิตเอทานอล ประการแรกพิจารณาการเพิ่มวัตถุดิบเป็น 2,500 กิโลกรัม ซึ่งมีความเป็นไปได้จากข้อมูลการปลูกขนุนทั่วประเทศ ประการที่สองพิจารณาเรื่องเครื่องจักรต่างๆที่เกี่ยวกับการผลิตเอทานอล ในที่นี้จะใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 3,300 ลิตร จำนวนสี่ถัง ระบบของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 3,300 ลิตร ปริมาตรในการดำเนิน 2,500 ลิตร รวมปริมาตรในการดำเนินการ 10,000 ลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ 52 นิ้ว ความสูงของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ 104.6 นิ้ว มีใบพัดกวนแบบ Impeller จำนวน 2 State ขนาดของใบพัด 26 นิ้ว ซึ่งใช้กำลังของมอเตอร์ 5 แรงม้า และประการที่สามคือ ค่าอื่นๆในการสร้างโรงงานเพื่อผลิตเอทานอล ได้แก่ ค่าระบบท่อ ค่าติดตั้งอุปกรณ์ ค่าการจัดการสิ่งแวดล้อม และค่าที่ดิน ซึ่งแสดงดังภาพประกอบที่ 59 จากหลายประการที่กล่าวมาเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของโครงการในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ปริมาตรในการดำเนินการด้วยปฏิกรณ์ชีวภาพ 10,000 ลิตรต่อครั้ง

4.7.2.1 การประเมินราคาเครื่องจักร

การประเมินราคาเครื่องจักรได้ทำการออกแบบตาม (Couper et al., 2004)

Crushers

เลือก Crusher แบบ Hammer mill การป้อนวัสดุต้องขนาดอยู่ในช่วง 5-30 มิลลิลิตร ผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วง 0.01-0.1 มิลลิลิตร สามารถผลิตได้ 0.1-5 ตันต่อชั่วโมง กำลังงานที่ใช้ 1-100 กิโลวัตต์

กำหนด

อัตราการป้อน 2 ตันต่อชั่วโมง กำลังงานที่ใช้ 22 กิโลวัตต์

$C = 2.97\ W^{0.78}$

W อัตราการป้อนของวัสดุ (หน่วย ตันต่อชั่วโมง)

ดังนั้น $C = 2.97\ (2)^{0.78}$

= 5.1 K**$**

กำหนดราคาเงิน 1 **$** = 30 บาท

มีจำนวนทั้งหมด 1 เครื่อง ดังนั้น ค่าเครื่อง Hammer mill = 30 x 1,000 x 5.1 = 15,300 บาท

Vessel prices in $

Vertical vessels: $C = F_M C_b + C_a$

$C_b = 1.218 \exp [9.100 – 0.2889(\text{In } W) + 0.04576(\text{In } W^2)]$

W น้ำหนักของวัสดุ (หน่วย lb)

$C_a = 300\ D^{0.7396}\ L^{0.7066}$

D เส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (หน่วย ft)

L ความสูงของถัง (หน่วย ft)

เลือกวัสดุ เป็น Stainless steel ชนิด 304 จะมี Cost factor $F_M = 1.7$

กำหนดความหนาของ Stainless steel เป็น 0.5 นิ้ว

ดังนั้น $W = (\pi/4) \times (52/12)^2 (104.6/12) \times (0.5/12) \times (501) = 2682.198$ lb

$C_a = 300\ (52/12)^{0.7396}\ (104.6/12)^{0.7066}$

$C_a = 4097.949$

$C_b = 1.218 \exp [9.100 – 0.2889(\text{In } 2682.198) + 0.04576(\text{In } 2682.198^2)]$

$C_b = 1600$

$C = (1.7 \times 1600) + 4098 = 6818$ **$**

กำหนดราคาเงิน 1 **$** = 30 บาท

มีจำนวนทั้งหมด 4 ถัง ดังนั้น ค่าเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ = 30 x 6,818 x 4 = 818,160 บาท

มอเตอร์ 5 แรงม้าราคาเครื่องละ 7950 บาท ดังนั้นราคามอเตอร์ = 7950 x4 = 31,800 บาท

Mechanical separators

เลือก Vibrating screen

$C = 3.8/ A^{0.59}$

$A = 3\ ft^2$

$C = 3.8/ 3^{0.59}$

C = 1.98 K$

ค่าใช้จ่ายของเครื่องแยกเป็น 1.98 x 1,000 x 30 = 59,400 บาท

Distillation

Packing column

เครื่องกลั่นความจุ 50 ลิตร วัสดุที่นำมาสร้างเครื่องคือ Stainless 304

มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเครื่องกลั่น 8 เซนติเมตร

มีความสูงของคอลัมน์ 100 เซนติเมตร

ใช้กำลังไฟฟ้า 1,500 วัตต์

ซื้อเครื่องกลั่นสองเครื่อง เป็นจำนวนเงิน 40,000 บาท

Cooling tower

Cooling tower ประมาณ 30,000 บาท

ปั้ม 1 แรงม้า 2 ตัว 9,000 บาท

ค่าใช้จ่าย Cooling tower รวม 39,000 บาท

รวมราคาเครื่องจักรเท่ากับ 15,300 + 818,160 + 31,800 + 40,000 + 39,000 + 59,400 = 1,003,660 บาท

4.7.2.2 ค่าใช้จ่ายในการลงทุน

-ค่าเครื่องจักร (Equipment) = 1,003,660 บาท

ราคาเครื่องจักรปัจจุบัน (Chemical Engineering, 2010)

= ค่าเครื่องจักรปี 2004 x (ค่าดัชนีของปี 2010 / ค่าดัชนีของปี 2004)

= 1,003,600 x (1,473.3 / 1,178.5)

= 1,254,649 บาท

-ค่าระบบท่อ (Piping) = 30% ของค่าเครื่องจักร

= 0.3 x 1,254,649 = 376,395 บาท

-ค่าติดตั้งอุปกรณ์ (Equipment Installation) = 40% ของค่าเครื่องจักร

= 0.4 x 1,254,649 = 338,755 บาท

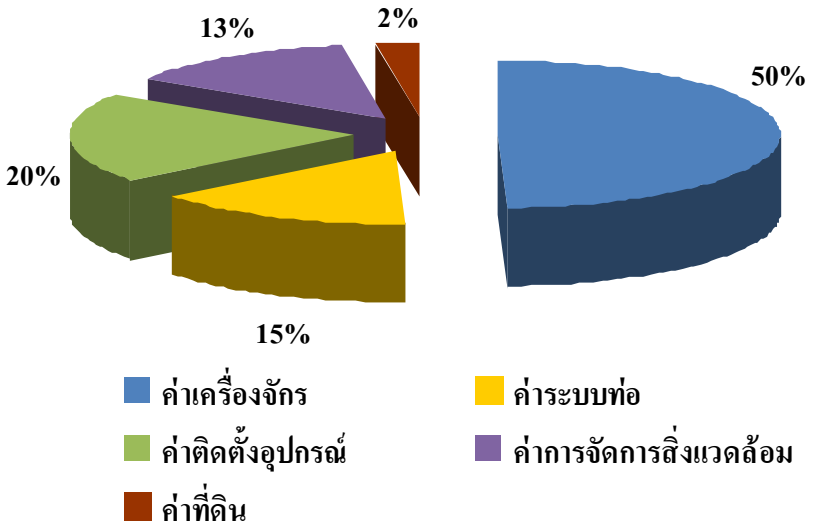
-ค่าการจัดการสิ่งแวดล้อม (Environmental Management) = 27% ของค่าเครื่องจักร

= 0.27 x 1,254,649 = 62,732 บาท

-ค่าที่ดิน (Land) = 5% ของค่าเครื่องจักร

= 0.05 x 1,254,649 = 62,732 บาท

รวมค่าใช้จ่ายในการลงทุน 2,534,391 บาท



ภาพประกอบที่ 59 แผนภาพค่าใช้จ่ายในการลงทุนเพื่อผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน

การเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนจากปริมาตรในการดำเนินการ 4 ลิตร กลายเป็น 10,000 ลิตร แสดงดังตารางที่ 30-33 จะเห็นได้ราคาวัตถุดิบในที่นี้คือ เมล็ดขนุน เป็นส่วนหลักที่มีผลต่อการลงทุนเพราะราคาค่าใช้จ่ายในการผลิตมาจากเมล็ดขนุนสดเป็นหลัก ถ้าราคาของเมล็ดขนุนมีราคาถูกก็จะสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้มาก และมีแนวโน้มที่จะเป็นไปได้ของการลงทุนมากขึ้น เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีความเป็นไปได้ของการลงทุนเพื่อสร้างโรงงานผลิตเอทา-นอลสูงเพราะราคาเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีค่า 0 บาท เพราะเนื่องมาจากเป็นกากของเสียที่ได้จากกระบวนการสกัดสารพรีไบโอติกส์

ตารางที่ 30 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดโดยใช้เชื้อยีสต์และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

Vessel total volume		5 liter		13,200 liter	
Vessel working volume		4 liter		10,000 liter	
Item	Unit	Quantity	Baht	Quantity	Baht
Jackfruit seed	10 Baht/kg	1 kg	10.0	2,500 kg	25,000
Miller	1.8 Baht/unit	0.746 kW	0.1	22 kW	40
Water supply	1.020 Baht/liter	3 liter	3.1	7,500 liter	7,650
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	0.3	15 kW	8
Pump	1.8 Baht/unit	0.5 kW	0.3	1.5 kW	11
Loog-Pang	30 Baht/kg	40 g	1.2	100 kg	3,000
Sulfuric acid	35 Baht/liter	30 g	1.1	75 kg	2,625
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	20 g	0.7	50 kg	1,800
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	21.3	14.9 kW	858
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	0.4	3.7 kW	20
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	0.4	3 kW	16
Operating Cost (Baht)			38.8		41,028
Product Cost (Baht)			8.7		21,750

ตารางที่ 31 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก

Vessel total volume		5 liter		13,200 liter	
Vessel working volume		4 liter		10,000 liter	
Item	Unit	Quantity	Baht	Quantity	Baht
PEJS	0 Baht/kg	1 kg	0	2,500 kg	0
Water supply	1.020 Baht/liter	3 liter	3.06	7,500 liter	7,650
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	0.337	15 kW	8.1
Pump	1.8 Baht/unit	0.5 kW	0.337	1.5 kW	10.8
Loog-Pang	30 Baht/kg	40 g	1.2	100 kg	3,000
Sulfuric acid	35 Baht/liter	20 g	0.7	50 kg	1,750
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	15 g	0.54	37.5 kg	1,350
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	31.968	14.9 kW	1,287.36
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	0.3861	3.7 kW	19.98
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	0.36	3 kW	16.2
Operating Cost (Baht)			38.9		15,092.4
Product Cost (Baht)			12.2		30,600.0

ตารางที่ 32 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

Vessel total volume		5 liter		13,200 liter	
Vessel working volume		4 liter		10,000 liter	
Item	Unit	Quantity	Baht	Quantity	Baht
Jackfruit seed	10 Baht/kg	0.5 kg	5.00	1,250 kg	12,500
Miller	1.8 Baht/unit	0.746 kW	0.07	22 kW	20
Water supply	1.020 Baht/liter	3.0 liter	3.06	7,500 liter	7,650
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	15.30	15 kW	230
Alpha-amylase	200 Baht/kg	0.65 g	0.13	1,625 g	325
Glucoamylase	250 Baht/kg	0.65 g	0.16	1,625 g	406
Yeast	250 Baht/kg	14 g	3.50	35 kg	8,750
Sulfuric acid	35 Baht/liter	26 g	0.91	65 kg	2,275
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	35 g	1.26	87.5 kg	3,063
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	10.66	14.9 kW	429
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	0.39	3.7 kW	20
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	0.36	3 kW	16
Operating Cost (Baht)			40.79		35,683
Product Cost (Baht)			7.29		18,225

ตารางที่ 33 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการผลิต และปริมาณที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

Vessel total volume		5 liter		13,200 liter	
Vessel working volume		4 liter		10,000 liter	
Item	Unit	Quantity	Baht	Quantity	Baht
PEJS	0 Baht/kg	0.5 kg	0.00	1,250 kg	0
Water supply	1.020 Baht/liter	3.0 liter	3.06	7,500 liter	7,650
Heater	1.8 Baht/unit	1 kW	18.00	15 kW	270
Alpha-amylase	200 Baht/kg	0.85 g	0.17	2,125 g	425
Glucoamylase	250 Baht/kg	0.65 g	0.16	1,625 g	406
Yeast	250 Baht/kg	14 g	3.50	35 kg	8,750
Sulfuric acid	35 Baht/liter	20 g	0.70	50 kg	1,750
Ammonium Phosphate	36 Baht/liter	36 g	1.30	90 kg	3,150
Mixing Motor	1.8 Baht/unit	0.37 kW	15.98	14.9 kW	644
Centrifuge	1.8 Baht/unit	65 W	0.39	3.7 kW	20
Distillator	1.8 Baht/unit	800 W	0.36	3 kW	16
Operating Cost (Baht)			43.62		23,081
Product Cost (Baht)			7.29		18,225

4.7.3 ระยะเวลาในการคืนทุน

ผู้ลงทุนจะตัดสินใจลงทุนในโครงการใดๆ นอกจากคำนึงความชำนาญและถนัดในธุรกิจนั้นแล้ว สิ่งสำคัญที่สุดของการตัดสินใจว่า ควรลงทุนโครงการใดอยู่ที่ผลตอบแทนที่ได้รับว่า ต้องคุ้มค่ากับการลงทุนหรือผลตอบแทนได้รับเป็นที่น่าพอใจ วิธีการหาคำตอบที่ดีประการหนึ่ง ที่นิยมนำมาใช้ประกอบการพิจารณา คือ การหาคำตอบและข้อสรุปจากข้อมูลของโครงการนั้นๆด้วยหลักเกณฑ์การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ ซึ่งระยะเวลาในการคืนทุนก็เป็นตัวเลือกหนึ่งในการพิจารณาในการลงทุน (บุญเรือง, 2542) จากการพิจารณาข้างต้น ต้นทุนในการผลิตมีราคาที่ถูกกว่าราคาผลผลิตที่ขายได้ หมายถึงกระบวนการผลิตนั้นมีโอกาสเป็นไปได้แต่ถ้าต้นทุนในการผลิตมีราคาที่สูงกว่าราคาผลผลิตที่ขายได้ หมายถึงกระบวนการผลิตนั้นไม่มีโอกาสเป็นไปได้ ดังนั้นสรุปได้ว่า กระบวนการผลิตที่เป็นไปได้มีกรณีเดียว คือ กระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นเชื้อเพลิงจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ที่มีวัตถุดิบในการป้อน 2,500 กิโลกรัมต่อครั้ง ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ 1,020 ลิตรต่อครั้ง แต่ละครั้งจะใช้เวลาในการดำเนินการ 6 วัน จึงนำมาพิจารณาต่อถึงเรื่องระยะเวลาคืนทุน ค่าต้นทุนในการผลิตยังไม่เป็นต้นทุนในการผลิตรวม เพราะยังไม่รวมค่าแรงงาน (Operator) และค่าบำรุงรักษา (Maintenance)

โดยค่าจ้างแรงงานกำหนดอยู่ที่ 160 บาทต่อวัน จะจ้างจำนวน 2 คน ดังนั้นค่าแรงงานต่อครั้งเท่ากับ 1,920 บาท ส่วนค่าบำรุงรักษา 10,000 บาทต่อปี เมื่อคิดเป็นต่อครั้งจะตกอยู่ประมาณ 182 บาทต่อครั้ง

ดังนั้นค่าต้นทุนในการผลิตรวมในกระบวนการผลิตเอทานอลเป็นเชื้อเพลิง จากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก เท่ากับ 15,092.4 + 1,920 + 182 = 17,194.4 บาท

การคำนวณ

กำหนด ให้ราคาขายเอทานอล 30 บาทต่อลิตร

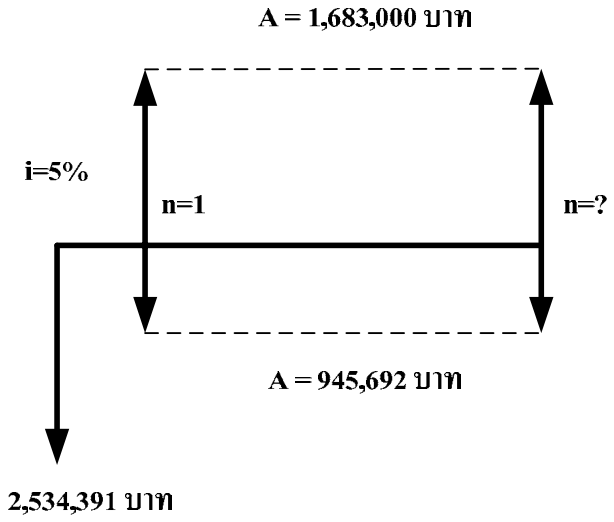
อัตราดอกเบี้ยคงที่ ที่ร้อยละ 5 ต่อปี

จำนวนวันทำงานต่อปี 330 วัน

ดังนั้นรายได้เท่ากับ (1,020 x 30 x 330)/6 = 1,683,000 บาท/ปี

รายจ่ายเท่ากับ (17,194.4 x 330)/6 = 945,692 บาท/ปี

การคำนวณ



คุ้มทุนเมื่อ รายได้ = รายจ่าย

$$1{,}683{,}000\,(P/A, 5\%, n) = 2{,}534{,}391 + 945692\,(P/A, 5\%, n)$$

$$(1{,}683{,}000 - 945{,}692)\,(P/A, 5\%, n) = 2{,}534{,}391$$

$$(P/A, 5\%, n) = 3.44$$

$$n = 3.84 \text{ ปี}$$

ดังนั้น ราคาขายเอทานอล 30 บาท/ลิตรจะคืนทุน ภายใน 4 ปี

ตารางที่ 34 สรุประยะเวลาในการคืนทุนในกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งขึ้นกับราคาขายเอทานอลต่อลิตร

ราคาขาย (บาท/ลิตร)	รายได้ (บาท/ปี)	รายจ่าย (บาท/ปี)	ระยะเวลาคืนทุน (ปี)
32	1,795,200	945,692	3.31
31	1,739,100	945,692	3.57
30	1,683,000	945,692	3.87
29	1,626,900	945,692	4.22
28	1,570,800	945,692	4.64
27	1,514,700	945,692	5.16

ระยะเวลาคืนทุนแสดงดังตารางที่ 34 ถ้าราคาขายเอทานอล 27 บาท/ลิตร ระยะเวลาคืนทุนของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมากจะใช้เวลาคืนทุน 5.16 ปี แต่ถ้าราคาขายเอทานอลสูงขึ้นส่งผลให้ระยะเวลาคืนทุนก็น้อยลงเรื่อยๆ จากเหตุการณ์ปัจจุบันความต้องการพลังงานมากขึ้น การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์โดยใช้เชื้อยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมากอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าลงทุนในปัจจุบัน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของยีสต์ และรา จากลูกแป้งข้าวหมากในชุดทดลองขนาดเล็ก

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลสำหรับเมล็ดขนุนสดคือ การต้มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งร้อยละ □โดยน้ำหนัก ด้วยอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ □0 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง จะให้เอทานอลร้อยละ 10.9 โดยปริมาตร

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์คือ การต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ด้วยอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ □0 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 เป็นระยะเวลา 144 ชั่วโมง จะให้เอทานอลร้อยละ 15.□โดยปริมาตร

5.2 การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ในชุดทดลองขนาดเล็ก

5.2.1 ขั้นตอนการปรับสภาพด้วยเอนไซม์

สภาวะในการปรับสภาพที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนสดคือ ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.1□ โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90.9 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เป็นระยะเวลา 160 นาที หลังจากนั้นปรับสภาพด้วยกลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.1□โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 เป็นระยะเวลา □60 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 8□กรัมต่อลิตร สภาวะในการปรับสภาพที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์คือ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.17 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เป็นระยะเวลา 240 นาที หลังจากนั้นปรับสภาพด้วยกลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.1□โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 50.0 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 เป็นระยะเวลา □60 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด □5.1□กรัมต่อลิตร

สภาวะในการปรับสภาพที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์คือ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.17 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 เป็นระยะเวลา 240 นาที หลังจากนั้นปรับสภาพด้วยกลูโคสอะไมเลสร้อยละ 0.1□ โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 50.0

องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 เป็นระยะเวลา □60 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด □5.1□กรัมต่อลิตร กระบวนการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีประสิทธิผลที่ต่างกัน ถ้าย่อยด้วยแอลฟาอะไมเลสจะช่วยให้พันธะของโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตเล็กลง ส่วนการย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลสจะช่วยให้พันธะของโมเลกุลสั้นลงจนกลายเป็นโมเลกุลเดียว

5.2.2 ขั้นตอนการหมักเอทานอล

เมล็ดขนุนสดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แล้ว นำมาหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.4 ใช้ระยะเวลาในการหมัก 2 วัน ได้เอทานอลร้อยละ 10.5 โดยปริมาตร ส่วนเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แล้ว นำมาหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.4 ใช้ระยะเวลาในการหมัก □วัน ได้เอทานอลร้อยละ 9.0 โดยปริมาตร

5.3 เปรียบเทียบการใช้วัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

5.3.1 เมล็ดขนุนสด และเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ออกแล้ว

จากการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อผสม พบว่าขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีความเหมาะสมในการผลิตเอทานอลมากกว่าเมล็ดขนุนสด เพราะในระหว่างการสกัดสารพรีไบโอติกส์ออกจากเมล็ดขนุน เป็นการปรับสภาพโครงสร้างเมล็ดขนุนซึ่งพร้อมที่จะสามารถนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลได้เลย

5.3.2 เชื้อผสม และเชื้อบริสุทธิ์

การใช้เชื้อผสมมีความเหมาะสมมากกว่าเชื้อบริสุทธิ์ เพราะเชื้อผสมสามารถผลิตได้ง่าย มีราคาถูกกว่าเชื้อบริสุทธิ์ อีกทั้งยังกระบวนการผลิตเอทานอลที่ไม่ซับซ้อน

5.4 เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลโดยใช้ชุดทดลองขนาดเล็กกับปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดโรงงานจำลอง

ชุดปฏิกรณ์ชีวภาพที่สร้างขึ้นจะให้ร้อยละเอทานอล และปริมาณเอทานอลที่มากกว่าชุดทดลองขนาดเล็ก เนื่องจากชุดปฏิกรณ์ชีวภาพมีชุดกวนผสม และมีชุดควบคุมค่าพีเอช ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอล

5.5 ชุดเครื่องกลั่นเพิ่มความบริสุทธิ์ของเอทานอล ขนาด 5 ลิตร

ขนาดของ Packing 0.5 นิ้ว จะให้ประสิทธิภาพในการกลั่นมากกว่าขนาดของ Packing 1 นิ้ว เพราะขนาดของ Packing 0.5 นิ้ว มีพื้นที่ผิวการสัมผัสของไอและ Packing มากกว่าขนาดของ Packing 1 นิ้ว และสภาวะที่เหมาะสมในการกลั่นคือที่ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งมีประสิทธิภาพร้อยละ 82

5.6 การประเมินผลเชิงเศรษฐศาสตร์

การลงทุนโดยใช้เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ซึ่งหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากจะคืนทุนภายในปีที่ 4 หากขายที่ราคา □0 บาทต่อลิตร การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ในการผลิตเป็นพลังงานทดแทน

5.7 ข้อเสนอแนะ

5.7.1 อุปกรณ์ต่างๆที่นำมาใช้ในการหมักจะต้องสะอาด ปราศจากการปนเปื้อน เพื่อให้การหมักมีประสิทธิภาพ

5.7.2 การใช้เครื่องมือการผลิตเอทานอล ได้แก่ ชุดปฏิกรณ์ชีวภาพ และชุดเครื่องเพิ่มความบริสุทธิ์ที่สร้างขึ้น จำเป็นต้องอ่านคู่มือการใช้ก่อนทำการผลิตเอทานอล

5.7.□การใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการผลิตเอทานอล ควรสังเกตลักษณะลูกแป้งข้าวหมาก ว่าเสื่อมคุณภาพหรือไม่ เพราะลูกแป้งข้าวหมากที่เสื่อมคุณภาพจะได้ผลิตเอทานอลที่น้อย

5.7.4 สารละลาย DNS ที่นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ควรเก็บไว้ในที่มืด เพราะสารละลายเสื่อมคุณภาพได้ง่าย

5.7.5 ในระหว่างการหมักเอทานอล ควรจะเปิดวาล์ววันละ2 นาที เพื่อไล่คาร์บอนไดออกไซด์ที่ขึ้นในระหว่างการหมัก เพื่อป้องกันความดันในชุดหมักมากเกินไป และส่งผลต่อกระบวนการผลิตเอทานอล

5.7.6 การหมักเอทานอลควรเป็นระบบปิด เพื่อป้องกันสิ่งปนเปื้อน และการหมักเอทานอลแบบระบบปิด จะให้ผลิตเอทานอลที่มากกว่าแบบระบบเปิด

5.7.7 ในการรับซื้อเมล็ดขนุนเพื่อใช้ในโรงงานจริงเพื่อผลิตเอทานอล อาจต้องรับซื้อในรูปแบบของเมล็ดขนุนแห้งแบบเส้น เพื่อสามารถเก็บเมล็ดขนุนที่รับซื้อไว้ได้นาน

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทน และอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2550. เอทานอลในประเทศไทย (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.energy.go.th [20 มิถุนายน 2550].

การประปาส่วนภูมิภาค. 2554. อัตราค่าน้ำประปา (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.pwa.co.th/service/tariff_rate.html [3 มิถุนายน 2554].

การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค. 2554. ค่าใช้พลังงานไฟฟ้า (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.eppo.go.th/power/pw-Rate-PEA.html [3 มิถุนายน 2554].

กอ สะแกกรัง. 2545. ลูกแป้งเหล้าหัวใจของเหล้าพื้นบ้าน. เกษตรกรรมธรรมชาติ. ฉ.8: 18-19.

ไกรยศ แซ่ลิ้ม. 2550. การผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อยีสต์จากลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2539. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพ: ภาควิชาวิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทรัพย์ วิถีธรรม. 2525. Hydrolysis and solubility of cassava starch. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2546. วัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ฉ.18: 65-70.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร, เลิศลักษณ์ แก้ววิมล, ละเอียด แซ่โง้ว. 2549. การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ฉ.31.

ธงชัย แซ่ตัน, สุพล แซ่ลิ้ม. 2525. การหมักแอลกอฮอล์จากมันสำปะหลัง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

นภา โล่ทอง. 2537. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ หมาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นฤชิต แว่วศรีฝอง. 2529. การปลูกขนุน. กรุงเทพฯ: บริษัท พิมพ์สวย จำกัด.

นฤมล โตอ่อน. 2549. ยีสต์สายพันธุ์ทนร้อนและการประยุกต์ใช้ในการผลิตเอทานอล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุญเรือง มานะสุรการ. 2542. เศรษฐศาสตร์วิศวกรรม. คณะวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์: 82-96.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักงานแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ผลงานวิจัยนักเรียนเฉลิมขวัญสตรีพิษณุโลก. 2553. ก๊าซโซฮอล์จากเมล็ดขนุน (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http:// www.bloggang.com. [21 พฤศจิกายน 2551].

พักตร์ประไพ ประจำเมือง. 2546. การผลิตกลูโคสไซรัปจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับโรงงานต้นแบบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. 2545. กระบวนการผลิตสาโทและจุลชีววิทยาของสาโท. ปทุมธานี. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 1). 210 หน้า. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอ เอส พริ้นติ้ง.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, ประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2538. วิศวกรรมเคมีชีวภาพพื้นฐาน 1. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2540. ยีสต์และยีสต์เทคโนโลยี. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิทธิศักดิ์ อุปริวงศ์, ปิยะเมธ ทองละมุน, สำรวย นางทะราช. 2548. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. การผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังเพื่อพลังงานทดแทน. การประชุมเชิงวิชาการเครือข่ายพลังงานแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 1 โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน จังหวัดชลบุรี: 1-4.

สุธารักษ์ บุญโชติ. 2547. การทำกลีเซอรีนที่ได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเตอริฟิเคชันของน้ำมันพืชให้บริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมบัติ ใจคำ, มรกต สุกโชติรัตน์. 2548. เครื่องกลั่นสุราแบบหม้อต้ม. Congress on Science and Technology 31.

สมพร สินธารา. 2544. การแยก การจำแนก และเก็บรักษายีสต์และราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abouzied, M. M. and Reddy, C. A. 1986. Direct fermentation of potato starch to ethanol by Cocultures of Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae. Applied and Environmental Microbiology, 52: 1055-1059.

Abouzied, M. M. and Reddy, C. A. 1987. Fermentation of starch to ethanol by complementary mi ture of an amylolytic yeast and Saccharomyces cerevisiae. Biotechnology Letters, 9: 59-62.

Ado, S. A., Olukotun G. B., Ameh J. B., Yabaya A. 2010. Bioconversion of cassava starch to ethanol in a simultaneous saccharification and fermentation process by co-cultures of Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae. Journal of Pure and Applied Microbiology, 4: 55-61.

Altintas, M. M., Ulgen, K. O., Kirdar, B., Onsan, Z. I., Oliver, S. G. 2002. Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. Enzyme Microbial Technology, 31: 640-647.

Amutha, F., Gunasekaran, P. 2001. Production of ethanol from liquefied cassava starch using coimmobilized cells of Zymomonas mobilis and Sacchaomyces diastaticus. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92(6): 560-564.

Anto, H., Trivedi, U. B., Patel, K. C. 2006. Glucoamylase production by solid-state fermentation using rice flake manufacturing waste products as substrate. Bioresource Technology, 97(10): 1161-1166.

A.O.A.C. 1990. Official method of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed., vol. 72. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.

Chantana, A., Watcharee, K., Padungkwan, C., Suwanna, V., Sasithon C. 2009. Physicochemical Properities of Modification Jackfruit Seed Starch. Available online: http://pharm.kku.ac.th/electronics/2-bachelordegree/sasithon.pdf.

Chemical Engineering. 2010. Economic Indicators. Chemical Engineering Megazine: 63-64.

Couper, J. R.,Penney, W. R., Fair, J. R., Walas, S. M. 2005. Costs of Individual Equipment. In *Chemical Process Equipment (Second Edition)*, Eds. Gulf Professional Publishing: Burlington.

Dodić, S., Popov, S., Dodić, J., Ranković. J., Zavargo, Z., Mučibabić, R. 2009. Bioethanol production from thick juice as intermediate of sugar beet processing. Biomass and Bioenergy, 33: 822–827.

Dombek, K. M., Ingram, L. O. 1986. Magnesium ilmition and its role in apparent to icity of ethanol during yeast fermentation. Applied and Environmental Microbiology, 52: 975-981.

Dostalek, M., Haggstrom, M. H. 1983. Mi ed culture of Saccharomycopsis fibuliger and Zymomonas mobilis on starch-use of o ygen as a regulator. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 17: 269–274.

Fair, J. R., Bravo, J. L. 1990. Distillation column containing structured packing. Chemical Engineering Progress, 82(1): 19.

Glacken, M. W., Flesischaker, R. J., Sinskey, A. J. 1983. Mammalian cell cultures : engineering principles and scale-up. Trends in Biochemical Sciences, 11: 102-108.

Hamelinck, C. N., Hooijdonk, G. V., Faaij, A. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. Biomass and Bioenergy, 28(4): 384-410.

Hughes, D. B., Tudrosgen, N. J., Moye, C. J. 1984. The effect of temperature on the kinetic of ethanol production by a thermotolerant strain of Kluyveromyces mar ianus. Biotechnology Letters, 6: 1-6.

Kategunya, R., Sanguansri, C. 2008. Thermal Properties and Morphology of Flour and Starch e tracted from Jackfruit Seeds (Artocarpus heterophyllus), Kasetsart 34th Congress on Science and Technology of Thailand.

Kundiyana, D. K., Huhnke, R. L., Wilkins, M. R. 2010. Syngas fermentation in a 100-L pilot scale fermentor: Design and process considerations. Journal of Bioscience and Bioengineering, 110(6): 724-724.

Laluce, C., Bertolini, M. C., Ernandes, J. R., Martini, A. V., Martini, A. 1988. New amylolytic yeast strains for starch and de trin fermentation. Appl Environ Microbiol, 54: 2447-2451.

Lane, J., Eynon, L. 1932. Determination of reducing sugars by means of Fehing's solution with methylene blue as internal indicator. J. Soc. Chem. Ind. Trans: 32-36.

Lezinou, V., Christakopouios, P., Li, L. W., Kekos, D., Macris, B. J. 1995. Study of a single and mi ed culture for the direct bio-conversion of sorghum carbohydrates to ethanol. Applied and Environmental Microbiology, 43: 412-415.

Limtong, S.,Sintara, S., Suwannarit, P., Lotong, N. 2005. Species diversity of molds in Thaitraditional fermentation starters (Loog-Pang). The Kasetsart Journal (Natural Science), 39: 511-518.

Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicyclic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31: 426-428.

Morton, J. 2010. Jackfruit in Fruits of warm climates.; Available online: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/jackfruit_ars.html (May 21, 2010).

Mukprasirt, A., Sajjaanantakul, K. 2004. Physico-chemical properties of flour and starch from jackfruit seeds (Artocarpus heterophyllus Lam.) compared with modified starches. International Journal of Food Science & Technology, 39: 271-276.

Nakamura, Y., Kobayashi, F., Ohnaga, M., Sawada, T. 1997. Alcohol fermentation of starch by a genetic recombinant yeast having glucoamylase activity. Biotechnology and Bioengineering, 53: 21-25.

Nagam, P., Singh, D. 1995. Enzyme and microbial system involved in starch processing. Enzyme and Microbial Technology, 17: 770-778.

O'Brien, S., Wang, Y. J. 2008. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by [alpha]-amylase and glucoamylase. Carbohydrate Polymers, 72(4): 597-607.

Pandey, A., Soccol, C. R., Leo, J. A. R., Nigam, P. 2001. Solid-state Fermentation in Biotechnology. Asiatech Publishers, Inc., New Delhi, p. 221.

Paturau, J. M. 1969. By-products of the cane sugar industry, an introduction to their industrial utilization. Elsevier Publishing Company, New York.

Pirselova, K., Smogrovicova, D., Balaz, S. 1993. Fermentation of starch to ethanol by a co-cuture of Saccharomyces fibuligera and Saccharomyces cerevisiae. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 9: 338-341.

Ratnam, B. V. V., Narasimha Rao, M., Damodar Rao, M., Subba Rao, S., Ayyanna, C. 2003. Optimization of fermentation conditions for the production of ethanol from sago starch using response surface methodology. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19: 523-526.

Rose, A. H., Harrison, J. S. 1987. The Yeasts: Biology of Yeasts. 2nd ed. Vol. I. Pp. 41-72. London: Academic Press.

Rose, A. H., Harrison, J. S. 1993. The Yeasts: Yeast Technology. 2nd ed. Vol. V. Pp. 245-291. London: Academic Press.

Saha, B. C., Ueda, S. 1983. Alcoholic formation of raw sweet potato by a nonconventional method using Endomycopsis fibuligera glucoamylase preparation. Biotechnology and Bioengineering, 25: 1181-1186.

Sato, K., Miyazaki, S. I., Matsumoto, N., Yoshizawa, K., Nakamura, K. I. 1988. Pilot-scale solid-state ethanol fermentation by inert gas circulation using moderately thermophilic yeast. Journal of Fermentation Technology, 66: 173-180.

Sato, K., Goto, S., Yonemura, S., Sekine, K., Okuma, E., Takagi, Y., Nami, K. H. and Saiki, T. 1992. Effect of yeast e tract and vitamin B12 on ethanol production from cellulose by Clostridium thermocellum I-1-B. Applied and Environmental Microbiology, 58: 734-736.

Sinnott, R. K. 2005. Chemical Engineering design. Chemical Engineering, 6: 587-615.

Soni, S. K., Kaur, A., Gupta, J. K. 2003. A solid state fermentation based bacterial [alpha]-amylase and fungal glucoamylase system and its suitability for the hydrolysis of wheat starch. Process Biochemistry, 39(2): 185-192.

Srinorakutara, T., Suesat, C., Pitiyont, B., Kitpreechavanit, W., Cattithammanit, S. 2004. Utilization of waste from cassava starch plant for ethanol production. The Joint International Conference On " Sustainable Energy and Environment (SEE). Hua Hin. Thailand: 344-349.

Sriroth, K., Santisopasri, V., Petchalanuwat, C., Kurotjanawong, K., Piyachomkwan, K., Oates, C. G. 1999. Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. Carbohydrate Polymers, 38(2): 161-170.

Suthamma, Y., Chumnong, S. 2007. A Study of ethanol production cost for gasoline substitution in thailand and its competitiveness. Thammasat International Journal of Science and Technology, 12.

Tsuyoshi, N., Fudou, R., Yamanaka, S., Kozaki, M., Tamang, N., Thapa, S., Tamang, J. P. 2005. Identification of yeast strain isolated from marcha in Sikkim : a microbial starter for amylolytic fermentation. International Journal of Food Microbiology, 99: 135-146.

Ulgen, O. K., Saygili, B., Onsan, Z. I., Kirdar, B. 2002. Bioconversion of starch into ethanol by a recombinant Saccharomyces serevisiae strain YPG-AB. Process Biochemistry, 37: 1157-1168.

Vanna, T., Kanitha, T., Prapa, S., Nongnuj, J. 2002. Some Physicochemical Properties of Jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam) Seed Flour and Starch. ScienceAsia, 28: 37-41.

Wanderley, K. J., Torres, F. A. G., Moraes, L. M. P., Ulhoa, C. J. 2004. Biochemical characterization of α-amylase from the yeast Cryptococcus flaus. Microbiology Letters, 231: 165-169.

Wang Q., Ma, H., Xu, W., Gong, L., Zhang, W., Zou, D. 2008. Ethanol production from kitchen garbage using response surface methodology. Biochemical Engineering Journal, 39: 604-610.

Ward, C., Nolan, A. M., O'Hanlon, K., McAree, T., Barron, N., McHalc, L., McHale, A. P. 1995. Production of ethanol at 45 on starch-containing media by mi ed culture of the thermotolerant, ethanol-producing yeast Kluyveromyces mar ianus IMB3 and the thermophilic filamentous fungus Talaromyces emersonii CBS 814.70. Applied Microbiology and Biotechnology, 43: 408-411.

Yu, J., Zhang, X., Tan. T. 2009. Optimization of media conditions for the production of ethanol from sweet sorghum juice by immobilized Saccharomyces cerevisiae. Biomass and Bioenergy, 33: 521-526.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (A.O. A.C.,2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน
3. ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
6. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
8. ลูกแก้ว
9. บีกเกอร์
10. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. สารเร่งปฏิกิริยา (ใช้สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต: โพแทสเซียมซัลเฟตอัตราส่วน 1:10)
2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 96-97 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40
4. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
5. สารละลายกรดบอริก (H_2BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4
6. อินดิเคเตอร์(สารผสมระหว่าง Bromocresoresin : □ethyl red : □ethylene blue อัตราส่วน 0.1:0.125:0.028 ใน Ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรอง ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยาลงไป 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20-25 มิลลิลิตร

4. ใส่ลูกแก้ว นำไปย่อยบนเตาในตู้ควัน จนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน
6. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน
7. นำขวดรูปชมพู่ ซึ่งบรรจุกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปกลั่นลงในขวดที่รองรับ
8. กลั่นนานประมาณ 10 นาที ล้างปลายชุดควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดที่รองรับ
9. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง บันทึกปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไป
10. ทำแบลงค์ ตามข้อ 1-9 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง
11. คำนวณปริมาตรโปรตีนจากสูตร

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) = $\frac{(A-B)\times N\times 14.007\times F}{Wt}$

เมื่อ A = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่างแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

F = ค่าแฟกเตอร์ (F=6.25)

Wt = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน Crude fat (A.O.A.C,2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน(Soxlet apparatus) ประกอบด้วยด้วยขวดกลมใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต (Soxlet) เครื่องควบแน่น และเตาให้ความร้อน (Heating mantus)
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด
4. โถดูดความชื้น
5. สำลี
6. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันซึ่งมีปริมาตรความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดและใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต
4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส) ลงในขวดหาไขมันปริมาณ 150 มิลลิลิตร และวางบนเตาให้ความร้อน
5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตั่วอย่างออกจากซอคเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเล็กน้อยด้วยเครื่องกลั่นแบบลดความดัน
7. นำขวดไขมันนั้นไปในไปในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้ใดเย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักและอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 กรัมและคำนวณปริมาณไขมัน

   ปริมาณไขมัน(ร้อยละ) = 100 x [น้ำหนักไขมันหลังอบ/น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น]

3. การวิเคราะห์ปริมาตรความชื้น โดยวิธี Air oven method (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
2. ภาชนะอะลูมิเนียม
3. โถดูดความชื้น (Desicator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะอะลูมิเนียมในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 5 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาจากตู้อบไฟฟ้าใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นโดยให้อุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก
2. กระทำเช่นข้อ1 ซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งค่าแตกต่างกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในภาชนะซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 5 องศาเซลเซียส นานประมาณ 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น
5. นำกลับเข้าตู้อบอีกครั้ง กระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
6. คำนวณหาปริมาตรความชื้นจากสูตร

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(a-b)}{a} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า โดยวิธี Direct method (A.O.A.C.,2000)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (uffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ(Prorcelain crucible)
3. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก
2. เผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำตามข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งที่ 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2
4. คำนวณปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย Crude Fiber (A.O.A.C.,2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณเส้นใย (VELP)
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เตาเผา
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.25
3. n-octanol (ใช้เป็น Antiform)
4. Anhydrous acetone

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1 กรัม ลงในครูซิเบิล
2. วางครูซิเบิลในอุปกรณ์ พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่อเย็น
3. เติมกรดซัลฟูริก (ซึ่งผ่านการให้ความร้อน) ปริมาณ 150 มิลลิลิตรลงในคอลัมน์ แล้วเติม n-octanol ลงไป 3-4 หยด
4. ต้มจนเดือดเป็นเวลา 30 นาที
5. ปล่อยกรดซัลฟูริกทิ้งโดยกรอง (เปิดสวิทช์สูญญากาศที่ตัวอุปกรณ์ฯ)
6. ล้างด้วยน้ำปราศจากอิออนซึ่งถูกทำให้ร้อน ปริมาณครั้งละ 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง
7. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ซึ่งผ่านการให้ความร้อน) ปริมาณ 150 มิลลิลิตร พร้อมทั้ง 3-5 หยดของ n-octanol
8. ต้ม 30 นาทีแล้วกรองเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 6 และ 7
9. ล้างด้วยอะซิโตน ครั้งละ 25 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง
10. นำครูซิเบิลออกจากอุปกรณ์ ไปอบแห้งในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่
11. นำครูซิเบิลไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเผาซ้ำจนน้ำหนักคงที่

ปริมาณสารเยื่อใยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก = $100 \times \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างหลังอบและหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$

6. หาค่าพลังงาน (Energy value of food)

ค่าพลังงาน = $(A \times 4) + (B \times 9) + (C \times 4)$

เมื่อ A = ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง 100 กรัม

B = ปริมาณไขมันในสารตัวอย่าง 100 กรัม

C = ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในสารตัวอย่าง 100 กรัม

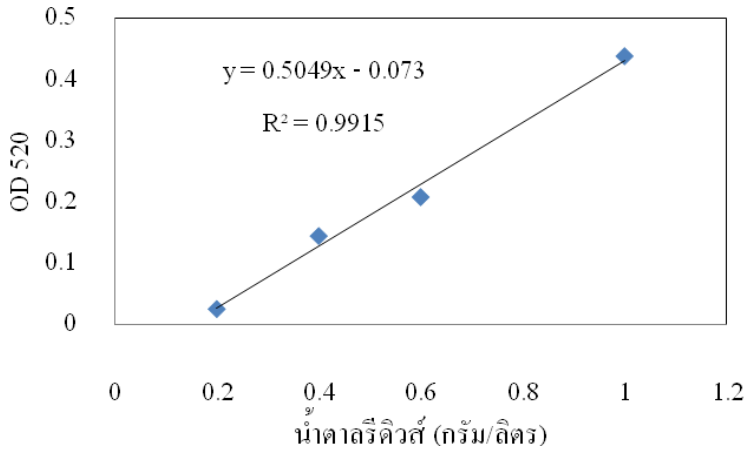
7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Modified dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959)

สารเคมี

สารละลาย Dinitrosalicylic acid ประกอบด้วย Dinitrosalicylic acid 1%, Phenol 0.2 %, Sodium sulfite 0.05 %, Sodium hydroxide 1% และ Sodium potassium tartrate 20%

การเตรียมตัวอย่างสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานโดยชั่ง: น้ำตาลกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในขวดปรับปริมาตรเติมน้ำกลั่น: ให้ครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 กรัมต่อลิตร แล้วทำการทดลองโดยเติมสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำมาผสมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer เทียบค่าการดูดกลืนแสงด้วยกราฟมาตรฐานของกลูโคส (ภาพประกอบ ก-1)



ภาพประกอบที่ ก-1 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

นำตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิ-ไซลิก (DNS) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันที แล้วนำมาเติมน้ำ ปริมาตร

10 มิลลิลิตร และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer เทียบค่าการดูดกลืนแสงด้วยกราฟมาตรฐานของกลูโคส

8. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธี Modified Lane-Eynon Constant Volumetric method

วิธีการ

8.1 ชั่งสารตัวอย่าง (ที่คนให้เข้ากันดีแล้ว) 10 กรัม ในถ้วยพลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น คนให้สารละลายเข้ากัน ถ่ายสารละลายลงใน Volumetric Flask ขนาด 200 มิลลิลิตร ปรับให้ถึงขีดปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

8.2 Pipette สารละลายจากข้อ (8.1) 25 มิลลิลิตร ลงในErlenmeyer Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร และ 0.1 N HCl 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปตั้งใน Water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

8.3 ยกลงตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำจนถึงอุณหภูมิห้อง ถ่ายตัวอย่างลงใน Volumetric Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับให้ถึงขีดปริมาตร ด้วยน้ำกลั่น ปิดจุก เขย่าให้เข้ากัน

8.4 ดูด Fehling's solution A และ Fehling's solution B อย่างละ 5 มิลลิลิตร ลงในErlenmeter Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

8.5 เติมสารละลายตัวอย่างลง ใน Burette ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับให้ถึงขีดปริมาตรแล้วปล่อยสารละลายตัวอย่างลงใน Erlenmeter Flask ในข้อ (8.4) ประมาณ 18-20 มิลลิลิตร

8.6 นำ Erlenmeter Flask ตั้งบนเตาสำหรับไตเตรทน้ำตาล จับเวลาตั้งแต่สารละลายเริ่มเดือดจนเดือดครบ 2 นาที แล้วรีบหยดสารละลายร้อยละ 1 □ethylene blue ลงไป 3 หยด ไตเตรทต่อจนสีของ □ethylene blue หายไปภายใน 1 นาที (จุดสิ้นสุดของปฏิกิริยาจะเห็นตะกอนสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้น) บันทึกปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรททั้งหมด

คำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (โดยน้ำหนัก)} = \frac{F \times 200 \times 250 \times 100}{W \times 25 \times A}$$

เมื่อ A = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

F = Factor ของ Fehling's solution =0.05

W = น้ำหนักสารตัวอย่าง (กรัม)

9. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer (Digital ABBE Refarctometer) odel DR-A1, ATAGO-JAPAN

สารเคมี

1. เอทานอลร้อยละ 99.8 โดยปริมาตร
2. น้ำกลั่น (ไม่มีอิออน)

การเตรียมตัวอย่างสารละลายเอทานอลมาตรฐาน

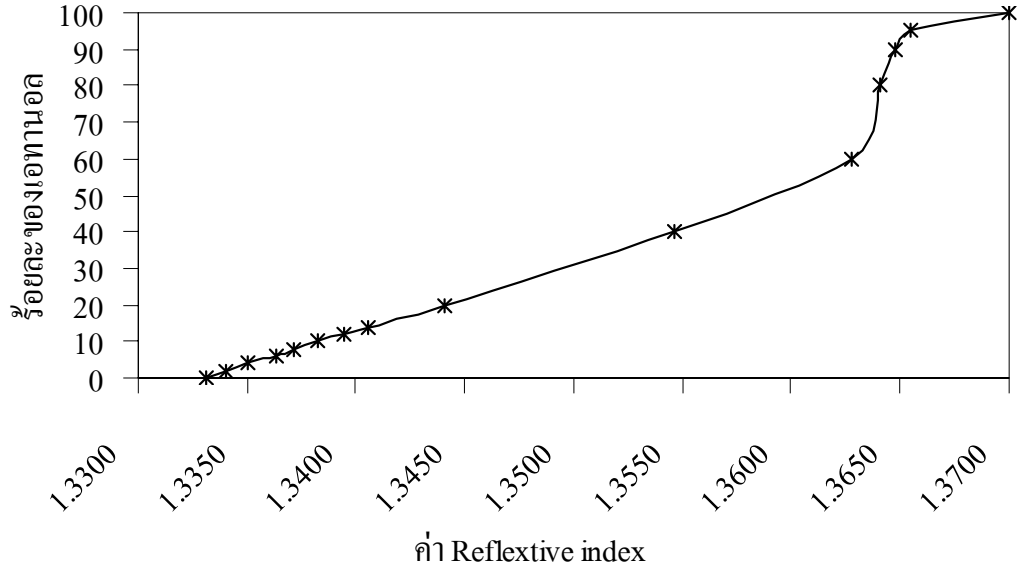
1. นำเอทานอลร้อยละ 99.8 โดยปริมาตร ไปเจือจาง ให้ได้สารละลายมาตรฐานร้อยละ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 20, 40, 60, 80, 90, 95 และ 100 โดยปริมาตร

วิธีการ

1. เปิดเครื่องเครื่องทำความเย็น จนอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
2. เปิดเครื่อง Refractometer ทำการ Calibrate เครื่องด้วยน้ำกลั่น
3. หยดสารละลายเอทานอลมาตรฐาน ณ ร้อยละ โดยปริมาตรต่างๆ แล้ววัดค่า Refractive index นำค่าที่ได้ทำตาราง ก-1แล้วมาพล็อตกราฟดังรูป ก-2 แล้วนำสารตัวอย่างมาวัดค่า Refractive index นำค่าที่ได้อ่านค่าจากกราฟ จะได้ร้อยละเอทานอล

ตารางที่ ก-1 แสดงค่า Reflextive index ณ ร้อยละโดยปริมาตรต่างๆ

ร้อยละเอทานอล	ค่า Reflextive index			
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	1.3331	1.3331	1.3331	1.3331
2	1.3342	1.3338	1.3342	1.3341
4	1.3351	1.3350	1.3351	1.3351
6	1.3362	1.3364	1.3364	1.3363
8	1.3370	1.3372	1.3372	1.3371
10	1.3382	1.3383	1.3382	1.3382
12	1.3394	1.3394	1.3394	1.3394
14	1.3404	1.3406	1.3406	1.3405
20	1.3441	1.3440	1.3440	1.3440
40	1.3544	1.3546	1.3550	1.3547
60	1.3626	1.3629	1.3629	1.3628
80	1.3639	1.3642	1.3642	1.3641
90	1.3648	1.3647	1.3648	1.3648
95	1.3655	1.3655	1.3654	1.3655
99.8	1.3700	1.3700	1.3700	1.3700



ภาพประกอบที่ ก-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละเอทานอล กับ ค่า Refractive index

ภาคผนวก ข

กิจกรรมที่ 1 วิเคราะห์วัตถุดิบ

1. 1 วิเคราะห์วัตถุดิบเมล็ดขนุนสด

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน , ปริมาณไขมัน, ปริมาตรความชื้น, ปริมาณเส้นใย, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต, หาค่าพลังงาน, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดังตารางที่ ข-1

ตารางที่ ข-1 ผลจากการวิเคราะห์เมล็ดขนุนสดจากการทดสอบต่างๆ

รายการทดสอบ	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ (ร้อยละ)
Protein*	AOAC (Kjeldahl ethod)	5.48
Crude Fat*	AOAC (Soxhlet Extraction ethod)	0.21
oisture*	AOAC (Loss on Drying at 95-1000 C)	56.51
Ash*	AOAC	1.42
Crude Fiber*	AOAC (Fritted Glass Crucible ethod)	1.27
Total Carbohydrate*	Calculation	36.38
Energy*	Calculation	169.33 กิโลแคลอรี่
Total Sugar*	Lane & Eynon	0.60
Reduce Sugar**	odified dinitrosalicylic acid method	133.2 ไมโครกรัมต่อลิตร

หมายเหตุ (* : สถานที่วิเคราะห์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

(** : สถานที่วิเคราะห์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

1.2 วิเคราะห์วัตถุดิบเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน , ปริมาณไขมัน, ปริมาตรความชื้น, ปริมาณเส้นใย, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต, หาค่าพลังงาน, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดังตารางที่ ข-2

ตารางที่ ข-2 ผลจากการวิเคราะห์เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์จากการทดสอบต่างๆ

รายการทดสอบ	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ (ร้อยละ)
Protein*	AOAC (Kjeldahl ethod)	4.99
Crude Fat*	AOAC (Soxhlet Extraction ethod)	0.23
oisture*	AOAC (Loss on Drying at 95-100^{0}C)	58.83
Ash*	AOAC	0.75
Crude Fiber*	AOAC (Fritted Glass Crucible ethod)	2.20
Total Carbohydrate*	Calculation	35.20
Energy*	Calculation	162.83 กิโลแคลอรี่
Total Sugar*	Lane & Eynon	0.40
Reduce Sugar**	odified dinitrosalicylic acid method	282.5 ไมโครกรัมต่อลิตร

หมายเหตุ (* : สถานที่วิเคราะห์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

(** : สถานที่วิเคราะห์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์)

1.3 หาร้อยละเอทานอลจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ละลายอยู่ในน้ำ

วิธีการ

1. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มา 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ แล้วผสมน้ำ 20, 30, 40, 50, 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดอย่างมิดชิด
2. นำไปเขย่า 24 ชั่วโมงเพื่อให้เอทานอลละลายน้ำได้ดี ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซสเซียส
3. นำมากรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ
4. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราห์ด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-3 และตารางที่ ข-4

ตารางที่ ข-3 ผลการศึกษาร้อยละเอทานอลจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ที่ปริมาตรต่างกัน

เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์: น้ำ	ค่า Reflextive index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
10 กรัม : 20 มิลลิลิตร	1.3359	1.3359	1.3357	1.3358	5.3
10 กรัม : 30 มิลลิลิตร	1.3353	1.3351	1.3350	1.3351	4.1
10 กรัม : 50 มิลลิลิตร	1.3344	1.3342	1.3343	1.3343	2.5
10 กรัม : 100 มิลลิลิตร	1.3338	1.3337	1.3340	1.3338	1.7

ตารางที่ ข-4 ผลการศึกษาร้อยละเอทานอลจากเมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ละลายอยู่ในน้ำ ที่ปริมาตรต่างกัน

เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์: น้ำ	ร้อยละเอทานอลที่แท้จริง
10 กรัม : 20 มิลลิลิตร	1.07
10 กรัม : 30 มิลลิลิตร	1.22
10 กรัม : 50 มิลลิลิตร	1.27
10 กรัม : 100 มิลลิลิตร	1.68

กิจกรรมที่ 2 ศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยใช้เชื้อผสมของราและยีสต์จากลูกแป้งข้างหมาก

2.1 ศึกษาการปรับสภาพวัตถุดิบและย่อยทางกายภาพ

2.1.1 หาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 80 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที
2. นำเมล็ดขนุนสดที่ได้จากการต้มแล้ว ณ เวลาต่างๆมาเติมลูกแป้งข้าวหมากอย่างละ 0.9 กรัม ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร
3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5
4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ
5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-5

ตารางที่ ข-5 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที

ใช้เวลาในการต้ม(นาที)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
5	1.3352	1.3352	1.3353	1.3352	4.2
10	1.3352	1.3353	1.3352	1.3352	4.2
15	1.3370	1.3368	1.3368	1.3369	7.2
20	1.3360	1.3361	1.3360	1.3360	5.7

2.1.2 หาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที

2. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ได้จากการต้มแล้ว ณ เวลาต่างๆมาเติมลูกแป้งข้าวหมากอย่างละ 0.9 กรัม ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-6

ตารางที่ ข-6 ผลการศึกษาระยะเวลาในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ที่อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10, 15, 20 นาที

ใช้เวลาในการต้ม(นาที)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
5	1.3358	1.3357	1.3357	1.3357	5.2
10	1.3352	1.3350	1.3352	1.3351	4.1
15	1.3366	1.3365	1.3365	1.3365	6.6
20	1.3357	1.3355	1.3355	1.3356	4.9

2.1.3 หาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. นำเมล็ดขนุนสดที่ได้จากการต้มแล้ว ณ เวลาต่างๆมาเติมลูกแป้งข้าวหมากอย่างละ 0.9 กรัม ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-7

ตารางที่ ข-7 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนสด ที่อุณหภูมิ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อุณหภูมิในการต้ม (องศาเซลเซียส)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
70	1.3365	1.3364	1.3364	1.3364	6.4
75	1.3369	1.3367	1.3368	1.3368	7.1
80	1.3370	1.3368	1.3368	1.3369	7.2
85	1.3383	1.3383	1.3382	1.3383	9.8
90	1.3372	1.3375	1.3373	1.3373	8.1

2.1.4 หาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่ได้จากการต้มแล้ว ณ เวลาต่างๆมาเติมลูกแป้งข้าวหมากอย่างละ 0.9 กรัม ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-8

ตารางที่ ข-8 ผลการศึกษาอุณหภูมิในการต้มสุกของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 70, 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อุณหภูมิในการต้ม (องศาเซลเซียส)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
70	1.3361	1.3365	1.3365	1.3364	6.3
75	1.3365	1.3363	1.3365	1.3364	6.4
80	1.3366	1.3365	1.3365	1.3365	6.6
85	1.3369	1.3370	1.3369	1.3369	7.4
90	1.3378	1.3380	1.3380	1.3379	9.2

2.2 ศึกษาการย่อยทางชีวภาพและการหมักเอทานอล

2.2.1 หาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 85 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด 1:100, 2:100, 3:100, 4:100, 5:100, 6:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-9

ตารางที่ ข-9 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด

ร้อยละลูกแป้งข้าวหมาก ต่อเมล็ดขนุนสด	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1 : 100	1.3370	1.3370	1.3368	1.3369	7.4
2 : 100	1.3372	1.3372	1.3372	1.3372	7.9
3 : 100	1.3383	1.3383	1.3382	1.3383	9.8
4 : 100	1.3380	1.3380	1.3382	1.3381	9.4
5 : 100	1.3378	1.3379	1.3379	1.3379	9.1
6 : 100	1.3378	1.3378	1.3379	1.3378	9.0

2.2.2 หาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 1:100, 2:100, 3:100, 4:100, 5:100, 6:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-10

ตารางที่ ข-10 ผลการศึกษาอัตราส่วนลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

ร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1 : 100	1.3385	1.3386	1.3385	1.3385	10.3
2 : 100	1.3386	1.3387	1.3387	1.3387	10.5
3 : 100	1.3389	1.3390	1.3391	1.3390	11.2
4 : 100	1.3400	1.3399	1.3402	1.3400	13.0
5 : 100	1.3391	1.3390	1.3391	1.3391	11.3
6 : 100	1.3387	1.3387	1.3387	1.3387	10.6

2.2.3 หาอัตราในการเขย่าของ Water bath

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 85 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด 3:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60, 80, 100 และ120 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-11

ตารางที่ ข-11 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของเมล็ดขนุนสด

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
60	1.3380	1.3383	1.3383	1.3382	9.7
80	1.3383	1.3383	1.3383	1.3383	9.9
100	1.3385	1.3384	1.3385	1.3385	10.2
120	1.3379	1.3379	1.3380	1.3379	9.2

2.2.4 หาอัตราในการเขย่าของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งต่อเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 4:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 60, 80, 100 และ120 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-12

ตารางที่ ข-12 ผลการศึกษาอัตราในการเขย่าของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
60	1.3408	1.3409	1.3410	1.3409	14.6
80	1.3409	1.3410	1.3410	1.3410	14.8
100	1.3410	1.3410	1.3411	1.3410	14.9
120	1.3405	1.3408	1.3408	1.3407	14.3

2.2.5 หาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด 3:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 1-10 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-13

ตารางที่ ข-13 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนสด

ระยะเวลาในการหมัก (วัน)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1	1.3347	1.3345	1.3345	1.3346	3.0
2	1.3356	1.3354	1.3355	1.3355	4.7
3	1.3365	1.3367	1.3367	1.3366	6.8
4	1.3380	1.3383	1.3383	1.3382	9.7
5	1.3382	1.3380	1.3382	1.3381	9.6
6	1.3381	1.3380	1.3381	1.3381	9.4
7	1.3381	1.3380	1.3381	1.3381	9.4
8	1.3381	1.3381	1.3381	1.3381	9.5
9	1.3381	1.3380	1.3381	1.3381	9.4
10	1.3380	1.3380	1.3380	1.3380	9.3

2.2.6 หาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมาก โดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนที่ไม่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 4:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 1-10 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-14

ตารางที่ ข-14 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

ระยะเวลาในการหมัก (วัน)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1	1.3349	1.3349	1.3350	1.3349	3.7
2	1.3358	1.3358	1.3359	1.3358	5.3
3	1.3364	1.3368	1.3365	1.3366	6.7
4	1.3389	1.3390	1.3390	1.3390	11.1
5	1.3400	1.3400	1.3401	1.3400	13.0
6	1.3408	1.3409	1.3410	1.3409	14.6
7	1.3408	1.3408	1.3408	1.3408	14.5
8	1.3408	1.3408	1.3408	1.3408	14.5
9	1.3407	1.3407	1.3408	1.3407	14.3
10	1.3405	1.3403	1.3405	1.3404	13.8

2.2.7 หาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งโดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด 3:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-15

ตารางที่ ข-15 ผลการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนสด

ค่าพีเอช	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
3.0	1.3361	1.3363	1.3362	1.3362	6.0
3.5	1.3384	1.3384	1.3384	1.3384	10.1
4.0	1.3383	1.3383	1.3383	1.3383	9.9
4.5	1.3386	1.3385	1.3385	1.3385	10.3
5.0	1.3388	1.3389	1.3389	1.3389	10.9
5.5	1.3387	1.3389	1.3387	1.3388	10.7

2.2.8 หาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมากโดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน 4:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งมีอุณหภูมิในการหมัก 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-16

ตารางที่ ข-16 ผลการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

ค่าพีเอช	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
3.0	1.3393	1.3391	1.3393	1.3392	11.6
3.5	1.3392	1.3390	1.3394	1.3392	11.5
4.0	1.3395	1.3394	1.3398	1.3396	12.2
4.5	1.3410	1.3411	1.3413	1.3411	15.1
5.0	1.3412	1.3413	1.3413	1.3413	15.3
5.5	1.3409	1.3407	1.3409	1.3408	14.5

2.2.9 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุนสด

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนสด 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งโดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุนสด 3:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมัก คือ อุณหภูมิห้อง, 30, 35, 40 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-17

ตารางที่ ข-17 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุนสด

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
อุณหภูมิห้อง	1.3385	1.3384	1.3385	1.3385	10.2
30	1.3387	1.3386	1.3385	1.3386	10.4
35	1.3380	1.3382	1.3381	1.3381	9.5
40	1.3373	1.3372	1.3374	1.3373	8.0

2.2.10 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

วิธีการ

1. เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ 30 กรัม และน้ำ 30 มิลลิลิตร นำมาผสมกันและนำมาต้มที่อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. มาเติมลูกแป้งข้าวหมากโดยอัตราส่วนร้อยละลูกแป้งข้าวหมากต่อเมล็ดขนุน 4:100 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมัก คือ อุณหภูมิห้อง, 30, 35, 40 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-18

ตารางที่ ข-18 ผลการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
อุณหภูมิห้อง	1.3410	1.3410	1.3411	1.3410	14.9
30	1.3411	1.3409	1.3412	1.3411	14.9
35	1.3387	1.3389	1.3389	1.3388	10.8
40	1.3376	1.3375	1.3379	1.3377	8.7

กิจกรรมที่ 3 ศึกษาปฏิสัมพันธ์ (Interaction) ระหว่างปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์

3.1 ศึกษาการปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบ

3.1.1 ศึกษาการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ขั้นตอนแรก คือ การต้มสุกและการย่อยแป้งให้มีโมเลกุลเล็กลงโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ปัจจัยที่ศึกษาในขั้นตอนนี้คือ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปรับสภาพแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะ-ไมเลส 80 – 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อเมล็ดขนุนแห้ง 0.0005:1 – 0.002:1 และเวลาในการย่อย 1 – 4 ชั่วโมง ที่ค่าพีเอช 6 ซึ่งใช้โปรแกรมการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) ช่วยในการออกแบบการทดลองสภาวะดังกล่าวได้จากการออกแบบการทดลองแบบ แบบ Central composite design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ ข-19 ทำให้ได้การทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง และ ค่าที่ได้จากการทดลองแสดงดังตารางที่ ข-20 และ ตารางที่ ข-21

ตารางที่ ข-19 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง ของกระบวนการปรับสภาพเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ปัจจัย	สัญลักษณ์	ค่าระดับ				
		-1	-0.59	0	0.59	1
เวลา (นาที)	*X*1	60	96	150	204	240
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	*X*2	80	84	90	96	100
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	*X*3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.2

ตารางที่ ข-20 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการปรับสภาพของเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร

การทดลองที่	*X*1	*X*2	*X*3	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	96	96	0.08	0.92	1.24
2	204	96	0.17	0.59	1.14
3	96	96	0.17	1.04	1.12
4	150	90	0.13	3.15	3.16
5	150	90	0.05	0.84	0.89
6	150	90	0.13	3.13	3.16
7	204	84	0.17	1.83	1.73
8	150	80	0.13	1.57	1.69
9	96	84	0.17	0.84	1.11
10	60	90	0.13	0.92	0.82
11	150	90	0.13	3.15	3.16
12	96	84	0.08	0.63	0.30
13	204	96	0.08	1.94	1.90
14	150	90	0.2	1.30	0.93
15	150	100	0.13	2.41	1.98
16	240	90	0.13	2.12	1.90
17	204	84	0.08	1.41	1.56

ตารางที่ ข-21 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการปรับสภาพของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร

การทดลองที่	*X*1	*X*2	*X*3	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	96	96	0.08	1.27	1.41
2	204	96	0.17	2.18	2.25
3	96	96	0.17	1.38	1.23
4	150	90	0.13	2.07	2.06
5	150	90	0.05	0.34	0.24
6	150	90	0.13	1.61	2.06
7	204	84	0.17	2.84	2.66
8	150	80	0.13	2.46	2.58
9	96	84	0.17	1.84	1.80
10	60	90	0.13	2.09	2.18
11	150	90	0.13	2.51	2.06
12	96	84	0.08	2.07	1.95
13	204	96	0.08	1.09	1.08
14	150	90	0.2	0.93	1.09
15	150	100	0.13	1.81	1.77
16	240	90	0.13	2.65	2.63
17	204	84	0.08	1.36	1.47

3.1.2 การย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

การย่อยแป้งให้มีโมเลกุลเล็กลงโดยใช้เอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ปัจจัยที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ คือ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งของเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส 50 – 70 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ต่อเมล็ดขนุน 0.0005:1 – 0.002:1 และเวลาในการย่อย 4 – 8 ชั่วโมง ค่าพีเอช 4.5 ซึ่งใช้โปรแกรมการออกแบบพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) ช่วยในการออกแบบการทดลอง สภาวะดังกล่าวได้จากการออกแบบการทดลองแบบ แบบ central composite design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ ข-22 ทำให้ได้การทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง และ ค่าที่ได้จากการทดลองแสดงดังตารางที่ ข-23 และ ตารางที่ ข-24

ตารางที่ ข-22 ช่วงของค่าระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลอง ของกระบวนการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส

ปัจจัย	สัญลักษณ์	ค่าระดับ				
		-1	-0.59	0	0.59	1
เวลา (นาที)	*X*1	240	290	360	430	480
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	*X*2	50	55	60	65	70
ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)	*X*3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.2

ตารางที่ ข-23 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยของเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส ตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร

การทดลองที่	*X*1	*X*2	*X*3	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	290	65	0.08	31.24	33.87
2	430	65	0.17	33.97	38.21
3	290	65	0.17	22.82	22.57
4	360	60	0.13	82.98	82.10
5	360	60	0.05	50.76	52.18
6	360	60	0.13	81.94	82.10
7	430	55	0.17	21.94	24.01
8	360	50	0.13	49.52	40.61
9	290	55	0.17	12.6	23.92
10	240	60	0.13	35.85	29.70
11	360	60	0.13	80.25	82.10
12	290	55	0.08	56.68	57.15
13	430	65	0.08	33.7	27.09
14	360	60	0.20	41.65	33.58
15	360	70	0.13	30.7	32.97
16	480	60	0.13	24.57	24.08
17	430	55	0.08	29.88	34.83

ตารางที่ ข-24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการย่อยของเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส แล้วตามแผนการทดลองแบบ CCD สำหรับ 3 ตัวแปร

การทดลองที่	*X*1	*X*2	*X*3	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลจากการทดลอง	ผลจากการทำนาย
1	290	65	0.08	15.13	12.45
2	430	65	0.17	20.94	21.10
3	290	65	0.17	20.12	16.90
4	360	60	0.13	35.12	34.98
5	360	60	0.05	7.28	7.405
6	360	60	0.13	34.99	34.98
7	430	55	0.17	36.18	37.35
8	360	50	0.13	44.03	42.94
9	290	55	0.17	39.5	38.68
10	240	60	0.13	23.65	27.90
11	360	60	0.13	35.16	34.98
12	290	55	0.08	26.94	25.37
13	430	65	0.08	18.08	17.49
14	360	60	0.20	20.76	21.63
15	360	70	0.13	15.32	18.41
16	480	60	0.13	33.27	31.02
17	430	55	0.08	23.07	24.88

3.2 ศึกษาการหมักเอทานอล

3.2.1 หาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนสด

1. นำสารละลายเมล็ดขนุนสดที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะ-ไมเลสแล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 5.0 นำมาเติมด้วยยีสต์อัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายร้อยละ 0.1 – 0.5 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมักคือ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-25

ตารางที่ ข-25 ผลการศึกษาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนสด

น้ำหนักยีสต์ต่อปริมาตรสารละลายร้อยละ	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	1.3364	1.3365	1.3363	1.3364	6.39
0.2	1.3371	1.3371	1.3372	1.3371	7.73
0.3	1.3372	1.3374	1.3374	1.3373	8.10
0.4	1.3386	1.3385	1.3384	1.3385	10.24
0.5	1.3375	1.3375	1.3375	1.3375	8.40

3.2.2 หาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

1. นำสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะ-ไมเลสแล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 5.0 นำมาเติมด้วยยีสต์อัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายร้อยละ 0.1 – 0.5 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมักคือ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-26

ตารางที่ ข-26 ผลการศึกษาอัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

น้ำหนักยีสต์ต่อปริมาตรสารละลายร้อยละ	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
0.1	1.3368	1.3365	1.3366	1.3366	6.82
0.2	1.3370	1.3370	1.3370	1.3370	7.49
0.3	1.3373	1.3373	1.3373	1.3373	8.04
0.4	1.3378	1.3379	1.3377	1.3378	8.95
0.5	1.3377	1.3378	1.3377	1.3377	8.83

3.2.3 หาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนสด

1. นำสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะ-ไมเลสแล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 5.0 นำมาเติมด้วยยีสต์อัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายร้อยละ 0.4 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 1-5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมักคือ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-27

ตารางที่ ข-27 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนสด

ระยะเวลาในการหมัก (วัน)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1	1.3367	1.3367	1.3368	1.3367	7.0
2	1.3387	1.3387	1.3386	1.3387	10.5
3	1.3386	1.3385	1.3384	1.3385	10.2
4	1.3384	1.3384	1.3384	1.3384	10.1
5	1.3384	1.3384	1.3384	1.3384	10.1

3.2.4 หาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

1. นำสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคสอะ-ไมเลสแล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 5.0 นำมาเติมด้วยยีสต์อัตราส่วนโดยน้ำหนักของยีสต์ต่อปริมาตรของสารละลายร้อยละ 0.4 ในขวดชุดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร

3. เติมไนไตรเจนเพื่อไล่อากาศออก หลังจากนั้นนำไปหมักเป็นระยะเวลา 1-5 วัน ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง Water bath ซึ่งอุณหภูมิในการหมักคือ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราในการเขย่า 100 รอบต่อนาที โดยควบคุมค่าพีเอช 5.0

4. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการหมัก มากรองด้วยผ้าขาว และกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

5. นำเมล็ดขนุนที่ผ่านการกรองนำมาวิเคราะห์หาร้อยละเอทานอลด้วยเครื่อง Refractometer จะได้ผลดังตารางที่ ข-28

ตารางที่ ข-28 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ของสารละลายเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์

ระยะเวลาในการหมัก (วัน)	ค่า Reflective index				แทนค่าในสมการจะได้ร้อยละเอทานอล
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	
1	1.3360	1.3360	1.3360	1.3360	5.7
2	1.3372	1.3372	1.3372	1.3372	7.9
3	1.3378	1.3379	1.3377	1.3378	9.0
4	1.3375	1.3377	1.3377	1.3376	8.6
5	1.3374	1.3374	1.3374	1.3374	8.2

กิจกรรมที่ 4 ศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น

1. นำผลผลิตเอทานอลที่ได้หลังกระบวนการหมัก และกระบวนการกรองไปทำการกลั่นด้วยชุดเครื่องกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์โดยอุปกรณ์ที่ใช้จะเป็นหม้อกลั่นความจุ 2 ลิตร มีหอกลั่นแบบแพคคอลัมน์สูง 45 เซนติเมตร ภายในคอลัมน์บรรจุวัสดุที่ทำจากสแตนเลสเป็นรูปก้นหอย มีอัตราส่วนการรีฟลักซ์เป็น 3:1 โดยอุณหภูมิในการกลั่นที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที
2. เก็บผลผลิตเอทานอลที่ได้นำไปวิเคราะห์ร้อยละเอทานอล จะได้ผลดังตารางที่ ข-29 และ ข-30

ตารางที่ ข-29 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิตด้วยการกลั่น ซึ่งหลังจากผ่านการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก

เวลาในการกลั่น (นาที)	ร้อยละเอทานอล (โดยปริมาตร)	
	เมล็ดขนุนสด	เมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์
5	73	75
10	80	83
15	85	85
20	92	91
25	95	95
30	95	95

ตารางที่ ข-30 ผลการศึกษาการเพิ่มความบริสุทธิ์ด้วยการกลั่น ซึ่งหลังจากผ่านการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisia*

เวลาในการกลั่น (นาที)	ร้อยละเอทานอล (โดยปริมาตร)	
	เมล็ดขนุนสด	เมล็ดขนุนผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์
5	77	76
10	86	84
15	89	87
20	95	95
25	95	95
30	95	95

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล บัญชา โลหรัตน์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5210120132

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนโครงการสู่ความเป็นเลิศสาขาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน พ.ศ. 2554 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- ทุนอุดหนุนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

บัญชา โลหรัตน์ สินินาฏ จงคง ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ การเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดและเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์. การประชุมวิชาการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ครั้งที่ 8. 1-3 กันยายน 2553. ณ โรงแรมดิเอ็มเพรส เชียงใหม่.

บัญชา โลหรัตน์ สินินาฏ จงคง ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์ การผลิตพลังงานชีวมวลจากเมล็ดขนุน. การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ครั้งที่ 20. 22-23 พฤศจิกายน 2553. ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร.

Bancha Lolharat, Sininart Chongkhong, Pakamas Chetpattananondh. 2011. Optimizing conditions for enzymatic clarification of prebiotic extracted jackfruit seeds using response surface methodology. The 5th PSU-UNS International Conference on Engineering and Technology (ICET-2011); 2-3 May, 2010, Phuket, Thailand.

Bancha Lolharat, Sininart Chongkhong, Pakamas Chetpattananondh. 2011. Comparative study of the jackfruit seed and the prebiotic extracted jackfruit seed for ethanol production. Agricultural Science Journal 42 : 1 (Suppl.) : 675-678.