การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด

Ethanol Production from Corncob

วรลักษณ์ คงจินดามุณี

Woraluk Kongjindamunee

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

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด
ผู้เขียน นางสาววรลักษณ์ คงจินดามุณี
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

………………………...................................
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง)

คณะกรรมการสอบ

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

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

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

...………………………………..…..กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

……………..………...……..………….
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ...
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ..
(นางสาววรลักษณ์ คงจินดามุณี)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ..

(นางสาววรลักษณ์ คงจินดามุณี)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด

ชื่อผู้เขียน นางสาววรลักษณ์ คงจินดามุณี

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

แกนข้าวโพดเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีองค์ประกอบหลัก คือ คาร์โบไฮเดรตและเซลลูโลส ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอล โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 กระบวนการหลัก คือ กระบวนการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดซึ่งเปรียบเทียบระหว่างการใช้สารเคมีและการใช้เอนไซม์ และกระบวนการหมักซึ่งเปรียบเทียบระหว่างการใช้ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

สำหรับการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี ทำการศึกษาการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1-2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50-80 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 6-24 ชั่วโมง และย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 90-120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง พบสภาวะที่เหมาะสม คือ การปรับสภาพด้วยสารละลายด่าง 2.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และย่อยด้วยสารละลายกรดร้อยละ 0.5 โดยมวล อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 12.420 กรัมต่อลิตร และสำหรับการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ ทำการศึกษาการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05-0.2 โดยมวล อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส เวลา 60-240 นาที และย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.05-0.2 โดยมวล อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส เวลา 240-480 นาที พบสภาวะที่เหมาะสม คือ การปรับสภาพด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.2 โดยมวล อุณหภูมิ 87.6 องศาเซลเซียส เวลา 150 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 360 นาที ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 13.251 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลของการใช้เอนไซม์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการใช้สารเคมี

หลังจากนั้นนำผลผลิตหลังผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยสภาวะที่เหมาะสมมาศึกษาการหมักด้วยยีสต์ที่ต่างชนิดกัน คือ ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 โดยมีปัจจัยสำคัญที่ศึกษา คือ ปริมาณยีสต์ร้อยละ 2-8 โดยมวล พีเอช 4.0-6.0 เป็นเวลา 48-144 ชั่วโมง ภายใต้การควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส พบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ

การหมักผลผลิตหลังปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีโดยใช้ยีสต์ขนมปัง คือ ยีสต์ร้อยละ 8 โดยมวล พีเอช 5.12 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 7.649 โดยปริมาตร และการหมักโดย *S. cerevisiae* YSC2 สภาวะที่เหมาะสม คือ ยีสต์ร้อยละ 5.77 โดยมวล พีเอช 5.65 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลน้อยกว่าเป็นร้อยละ 6.473 โดยปริมาตร สำหรับการหมักผลผลิตที่ปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์สภาวะที่เหมาะสมเมื่อใช้ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) คือ ยีสต์ร้อยละ 8 โดยมวล พีเอช 5.33 ใช้เวลา 135 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 8.158 โดยปริมาตร และการหมักด้วย *S. cerevisiae* YSC2 สภาวะที่เหมาะสม คือ ยีสต์ร้อยละ 2 โดยมวล พีเอช 5.64 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร ซึ่งมากกว่าการหมักด้วยยีสต์ขนมปังและเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตมีความบริสุทธิ์มากที่สุด

การประมาณต้นทุนการผลิตทั้ง 4 แบบ พบว่า วิธีการผลิตซึ่งมีต้นทุนการผลิตต่ำสุด คือ 15.32 บาทต่อลิตร การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ซึ่งคิดเป็นผลได้เอทานอล 520.75 ลิตรต่อตันของวัตถุดิบ แต่วิธีที่ให้ผลได้ของเอทานอลมากที่สุดเป็น 549.31 ลิตรต่อตัน โดยการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) ซึ่งมีต้นทุนการผลิต 37.45 บาทต่อลิตร

Thesis Title Ethanol Production from Corncob
Author Miss Woraluk Kongjindamunee
Major Program Chemical Engineering
Academic Year 2013

ABSTRACT

The corncob an agricultural residue, that composed mainly carbohydrate and cellulose contents was used as a raw material for ethanol productions. The productions were investigated by 2 major processes. These were the pretreatment followed by hydrolysis process that was studied by 2 different methods using chemicals compared with enzymes and the fermentation processes using baker's yeast compared with *Saccharomyces cerevisiae* YSC2.

For the pretreatment and hydrolysis processes using chemicals, the pretreatment factors were investigated with 1.0-2.5 M sodium hydroxide solutions at 50-80 °C for 6-24 h. Then the hydrolysis factors were 0.5-2.0 %wt sulfuric acid solution at 90-120 °C for 1-6 h. Optimum conditions were using 2.5 M alkaline at 60 °C for 18 h for the pretreatment and 0.5 %wt acid solution at 100 °C for 3 h for the hydrolysis. These could provide 12.420 g/L of reducing sugar content in the product. In addition, for enzyme method the pretreatment factors were 0.05-0.2 %wt alpha-amylase at 80-100 °C for 60-240 min. And the hydrolysis factors were using 0.05-0.2 %wt glucoamylase at 50-70 °C for 240-480 min. Optimum conditions were using 0.2 %wt alpha-amylase at 87.6 °C for 150 min and using 0.13 %wt glucoamylase at 60 °C for 360 min. These could be obtained 13.251 g/L reducing sugar product. The enzyme method could get more 6.27 % the reducing sugar than that of the chemical method.

After that the optimal pretreated and hydrolyzed products were fermented by using baker's yeast compare to *S. cerevisiae* YSC2. Independent factors that were considered were 2-8 %wt yeast amount with a pH of 4.0-6.0 for 48-144 h at a constant temperature of 30 °C.

For the products that were chemically pretreated and hydrolyzed, the optimal fermentation was 8 %wt baker's yeast with a pH of 5.12 for 48 h. This could get the 7.649 %v ethanol product. And the optimal fermentation using *S. cerevisiae* YSC2 was 5.77 %wt yeast with a pH of 5.65 for 48 h. It provided 6.473 %v ethanol product. In addition, for the enzymatic products which were carried out by the optimum using barker's yeast was 8 %wt yeast with a pH of 5.33 for 135 h. The 8.158 %v ethanol product could be obtained. As the highest ethanol product 9.315 %v was achieved by using 2 %wt *S. cerevisiae* YSC2 with a pH of 5.64 for 48 h.

The capital costs of the 4 production methods were estimated. The lowest production cost was get for operating with the enzymatic pretreatment and hydrolysis followed by *S. cerevisiae* YSC2 fermentation. These cost 15.32 baht per liter of ethanol and ethanol yield was 520.75 liter to ton of corncob. However the highest yield of 549.31 L/ton was received for operating with the chemical pretreatment and hydrolysis followed by baker's yeast fermentation which cost 37.45 baht/L.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สินินาฏ จงคง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการทำวิจัย การเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์ รวมทั้งการขัดเกลากระบวนการคิด การแก้ไขปัญหาและให้กำลังใจ รวมถึงรองศาสตราจารย์ ดร.กัลยา ศรีสุวรรณ รองศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลชนาฐ ประเสริฐสิทธิ์ ที่ให้เกียรติสละเวลามาเป็นกรรมการการสอบและให้คำแนะนำเพื่อใช้ในการแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่กรุณาให้ทุนวิจัย เพื่อเป็นค่าเล่าเรียนและค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษา ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่ให้สถานที่ในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และพี่ๆ ที่สนับสนุน ให้กำลังใจ และทุนทรัพย์ในการศึกษามาโดยตลอด ขอขอบพระคุณบุคลากรทุกท่านในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนขอขอบคุณทุกท่านที่มิได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

วรลักษณ์ คงจินดามุณี

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(13)
รายการภาพประกอบ	(19)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้าวโพดหวาน	3
2.2 เอทานอล	6
2.3 กระบวนการผลิตเอทานอล	7
2.4 กระบวนการผลิตเอทานอลทางชีวเคมี	8
2.5 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง	14
2.6 ยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักเอทานอล	15
2.7 วิธีของทากูชิ (Tagushi Method)	16
2.8 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)	17
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	25
3.1 วัสดุ	25
3.2 อุปกรณ์	26
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย	27
3.4 วิธีการทดลอง	28
3.4.1 ศึกษาองค์ประกอบของแกนข้าวโพด	28
3.4.2 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด	29

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

3.4.3 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 30
3.4.4 การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 33
3.4.5 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 34
3.4.6 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 37
3.4.7 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 40
3.4.8 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 46
3.4.9 การประมาณต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการผลิตแบบต่างๆ และการเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการผลิต 48
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 49
4.1 องค์ประกอบในแกนข้าวโพด 49
4.2 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 50
4.3 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 54
4.4 การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 60

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

4.5 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 62
4.6 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 67
4.7 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 83
4.8 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 100
4.9 การประมาณต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการผลิตแบบต่างๆ และการเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการผลิต 117
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 131
เอกสารอ้างอิง 135
ภาคผนวก 141
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์ 142
ภาคผนวก ข ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 149
ประวัติผู้เขียน 158

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	การออกแบบสภาวะทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method	17
3-1	ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	31
3-2	แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	31
3-3	ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก	32
3-4	แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก	33
3-5	ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	35
3-6	แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	35
3-7	ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก	36
3-8	แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก	36
3-9	ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองกระบวนการหมักเอทานอล	37
3-10	ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการหมักเอทานอล	38
3-11	ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*)	40
3-12	ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*)	41
3-13	ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองกระบวนการย่อยแกนข้าวโพดโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*)	43

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

3-14 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*) 44
3-15 ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำการทดลองกระบวนการหมักเอทานอล 46
3-16 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการหมักเอทานอล 47
4-1 องค์ประกอบของแกนข้าวโพด 49
4-2 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 55
4-3 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 56
4-4 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยแกนข้าวโพดสารละลายกรดซัลฟิวริก 58
4-5 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 58
4-6 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 62
4-7 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 63
4-8 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 65
4-9 การวิเคราะห์ตารางมาตรฐานของทากูชิ จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 66
4-10 ผลการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปังที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 68
4-11 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเคมี 70

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4-12 ผลการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 76

4-13 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี 78

4-14 ผลการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 84

4-15 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 86

4-16 ผลการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 92

4-17 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 94

4-18 ผลการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปังที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 101

4-19 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 103

4-20 ผลการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ 109

4-21 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 111

4-22 ราคาสารเคมี (Commercial grade) ที่ใช้ 117

4-23 ต้นทุนในการผลิตและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี 122

4-24 ต้นทุนในการผลิตและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ 123

4-25 ผลผลิตเอทานอลและต้นทุนในการผลิตทั้ง 4 วิธี 124

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4-26 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆ ซึ่งหมักโดย *Saccharomyces cerevisiae* 125

4-27 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆ ซึ่งหมักโดยยีสต์ขนมปัง 125

4-28 สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและเอนไซม์ 127

4-29 สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลแต่ละกระบวนการ 128

4-30 การเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียระหว่างการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีและเอนไซม์ 129

4-31 การเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการ 130

ก-1 สภาวะในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (GC) 147

ข-1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 149

ข-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 149

ข-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 150

ข-4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 150

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 151

ข-6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90-120 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 151

ข-7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 152

ข-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 152

ข-9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-1 โดยมวล เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 153

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-10 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง ที่ระยะเวลาหมัก 48-144 ชั่วโมงโดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 153

ข-11 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง ร้อยละ 2-10 โดยมวล ใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด 154

ข-12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 154

ข-13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 155

ข-14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5-1 โดยมวล เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ 155

ข-15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 156

ข-16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 157

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่		หน้า
2-1	สถิติการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง	4
2-2	ภาพ (ก) ต้นข้าวโพด (ข) ใบข้าวโพด (ค) ฝักข้าวโพด (ง) แกนข้าวโพด	5
2-3	โครงสร้างทางเคมีของเอทานอล	6
2-4	(ก) อะไมโลส เกิดจากกลูโคสแต่ละหน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 (ข) อะไมโลแพกติน เกิดจากกลูโคสที่ต่อเป็นแขนงด้วยพันธะ α-1,6	10
3-1	แผนภาพขั้นตอนการผลิตเอทานอล	27
3-2	ภาพแกนข้าวโพดหลังบด	28
3-3	การปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker)	30
3-4	ชุดขวดหมักเอทานอล (Air-locked Flask)	39
3-5	การหมักเอทานอลในที่มืด	48
4-1	ปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	50
4-2	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส	51
4-3	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	52
4-4	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส	52
4-5	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2โดยมวล ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส	53
4-6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 90-120 องศาเซลเซียส	53
4-7	ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักเอทานอล 48-120 ชั่วโมง ด้วยยีสต์ขนมปังร้อยละ 3 โดยมวล พีเอชเริ่มต้น 5	60
4-8	ผลการศึกษาร้อยละยีสต์ขนมปัง 2-10 โดยมวล ในการหมักเอทานอล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พีเอชเริ่มต้น 5	61

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ **หน้า**

4-9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง 69

4-10 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง 71

4-11 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 72

4-12 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 5 โดยมวล 74

4-13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 77

4-14 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 79

4-15 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง 80

4-16 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล 82

4-17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 85

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ **หน้า**

4-18 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละแอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้เวลาในการปรับสภาพและย่อย 150 นาที 87

4-19 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล 88

4-20 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละแอลฟาอะไมเลสและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้อุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย 90 องศาเซลเซียส 90

4-21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของกระบวนย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 93

4-22 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกลูโคอะไมเลสและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้อุณหภูมิในการย่อย 60 องศาเซลเซียส 95

4-23 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้ร้อยละกลูโคอะไมเลส 0.13 โดยมวล 97

4-24 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกลูโคอะไมเลสและอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้เวลาในการย่อย 360 นาที 98

4-25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง 102

4-26 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 104

4-27 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง 106

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่ **หน้า**

4-28 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 5 โดยมวล 107

4-29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 110

4-30 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 112

4-31 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง 113

4-32 กราฟพื้นผิว (ก) กราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล 115

4-33 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ขนมปัง 118

4-34 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 119

4-35 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง 120

4-36 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 121

ก-1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 144

ก-2 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 146

ก-3 กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอลสำหรับการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอล 147

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พลังงานเชื้อเพลิงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของโลก เนื่องจากมีความต้องการใช้พลังงานทุกภาคส่วนทั้งในภาคอุตสาหกรรมการผลิตและการคมนาคมขนส่ง โดยเฉพาะน้ำมันปิโตรเลียม ซึ่งมีความต้องการใช้เป็นปริมาณมากและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ส่งผลให้เชื้อเพลิงปิโตรเลียมของโลกมีปริมาณลดลงและมีแนวโน้มทางด้านราคาสูงขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อประเทศไทยเป็นอย่างมาก เนื่องจากภาวะทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมต่างๆในประเทศมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จึงต้องมีการนำเข้าเชื้อเพลิงในปริมาณสูง ปัญหาดังกล่าวทำให้หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนช่วยกันหาหนทางแก้ไข ซึ่งการใช้พลังงานทางเลือกจะสามารถช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ เพื่อลดการนำเข้าน้ำมันปิโตรเลียมจากต่างประเทศ จึงได้มีการพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทนจากผลผลิตทางการเกษตร ที่เป็นทรัพยากรหลักของประเทศไทย ซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม แหล่งพลังงานทดแทนที่สำคัญของไทย คือ พลังงานจากชีวมวลที่สามารถลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม และช่วยสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรได้อีกทางหนึ่ง พลังงานชีวมวลที่สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเครื่องยนต์มีอยู่ 2 ประเภทหลัก คือ เอทานอลและไบโอดีเซล

เอทานอลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบหลัก 3 ประเภท คือ วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล แป้ง และเซลลูโลส วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย กากน้ำตาล บีตรูท ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ผลผลิตทางการเกษตรจำพวกธัญพืช เช่น ข้าวจ้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น และวัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น (คณะกรรมาธิการกรมพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร, 2545)

งานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีราคาถูกหรือแทบจะไม่มีราคา เพื่อจะสามารถช่วยลดต้นทุนรวมของการผลิตเอทานอล โดยผลผลิตเหลือทิ้งที่สนใจศึกษา คือ แกนข้าวโพด เนื่องจากแกนข้าวโพดมีองค์ประกอบของน้ำตาล แป้ง และ

เซลลูโลสในปริมาณที่เหมาะสม แกนข้าวโพดเป็นผลผลิตเหลือทิ้งจากการแปรรูปข้าวโพดบรรจุกระป๋องหรือข้าวโพดแกะเมล็ด ที่มีปริมาณมากในแต่ละปีและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี เช่น ในปี พ.ศ. 2551 มีการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง 153,384 ตัน มูลค่า 4,843.43 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2552 มีการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง 160,816 ตัน มูลค่า 5,105.16 ล้านบาท เพิ่มขึ้นร้อยละ 5 และในปี พ.ศ. 2553 มีการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง 173,169 ตัน มูลค่า 5,108.49 ล้านบาท ซึ่งเพิ่มขึ้นร้อยละ 8 (สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป, 2554) แกนข้าวโพดเหล่านี้ยังมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อยมาก จึงเป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาผลิตเป็นพลังงานทดแทน โดยจะศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการปรับสภาพและย่อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟิวริกเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส และศึกษาการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker’s yeast) เปรียบเทียบกับการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด
2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีและการใช้เอนไซม์
3. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker’s yeast) และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. เป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีจำนวนมาก ราคาถูกและหาได้ง่ายทุกฤดูกาล
2. เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับแกนข้าวโพด ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีมูลค่าน้อยให้มีมูลค่าสูงขึ้น
3. เป็นการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและโรงงานแปรรูป
4. ได้กระบวนการและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด
5. เป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตพลังงานทดแทน

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าวโพดหวาน

ข้าวโพดหวาน (Sweet corn) เป็นพืชตระกูลหญ้า วงศ์ (Family) กรามีนีอี (Gramineae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า ซี เมย์ส แซคคาราทา (*Zea mays saccharata*) นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย เพื่อรับประทานฝักสด เพราะฝักมีน้ำตาลมาก ทำให้มีรสหวาน ข้าวโพดหวานยังมีคุณประโยชน์มากมาย นอกจากจะใช้รับประทานเป็นผักสดแล้ว ยังสามารถนำไปแปรรูปได้หลายรูปแบบ เช่น ข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องทั้งฝัก หรือบรรจุกระป๋องเฉพาะเมล็ด ทำครีมข้าวโพดหวาน ข้าวโพดแช่แข็ง ซึ่งผลิตภัณฑ์ต่างๆ เหล่านี้ สามารถส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน และกลุ่มประเทศในแถบยุโรป

ข้าวโพดสามารถปลูกได้อย่างกว้างขวางทั่วโลก ข้าวโพดสามารถเจริญเติบโตได้ดีบนพื้นที่ซึ่งมีระดับเดียวกับน้ำทะเลไปจนถึงพื้นที่ระดับสูงกว่าน้ำทะเล 3,000-3,900 เมตร แหล่งผลิตข้าวโพดสำคัญ ๆ เรียงตามปริมาณการผลิตมากไปหาน้อย คือ สหรัฐอเมริกา สหภาพโซเวียตรัสเซีย เม็กซิโก สหภาพแอฟริกาใต้ อาร์เจนตินา รูมาเนีย ยูโกสลาเวีย อินเดีย อิตาลี ฝรั่งเศส และอินโดนิเซีย สำหรับในประเทศไทยอาจกล่าวได้ว่า ข้าวโพดหวานเป็นพืชที่ปลูกได้ตลอดทั้งปีและปลูกกันทั่วทุกภาคของประเทศ แหล่งเพาะปลูกข้าวโพดหวานที่สำคัญ ได้แก่ ภาคเหนือมีแหล่งเพาะปลูกส่วนใหญ่ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือปลูกกันที่จังหวัดหนองคาย นครพนม ภาคกลาง จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี ส่วนภาคใต้ปลูกกันมากในจังหวัดสงขลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ผลผลิตข้าวโพดหวานร้อยละ 75 ของผลผลิตทั้งหมด นำมาแปรรูปเป็นข้าวโพดหวานกระป๋องส่งออกไปยังต่างประเทศ ซึ่งข้อมูลจากสมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูปประบุปริมาณและมูลค่าการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋องแสดงดังภาพประกอบที่ 2-1 พบว่าปี พ.ศ. 2550 มีปริมาณส่งออก 151,276 ตัน มูลค่า 4,611.80 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2551 ปริมาณส่งออก 153,384 ตัน มูลค่า 4,843.43 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2552 ปริมาณส่งออก 160,816 ตัน มูลค่า 5,105.16 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2553 ปริมาณส่งออก 173,169 ตัน มูลค่า 5,108.49 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2554 (มกราคม-มีนาคม) ปริมาณส่งออก 40,614 ตัน มูลค่า 1,220 ล้านบาท จึงเป็นโอกาสของประเทศไทยที่จะขยายการผลิตและการส่งออกข้าวโพดหวานต่อไปในอนาคตข้างหน้าได้ (สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป, 2554)

สถิติส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง

ปี	ปริมาณ(ตัน)	มูลค่า(ล้านบาท)
2550	151,276	4,611.80
2551	153,384	4,843.43
2552	160,816	5,105.16
2553	173,169	5,108.49
2554(ม.ค.-มี.ค.)	40,614	1,220

ที่มา : สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป

ภาพประกอบที่ 2-1 แสดงสถิติการส่งออกข้าวโพดหวานกระป๋อง

ที่มา : http://www.thaifood.org/index.php/home

2.1.1 ลักษณะทั่วๆ ไปและลักษณะทางพฤกษศาสตร์

(1) ราก รากแรกที่ออกมาจากคัพภะ (Embryo) เป็นรากชั่วคราวเรียกว่า ไพรมารี (Primary) หรือ เซมินัล (Seminal) หลังจากข้าวโพดเจริญเติบโตได้ประมาณ 7-10 วัน รากถาวรจะงอกขึ้นรอบๆ ข้อปลาย เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะแผ่ออกไปโดยรอบประมาณ 100 เซนติเมตร และแทงลึกลงไปในดินแนวดิ่งยาวมากซึ่งอาจยาวถึง 300 เซนติเมตร รากของข้าวโพดเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system)

(2) ลำต้น ข้าวโพดมีลำต้นแข็ง ไส้แน่นไม่กลวง มีความยาวตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 8 เมตร แล้วแต่ชนิดของพันธุ์ ตามลำต้นมีข้อ (Node) และปล้อง (Internode) ปล้องที่อยู่ในดินและใกล้ผิวดินสั้น และจะค่อยๆ ยาวขึ้นไปทางด้านปลาย ปล้องเหนือพื้นดินจะมีจำนวนประมาณ 8-20 ปล้อง ข้าวโพดส่วนมากมีลำต้นสดสีเขียว แต่บางพันธุ์มีสีม่วง

(3) ใบ ข้าวโพดมีใบลักษณะยาวรี คล้ายพืชตระกูลหญ้าทั่วไป ประกอบด้วยตัวใบ กาบใบ และเขี้ยวใบ ลักษณะของใบรวมทั้งสีของใบแตกต่างกันไป แล้วแต่ชนิดของพันธุ์ บางพันธุ์ใบสีเขียว บางพันธุ์ใบสีม่วง และบางพันธุ์ใบลายจำนวนใบก็เช่นเดียวกันอาจมีตั้งแต่ 8-48 ใบ

(4) ดอก ข้าวโพดจัดเป็นพวกโมโนอิเซียส (Monoecious) คือ มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกอยู่ในต้นเดียวกัน ช่อดอกตัวผู้ (Tassel) อยู่ตอนบนสุดของลำต้น ดอกตัวผู้ดอกหนึ่งจะมีอับเกสร (Anther) 3 อับ แต่ละอับจะมีเรณูเกสร (Pollen grain) ประมาณ 2,500 เม็ด ดังนั้นข้าวโพดต้นหนึ่ง จึงมีเรณูเกสรอยู่เป็นจำนวนหลายล้าน และสามารถปลิวไปได้ไกลกว่า 2,000 เมตร ส่วนดอกตัวเมียอยู่รวมกันเป็นช่อ เกิดขึ้นตอนข้อกลางๆ ลำต้น ต้นหนึ่งอาจมีหลายช่อแล้วแต่ชนิดพันธุ์

ดอกตัวเมียแต่ละดอกประกอบด้วยรังไข่ (Ovary) และเส้นไหม (Silk หรือ Style) ซึ่งมีความยาวประมาณ 5-15 เซนติเมตร และยื่นปลายโผล่ออกไปรวมกันเป็นกระจุกอยู่ตรงปลายช่อดอกซึ่งมีเปลือกหุ้มอยู่ ดอกพวกนี้พร้อมที่จะผสมพันธุ์ หรือรับละอองเกสรได้เมื่อเส้นไหมโผล่ออกมา หลังจากได้รับการผสมเส้นไหมจะแห้งเหี่ยว และรังไข่เจริญเติบโตเป็นเมล็ด ช่อดอกตัวเมียที่รับการผสมแล้วเรียกว่า ฝัก (Ear) แต่ละฝักอาจมีเมล็ดมากถึง 1,000 เมล็ด แกนกลางของฝักเรียกว่า ซัง (Cob)

(ก)

(ข)

(ค)

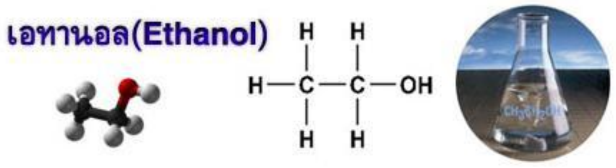
(ง)

ภาพประกอบที่ 2-2 แสดงภาพ (ก) ต้นข้าวโพด (ข) ใบข้าวโพด (ค) ฝักข้าวโพด (ง) แกนข้าวโพด

2.2 เอทานอล

2.2.1 คุณสมบัติทั่วไป

เอทานอล (Ethanol) หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง ที่มีสูตรเคมี คือ C_2H_5OH เกิดจากการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วย hydroxyl group (OH) เนื่องจากเอทานอลมีออกซิเจนประกอบอยู่ในโมเลกุล ออกซิเจนจะจับตัวอยู่ในรูปของอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl, -OH) ทำให้โมเลกุลของเอธานอลมีคุณสมบัติเป็นขั้ว (Polar) โครงสร้างทางเคมีของเอทานอล แสดงดังภาพประกอบที่ 2-3 เอทานอลมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 46.07 เป็นของเหลวใส ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงิน และไม่มีควัน โดยปกติเอทานอลสามารถรวมตัวกับน้ำ อีเทอร์ หรือครอโรฟอร์ม ได้ทุกส่วน (มอก.640,2553) มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลวที่ -114.1 องศาเซลเซียส ความหนาแน่นเท่ากับ 0.789 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ 20 องศาเซลเซียส (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2553)



ภาพประกอบที่ 2-3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเอทานอล
ที่มา : http://water-pacific.com/index.php/2010-08-14-10-07-37

2.2.2 ประโยชน์ของเอทานอล

เอทานอลสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ใช้ในอุตสาหกรรมยา ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม เช่น สี แล็กเกอร์ ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์สารเคมีและชีวเคมี ใช้ผลิตเป็นอาหาร เช่น น้ำส้มสายชู เจลาติน ใช้ทางด้านการแพทย์ เช่น ใช้เช็ดแผล ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้เป็นตัวรีเอเจนต์ในห้องปฏิบัติการ ใช้เป็นสารเติมแต่งเพิ่มค่าออกเทนและสารป้องกันการน๊อกให้แก่น้ำมันเบนซิน เป็นต้น

2.3 กระบวนการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี ดังนี้

2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี ได้จากกระบวนการแคทตาไลติกไฮเดรชัน (Catalytic Hydraion) โดยใช้สารเอทิลลีน (Ethylene) เป็นวัตถุดิบ ซึ่งเป็นอนุพันธ์สารปิโตรเลียม เอทานอลที่ได้จะเรียกว่า เอทานอลสังเคราะห์ (Synthetic Ethanol)

$$\underset{\text{เอทิลีน}}{C_2H_4} + \underset{\text{น้ำ}}{H_2O} \xrightarrow{H_3PO_4} \underset{\text{เอทานอล}}{C_2H_5OH} \qquad \text{(สมการ 2.1)}$$

2.3.2 กระบวนการทางชีวเคมี ได้จากกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดจากการทำงานของเชื้อยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอล ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เอทานอลที่ได้จะเรียกว่า ไบโอเอทานอล (Bio-ethanol) วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอล สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

(1) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย กากน้ำตาล บีตรูท ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น ซึ่งยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการใดๆ

(2) วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ผลผลิตทางการเกษตรจำพวกธัญพืช เช่น ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น ซึ่งแป้งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เมื่อนำแป้งมาผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) จะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จากนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นเอทานอล

(3) วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ส่วนใหญ่วัตถุดิบในกลุ่มนี้จะทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก

2.4 กระบวนการผลิตเอทานอลทางชีวเคมี

การผลิตเอทานอล ประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมและการปรับสภาพวัตถุดิบ การย่อย และการหมัก โดยมีรายละเอียดแต่ละขั้นตอนดังนี้

2.4.1 การเตรียมและการปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมักเป็นขั้นตอนแรกในการผลิตเอทานอล มีอยู่หลายรูปแบบขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาใช้ ได้แก่

(1) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล วัตถุดิบที่เป็นกากน้ำตาล เพียงเจือจางด้วยน้ำเพื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสม สามารถนำไปหมักได้เลย

(2) วัตถุดิบประเภทแป้ง เช่น หัวมันสำปะหลัง จะมีวิธีการจัดเตรียมค่อนข้างซับซ้อน จะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ เพื่อทำให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมก่อนจะทำการหมักต่อไป

(3) วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เนื่องจากในกระบวนการหมักใช้เฉพาะเซลลูโลส จึงต้องแยกลิกนิน (Lignin) และเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบก่อน เพราะองค์ประกอบทั้งสองทำให้กระบวนการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ลดลงและเป็นอุปสรรคต่อการหมักอีกด้วย นอกจากนี้การปรับสภาพยังช่วยให้เซลลูโลสมีลักษณะอ่อนนุ่ม และเป็นการปรับโครงสร้างเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม คือ ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความเป็นรูพรุนของวัตถุดิบ ส่งผลให้เอนไซม์เข้าถึงและทำปฏิกิริยาได้ดี เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำตาล ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต หลีกเลี่ยงการเกิดตัวยับยั้งในขั้นตอนการไฮโดรไลซิส และการหมัก วิธีการปรับสภาพแบ่งได้เป็น 4 วิธีคือ

3.1) การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (Physical Pretreatment) เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบโดยวิธีการตัด การบดเพื่อลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส ทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น การบดสามารถทำลายความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มการย่อยสลายให้ง่ายขึ้น

3.2) การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (Chemical Pretreatment) จะใช้สารละลายกรดเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลส เพราะเฮมิเซลลูโลสสามารถย่อยสลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลสหรือใช้สารละลายเบสเพื่อเพิ่มปริมาณการละลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน เช่น การใช้สารประกอบอัลคาไลน์ (Alkali Pretreatment) การใช้แอมโมเนีย (Ammonia Pretreatment) การใช้กรด (Acid Pretreatment) เป็นต้น

3.3) การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (Physico-Chemical Pretreatment) เป็นวิธีที่ใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับการใช้สารเคมี เช่น การปรับสภาพฟางข้าวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide) ในสภาวะความดันสูง พบว่าประสิทธิภาพในการปรับสภาพฟางข้าวจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และความร้อนที่เพิ่มขึ้น

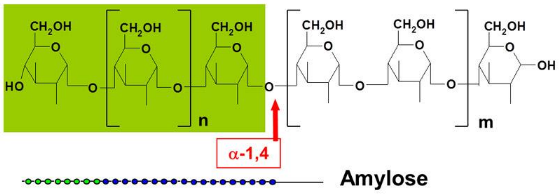
3.4) การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological Pretreatment) เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ ในการเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสให้อยู่ในรูปโซ่ตรง นอกจากนี้ยังช่วยลดความเป็นผลึกอีกด้วย

2.4.2 กระบวนการย่อย

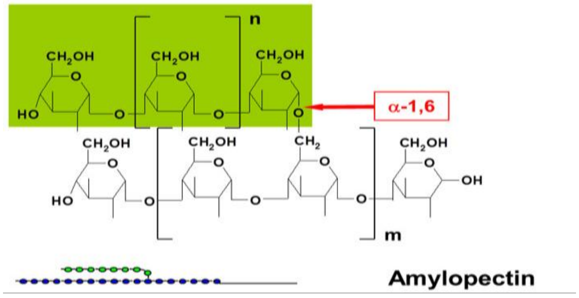
(1) วัตถุดิบประเภทแป้ง การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนด้วยวิธีการทางเคมี ฟิสิกส์ หรือวิธีทางชีวภาพ เพื่อเปลี่ยนแป้งให้มีโครงสร้างโมเลกุลอยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลกลูโคส) กระบวนการที่นิยมใช้มี 2 วิธี คือ

1.1) การใช้กรด (Acid Hydrolysis) การใช้กรดย่อยแป้งให้กลายเป็นกลูโคส นิยมใช้กรดเกลือ (HCl) กรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) กรดไนตริก (HNO_3) กรดกำมะถัน (H_2SO_4) และกรดไนตริก ปัจจุบันการใช้กรดในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากการย่อยแป้งด้วยกรดต้องทำปฏิกิริยาร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งประสิทธิภาพในการย่อยจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรด ชนิดของกรด เวลาและอุณหภูมิในการย่อย อีกทั้งยังก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ เช่น สารเฟอร์ฟูรอล

1.2) การใช้เอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) เป็นวิธีการใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง การใช้เอนไซม์ย่อยแป้งจะเป็นที่นิยมมากกว่า เนื่องจากเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดต้นทุนการผลิต ให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูง รวมทั้งไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม การย่อยสลายแป้งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ 2 กลุ่ม คือ เอนไซม์ที่ใช้ในการตัดพันธะ α-1,4 ที่เชื่อมระหว่างกลูโคสแต่ละหน่วยและเอนไซม์ที่ตัดพันธะ α-1,6 ที่เป็นสาขาเชื่อมอะไมโลแพกติน ซึ่งโครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลแพกตินแสดงได้ดังภาพประกอบที่ 2-4



(ก) อะไมโลส



(ข) อะไมโลแพกติน

ภาพประกอบที่ 2-4 แสดง (ก) อะไมโลส เกิดจากกลูโคสแต่ละหน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 (ข) อะไมโลแพกติน เกิดจากกลูโคสที่ต่อเป็นแขนงด้วยพันธะ α-1,6

ที่มา : http://5e.plantphys.net/article.php?ch=t&id=422

การย่อยสลายแป้งโดยใช้เอนไซม์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ Liquefaction และ Saccharification (กล้าณรงค์, 2549)

1. Liquefaction เมื่อใส่น้ำเย็นลงไปผสมกับน้ำแป้ง เม็ดแป้งจะดูดน้ำได้ปริมาณหนึ่ง ทำให้เม็ดแป้งมีความชื้นเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่สามารถพองตัวได้ เนื่องจากแป้งประกอบด้วยพันธะ 1,4 และ 1,6 แอลฟาไกลโคซิดิกที่ยึดจับกันอย่างหนาแน่น เมื่อให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ทำให้การจับตัวระหว่างโมเลกุลของแป้งคลายตัวลงเกิดปฏิกิริยารับน้ำและเกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง ทำให้สารละลายแป้งมีความหนืดและใส เรียกว่า Gelatinization เมื่อให้ความร้อนต่อไปจนอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะทำการย่อยแป้งที่ตำแหน่ง 1,4 แอลฟาไกลโคซิดิกแบบสุ่ม ทำให้ความหนืดลดลง ได้ผลผลิตเป็นมอลโตสเดกซ์ตรินและโอลิโกแซคคาไรด์ ขั้นตอนนี้เรียกว่า Liquefaction

2. Saccharification หลังจากทำขั้นตอน Liquefaction จนได้มอลโตสเดกซ์ตริน และโอลิโกแซคคาไรด์แล้ว เติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพื่อย่อยสลายพันธะ 1,4 และ 1,6 แอลฟาไกลโคซิดิกของโมเลกุลมอลโตสเดกซ์ตริน และโอลิโกแซคคาไรด์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้กลูโคสออกมาขั้นตอนนี้เรียกว่า Saccharification

(2) วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส

เนื่องจากวัสดุชนิดลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นเมื่อทำการย่อยเซลลูโลสจะได้น้ำตาลออกมา ถ้าการย่อยเกิดอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าไม่สมบูรณ์จะเกิดทั้งกลูโคสและโอลิโกแซคคาไรด์ ส่วนเฮมิเซลลูโลสจะได้น้ำตาลหลายชนิด ซึ่งจะขึ้นกับโครงสร้างของน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลส สำหรับการย่อยมี 2 วิธีด้วยกัน คือ

2.1) การย่อยทางเคมี เป็นวิธีการย่อยเซลลูโลสให้ได้กลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์โดยตรง สามารถใช้กรดเข้มข้นหรือกรดเจือจาง ได้แก่ กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 70 ขึ้นไป กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 40 ขึ้นไป กรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 1 เป็นต้น วิธีนี้ได้ผลผลิตค่อนข้างน้อย เพราะมีการทำลายน้ำตาลที่เกิดขึ้น เนื่องจากน้ำตาลที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อทำให้ได้ผลพลอยได้อื่นๆ เช่น สารเฟอร์ฟูรอล และกรดอาจทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่เซลลูโลสทำให้ได้ผลผลิตที่ไม่ต้องการ และต้องย่อยที่อุณหภูมิสูงประมาณ 140-160 องศาเซลเซียส ซึ่งปฏิกิริยาจะเกิดรุนแรงและไม่เฉพาะเจาะจง

2.2) การย่อยโดยใช้เอนไซม์ เอนไซม์จะทำปฏิกิริยาย่อยสลายเซลลูโลส ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาล เอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลส คือ เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) การเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เป็นปฏิกิริยาที่จำเพาะเจาะจงและไม่รุนแรง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง แต่ใช้เวลานานเมื่อเทียบกับวิธีทางเคมี ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่พบในจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งราและแบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ คือ เซลลูเลส ที่ได้จาก *Trichoderma viride* หรือภายหลังจัดอยู่ใน *T. reessi*

2.4.3 การหมัก (Fermentation) มีรากศัพท์มาจากคำกิริยาภาษาลาตินที่เรียกว่า ฟีเวอร์ (fervere) แปลว่า การเดือด (to boiling) โดยเกิดเป็นฟองปุดขึ้นมาในน้ำสกัดผลไม้หรือเมล็ดข้าวมอลท์ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน เกิดเป็นฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือด ในทางชีวเคมี การหมัก หมายถึง กระบวนทางชีวเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน

การหมักทำหลังจากเตรียมวัตถุดิบเรียบร้อยแล้ว นำมาเทลงในถังหมัก (Fermentor) ซึ่งอาจนำมาผ่านหรือไม่ผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของการหมักและวัตถุดิบที่ใช้ โดยทั่วไปจะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ได้ประมาณร้อยละ 14-18 สารอาหารที่ต้องเตรียมเพิ่มเติม คือ แอมโมเนียซัลเฟสประมาณ 700-400 กรัมต่อลิตร ซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน เติมกรดซัลฟิวริกเพื่อปรับความเป็นกรดด่างให้เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ประมาณ 4.5-5.0 จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ประมาณร้อยละ 5-8 โดยมวล การหมักจะใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส จะได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร

ตามทฤษฎีการหมักเอทานอลโดยใช้น้ำตาลกลูโคส ถ้าใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นร้อยละ 100 ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ร้อยละ 51.11 โดยมวลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.89 โดยมวล ดังสมการ 2.2

$$(-C_6H_{10}O_5-)_n + nH_2O \longrightarrow nC_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2nCH_3CH_2OH + 2n\,CO_2 \qquad \text{(สมการ 2.2)}$$

Starch	Water	Glucose	Ethanol	Carbon dioxide
90	10	100	51.11	48.89

ในทางปฏิบัติน้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้นที่จะเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ทั้งนี้เพราะน้ำตาลบางส่วนถูกยีสต์ใช้สำหรับการเจริญเติบโตของตัวมันเองและถูกเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่น ได้แก่

Acetaldehyde	ร้อยละ 0-0.03
Acetic acid	ร้อยละ 0.05-0.25
Glycerine	ร้อยละ 2.5-3.6
Lactic acid	ร้อยละ 0-0.2
Succinic acid	ร้อยละ 0.5-0.77
Fusel oil	ร้อยละ 0.25-0.5
Furfural	เล็กน้อย

2.4.3.1 การหมักแอลกอฮอล์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

(1) การหมักแบบแบทช์ (Batch Fermentation) เป็นกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์โดยอาศัยการเติมวัตถุดิบ สารอาหาร และหัวเชื้อ ลงไปในถังหมักเพียงครั้งเดียวตลอดกระบวนการ

(2) การหมักแบบเฟดแบทช์ (Fed Batch Fermentation) เป็นกระบวนการที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารลงไปในถังหมักมากกว่า 1 ครั้งขึ้นไป เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบและสารอาหารได้ในปริมาณสูงขึ้น

(3) การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous Fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารเข้าไปในถังหมักและแยกเอาผลิตภัณฑ์ออกมาตลอดเวลา ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูงสุดในระยะเวลาเท่ากันเมื่อเทียบกับการหมักทั้งสองชนิดที่กล่าวมา

2.4.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของยีสต์ในระหว่างกระบวนการหมัก

เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการหมักสูงสุด และได้ปริมาณเอทานอลสูง จำเป็นต้องมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมในการหมักในทุกขั้นตอน เพื่อให้เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ในการหมักเอทานอล ดังนี้

(1) อุณหภูมิ อุณหภูมิมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ เนื่องจากในระหว่างการหมักเอทานอลจะมีความร้อนเกิดขึ้นในระบบ ซึ่งเกิดจากการทำงานของยีสต์ โดยการหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสจะเกิดความร้อนประมาณ 140.2 แคลลอรี่ต่อกรัมกลูโคส ซึ่งจะถ่ายเทความร้อนลงในน้ำหมัก ทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น ยีสต์สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาพที่อาหารอุดมสมบูรณ์ ยีสต์จะทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี และจะหยุดเจริญเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 0 และเกินกว่า 40 องศาเซลเซียส โดยพบว่าเซลล์ยีสต์ในระยะที่มีการเจริญเกิดการตายได้ ถ้านำไปไว้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 50-60 องศาเซลเซียส (Rose and Harrison, 1971) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ใช้ (Hughes, 1984)

(2) ค่าพีเอช ยีสต์เจริญได้ดีที่ค่าพีเอชในช่วงที่เป็นกรด คือ ในช่วงพีเอช 3.0-6.5 แต่พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 4.5-5.0 (Reed and Nagodawithana, 1991) ซึ่งในสภาพกรดอ่อนนี้สามารถช่วยควบคุมการปนเปื้อนแบคทีเรียได้ดี ซึ่งการหมักเอทานอลจากซูโครสมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชมากกว่าการใช้กลูโคส (Rose, 1987) สำหรับอาหารที่มีบัฟเฟอร์ต่ำพีเอชเริ่มต้นสำหรับการหมักที่เหมาะสมควรมีค่าประมาณ 5.5 แต่อาหารที่มีบัฟเฟอร์สูงพีเอชที่ใช้ควรอยู่ในช่วง 4.5-4.7 (สาวิตรี, 2540)

(3) ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ คือ การที่กลูโคส หรือแป้ง (คาร์โบไฮเดรต) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสูง ทำให้ความสามารถในการหายใจเสียไปหรือที่เรียกว่า Crabtree หรือ Glucose effect ซึ่งเป็นการกดดันเมตาบอลิซึม (Metabolism) ที่เกิดขึ้นเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีคาร์โบไฮเดรตความเข้มข้นระดับหนึ่ง คือ มีกลูโคส (Glucose) หรือซูโครส (Sucrose) ความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 0.02-0.1 โดยมวล ทำให้การหายใจถูกยับยั้งอย่างรุนแรง (สาวิตรี, 2549)

(4) ความเข้มข้นของเอทานอล ในสภาพที่มีเอทานอลสูงการเจริญและการหมักเอทานอลด้วยยีสต์จะถูกยับยั้ง เพราะเอทานอลมีผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซลล์ยีสต์ เมื่อเอทานอลมีความเข้มข้นร้อยละ 4.7-7.8 โดยมวล ยีสต์จะหยุดการเจริญเติบโต การที่ยีสต์ไม่เจริญเติบโตจะส่งผลให้อัตราการหมักลดลงด้วย

(5) ปริมาณออกซิเจน เนื่องจากยีสต์มีการเจริญเติบโตสูงในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่จะมีผลให้การหมักลดลง ยีสต์จะใช้ออกซิเจนในการหายใจเพื่อการเจริญเติบโตและแตกหน่อ (Budding) โดยจะไม่ให้เอทานอลออกมาแต่จะมีเพียงคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดขึ้นเท่านั้น ดังนั้นการหมักอย่างต่อเนื่องควรมีอากาศบ้างในระหว่างการหมัก เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ตายลงและยังพบว่าการให้อากาศเพียงเล็กน้อย จะทำให้มีการใช้กลูโคสได้มากขึ้น และช่วยให้ยีสต์มีความทนทานต่อเอทานอลได้ดีอีกด้วย

(6) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน ที่ความดันบรรยากาศปกติ หากมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญและการหมักอย่างรุนแรง (สาวิตรี, 2549)

2.5 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง

2.5.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Kenedy, 1989)

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถผลิตขึ้นได้เองภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลังจากนั้นจะถูกขับออกนอกเซลล์ หรือเรียกอีกอย่างว่า Extracellular enzyme มักพบในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ ทำหน้าที่ย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิก (α-1,4 Glycosidic linkages) อย่างรวดเร็ว ทำให้แป้งมีขนาดเล็กลง ซึ่งมีขนาดแตกต่างกันตามความยาวของสายโซ่ เอนไซม์ชนิดนี้มีความสามารถในการย่อยอะไมโลส (Amylose) ได้เป็นอย่างดี และจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลมอลโตส (Moltose) และมอลโตไตรโอส (Maltotriose)

ในขั้นสุดท้ายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะทำการย่อยมอลโตไตรโอสเป็นมอลโตส และกลูโคส อย่างช้าๆ แต่ไม่สามารถย่อยพันธะแอลฟา-1,6 ไกลโคซิดิก ที่ตำแหน่งกิ่งก้านของแป้งได้

2.5.2 เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β-Amylase)

เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β-Amylase) พบมากในข้าวสาลี มันฝรั่งหวาน และถั่วเหลือง ทำหน้าที่ย่อยพันธะแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิกของแป้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังการย่อย คือ เบต้ามอลโตส (β-moltose)

2.5.3 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (อรอุมา, 2546)

เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) มีชื่อเรียกในระบบ α-1,4-Glucan glucohydrolase จัดเป็นเอนไซม์ประเภท Exo-acting carbohydrase ผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อราในสกุล *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium* และ *Rhizopus* สามารถย่อยสลายพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคสทั้งพันธะ α-1, 4 และกิ่ง α-1, 6 จากปลาย non reducing จะตัดจากปลายเข้าไปครั้งละ 1 หน่วยกลูโคส โดยการย่อยสลายพันธะกิ่ง α-1,6 จะเกิดขึ้นช้ากว่าการตัดพันธะ α-1, 4 เอนไซม์กลูโคอะไมเลสสามารถย่อยน้ำแป้ง มอลโตส และมอลโต-ไตรโอสได้รวดเร็วมาก และสามารถเปลี่ยนแป้งเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์

2.6 ยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักเอทานอล

2.6.1 ยีสต์ขนมปัง (สาวิตรี, 2549) ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) อยู่ในสารพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ใช้ทำให้โดขนมปังขึ้นฟู การเปลี่ยนแปลงนี้มีผลต่อความอร่อยและความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยเมื่อผสมยีสต์ขนมปังกับแป้งสาลีที่ชื้นและมีน้ำตาลอยู่แล้วเล็กน้อยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งโดนกักอยู่ภายในเมื่อมีปริมาณมากจึงเป็นสาเหตุให้โดขึ้นฟู แบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท ได้แก่

(1) คอมเพรสยีสต์ หรือ ยีสต์สด (Fresh หรือ Compressed yeast) เกิดจากการนำยีสต์ขนมปังมาอัดเป็นก้อนคล้ายเนย ลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อนค่อนข้างขาว มีความชื้นประมาณร้อยละ 70 จึงควรเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 2-5 องศาเซลเซียส

(2) บัลค์ยีสต์ มีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ มีวิธีการผลิตเช่นเดียวกับการผลิตคอมเพรสยีสต์ และมีองค์ประกอบเหมือนกับคอมเพรสยีสต์

(3) แอกทีฟดรายยีสต์ ยีสต์ขนมปังที่อยู่ในรูปของยีสต์แห้งที่ว่องไวนี้เซลล์อยู่ในระยะพักตัว และจะกลับมามีชีวิตปกติใหม่เมื่อทำให้มีความชื้น ยีสต์ขนมปังแบบยีสต์แห้งที่ว่องไวนี้จะมีอายุยาวกว่ายีสต์สด

(4) อินสแทนต์แอกทีฟดรายยีสต์ มีลักษณะเป็นผงละเอียดและแห้ง สามารถนำไปใช้งานได้โดยตรง อีกทั้งเป็นยีสต์ที่มีกำลังหมักสูง มีความชื้นประมาณร้อยละ 4-6 มีโปรตีน 38-60 ของน้ำหนักแห้งของของแข็งที่เป็นยีสต์

2.6.2 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นเชื้อยีสต์สำหรับการหมักเอทานอลในอุตสาหกรรมขึ้นกับชนิดของคาร์โบไฮเดรต การหมักแอลกอฮอล์จากน้ำตาลโดยทั่วไป มักจะเหมาะกับเชื้อยีสต์พวก *Saccharomyces sp.* สามารถหมักแอลกอฮอล์จากน้ำตาลแลคโตสได้ เชื้อ *C. utilis* ใช้หมักน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ เนื่องจากเชื้อนี้สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสได้ เชื้อ *Pachysolen tannophilus* และ *Pichia stipitis* สามารถใช้น้ำตาลไซโลสในการหมักแอลกอฮอล์ได้

ยีสต์ทั้งหมดที่กล่าวมามีความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ แต่พบว่า *S.cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่ายีสต์ชนิดอื่น เป็นยีสต์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักน้ำตาลกลูโคส เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกจนเป็นที่ยอมรับในอุตสาหกรรมการหมัก คุณสมบัติที่สำคัญ คือ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสูง มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ดี และยังสามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส มอลโทส กาแลคโตส และราฟฟิโนส เชื้อที่หมักแอลกอฮอล์จะสังเกตได้จากการเขย่าขวดจะปรากฏเป็นฟองเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก *Saccharomyces* เป็นเชื้อที่สำคัญ เนื่องจากคุณสมบัติหลายอย่างที่ดีกว่าเชื้ออื่นๆ เซลล์ของ *Saccharomyces* มีลักษณะรูปไข่ ทรงกลม หรือค่อนไปทางทรงกระบอก และมีการแบ่งตัวแบบ Multipolar budding

2.7 วิธีของทากูชิ (Tagushi Method)

วิธีของทากูชิเป็นการนำหลักทางสถิติมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านวิศวกรรม ได้รับการพัฒนาโดย ดร. แกนอิชิ ทากูชิ เพื่อออกแบบการทดลอง ซึ่งแต่ละปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบด้วยวิธีนี้จะได้มาจากการทดลองเบื้องต้น และจะถูกออกแบบการทดลองในรูปเมทริกซ์ (Matrix) สำหรับการออกแบบการทดลองประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนในการออกแบบสภาวะการทดลอง (Screening Experiments) โดยใช้ตารางมาตรฐานของวิธีทากูชิ (Orthogonal Array) ซึ่งการจัดลำดับที่นิยมใช้ในตารางมาตรฐานของวิธีทากูชิจะมี 2 ระดับและ 3 ระดับ (The two-level factorial (2^n) or three-level factorial (3^n) experiment) เพื่อลดจำนวนการทดลอง ขั้นตอนที่สอง คือ การทดลองเพื่อหาสภาวะการทดลองที่ดีที่สุดจากตารางมาตรฐานทากูชิ ตัวอย่างการออกแบบสภาวะการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method แสดงดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 แสดงการออกแบบสภาวะทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method

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

2.8 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)

วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองเป็นกระบวนการที่ใช้ความรู้ทางคณิตศาสตร์ และสถิติมาใช้หาจุดที่เหมาะสมของกระบวนการ ประกอบด้วยกลุ่มของตัวแปรตามหลักคณิตศาสตร์และสถิติ โดยการใช้หลักการเหล่านี้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลตอบสนองและตัวแปรอิสระ ในการวิเคราะห์ผลของตัวแปรอิสระจากผลการทดลองมาสร้างเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ในรูปพื้นผิวผลตอบสนอง การออกแบบการทดลองด้วยเทคนิค RSM มีขั้นตอนดังนี้

กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาซึ่งประกอบด้วยตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม ในกระบวนการทางเคมีและชีวเคมีที่มีผลกระทบจากตัวแปรต่างๆ มากมาย โดยจะเลือกบางตัวแปรที่มีผลกระทบโดยตรง การระบุตัวแปรอิสระจะสามารถกำหนดทิศทางในการพัฒนาระดับความสำคัญของตัวแปรได้ เพราะจะเกี่ยวข้องต่อความสำเร็จในการหาสภาวะที่เหมาะสมโดยตรง ผลของตัวแปรอิสระแสดงในการพล็อตกราฟพื้นผิว (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Conture plot) โดยการพล็อตแบบโครงร่างจะแสดงรูปร่างและตำแหน่งของการพล็อตพื้นผิวได้อย่างแม่นยำขึ้น การ Regression analysis แบบจำลองของสมการกำลังสอง (Quadratic equation) ดังสมการ 2.3 โดยค่า Y เป็นตัวแปรตาม b_0, b_i, b_{ii}, b_{ij} เป็นค่าสัมประสิทธิ์แบบจุดตัด (Intercept) สัมประสิทธิ์เชิงเส้น (Linear) สัมประสิทธิ์กำลังสอง (Quadratic) และสัมประสิทธิ์เชิงซ้อน (Interaction) ตามลำดับ ขณะที่ X_i และ X_j เป็นตัวแปรอิสระ ($i \neq j$) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์จำนวน 3 ตัวแปร

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{33} X_3^2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{23} X_2 X_3 + b_{13} X_1 X_3$$

(สมการ 2.3)

แผนการทดลองแบบ CCD นี้พัฒนามาจากแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลที่มีระดับของปัจจัย 2 ระดับ (2^k Factorial design) หรือแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลเชิงส่วน (Fractional Factorial design) เนื่องจากแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลที่มีระดับของปัจจัย 2 ระดับนั้นไม่สามารถใช้หาตัวแบบความสัมพันธ์ที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นโค้งหรือตัวแบบความสัมพันธ์อันดับสองได้ โดยที่แผนการทดลองที่สามารถใช้ได้จะต้องมีระดับของปัจจัยอย่างน้อย 3 ระดับ เช่น แผนการทดลองแบบ 3^k แฟคทอเรียล แต่เนื่องจากแผนการทดลองดังกล่าวจะต้องมีการซ้ำที่แต่ละปัจจัย (replicate) เพื่อใช้ในการทดสอบความเหมาะสมของตัวแบบ (lack of fit test) ซึ่งในกรณีที่มีปัจจัยจำนวนมากจะทำให้จำนวนครั้งของการทดลองมีมาก

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cheng และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพซังข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ โดยใช้ซังข้าวโพดที่มีขนาดในช่วง 2-4 มิลลิเมตร ทำการสกัดลิกนินออกด้วยเบนซิน-เอทานอล ในกระบวนการปรับสภาพใช้ถังสแตนเลสขนาด 200 มิลลิลิตร และมีน้ำมันเป็นตัวให้ความร้อน ใช้ซังข้าวโพด 6 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ร้อยละ 5-10 ระยะเวลาในการปรับสภาพ 1-2 ชั่วโมง อุณหภูมิที่ใช้ 150-180 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพ คือ ใช้ความเข้มของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ร้อยละ 7.1 อัตราส่วนระหว่างสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ต่อซังข้าวโพดเป็น 7.6 ต่อ 1 ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 156 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1.4 ชั่วโมง ได้ผลผลิตที่มีองค์ประกอบของกลูแคนร้อยละ 76.8 ± 0.3 ไซเลนร้อยละ 6.6 ± 0.2 และลิกนินร้อยละ 12.6 ± 0.4 แล้วนำไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 30 Filter paper unit (FPU) ต่อกรัมกลูแคน ที่อุณหภูมิ 45 ± 0.1 องศาเซลเซียส พีเอช 4.8 และเขย่า 140 รอบต่อนาที หลังจากนั้นทำการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ผลผลิตเอทานอล 60.8 กรัมต่อลิตร และร้อยละเชิงทฤษฎีเป็น 72.2

Liu และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากซังข้าวโพด โดยนำซังข้าวโพดมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 โดยมวล หลังจากนั้นนำมาอบให้แห้งแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง บดให้ละเอียดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร นำไปหาค่าองค์ประกอบของซังข้าวโพดพบว่า มีเฮมิเซลลูโลสร้อยละ1.8 เซลลูโลสร้อยละ 65.7 ลิกนินร้อยละ 3.2 เถ้าร้อยละ 5.9 และอื่น ๆ ร้อยละ 23.4 นำมาย่อยด้วย *P. decumbens* JUA10-1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง เขย่าเป็นเวลา 300 รอบต่อนาที แล้วย่อยต่อด้วย β-Glucosidase ร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำมาหมักด้วย *Penicillium decumbens* JUA 10-1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 4.8 เป็นเวลา 142 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 57.2

Zhang และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากซังข้าวโพดแห้ง โดยมีวิธีการปรับสภาพที่แตกต่างกัน 3 วิธี วิธีแรก คือ แช่ซังข้าวโพดในสารละลายแอมโมเนียร้อยละ 15 โดยมวล ในอัตราส่วน 1 กรัมของซังข้าวโพดต่อ 6 มิลลิลิตรของสารละลายแอมโมเนีย ให้ความร้อนโดย Water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรองแยกของแข็งออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด วิธีที่ 2 แช่ซังข้าวโพดในสารละลายกรดฟอร์มิกในอัตราส่วน 1 กรัมของแข็งต่อ 6 มิลลิลิตรของสารละลายกรดฟอร์มิก และให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง กรองของแข็งออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด นำส่วนของแข็งมาย่อยด้วยสารละลายแอมโมเนียร้อยละ 15 โดยมวล ในอัตราส่วน 1 กรัมของซังข้าวโพดต่อ 6 มิลลิลิตรของสารละลายแอมโมเนีย ให้ความร้อนโดย Water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรองแยกของแข็งออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด วิธีที่ 3 แช่ซังข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 2 โดยมวล ในอัตราส่วน 1 กรัมของซังข้าวโพดต่อ 10 มิลลิลิตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก ให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที กรองแยกของแข็งออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด นำส่วนของแข็งไปย่อยต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยมวล ในอัตราส่วน 1 กรัมของซังข้าวโพดต่อ 6 มิลลิลิตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง กรองแยกของแข็งออกแล้วล้างน้ำให้สะอาด นำของแข็งที่ได้ทั้ง 3 วิธีมาอบให้แห้ง แล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบ พบว่าวิธีที่ 3 ดีที่สุด เนื่องจากสามารถกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ใช่เซลลูโลสได้ดีและได้ส่วนที่เป็นเซลลูโลสถึงร้อยละ 86 จึงได้นำผลผลิตจากวิธีที่ 3 มาทำการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 5 กรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) โดยใช้ซังข้าวโพดร้อยละ 19 โดยมวลต่อปริมาตร พีเอชเริ่มต้น 4.8 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลที่มีความเข้มข้น 69.2 กรัมต่อลิตร และมีร้อยละเชิงทฤษฎีเป็น 81.2

Kahar และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพซังข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นต่ำ โดยทำการปรับสภาพซังข้าวโพดด้วยการนำซังข้าวโพดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปตากแดดเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำไปบดด้วย ball-milled จนมีขนาด 5 มิลลิเมตร แล้วนำไปปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 และร้อยละ 5.0 โดยปริมาตร ศึกษาการปรับสภาพซังข้าวโพดโดยการทดลองที่ 1 ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที การทดลองที่ 2 ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การทดลองที่ 3 ที่อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที การทดลองที่ 4 ที่อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การทดลองที่ 5 ที่อุณหภูมิ 128 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที การทดลองที่ 6 ที่อุณหภูมิ 128 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพซังข้าวโพด คือ ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส 1.8 กรัมต่อซังข้าวโพดแห้ง 10 กรัม พีเอชเริ่มต้น 5.0 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สามารถย่อยเซลลูโลสแล้วเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้ร้อยละ 80 โดยมวล หลังจากนั้นนำไปหมักด้วยยีสต์ *S.cerevisiae* NBRC2114 1.25 กรัมต่อซังข้าวโพด 100 กรัม ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ใช้การหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 77 โดยมวล

Abedinifar และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากฟางข้าว โดยการอบแห้งฟางข้าวเป็นเวลา 10 วัน นำไปบดและแยกขนาดให้มีขนาดอยู่ในช่วง 295-833 ไมโครเมตร นำฟางข้าว 900 กรัม มาปรับสภาพซึ่งประกอบด้วย 2 วิธีด้วยกัน คือ วิธีแรกแช่ลงในสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 5 ปริมาตร 6 ลิตร เป็นเวลา 20 ชั่วโมง วิธีที่ 2 นำฟางข้าวใส่ในถังปฏิกรณ์ขนาด 10 ลิตร แล้วให้ความร้อนด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 นาที ที่ความดัน 1.5 เมกกะปาสคาล และคงความดันนี้เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นจนกระทั่งความดันลดลงเหลือ 0.2 เมกกะปาสคาล นำส่วนที่เป็นของแข็งไปล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง กรองและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปศึกษากระบวนย่อย (Hydrolysis) ต่อไป โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่มีความเข้มข้น 15 Filter paper unit (FPU) ของเซลลูเลส และ 50 International Unit (I.U.) β-Glucosidase ต่อกรัมของเซลลูโลส ใช้ฟางข้าวความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 5.0 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าการปรับสภาพด้วยกรดสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้สูงสุดถึง 0.718 กรัมต่อกรัมเซลลูโลส นำฟางข้าวที่ผ่านการย่อยมาหมักด้วย *M. indicus*, *R. oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า *M. indicus* ให้ผลผลิตเอทานอล 0.39 กรัมต่อกรัมฟางข้าว *R. oryzae* ให้ผลผลิตเอทานอล 0.36 กรัมต่อกรัมฟางข้าว และ

Saccharomyces cerevisiae ให้ผลผลิตเอทานอล 0.41 กรัมต่อกรัมฟางข้าว จะเห็นได้ว่า *Saccharomyces cerevisiae* มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลมากกว่า *M. indicus* และ *R. oryzae*

Gaspar และคณะ (2007) ได้ศึกษาการใช้เส้นใยข้าวโพด (Corn fiber) เป็นวัตถุดิบหลักในกระบวนการผลิตเอทานอล โดยทำการย่อยเส้นใยข้าวโพดร้อยละ 10 โดยมวลด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-1,4 Amylase) ในปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรของสารละลายเอนไซม์ต่อกรัมเส้นใยข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.8 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสปริมาณเท่ากับข้างต้นอีกครั้งแล้วทำการกวนผสมที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำผลิตที่ได้ไปกรองและล้างด้วยน้ำร้อนจำนวน 3 ครั้ง สำหรับตะกอนของแข็งที่ได้ (Destarched Corn Fiber, DCF) นำไปแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้ความดัน 2 บรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แยกของแข็ง (Pretreated corn fiber, PCF) ออกจากของเหลวเฮมิเซลลูโลสด้วยการหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ทำการย่อยของแข็ง PCF ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจำนวน 0.05 มิลลิลิตรของสารละลายเอนไซม์ต่อกรัมเส้นใยข้าวโพด เส้นใยข้าวโพดร้อยละ 10 โดยมวล พีเอชเริ่มต้น 4.8 ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเติมเอนไซม์จำนวนดังกล่าวอีกครั้งทำการย่อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และทำการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* 2.5 กรัมต่อลิตร เส้นใยข้าวโพดร้อยละ 5 โดยมวล ปรับพีเอชเป็น 4.8 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้โดยใช้สารละลายร้อยละ 1 และร้อยละ 2 ของโพแทสเซียม ให้ผลผลิตเอทานอลที่มีความเข้มข้น 12.5 และ 11.6 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเท่ากับร้อยละ 96.9 และร้อยละ 89.9 ของผลได้ตามทฤษฎี และพบว่าเมื่อใช้เวลาในการหมักมากกว่า 48 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จะลดลงเนื่องจากเกิดกรดแลกติก ซึ่งจะไม่เกิดในช่วงแรกๆ

Chen และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากซังข้าวโพด โดยการนำซังข้าวโพดแห้งมาผ่านการบดจนมีขนาด 2 มิลลิเมตร มาปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 108 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในอัตราส่วนซังข้าวโพดต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเป็น 1 ต่อ 6 กรองเอาของเหลวออก นำส่วนของแข็งไปล้างน้ำจนพีเอชเท่ากับ 4.8 หลังจากนั้นนำไปอบให้แห้ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบ พบว่า มีองค์ประกอบของเซลลูโลสร้อยละ 59.4 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 6.5 ลิกนินร้อยละ 22.2 และอื่นๆ อีกร้อยละ 11.9 นำไปย่อยด้วยเอนไซม์ *Trichoderma reesei* ZU-02 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตจากการย่อยร้อยละ 67.5 แล้วนำไปหมักด้วย *S. cerevisiae* 316 จำนวน

3 กรัมต่อลิตร กับผลผลิตหลังการย่อย 95.3 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอล 95.3 กรัมต่อลิตร หรือมีร้อยละเชิงทฤษฎีเป็น 94

Karimi และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพฟางข้าวด้วยสารละลายกรดเจือจางในกระบวนการผลิตเอทานอลโดยใช้ *Mucor indicus* และ *Rhizopus oryzae* ด้วยวิธีการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) นำฟางข้าวมาบดให้มีขนาดเล็กกว่า 833 ไมโครเมตร ซึ่งประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27 (±0.5) เซลลูโลสร้อยละ 39 (±1) ลิกนินร้อยละ 12 (±0.5) และเถ้าร้อยละ 11 (±0.5) นำฟางข้าว 600 กรัม มาปรับสภาพโดยการแช่ฟางข้าวในสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 4 ลิตร เป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำของผสมที่ได้ใส่ลงถังปฏิกรณ์ แล้วให้ความร้อนด้วยไอน้ำให้ได้ความดันเท่ากับ 15 บาร์ และคงความดันนี้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นจนความดันเท่ากับ 2 บาร์ นำส่วนที่เป็นของแข็งไปล้างด้วยน้ำจำนวน 5 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส กรองและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาย่อยด้วยเซลลูเลส 35 Filter paper unit (FPU) ต่อมิลลิลิตร และ β-Glycosidase 112 IU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) เป็นเวลา 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับฟางข้าวที่ผ่านการหมักด้วย *M. indicus* และ *R. oryzae* พีเอชเริ่มต้น 5.5 ± 0.1 พบว่าการหมักโดยใช้ 15 Filter paper unit (FPU)ต่อกรัมฟางข้าวแห้ง กับ *R. oryzae* ให้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 74 มากกว่าการหมักด้วย *M. indicus* ซึ่งได้ผลผลิตเอทานอลเพียงร้อยละ 68 เท่านั้น

บัญชา โลหะรัตน์ (2554) ได้ทำการศึกษาการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 80-100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยมวลของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อเมล็ดขนุนเป็น 0.0005:1-0.002:1 และเวลาในการย่อย 1-4 ชั่วโมง ค่าพีเอช 6 หลังจากนั้นนำมาย่อยเพื่อให้แป้งมีโมเลกุลเล็กลงด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยแป้งของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ 50-70 องศาเซลเซียส อัตราส่วนโดยมวลเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่อเมล็ดขนุนเป็น 0.0005:1-0.002:1 และเวลาในการย่อย 4–8 ชั่วโมง ค่าพีเอช 4.5 พบว่าสภาวะในการปรับสภาพที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนสด คือ ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.13 ที่อุณหภูมิ 90.9 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 เป็นเวลา 160 นาที หลังจากนั้นย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 ที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 4.5 เป็นเวลา 360 นาที สามารถให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 83 กรัมต่อลิตร นำน้ำตาลที่ได้มาหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 0.4 ใช้ระยะเวลาในการหมัก 2 วัน ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 10.5 โดยปริมาตร

วรายุทธ เนติกานต์ (2553) ได้ทำการศึกษาการใช้เศษของแข็งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องเพื่อการผลิตเอทานอลอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอลและฟอสเฟตไอออน ทำการศึกษาโดยใช้จุลินทรีย์จำนวน 15 สายพันธุ์ นำมาเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อขนาด 10 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ที่มีแหล่งอาหารคาร์บอนเป็นเศษของแข็งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสร้อยละ 1 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปผสมกับกากน้ำตาลเข้มข้นเพื่อให้ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นทั้งหมดเป็น 120 กรัมต่อลิตร ในสภาวะตั้งนิ่งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบ *S. cercerevisiae* TISTR 5020 และ 5606 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลที่ 40.7 ± 3.56 และ 35.4 ± 12.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ยุทธศักดิ์ สุบการี (2551) ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยใช้วิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) ทำการทดลองโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ต้มเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* และ *Aspergillus niger* จำนวน 10 Filter paper unit (FPU) ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ใช้พีเอช 5.0 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่า *T. reesei* ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด 11.21 ± 0.95 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SSF) ใช้ปริมาณเส้นใยปาล์ม 100 กรัมต่อลิตร เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* 6 Filter paper unit (FPU) ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม ผสมกับเบต้า-กลูโคซิเดสจาก เชื้อ *A.* niger 3 IU ต่อกรัมเส้นใยปาล์ม พีเอช 5.0 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่าให้ปริมาณผลผลิตเอทานอล 10.38 กรัมต่อลิตร

ปรียารัตน์ โยวะผุย (2550) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมักจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ปริมาณแป้งที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 0.25 แล้วนำไปย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 166.7 มิลลิยูนิต ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 333.33 มิลลิยูนิต ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงใส่ *S.cerevisiae* 5048 หมักไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 36 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอล 0.832 กรัมต่อลิตร และ 0.8912 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย

รัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์ (2550) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยวิธีการหมักแบบกะ ทำการทดลองโดยการนำหยวกกล้วยซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักมาย่อยด้วยกรดเกลือเข้มข้น ที่ค่าพีเอช 4.5-5 เพื่อให้เซลลูโลสเปลี่ยนเป็นแป้งก่อนซึ่งใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที หลังจากนั้นนำแป้งที่ได้มาหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และปรับความหวานที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 20 บริกซ์ ทำการหมักเป็นเวลา 5-7 วัน ใช้พีเอชในการหมัก 4.5–5 หลังจากนั้นนำเอทานอลที่ผลิตได้กลั่นด้วยเครื่อง Ratory evaporator ได้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย 676.76 มิลลิลิตร และเมื่อนำไปกลั่นลำดับส่วนได้ผลผลิตเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 80.66

กล้าณรงค์ และคณะ (2549) ทำการศึกษาการพัฒนาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยการปรับปรุงการย่อยแป้งดิบด้วยเอนไซม์ ใช้มันเส้นเข้มข้นร้อยละ 25 โดยมวลแห้ง จำนวน 2.5 ลิตร ปรับพีเอชเป็น 4.5 ทำการย่อยแป้งดิบด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.125, 0.25 และ 0.5 โดยมวลแห้ง ทำการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและน้ำตาลด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ได้น้ำส่าที่มีปริมาณเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 7.61, 9.95, และ 10.40 โดยมวล จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นด้วย

เกศมณี และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกสับปะรด ทำการทดลองโดยแช่เปลือกสับปะรดที่บดแล้ว ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0-2.5 โมลาร์ ในอัตราส่วนโดยมวลของเปลือกสับปะรดต่อสารละลายเท่ากับ 1 ต่อ 10 ที่อุณหภูมิห้อง โดยให้สารละลายท่วมเปลือกสับปะรดตลอดเวลา แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยผ้าเอาสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ออก แล้วเติมลงไปใหม่โดยใช้กับความเข้มข้นเดียวกับที่แช่ในอัตราส่วนเท่าเดิม นำไปต้มโดยเครื่องอังน้ำอุ่น ที่อุณหภูมิ 50-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที พบว่าที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ แช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 91.32 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 0.46 และลิกนินร้อยละ 4.09 แล้วนำเปลือกสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยลูกแป้งในอัตราส่วนตะกอนเปลือกสับปะรดต่อลูกแป้งเป็น 1.5 ต่อ 0.1 ในน้ำ 7.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการวัดหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทุก 12-15 ชั่วโมง แล้วนำไปหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ปริมาณร้อยละ 5 โดยปริมาตรของสารละลายน้ำตาล ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน ได้ผลผลิตเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 4.55 โดยปริมาตร

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัตถุดิบ

แกนข้าวโพดพันธุ์ซูก้า จากร้านข้าวโพดนึ่งของคุณรัก ที่ตลาดนัดเปิดท้ายอาเชี่ยนเทรด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

3.1.2 เอนไซม์และจุลินทรีย์

3.1.2.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*) ผลิตโดย Sigma-Aldrich

3.1.2.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*) ผลิตโดย Sigma-Aldrich

3.1.2.3 ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) ชนิดยีสต์แห้งสำเร็จรูป ตรา เฟอร์มิพัน บราวน์ บริษัท เบอร์ลี่ ยุคเกอร์ สเปเชียลตี้ส์ จำกัด กรุงเทพฯ โดยเก็บรักษายีสต์ขนมปังที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

3.1.2.4 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 ผลิตโดย Sigma-Aldrich

3.1.3 สารเคมีเพื่อการวิเคราะห์

3.1.3.1 3,5-Dinitrosalicylic acid Laboratory Grade ผลิตโดย Sigma

3.1.3.2 ฟีนอล (Phenol) Laboratory Grade ผลิตโดย Panreac Sintesis

3.1.3.3 โซเดียมซัลไฟท์ (Sodium sulfite) Laboratory Grade ผลิตโดย Merck

3.1.3.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) Laboratory Grade ผลิตโดย Merck

3.1.3.5 โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต (Sodium potassiumtartrate) Laboratory Grade ผลิตโดย Merck

3.1.3.6 เอทานอล (Commercial Grade) ความบริสุทธิ์ 99.9 เปอร์เซ็นต์ ผลิตโดย Sigma-Aldrich

3.1.3.7 กลูโคส (Laboratory Grade) ผลิตโดย Ajax Finechem

3.1.3.8 สารละลายแอมโมเนีย 25 เปอร์เซ็นต์

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1.1 เครื่องปั่น (Blender): Moulinex รุ่น Moulinette S ใช้สำหรับบดละเอียดวัตถุดิบ

3.2.1.2 อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker): Memmert รุ่น WNB 45 ใช้ในการศึกษาการปรับสภาพ ย่อย และควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมัก

3.2.1.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งตัวอย่างและสารเคมี

3.2.1.4 เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) ใช้สำหรับแยกของเหลวในตัวอย่างหลังจากกระบวนการหมัก

3.2.1.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

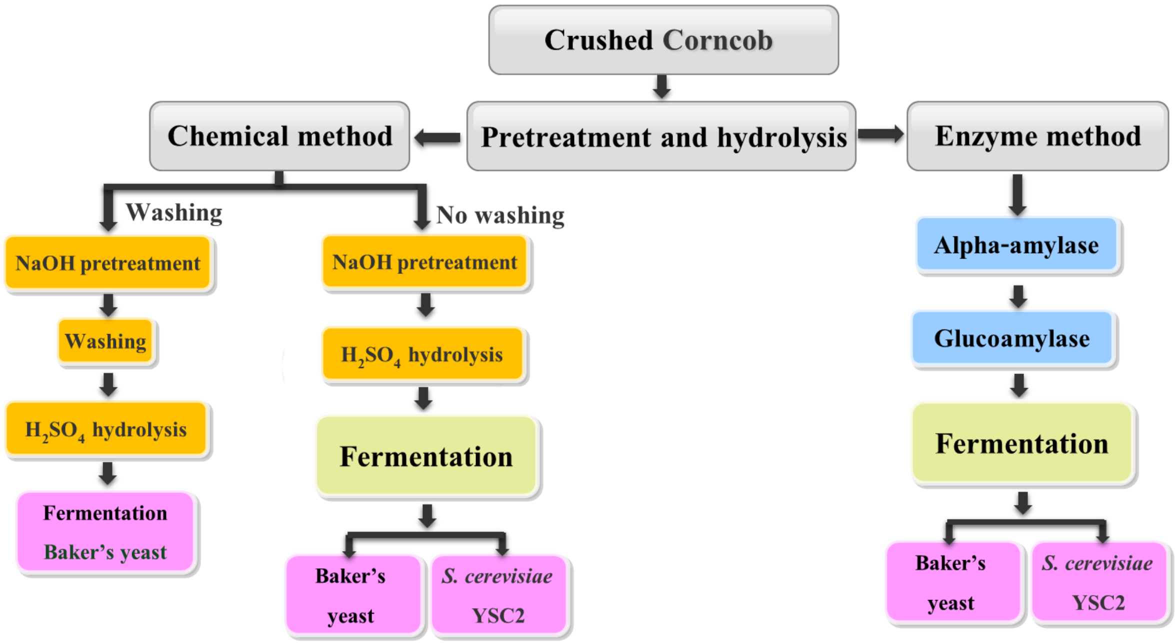
3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.2.2.1 UV-Visible Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด

3.2.2.2 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC) รุ่น HP 6890 flame ionization detector เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก เป็นเทคนิคการแยกสารที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวออกจากกัน โดยเอทานอลจะถูกฉีดเข้าสู่ระบบ หลังจากนั้นจะระเหยกลายเป็นไอ แล้วถูกพาด้วยก๊าซเฉื่อย (mobile phase) ไปยังคอลัมน์ (stationary phase) เพื่อทำการแยกสารออกจากกัน สารที่แยกได้จะถูกบันทึก เพื่อทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่อไป

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

สำหรับกระบวนการผลิตเอทานอลนั้นมีหลายขั้นตอนด้วยกัน ซึ่งสามารถสรุปและแสดงขั้นตอนการศึกษาการผลิตเอทานอล ดังภาพประกอบที่ 3-1



ภาพประกอบที่ 3-1 แผนภาพขั้นตอนการผลิตเอทานอล

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 ศึกษาองค์ประกอบของแกนข้าวโพด

นำแกนข้าวโพดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นบดแกนข้าวโพดให้ละเอียดจนมีขนาดไม่เกิน 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องปั่น Moulinex แสดงดังภาพประกอบที่ 3-2 นำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณความชื้น ปริมาณเส้นใย ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ซึ่งวิธีการวิเคราะห์แสดงรายละเอียดดังภาคผนวก ก

ภาพประกอบที่ 3-2 ภาพแกนข้าวโพดหลังบด

3.4.2 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

3.4.2.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำแกนข้าวโพดที่บดละเอียดมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1, 1.5, 2 และ 2.5 โมลาร์ อัตราส่วนโดยมวลของแกนข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 1 ต่อ 10 นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำผลผลิตที่ได้ไปกรองแยกส่วนที่เป็นของแข็งไปล้างจนกระทั่งน้ำล้างเป็นกลาง แล้วนำของแข็งมาย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเป็น 1 ต่อ 10 ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง นำผลผลิตไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

3.4.2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.2.1 มาทำการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 1.5, และ 2 โดยมวล ในอัตราส่วนโดยมวลของแกนข้าวโพดต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเป็น 1 ต่อ 10 ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 90, 100, 110 และ120 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง นำผลผลิตไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ทุกๆ 1 ชั่วโมง

3.4.3 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

3.4.3.1 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำแกนข้าวโพดที่บดละเอียดมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ อัตราส่วนโดยมวลของแกนข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 1 ต่อ 10 นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) แสดงดังภาพประกอบที่ 3-3 ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10-24 ชั่วโมง จากนั้นนำผลผลิตที่ได้ไปกรองแยกส่วนที่เป็นของแข็งไปล้างจนกระทั่งน้ำล้างเป็นกลาง แล้วนำของแข็งมาย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเป็น 1 ต่อ 10 ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง นำผลผลิตไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

ภาพประกอบที่ 3-3 การปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker)

การออกแบบการทดลอง (Screening Experiments) และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยตารางมาตรฐานของวิธีทากูชิ (Orthogonal Array) 2 ระดับ (The two-level factorial (2^n) experiment) สำหรับปัจจัยที่ใช้ในการวางแผนการทดลองมี 3 ปัจจัย ประกอบด้วย ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) อุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) ซึ่งแต่ละปัจจัยจะประกอบด้วย 2 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-1 และ 3-2

ตารางที่ 3-1 ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

Factor	Level 1	Level 2
C (M)	2	2.5
T (°C)	50	60
t (h)	10	24

ตารางที่ 3-2 แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

Exp. No.	C	T	t
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

3.4.3.2 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.3.1 มาทำการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5-1 ในอัตราส่วนโดยมวลของแกนข้าวโพดต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเป็น 1 ต่อ 10 ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3-4 ชั่วโมง นำผลผลิตไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

การออกแบบการทดลอง (Screening Experiments) และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยตารางมาตรฐานของวิธีทากูชิ (Orthogonal Array) 2 ระดับ (The two-level factorial (2^n) experiment) สำหรับปัจจัยที่ใช้ในการวางแผนการทดลองมี 3 ปัจจัย ประกอบด้วย ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (C) อุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) ซึ่งแต่ละปัจจัยจะประกอบด้วย 2 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-3 และ 3-4

ตารางที่ 3-3 ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก

Factor	Level 1	Level 2
C (%w)	0.5	1
T (°C)	100	110
t (h)	3	4

ตารางที่ 3-4 แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก

Exp. No.	C	T	t
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

3.4.4 การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตจากการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

3.4.4.1 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

นำผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยจากสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.3.1 และ 3.4.3.2 มาทำการหมักเอทานอล โดยนำมาเติมยีสต์ขนมปังที่ร้อยละ 3 โดยมวล (ของน้ำหนักยีสต์ต่อแกนข้าวโพด) แล้วคนให้เข้ากัน ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 เติมก๊าซไนโตรเจนลงในขวดหมักเพื่อไล่อากาศออกและปิดจุก Air-lock ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48-120 ชั่วโมง ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Oil bath) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำผลผลิตหลังการหมักมากรองด้วยผ้าขาว แยกเอาส่วนของเหลวมาทำการเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำผลผลิตของเหลวใสมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

3.4.4.2 การศึกษาปริมาณยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

นำผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยจากสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.3.1 และ 3.4.3.2 มาทำการหมักเอทานอล โดยนำมาเติมยีสต์ขนมปังที่ร้อยละ 2-10 โดยมวล (ของน้ำหนักยีสต์ต่อแกนข้าวโพด) แล้วคนให้เข้ากัน ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 เติมก๊าซไนโตรเจนลงในขวดหมักเพื่อไล่อากาศออกและปิดจุก Air-lock ทำการหมักเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.4.1 ในที่มืดโดยควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Oil bath) ที่อุณหภูมิ

30 องศาเซลเซียส นำผลผลิตหลังการหมักมากรองด้วยผ้าขาว แยกเอาส่วนของเหลวมาทำการเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำผลผลิตของเหลวใสมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโต-กราฟฟี (Gas chromatography, GC)

3.4.5 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

3.4.5.1 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำแกนข้าวโพดที่บดละเอียดมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ อัตราส่วนโดยมวลของแกนข้าวโพดต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น 1 ต่อ 5 นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำผลผลิตที่ได้มาย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล โดยการปรับพีเอชสารละลายจนเป็น 0.69 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 15 โมลาร์ (ที่พีเอชดังกล่าวสารละลายกรดซัลฟิวริกจะมีความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวล) ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำผลผลิตไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

การออกแบบการทดลอง (Screening Experiments) และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยตารางมาตรฐานวิธีของทากูชิ (Orthogonal Array) 2 ระดับ (The two-level factorial (2^n) experiment) สำหรับปัจจัยที่ใช้ในการวางแผนการทดลองมี 3 ปัจจัย ประกอบด้วย ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) อุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) ซึ่งแต่ละปัจจัยจะประกอบด้วย 2 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-5 และ 3-6

ตารางที่ 3-5 ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

Factor	Level 1	Level 2
C (M)	2	2.5
T (°C)	50	60
t (h)	18	24

ตารางที่ 3-6 แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

Exp. No.	C	T	t
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

3.4.5.2 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 3.4.5.1 มาทำการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5-1 โดยมวล โดยการปรับพีเอชสารละลายจนเป็น 0.69-0.99 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 15 โมลาร์ (ที่พีเอชดังกล่าวสารละลายกรดซัลฟิวริกจะมีความเข้มข้นร้อยละ 1 และ 0.5 โดยมวล) ทำการย่อยแกนข้าวโพดโดยให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3-4 ชั่วโมง จากนั้นนำผลผลิตไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer

การออกแบบการทดลอง (Screening Experiments) และหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยตารางมาตรฐานของวิธีทากูชิ (Orthogonal Array) 2 ระดับ (The two-level factorial (2^n) experiment) สำหรับปัจจัยที่ใช้ในการวางแผนการทดลองมี 3 ปัจจัย ประกอบด้วย สำหรับปัจจัยที่ใช้ในการวางแผนการลองมี 3 ปัจจัย ประกอบด้วย ความเข้มข้น (C) อุณหภูมิ (T) และระยะเวลา (t) ที่ใช้ในการย่อยแกนข้าวโพด ซึ่งแต่ละปัจจัยจะประกอบด้วย 2 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-7 และ 3-8

ตารางที่ 3-7 ระดับของตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก

Factor	Level 1	Level 2
C (%w)	0.5	1
T (°C)	100	110
t (h)	3	4

ตารางที่ 3-8 แผนการทดลอง Orthogonal Array L_4 (2^3) ตามมาตรฐานของ Taguchi method สำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกรดซัลฟิวริก

Exp. No.	C	T	t
1	1	1	1
2	1	2	2
3	2	1	2
4	2	2	1

3.4.6 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

การออกแบบการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ 2 ชนิด คือ ยีสต์ขนมปัง และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 จากผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟิวริก แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ ดำเนินการโดยใช้เทคนิคพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) โดยมีตัวแปรที่ศึกษา คือ ปริมาณยีสต์ ระยะเวลาในการหมัก และค่าเอชเริ่มต้น รายละเอียดของขั้นตอนในการออกแบบการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

1.กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาและช่วงของการทดลอง ได้แก่

1.1 ตัวแปรอิสระ (Independent variable) ประกอบด้วย 3 ตัวแปร คือ ปริมาณยีสต์ร้อยละ (X_1) 2-8 โดยมวล ระยะเวลาในการหมัก (X_2) 48-144 ชั่วโมง และค่าพีเอชเริ่มต้น (X_3) 4.0-6.0

1.2 ตัวแปรตาม (Response) คือ ปริมาณเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)

2. เลือกออกแบบสภาวะการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงและระดับของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 3-9 จากการออกแบบการทดลองทำให้ได้สภาวะการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3-10

ตารางที่ 3-9 ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัย ที่ทำการทดลองกระบวนการหมักเอทานอล

ตัวแปรอิสระ	สัญลักษณ์	ช่วงและระดับของปัจจัย				
		-1.68	-1	0	1	1.68
ร้อยละยีสต์ (โดยมวล)	X_1	2	3.22	5	6.78	8
ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	X_2	48	72	96	120	144
พีเอชเริ่มต้น	X_3	4	4.5	5	5.5	6

ตารางที่ 3-10 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการหมักเอทานอล

การทดลองที่	ร้อยละยีสต์ (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	Response
1	2.00	96	5.0	ปริมาณเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
2	3.22	72	4.5	
3	3.22	72	5.5	
4	3.22	120	4.5	
5	3.22	120	5.5	
6	5.00	48	5.0	
7	5.00	96	4.0	
8	5.00	96	5.0	
9	5.00	96	5.0	
10	5.00	96	5.0	
11	5.00	96	6.0	
12	5.00	144	5.0	
13	6.78	72	4.5	
14	6.78	72	5.5	
15	6.78	120	4.5	
16	6.78	120	5.5	
17	8.00	96	5.0	

วิธีการทดลอง

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยจากสภาวะที่เหมาะสมในหัวข้อที่ 3.4.5.1 และ 3.4.5.2 มาทำการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ร้อยละ 2-8 โดยมวลของแกนข้าวโพดเริ่มต้น ค่าพีเอชเริ่มต้นในช่วง 4-6 ระยะเวลาในการหมัก 48-144 ชั่วโมง ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเติมก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen gas) ลงในขวดหมักเพื่อไล่อากาศออกและปิดจุกด้วย Air-lock แสดงดังภาพประกอบที่ 3-4 แล้วนำไปเก็บไว้ในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วย Oil bath พร้อมทั้งเขย่าด้วยความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที เมื่อครบกำหนดตามจำนวนชั่วโมงในการหมัก นำน้ำหมักที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายใสไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

ภาพประกอบที่ 3-4 ชุดขวดหมักเอทานอล (Air-locked Flask)

3.4.7 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

3.4.7.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*)

การออกแบบการทดลองการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดำเนินการโดยใช้เทคนิคพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) โดยมีตัวแปรที่ศึกษา คือ เวลา อุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย และร้อยละแอลฟาอะไมเลส รายละเอียดของขั้นตอนในการออกแบบการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

1. กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาและช่วงของการทดลอง ได้แก่

1.1 ตัวแปรอิสระ (Independent variable) ประกอบด้วย 3 ตัวแปร คือ เวลาในการปรับสภาพและย่อย (X_1) 60-240 นาที อุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย (X_2) 80-100 องศาเซลเซียส ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (X_3) 0.05-0.2 โดยมวล

1.2 ตัวแปรตาม (Response) คือ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

2. เลือกออกแบบสภาวะการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงและระดับของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 3.11 จากการออกแบบการทดลองทำให้ได้สภาวะการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.12

ตารางที่ 3-11 ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัย ที่ทำการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*)

ตัวแปรอิสระ	สัญลักษณ์	ช่วงและระดับของปัจจัย				
		-1.68	-1	0	1	1.68
เวลา (นาที)	X_1	60	95	150	205	240
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X_2	80	85	90	95	100
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	X_3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.20

ตารางที่ 3-12 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*)

การทดลองที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	Response
1	60	90	0.13	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
2	95	85	0.08	
3	95	85	0.17	
4	95	95	0.08	
5	95	95	0.17	
6	150	90	0.05	
7	150	80	0.13	
8	150	90	0.13	
9	150	90	0.13	
10	150	90	0.13	
11	150	90	0.20	
12	150	100	0.13	
13	205	85	0.08	
14	205	85	0.17	
15	205	95	0.08	
16	205	95	0.17	
17	240	90	0.13	

วิธีการทดลอง

นำแกนข้าวโพดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นบดแกนข้าวโพดให้ละเอียดจนมีขนาดไม่เกิน 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องปั่น Moulinex ชั่งแกนข้าวโพดบด 20 กรัม ลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรดด่างให้เท่ากับ 6.0 แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*) ร้อยละ 0.05-0.2 โดยมวลต่อแกนข้าวโพดเริ่มต้น นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) เป็นเวลา 60-240 นาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 80-100 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งเขย่าด้วยความเร็วรอบ 80 รอบต่อนาที จากนั้นวางไว้ให้เย็นจนเป็นอุณหภูมิห้อง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV - Visible Spectrometer

3.4.7.2 ศึกษาการย่อยผลผลิตหลังการปรับสภาพด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

การออกแบบการทดลองการย่อยวัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*) ดำเนินการโดยใช้เทคนิคพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) โดยมีตัวแปรที่ศึกษา คือ เวลาในการย่อย อุณหภูมิในการย่อย และร้อยละกลูโคอะไมเลส ซึ่งมีรายละเอียดของขั้นตอนการดำเนินการดังต่อไปนี้

1.กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาและช่วงของการทดลอง ได้แก่

1.1 ตัวแปรอิสระ (Independent variable) ประกอบด้วย 3 ตัวแปร คือ ระยะเวลาในการย่อย (X_1) 240-480 นาที อุณหภูมิในการย่อย (X_2) 50-70 องศาเซลเซียส และร้อยละกลูโคอะไมเลส (X_3) 0.05-0.20 โดยมวล

1.2 ตัวแปรตาม (Response) คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

2. เลือกออกแบบสภาวะการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงและระดับของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 3-13 จากการออกแบบการทดลองทำให้ได้สภาวะการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3-14

ตารางที่ 3-13 ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัย ที่ทำการทดลองกระบวนการย่อยแกนข้าวโพดโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*)

ตัวแปรอิสระ	สัญลักษณ์	ช่วงและระดับของปัจจัย				
		-1.68	-1	0	1	1.68
เวลา (นาที)	X_1	240	290	360	430	480
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	X_2	60	55	60	65	70
ร้อยละกลูโคอะไมเลส (โดยมวล)	X_3	0.05	0.08	0.13	0.17	0.20

ตารางที่ 3-14 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*)

การทดลองที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละกลูโคอะไมเลส (โดยมวล)	Response
1	240	60	0.13	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
2	290	55	0.08	
3	290	55	0.17	
4	290	65	0.17	
5	290	65	0.08	
6	360	50	0.13	
7	360	60	0.05	
8	360	60	0.13	
9	360	60	0.13	
10	360	60	0.13	
11	360	60	0.20	
12	360	70	0.13	
13	430	55	0.17	
14	430	55	0.08	
15	430	65	0.08	
16	430	65	0.17	
17	480.00	60	0.13	

วิธีการทดลอง

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*) ที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมในกิจกรรมที่ 3.4.7.1 มาปรับความเป็นพีเอช ให้เท่ากับ 4.5 แล้วเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase from *Aspergillus niger*) ร้อยละ 0.05-0.2 โดยมวลต่อแกนข้าวโพดเริ่มต้น นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Oil Bath with Shaker) ควบคุมอุณหภูมิที่ 50-70 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งเขย่าด้วยความเร็วรอบ 80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 240-480 นาที จากนั้นวางไว้ให้เย็นจนเป็นอุณหภูมิห้อง แล้ววิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดด้วยเครื่อง UV - Visible Spectrometer

3.4.8 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์

การออกแบบการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ 2 ชนิด คือ ยีสต์ขนมปัง และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae YSC2* โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ดำเนินการโดยใช้เทคนิคพื้นผิวผลตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) โดยมีตัวแปรที่ศึกษา คือ ปริมาณยีสต์ ระยะเวลาในการหมัก และค่าพีเอชเริ่มต้น รายละเอียดของขั้นตอนในการออกแบบการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

1.กำหนดตัวแปรที่จะศึกษาและช่วงของการทดลอง ได้แก่

1.1 ตัวแปรอิสระ (Independent variable) ประกอบด้วย 3 ตัวแปร คือ ปริมาณยีสต์ร้อยละ (X_1) 2-8 โดยมวล ระยะเวลาในการหมัก (X_2) 48-144 ชั่วโมง และค่าพีเอชเริ่มต้น (X_3) 4.0-6.0

1.2 ตัวแปรตาม (Response) คือ ปริมาณเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)

2. เลือกออกแบบสภาวะการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) ซึ่งกำหนดช่วงและระดับของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 3-15 จากการออกแบบการทดลองทำให้ได้สภาวะการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3-16

ตารางที่ 3-15 ช่วงการทดลองและระดับทั้ง 3 ปัจจัย ที่ทำการทดลองกระบวนการหมักเอทานอล

ตัวแปรอิสระ	สัญลักษณ์	ช่วงและระดับของปัจจัย				
		-1.68	-1	0	1	1.68
ร้อยละยีสต์ (โดยมวล)	X_1	2	3.22	5	6.78	8
ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	X_2	48	72	96	120	144
พีเอชเริ่มต้น	X_3	4	4.5	5	5.5	6

ตารางที่ 3-16 ผลการออกแบบการทดลองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร สำหรับศึกษาการหมักเอทานอล

การทดลองที่	ร้อยละยีสต์ (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	Response
1	2.00	96	5.0	ปริมาณเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
2	3.22	72	4.5	
3	3.22	72	5.5	
4	3.22	120	4.5	
5	3.22	120	5.5	
6	5.00	48	5.0	
7	5.00	96	4.0	
8	5.00	96	5.0	
9	5.00	96	5.0	
10	5.00	96	5.0	
11	5.00	96	6.0	
12	5.00	144	5.0	
13	6.78	72	4.5	
14	6.78	72	5.5	
15	6.78	120	4.5	
16	6.78	120	5.5	
17	8.00	96	5.0	

วิธีการทดลอง

นำแกนข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยจากสภาวะที่เหมาะสมในหัวข้อที่ 3.4.7.1 และ 3.4.7.2 มาทำการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ร้อยละ 2-8 โดยมวลของแกนข้าวโพดเริ่มต้น ค่าพีเอชเริ่มต้นในช่วง 4-6 ระยะเวลาในการหมัก 48-144 ชั่วโมง ในชุดขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเติมก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen gas) ลงในขวดหมักเพื่อไล่อากาศออกและปิดจุกด้วย Air-lock แล้วนำไปเก็บไว้ในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วย Oil bath พร้อมทั้งเขย่าด้วยความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที เมื่อครบกำหนดตามจำนวนชั่วโมงในการหมักนำน้ำหมักที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารละลายใสไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

ภาพประกอบที่ 3-5 การหมักเอทานอลในที่มืด

3.4.9 การประมาณต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการผลิตแบบต่างๆ และการเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการผลิต

นำรายละเอียดแต่ละกระบวนการมาเปรียบเทียบกระบวนการผลิตโดยคำนึงถึงต้นทุนการผลิต และเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการ

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 องค์ประกอบในแกนข้าวโพด

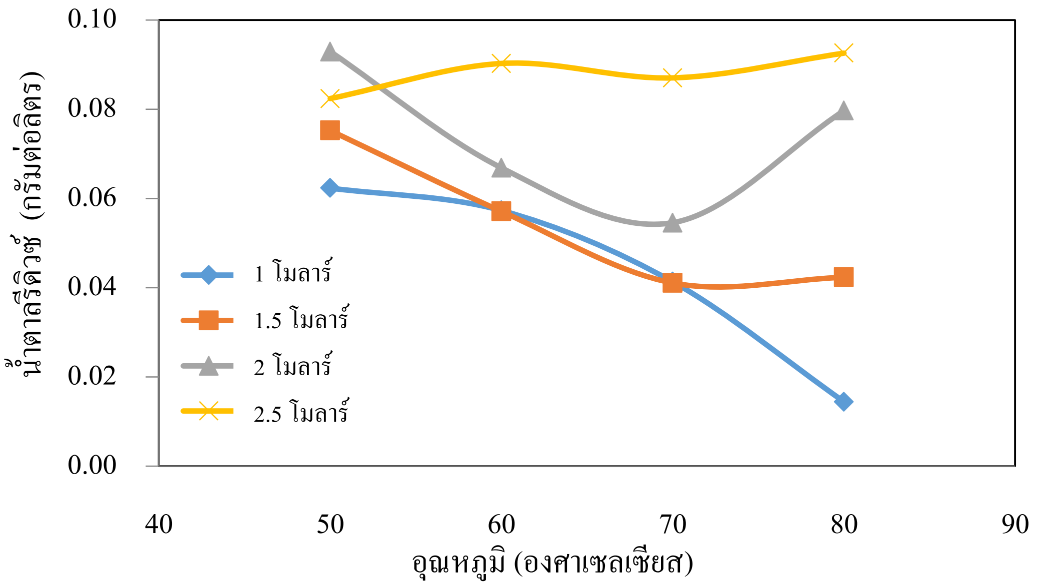
จากการศึกษาองค์ประกอบวัตถุดิบแกนข้าวโพด ด้วยวิธีตามมาตรฐานของ AOAC ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าแกนข้าวโพดมีองค์ประกอบที่สามารถใช้ในการหมักเอทานอล ดังนี้ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดร้อยละ 22.76 โดยมวล และมีปริมาณของเส้นใยร้อยละ 7.11 โดยมวล ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Miller, 1959) 1.68 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าแกนข้าวโพดเป็นวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบของแกนข้าวโพด

องค์ประกอบ	วิธีทดสอบ	ผลการทดสอบ (ร้อยละโดยมวล)
โปรตีน	AOAC	1.17
ไขมัน	AOAC	0.15
ความชื้น	AOAC	75.48
เถ้า	AOAC	0.44
เส้นใย	AOAC	7.11
แป้ง (Total Carbohydrate)	Calculation	22.76
น้ำตาลรีดิวซ์	Miller, 1959	1.68 กรัมต่อลิตร
น้ำตาลทั้งหมด	Modified Phenol Sulfuric Method	3.71 กรัมต่อลิตร
พลังงาน	Calculation	97.07 kcal

4.2 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

4.2.1 ผลการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

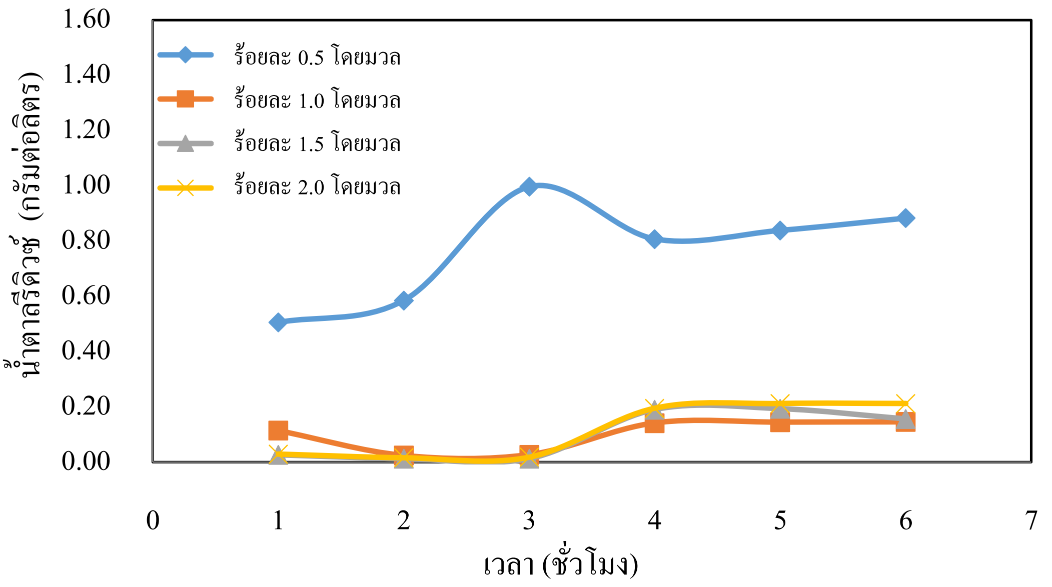


ภาพประกอบที่ 4-1 ปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

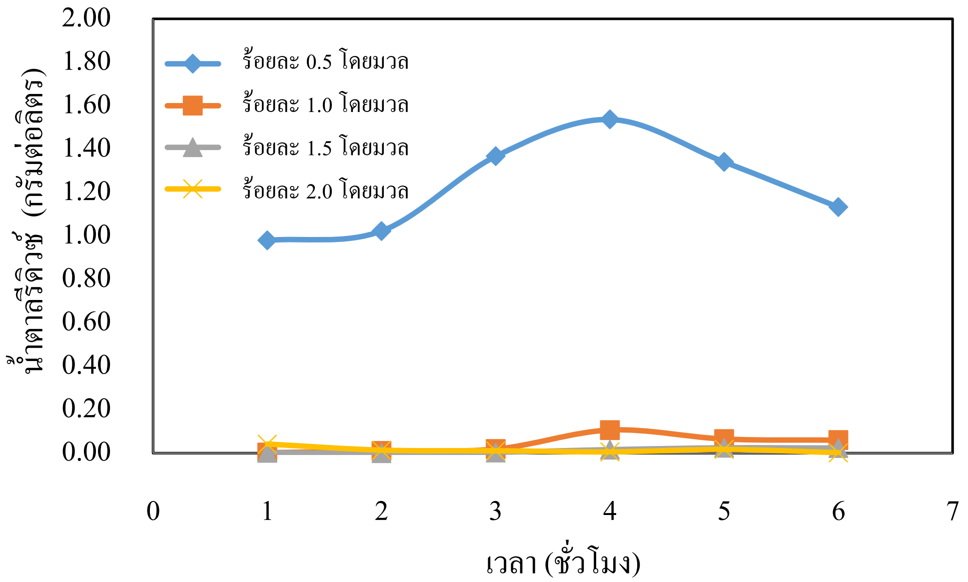
จากภาพประกอบที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จะให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย ที่สภาวะการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้ค่าน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.093 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส คือ 0.093 กรัมต่อลิตร แต่เนื่องด้วยที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะเป็นสภาวะที่ประหยัดพลังงาน จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

4.2.2 ผลการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

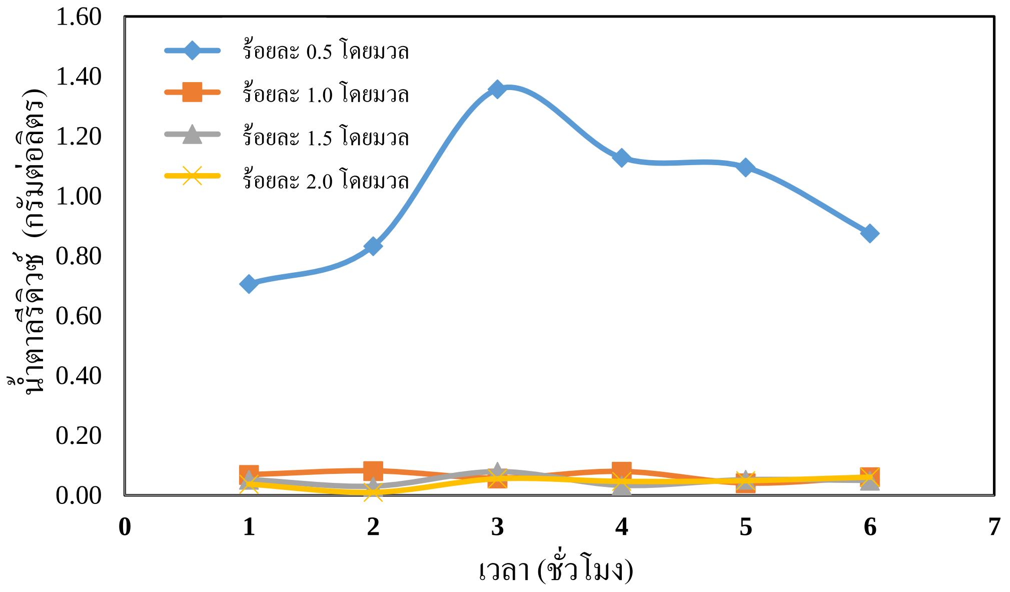
การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ปัจจัยที่ศึกษา คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก อุณหภูมิ และระยะเวลาในการย่อย โดยกำหนดให้ทำการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสภาวะที่เหมาะสมจากหัวข้อ 4.2.1 คือ ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-2 ถึง 4-5



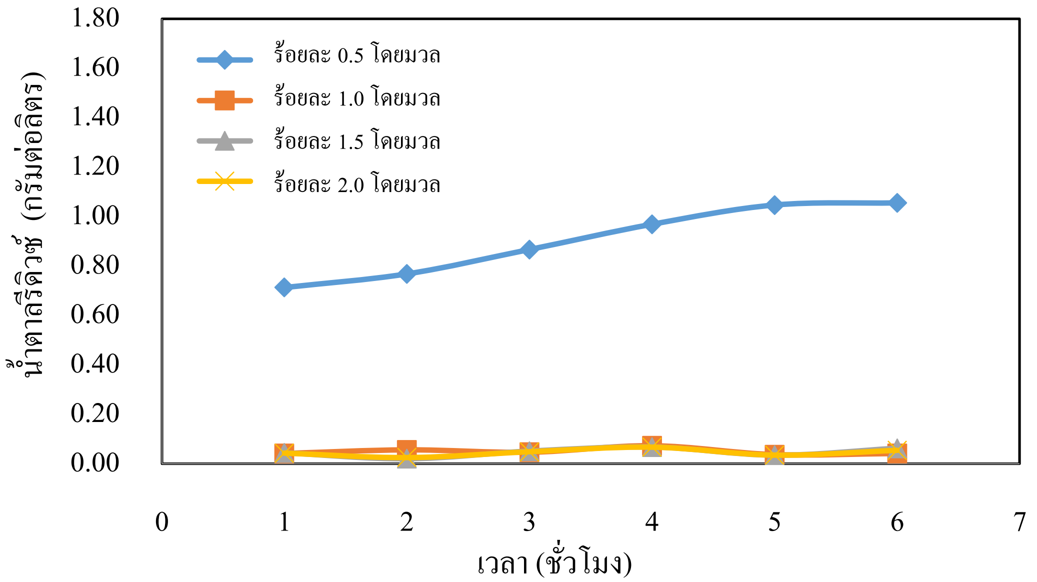
ภาพประกอบที่ 4-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง



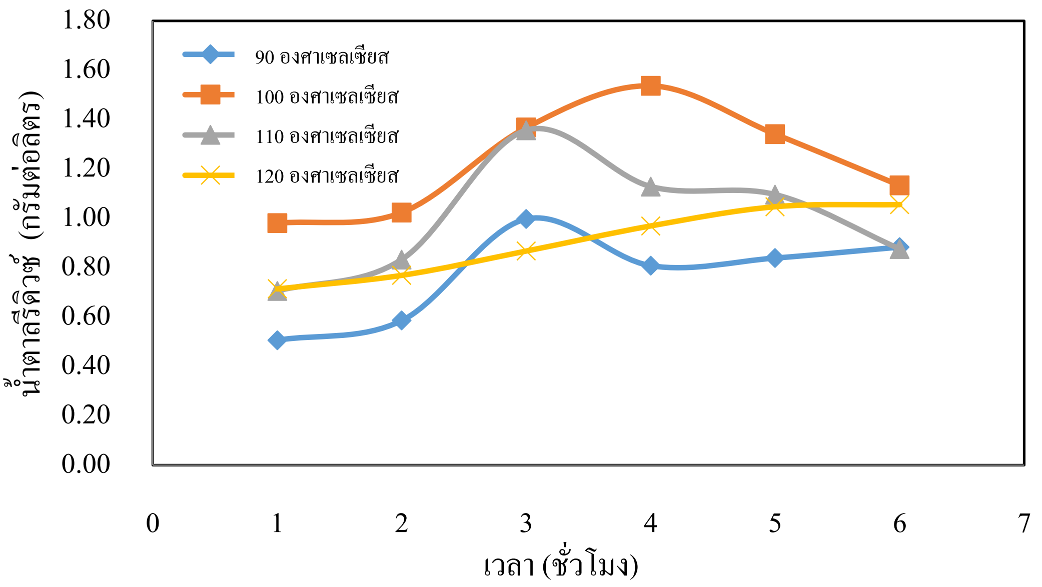
ภาพประกอบที่ 4-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 4-4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 4-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5-2 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง



ภาพประกอบที่ 4-6 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 90-120 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-6 ชั่วโมง

จากการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก พบว่าสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวล ของการดำเนินการทุกๆ อุณหภูมิ จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ ดังนั้นจึงเปรียบเทียบเฉพาะความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 โดยมวล ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังภาพประกอบที่ 4-6 จะเห็นได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ควรดำเนินการที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 1.537 กรัมต่อลิตร

4.3 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

4.3.1 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

เริ่มจากกำหนดปัจจัยตัวแปรที่ต้องการศึกษา จากนั้นทำตารางออกแบบสภาวะการทดลองสำหรับทำการปรับสภาพแกนข้าวโพด โดยระดับและค่าของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ผลของแนวโน้มการศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-1 และตารางที่ ข-7 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4-2

กำหนดให้ C = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

(ระดับของตัวแปร: 1 = 2 โมลาร์ และ 2 = 2.5 โมลาร์)

T = อุณหภูมิในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 50 องศาเซลเซียส และ 2 = 60 องศาเซลเซียส)

t = ระยะเวลาในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 10 ชั่วโมง และ 2 = 24 ชั่วโมง)

ตารางที่ 4-2 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การทดลองที่	ความเข้มข้น (โมลาร์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	2	50	10	0.954
2	2	60	24	0.848
3	2.5	50	24	1.236
4	2.5	60	10	1.272

พบว่าสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ การปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 1.272 กรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามมาตรฐานของทากูชิ แสดงดังตารางที่ 4-3 ซึ่งคอลัมน์ที่ 2 จะศึกษาถึงผลของแต่ละปัจจัยที่มีต่อการปรับสภาพ สำหรับคอลัมน์ที่ 3 จะแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีต่อกระบวนการปรับสภาพ สำหรับวิธีการคำนวณผลของแต่ละปัจจัยมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 4-3 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

No.	C	T	t	C x T	C x t	T x t	Response	
								$\overline{C_1} = \frac{y_1 + y_2}{2} = 0.901$ $\overline{C_2} = \frac{y_3 + y_4}{2} = 1.254$
1	1	1	1	1	1	1	y_1= 0.954	$\overline{T_1} = \frac{y_1 + y_3}{2} = 1.095$
2	1	2	2	2	2	1	y_2= 0.848	$\overline{T_2} = \frac{y_2 + y_4}{2} = 1.060$
3	2	1	2	2	1	2	y_3= 1.236	$\overline{t_1} = \frac{y_1 + y_4}{2} = 1.113$
4	2	2	1	1	2	2	y_4= 1.272	$\overline{t_2} = \frac{y_2 + y_3}{2} = 1.042$

$\overline{CxT_1} = \frac{y_1 + y_4}{2} = 1.113$ $\overline{Cxt_1} = \frac{y_1 + y_3}{2} = 1.095$ $\overline{Txt_1} = \frac{y_1 + y_2}{2} = 0.901$

$\overline{CxT_2} = \frac{y_2 + y_3}{2} = 1.042$ $\overline{Cxt_2} = \frac{y_2 + y_4}{2} = 1.060$ $\overline{Txt_2} = \frac{y_3 + y_4}{2} = 1.254$

ผลของ $C = \left|\overline{C_1} - \overline{C_2}\right| = |1.30 - 0.86| = 0.354$

ผลของ $T = \left|\overline{T_1} - \overline{T_2}\right| = |1.10 - 1.06| = 0.035$

ผลของ $t = \left|\overline{t_1} - \overline{t_2}\right| = |1.03 - 1.13| = 0.071$

ผลของ $CxT = \left|\overline{CxT_1} - \overline{CxT_2}\right| = |1.03 - 1.13| = 0.071$

ผลของ $Cxt = \left|\overline{Cxt_1} - \overline{Cxt_2}\right| = |1.10 - 1.06| = 0.035$

ผลของ $Txt = \left|\overline{Txt_1} - \overline{Txt_2}\right| = |1.30 - 0.86| = 0.354$

จากการวิเคราะห์ผลของปัจจัยสำคัญในการปรับสภาพด้วยตารางมาตรฐานของทากูชิ พบว่าปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) มีผลต่อการปรับสภาพแกนข้าวโพดมากที่สุด คือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) จะมีผลต่อการปรับสภาพแกนข้าวโพดมากกว่าการเพิ่มปัจจัยของอุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) สำหรับปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งสาม พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของอุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) มีผลเกื้อหนุนต่อกันมากที่สุด

4.3.2 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

เริ่มจากกำหนดปัจจัยตัวแปรที่ต้องการศึกษา จากนั้นทำตารางออกแบบสภาวะการทดลองสำหรับทำการย่อยแกนข้าวโพด โดยระดับและค่าของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ผลของแนวโน้มการศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-2 ถึง 4-6 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4-4

กำหนดให้

C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

(ระดับของตัวแปร: 1 = ร้อยละ 0.5 โดยมวล และ 2 = ร้อยละ 1 โดยมวล)

T = อุณหภูมิในการย่อย

(ระดับของตัวแปร: 1 = 100 องศาเซลเซียส และ 2 = 110 องศาเซลเซียส)

t = ระยะเวลาในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 3 ชั่วโมง และ 2 = 4 ชั่วโมง)

ตารางที่ 4-4 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

การทดลองที่	ความเข้มข้น (ร้อยละโดยมวล)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	0.5	100	3	1.659
2	0.5	110	4	0.981
3	1	100	4	1.183
4	1	110	3	1.121

พบว่าปัจจัยที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ การย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 1.659 กรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกตามมาตรฐานของทากูชิ แสดงดังตารางที่ 4-5 ซึ่งคอลัมน์ที่ 2 จะศึกษาถึงผลของแต่ละปัจจัยที่มีต่อกระบวนการย่อย สำหรับคอลัมน์ที่ 3 จะแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีต่อกระบวนการย่อย สำหรับวิธีการคำนวณผลของแต่ละปัจจัยมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 4-5 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

No.	C	T	t	C x T	C x t	T x t	Response	
1	1	1	1	1	1	1	y_1= 1.659	$\overline{C_1} = \frac{y_1 + y_2}{2} = 1.320$ $\overline{C_2} = \frac{y_3 + y_4}{2} = 1.152$ $\overline{T_1} = \frac{y_1 + y_3}{2} = 1.421$
2	1	2	2	2	2	1	y_2= 0.981	$\overline{T_2} = \frac{y_2 + y_4}{2} = 1.051$
3	2	1	2	2	1	2	y_3= 1.183	$\overline{t_1} = \frac{y_1 + y_4}{2} = 1.390$
4	2	2	1	1	2	2	y_4= 1.121	$\overline{t_2} = \frac{y_2 + y_3}{2} = 1.082$

$\overline{CxT_1} = \dfrac{y_1 + y_4}{2} = 1.390$ $\overline{Cxt_1} = \dfrac{y_1 + y_3}{2} = 1.421$ $\overline{Txt_1} = \dfrac{y_1 + y_2}{2} = 1.320$

$\overline{CxT_2} = \dfrac{y_2 + y_3}{2} = 1.082$ $\overline{Cxt_2} = \dfrac{y_2 + y_4}{2} = 1.051$ $\overline{Txt_2} = \dfrac{y_3 + y_4}{2} = 1.152$

ผลของ $C = \left|\overline{C_1} - \overline{C_2}\right| = |1.32 - 1.15| = 0.168$

ผลของ $T = \left|\overline{T_1} - \overline{T_2}\right| = |1.42 - 1.05| = 0.370$

ผลของ $t = \left|\overline{t_1} - \overline{t_2}\right| = |1.39 - 1.08| = 0.308$

ผลของ $CxT = \left|\overline{CxT_1} - \overline{CxT_2}\right| = |1.39 - 1.08| = 0.308$

ผลของ $Cxt = \left|\overline{Cxt_1} - \overline{Cxt_2}\right| = |1.42 - 1.05| = 0.370$

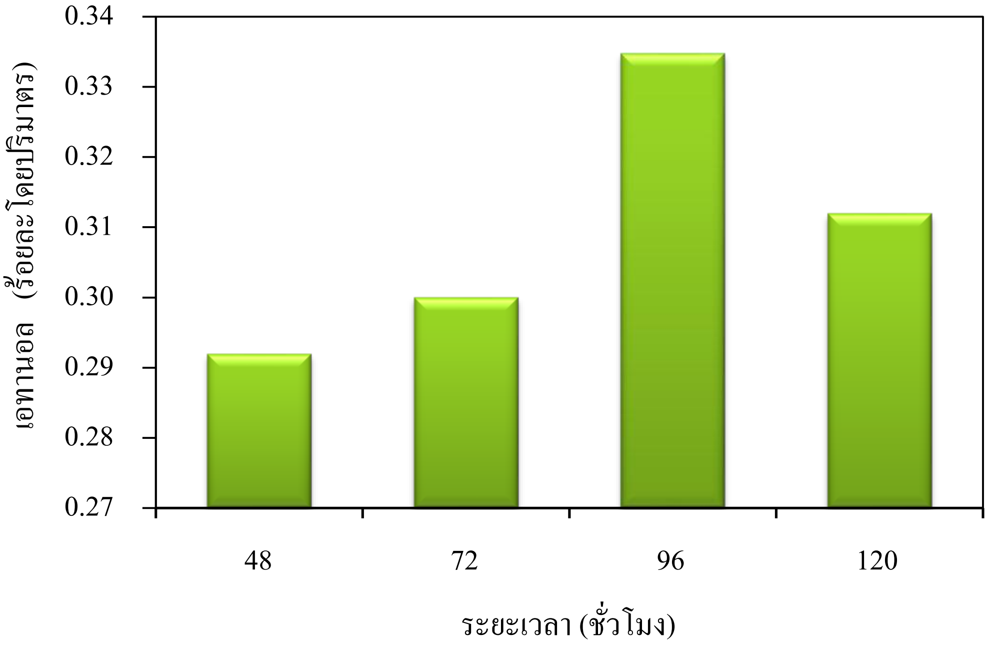
ผลของ $Txt = \left|\overline{Txt_1} - \overline{Txt_2}\right| = |1.32 - 1.15| = 0.168$

จากการวิเคราะห์ผลด้วยตารางมาตรฐานของทากูชิ พบว่าปัจจัยของอุณหภูมิใน การย่อย (T) มีผลต่อการย่อยแกนข้าวโพดมากที่สุด คือ การเพิ่มหรือลดอุณหภูมิ (T) จะมีผลต่อการย่อยแกนข้าวโพดมากกว่าการเพิ่มหรือลดปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (C) และระยะเวลาในการย่อย (t) สำหรับปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งสาม พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (C) และระยะเวลาในการย่อย (t) มีผลเกื้อหนุนต่อกันมากที่สุด นอกจากนี้ปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อย (C) และ อุณหภูมิในการย่อย (T) ยังมีผลเกื้อหนุนต่อกันมากเช่นกัน

4.4 การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีแบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

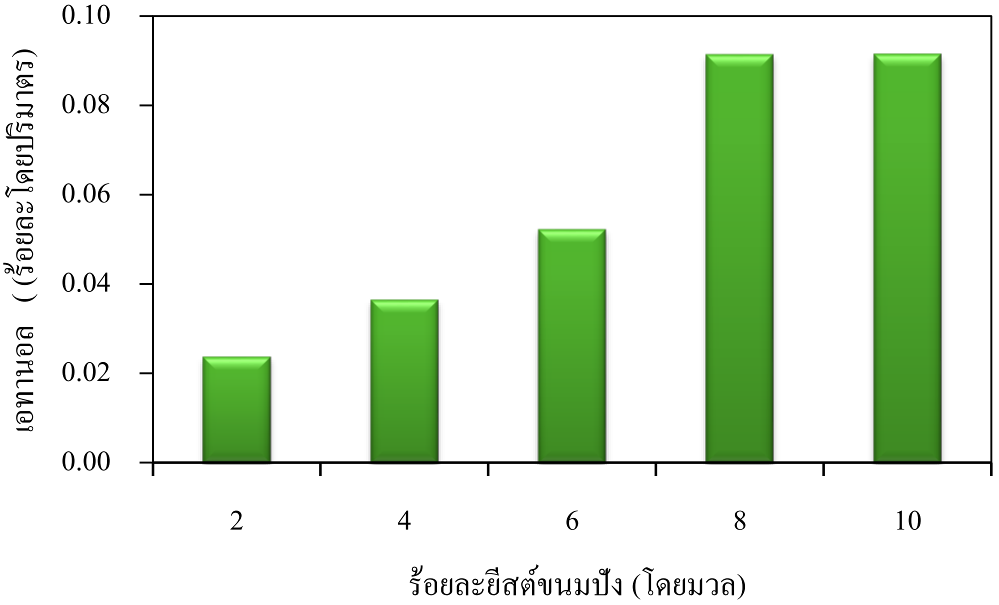
4.4.1 ผลของเวลาในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

นำวัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยมาทำการศึกษาการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง ปัจจัยที่ศึกษา คือ ระยะเวลาในการหมักเอทานอล (48-120 ชั่วโมง) จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (GC) ผลที่ได้แสดงดังภาพประกอบที่ 4-7 จะเห็นได้ว่าเอทานอลจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรก (จำนวนชั่วโมงในการหมัก 24-96 ชั่วโมง) และจะลดลงเมื่อจำนวนชั่วโมงในการหมักเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารอาหารของยีสต์เริ่มหมดไปและเกิดสภาวะการสะสมของเอทานอล ทำให้อัตราการผลิตเอทานอลของยีสต์ลดลง



ภาพประกอบที่ 4-7 ผลการศึกษาระยะเวลาในการหมักเอทานอล 48-120 ชั่วโมง ด้วยยีสต์ขนมปังร้อยละ 3 โดยมวล พีเอชเริ่มต้น 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

4.4.2 ผลการศึกษาปริมาณยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง



ภาพประกอบที่ 4-8 ผลการศึกษาร้อยละยีสต์ขนมปัง 2-10 โดยมวล
ในการหมักเอทานอล เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พีเอชเริ่มต้น 5
ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ภาพประกอบที่ 4-8 พบว่ายีสต์ขนมปังร้อยละ 2 โดยมวล จนถึงร้อยละ 8 โดยมวล ผลผลิตเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และเริ่มคงที่หลังจากใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 8-10 โดยมวล ดังนั้นปริมาณยีสต์ขนมปังที่เหมาะสมสำหรับการการหมักเอทานอลควรใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล หากใช้น้อยเกินไปจะส่งผลให้ได้ผลผลิตเอทานอลน้อยมาก ไม่คุ้มค่า

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพดให้ผลผลิตเอทานอลในปริมาณน้อย เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำตาลไปกับน้ำล้างหลังการปรับสภาพให้เป็นกลางในขั้นตอนการปรับสภาพ ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงขั้นตอนการทดลองโดยการเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเพื่อปรับให้เป็นกลางแทนการล้างน้ำและเติมสารละลายกรดจนได้พีเอชตามที่ต้องการก่อนทำการย่อย

4.5 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ (Taguchi Method) ในการศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

4.5.1 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

เริ่มจากกำหนดปัจจัยตัวแปรที่ต้องการศึกษา จากนั้นทำตารางออกแบบสภาวะการทดลองสำหรับทำการปรับสภาพแกนข้าวโพด โดยระดับและค่าของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ผลของแนวโน้มการศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-1 และตารางที่ ข-12 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4-6

กำหนดให้ C = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

(ระดับของตัวแปร: 1 = 2 โมลาร์ และ 2 = 2.5 โมลาร์)

T = อุณหภูมิในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 50 องศาเซลเซียส และ 2 = 60 องศาเซลเซียส)

t = ระยะเวลาในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 18 ชั่วโมง และ 2 = 24 ชั่วโมง)

ตารางที่ 4-6 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การทดลองที่	ความเข้มข้น (โมลาร์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	2	50	18	9.542
2	2	60	24	10.704
3	2.5	50	24	11.098
4	2.5	60	18	11.627

พบว่าปัจจัยที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ การปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 11.627 กรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามมาตรฐานของทากูชิ แสดงดังตารางที่ 4-7 ซึ่งคอลัมน์ที่ 2 จะศึกษาถึงผลของแต่ละปัจจัยที่มีต่อการปรับสภาพ สำหรับคอลัมน์ที่ 3 จะแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีต่อกระบวนการปรับสภาพ สำหรับวิธีการคำนวณผลของแต่ละปัจจัยมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 4-7 การวิเคราะห์ปัจจัยตามมาตรฐานของทากูชิ จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

No.	C	T	t	C x T	C x t	T x t	Response	
								$\overline{C_1} = \frac{y_1 + y_2}{2} = 10.123$ $\overline{C_2} = \frac{y_3 + y_4}{2} = 11.363$
1	1	1	1	1	1	1	y_1= 9.542	$\overline{T_1} = \frac{y_1 + y_3}{2} = 10.320$
2	1	2	2	2	2	1	y_2= 10.704	$\overline{T_2} = \frac{y_2 + y_4}{2} = 11.166$
3	2	1	2	2	1	2	y_3= 11.098	$\overline{t_1} = \frac{y_1 + y_4}{2} = 10.585$
4	2	2	1	1	2	2	y_4= 11.627	$\overline{t_2} = \frac{y_2 + y_3}{2} = 10.901$

$\overline{CxT_1} = \frac{y_1 + y_4}{2} = 10.585$ $\quad \overline{Cxt_1} = \frac{y_1 + y_3}{2} = 10.320$ $\quad \overline{Txt_1} = \frac{y_1 + y_2}{2} = 10.123$

$\overline{CxT_2} = \frac{y_2 + y_3}{2} = 10.901$ $\quad \overline{Cxt_2} = \frac{y_2 + y_4}{2} = 11.166$ $\quad \overline{Txt_2} = \frac{y_3 + y_4}{2} = 11.363$

ผลของ $C = \left|\overline{C_1} - \overline{C_2}\right| = |1.30 - 0.86| = 1.240$

ผลของ $T = \left|\overline{T_1} - \overline{T_2}\right| = |1.10 - 1.06| = 0.846$

ผลของ $t = \left|\overline{t_1} - \overline{t_2}\right| = |1.03 - 1.13| = 0.316$

ผลของ $CxT = \left|\overline{CxT_1} - \overline{CxT_2}\right| = \left|1.03 - 1.13\right| = 0.316$

ผลของ $Cxt = \left|\overline{Cxt_1} - \overline{Cxt_2}\right| = \left|1.10 - 1.06\right| = 0.846$

ผลของ $Txt = \left|\overline{Txt_1} - \overline{Txt_2}\right| = \left|1.30 - 0.86\right| = 1.240$

จากการวิเคราะห์ผลด้วยตารางมาตรฐานของทากูชิ พบว่าปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) มีผลต่อการปรับสภาพแกนข้าวโพดมากที่สุด คือ การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (C) จะมีผลต่อการปรับสภาพแกนข้าวโพดมากกว่าการเพิ่มปัจจัยของอุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) สำหรับปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งสาม พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของอุณหภูมิ (T) และระยะเวลาในการปรับสภาพ (t) มีผลเกื้อหนุนต่อกันมากที่สุด

จากผลการทดลองการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าแบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด จึงเลือกใช้วิธีการดังกล่าวในขั้นตอนการย่อยและการหมักเอทานอล

4.5.2 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีของทากูชิ ในการศึกษาการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

เริ่มจากกำหนดปัจจัยตัวแปรที่ต้องการศึกษา จากนั้นทำตารางออกแบบสภาวะการทดลองสำหรับทำการย่อยแกนข้าวโพด โดยระดับและค่าของปัจจัยที่ใช้ในการออกแบบการทดลองได้มาจากการวิเคราะห์ผลของแนวโน้มการศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-2 ถึง 4-6 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4-8

กำหนดให้ C = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

(ระดับของตัวแปร: 1 = ร้อยละ 0.5 โดยมวล และ 2 = ร้อยละ 1 โดยมวล)

T = อุณหภูมิในการย่อย

(ระดับของตัวแปร: 1 = 100 องศาเซลเซียส และ 2 = 110 องศาเซลเซียส)

t = ระยะเวลาในการปรับสภาพ

(ระดับของตัวแปร: 1 = 3 ชั่วโมง และ 2 = 4 ชั่วโมง)

ตารางที่ 4-8 ผลการทดลองด้วยมาตรฐานของทากูชิ (Orthogonal Array) L_4 (2^3) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

การทดลองที่	ความเข้มข้น (ร้อยละโดยมวล)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
1	0.5	100	3	12.420
2	0.5	110	4	9.644
3	1	100	4	10.460
4	1	110	3	9.622

พบว่าปัจจัยที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ การย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 12.420 กรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลองการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกตามมาตรฐานของทากูชิ แสดงดังตารางที่ 4-9 ซึ่งคอลัมน์ที่ 2 จะศึกษาถึงผลของแต่ละปัจจัยที่มีต่อกระบวนการย่อย สำหรับคอลัมน์ที่ 3 จะแสดงถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีต่อกระบวนการย่อย สำหรับวิธีการคำนวณผลของแต่ละปัจจัยมีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 4-9 การวิเคราะห์ตารางมาตรฐานของทากูชิ จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

No.	C	T	t	C x T	C x t	T x t	Response	
								$\overline{C_1}=\frac{y_1+y_2}{2}=11.032$ $\overline{C_2}=\frac{y_3+y_4}{2}=10.041$
1	1	1	1	1	1	1	y_1= 12.420	$\overline{T_1}=\frac{y_1+y_3}{2}=11.440$
2	1	2	2	2	2	1	y_2= 9.644	$\overline{T_2}=\frac{y_2+y_4}{2}=9.633$
3	2	1	2	2	1	2	y_3= 10.460	$\overline{t_1}=\frac{y_1+y_4}{2}=11.021$
4	2	2	1	1	2	2	y_4= 9.622	$\overline{t_2}=\frac{y_2+y_3}{2}=10.052$

$$\overline{CxT_1}=\frac{y_1+y_4}{2}=11.021 \qquad \overline{Cxt_1}=\frac{y_1+y_3}{2}=11.440 \qquad \overline{Txt_1}=\frac{y_1+y_2}{2}=11.032$$

$$\overline{CxT_2}=\frac{y_2+y_3}{2}=10.052 \qquad \overline{Cxt_2}=\frac{y_2+y_4}{2}=9.633 \qquad \overline{Txt_2}=\frac{y_3+y_4}{2}=10.041$$

ผลของ $C=\left|\overline{C_1}-\overline{C_2}\right|=|1.32-1.15|=0.991$

ผลของ $T=\left|\overline{T_1}-\overline{T_2}\right|=|1.42-1.05|=1.807$

ผลของ $t=\left|\overline{t_1}-\overline{t_2}\right|=|1.39-1.08|=0.969$

ผลของ $CxT=\left|\overline{CxT_1}-\overline{CxT_2}\right|=|1.39-1.08|=0.969$

ผลของ $Cxt=\left|\overline{Cxt_1}-\overline{Cxt_2}\right|=|1.42-1.05|=1.807$

ผลของ $Txt=\left|\overline{Txt_1}-\overline{Txt_2}\right|=|1.32-1.15|=0.991$

จากการวิเคราะห์ผลด้วยตารางมาตรฐานของทากูชิ พบว่าปัจจัยของอุณหภูมิในการย่อย (T) มีผลต่อการย่อยแกนข้าวโพดมากที่สุด คือ การเพิ่มหรือลดอุณหภูมิ (T) จะมีผลต่อการย่อยแกนข้าวโพดมากกว่าการเพิ่มหรือลดปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (C) และระยะเวลาในการย่อย (t) สำหรับปฏิสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งสาม พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยของความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (C) และระยะเวลาในการย่อย (t) มีผลเกื้อหนุนต่อกันมากที่สุด

4.6 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

4.6.1 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนดตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ ปริมาณยีสต์ขนมปัง ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้น โดยมีตัวแปรตาม คือ ปริมาณเอทานอล ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-10 ซึ่งปริมาณเอทานอลสูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 6 ซึ่งใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 5 โดยมวล ใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมงและพีเอชเริ่มต้น 5 ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 6.341 โดยปริมาตร

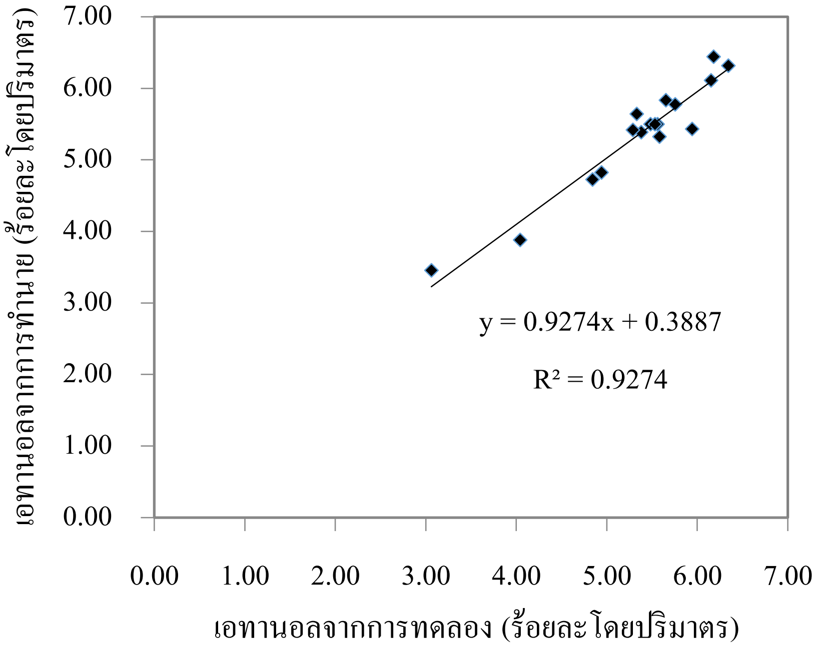
นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณเอทานอล แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในสมการที่ 4.1

ปริมาณเอทานอล = -0.8214-0.0087(ร้อยละยีสต์ขนมปัง)-2.5576(ระยะเวลา) + 3.9849(พีเอชเริ่มต้น)+0.0045(ร้อยละยีสต์ขนมปัง)^2+0.0060(ระยะเวลา)^2-0.6686(พีเอชเริ่มต้น)^2-0.2538(ร้อยละยีสต์ขนมปัง$\times$ระยะเวลา)+0.1889(ร้อยละยีสต์ขนมปัง$\times$พีเอชเริ่มต้น)+0.6763(ระยะเวลา$\times$พีเอชเริ่มต้น) (4.1)

ตารางที่ 4-10 ผลการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปังที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

ลำดับที่	ร้อยละยีสต์ขนมปัง (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	2.00	96	5.0	5.330	5.640
2	3.22	72	4.5	5.384	5.388
3	3.22	72	5.5	5.578	5.324
4	3.22	120	4.5	4.938	4.821
5	3.22	120	5.5	6.149	6.110
6	5.00	48	5.0	6.341	6.314
7	5.00	96	4.0	4.040	3.878
8	5.00	96	5.0	5.477	5.496
9	5.00	96	5.0	5.561	5.496
10	5.00	96	5.0	5.532	5.496
11	5.00	96	6.0	5.754	5.776
12	5.00	144	5.0	4.837	4.725
13	6.78	72	4.5	5.651	5.831
14	6.78	72	5.5	6.180	6.440
15	6.78	120	4.5	3.060	3.457
16	6.78	120	5.5	5.285	5.419
17	8.00	96	5.0	5.942	5.431

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินได้จาก P value ที่ได้จากสมการแบบจำลองของแต่ละเทอม โดยแต่ละเทอมของปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อกระบวนการจะให้ P value ที่ต่ำกว่า 0.05 เทอมที่มี P value ยิ่งน้อย ตัวแปรนั้นจะมีอิทธิพลมาก ดังนั้น ผลจากแบบจำลองปัจจัยที่มีผลต่อผลได้ของปริมาณเอทานอลมากที่สุด คือ ร้อยละยีสต์ขนมปังร่วมกับเวลา แสดงดังตารางที่ 4-11 เมื่อนำค่าจากการทำนายโดย RSM และค่าจากการทดลองจริงมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9274 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-9 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.8341) ซึ่งค่า R^2 จะบอกถึงความน่าเชื่อถือของแบบจำลองที่ได้ หากค่า R^2 มีค่าใกล้เคียงกับ R^2 Adjusted แสดงว่าแต่ละตัวแปรในแบบจำลองที่ได้มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณเอทานอล ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4-10 ถึง 4-12



ภาพประกอบที่ 4-9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริง และค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

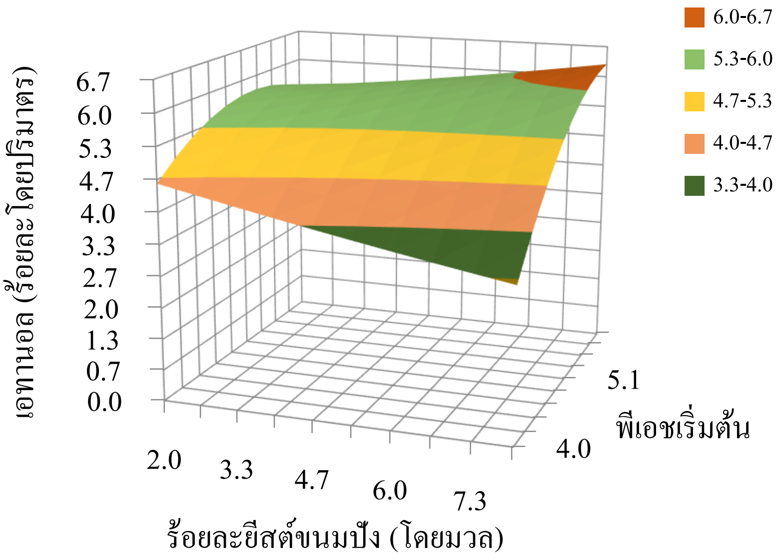
ตารางที่ 4-11 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-0.8214	10.0710	-0.0816	0.9373
ร้อยละยีสต์ขนมปัง	b1	-0.0087	0.7755	-0.0113	0.9913
เวลา	b2	-2.5576	1.3489	-1.8961	0.0998
พีเอชเริ่มต้น	b3	3.9849	3.1794	1.2534	0.2503
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× ร้อยละยีสต์ขนมปัง	b4	0.0045	0.0321	0.1391	0.8933
เวลา×เวลา	b5	0.0060	0.0741	0.0811	0.9376
พีเอชเริ่มต้น× พีเอชเริ่มต้น	b6	-0.6686	0.2964	-2.2554	0.0587
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× เวลา	b7	-0.2538	0.0654	-3.8826	0.0060
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× พีเอชเริ่มต้น	b8	0.1889	0.1308	1.4449	0.1917
เวลา× พีเอชเริ่มต้น	b9	0.6763	0.2328	2.9057	0.0228

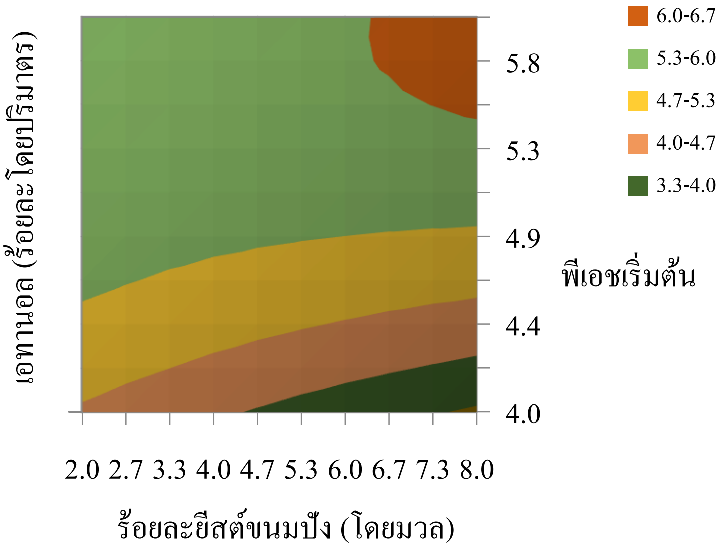
4.6.1.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณยีสต์ขนมปัง ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลางแสดงดังภาพประกอบที่ 4-10 ถึง 4-12

(1) ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)

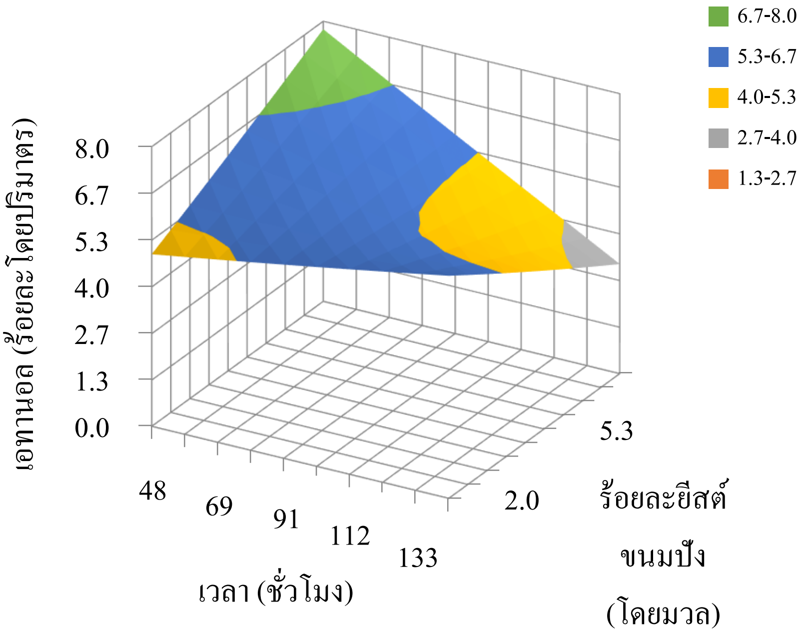


(ข)

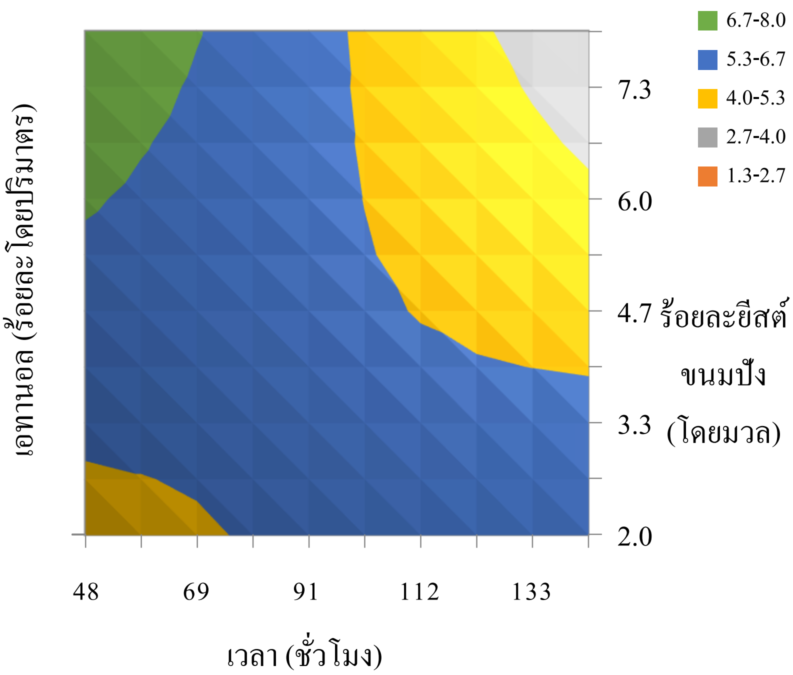
ภาพประกอบที่ 4-10 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอลโดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-10 (ก) และ (ข) พบว่าในช่วงพีเอชเริ่มต้น 4.0-4.9 เมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ขนมปังทำให้ได้ปริมาณเอทานอลน้อยลง ปริมาณเอทานอลจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มร้อยละยีสต์ขนมปังในช่วงพีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 4.9-6.0 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวิเชียร (2552) ได้ทำการผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อยโดยใช้เชื้อ *Kluyveromyces marxianus* DMKU 3-1042 โดยศึกษาผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่ 4.5 และ 5.0 พบว่าที่พีเอช 4.5 สามารถผลิตเอทานอลได้เพียงร้อยละ 6.26 โดยมวล ซึ่งน้อยกว่าที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 6.95 โดยมวล เมื่อพิจารณาปริมาณยีสต์ขนมปังพบว่ายีสต์ขนมปังน้อยกว่าร้อยละ 6 โดยมวล นั้นไม่เพียงพอสำหรับการหมักเอทานอลและเมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ขนมปังตั้งแต่ร้อยละ 6 โดยมวลเป็นต้นไป ปริมาณเอทานอลที่ได้มีค่าสูงขึ้น

(2) ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและระยะเวลาในการหมักเอทานอล



(ก)

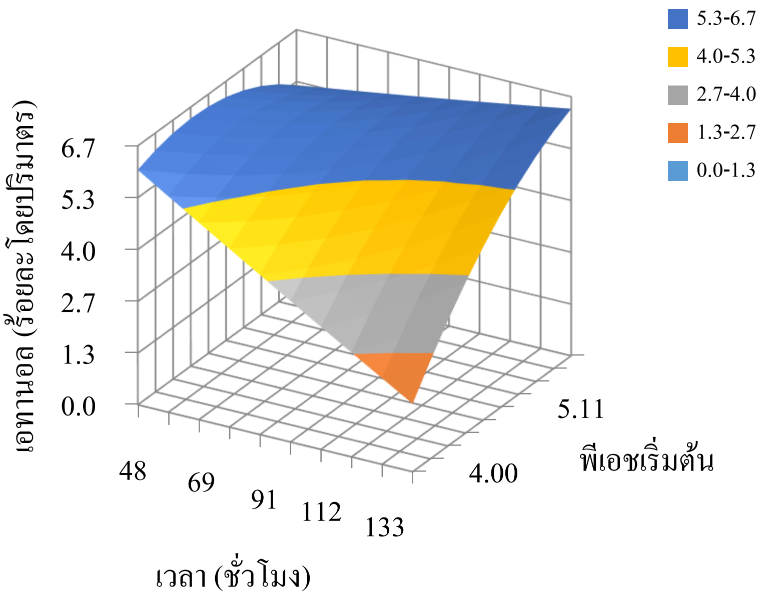


(ข)

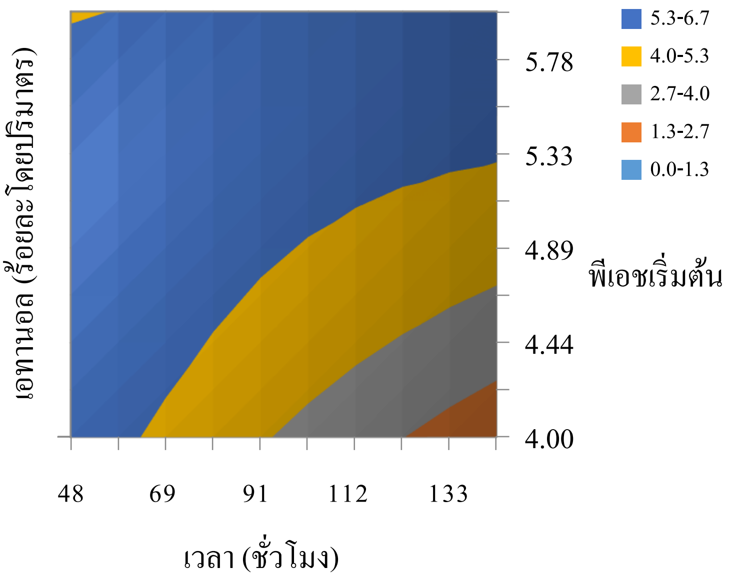
ภาพประกอบที่ 4-11 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและระยะเวลาในการหมักต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-11 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณผลผลิตเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้น ด้วยการเพิ่มขึ้นของปริมาณยีสต์ขนมปังในช่วงร้อยละ 6-8 โดยมวล ที่ระยะเวลาหมัก 48-72 ชั่วโมง ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมในช่วงปัจจัยที่ศึกษา คือ ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมงและยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล

(3) ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-12 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-12 (ก) และ (ข) พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น จะทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลน้อยลงในช่วงพีเอชเริ่มต้น 4.00-4.67 หลังจากปรับพีเอชเริ่มต้นในกระบวนการหมักเอทานอลให้สูงกว่า 4.67 จะส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณเอทานอลเป็นอย่างมาก จะเห็นได้ว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลา 48-72 ชั่วโมงแรกของการหมัก และจะคงที่เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักตั้งแต่ 72 ชั่วโมงเป็นต้นไป เนื่องจากสารอาหารของยีสต์เริ่มหมดไปและเกิดสภาวะการสะสมของเอทานอล ทำให้อัตราการผลิตเอทานอลของยีสต์ลดลงเมื่อจำนวนชั่วโมงในการหมักมากขึ้น

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-9 ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ที่พีเอชเริ่มต้น 5.12 จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 7.783 โดยปริมาตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าว ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 7.649 โดยปริมาตร

4.6.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนดตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้น โดยมีตัวแปรตาม คือ ปริมาณเอทานอล ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-12 ซึ่งปริมาณเอทานอลสูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 9 ซึ่งใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล ใช้ระยะเวลาในการหมัก 96 ชั่วโมง และพีเอชเริ่มต้น 5 ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 6.408 โดยปริมาตร

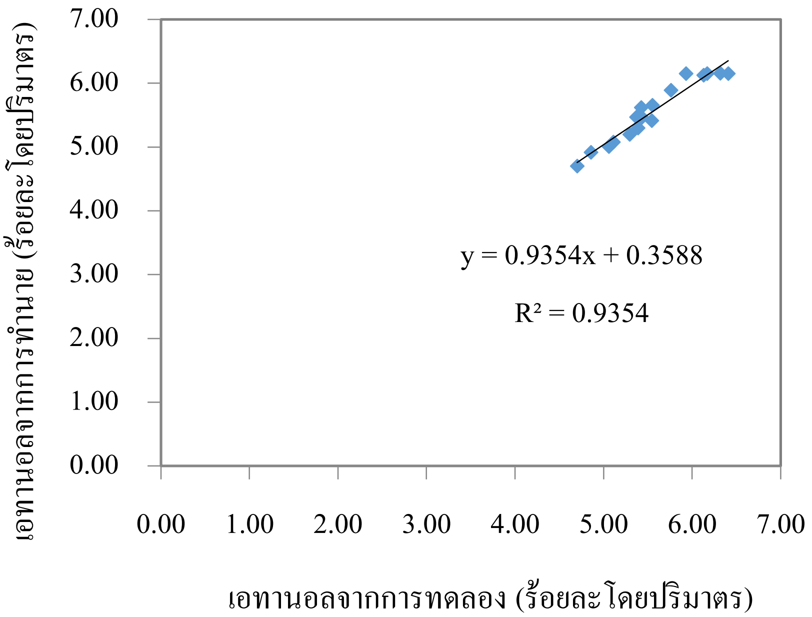
นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณเอทานอล แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในสมการที่ 4.2

ปริมาณเอทานอล = -25.7845+1.3544(ร้อยละยีสต์) +3.6275(ระยะเวลา)+8.7869 (พีเอชเริ่มต้น)-0.1107(ร้อยละยีสต์)^2-0.1533(ระยะเวลา)^2-0.7116(พีเอชเริ่มต้น)^2-0.1024(ร้อยละยีสต์×ระยะเวลา)+ 0.0228(ร้อยละยีสต์×พีเอชเริ่มต้น)-0.4397(ระยะเวลา×พีเอชเริ่มต้น) (4.2)

ตารางที่ 4-12 ผลการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

ลำดับที่	ร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	2.00	96	5.0	5.389	5.298
2	3.22	72	4.5	5.371	5.468
3	3.22	72	5.5	5.760	5.893
4	3.22	120	4.5	5.552	5.653
5	3.22	120	5.5	5.295	5.199
6	5.00	48	5.0	6.317	6.155
7	5.00	96	4.0	5.543	5.412
8	5.00	96	5.0	5.931	6.150
9	5.00	96	5.0	6.408	6.150
10	5.00	96	5.0	6.169	6.150
11	5.00	96	6.0	5.433	5.464
12	5.00	144	5.0	4.855	4.917
13	6.78	72	4.5	5.425	5.621
14	6.78	72	5.5	6.129	6.127
15	6.78	120	4.5	5.109	5.077
16	6.78	120	5.5	4.701	4.704
17	8.00	96	5.0	5.058	5.009

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินจาก P value ที่ได้จากแบบจำลองของแต่ละปัจจัย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าปริมาณเอทานอลมากที่สุด คือ ร้อยละยีสต์×ร้อยละยีสต์ แสดงดังตารางที่ 4-13 เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9354 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-13 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.8524) จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณเอทานอล ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4-14 ถึง 4-16



ภาพประกอบที่ 4-13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริง และค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอล ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

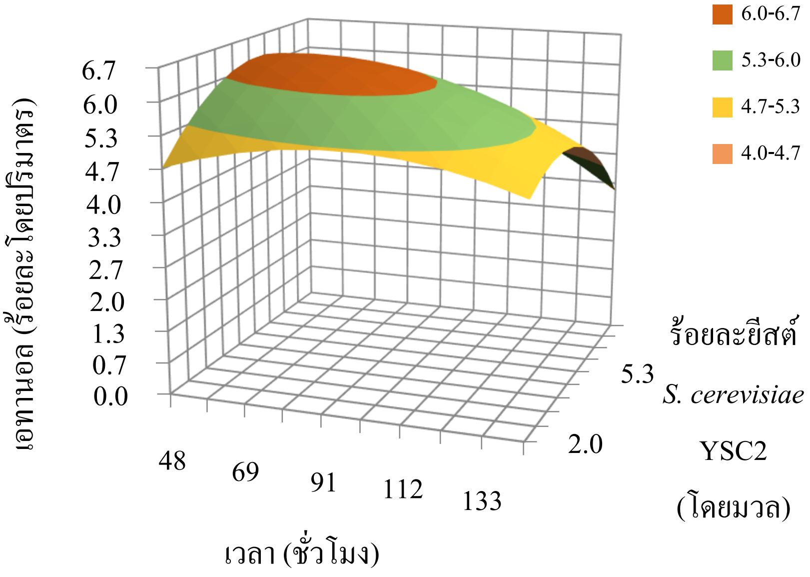
ตารางที่ 4-13 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-25.7845	5.8953	-4.3737	0.0033
ร้อยละยีสต์	b1	1.3544	0.4540	2.9835	0.0204
เวลา	b2	3.6275	0.7896	4.5941	0.0025
พีเอชเริ่มต้น	b3	8.7869	1.8611	4.7212	0.0022
ร้อยละยีสต์× ร้อยละยีสต์	b4	-0.1107	0.0188	-5.8897	0.0006
เวลา×เวลา	b5	-0.1533	0.0434	-3.5340	0.0095
พีเอชเริ่มต้น× พีเอชเริ่มต้น	b6	-0.7116	0.1735	-4.1009	0.0046
ร้อยละยีสต์× เวลา	b7	-0.1024	0.0383	-2.6756	0.0317
ร้อยละยีสต์× พีเอชเริ่มต้น	b8	0.0228	0.0765	0.2981	0.7743
เวลา× พีเอชเริ่มต้น	b9	-0.4397	0.1362	-3.2273	0.0145

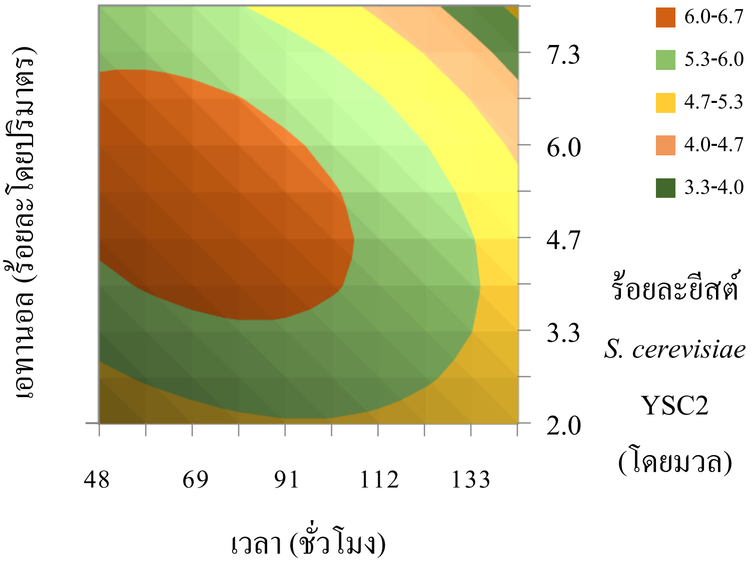
4.6.2.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลาง แสดงดังภาพประกอบที่ 4-14 ถึง 4-16

(1) ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และระยะเวลาในการหมักเอทานอล



(ก)

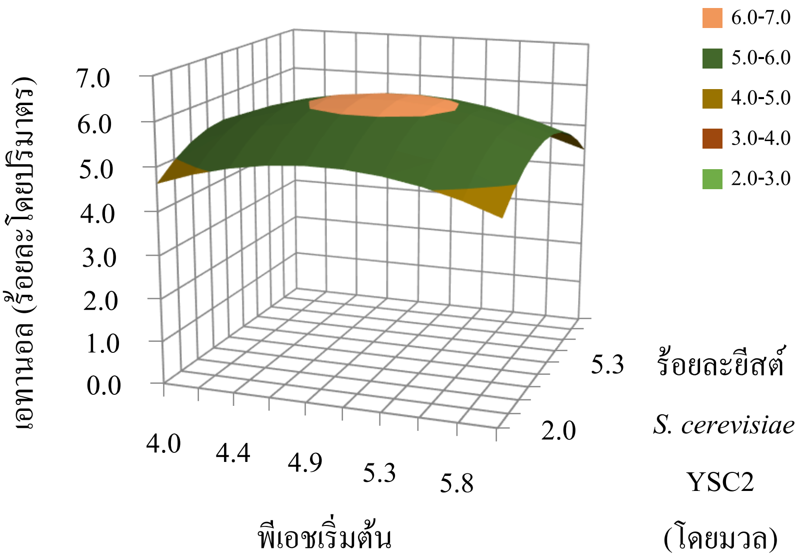


(ข)

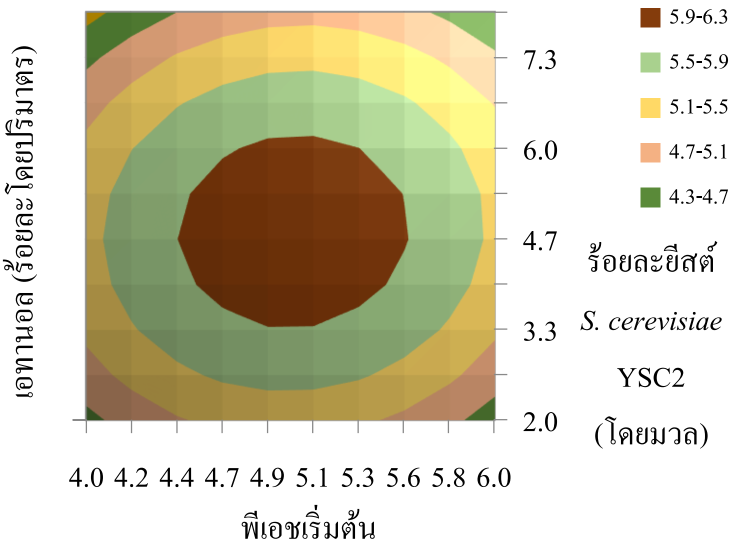
ภาพประกอบที่ 4-14 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และจำนวนชั่วโมงในการหมักต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-14 (ก) และ (ข) พบว่าการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 2-3.3 โดยมวล นั้นไม่เพียงพอสำหรับการหมักเอทานอล เมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 มากกว่าร้อยละ 4.0 โดยมวล ผลผลิตเอทานอลที่ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระยะเวลา 48-72 ชั่วโมงของการหมัก และจะลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักตั้งแต่ 72 ชั่วโมงเป็นต้นไป เนื่องจากสารอาหารของยีสต์เริ่มหมดไปและเกิดสภาวะการสะสมของเอทานอล ทำให้อัตราการผลิตเอทานอลของยีสต์ลดลงเมื่อจำนวนชั่วโมงในการหมักเพิ่มขึ้น ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักแกนข้าวโพดด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 คือ ให้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5.77 โดยมวล ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

(2) ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)

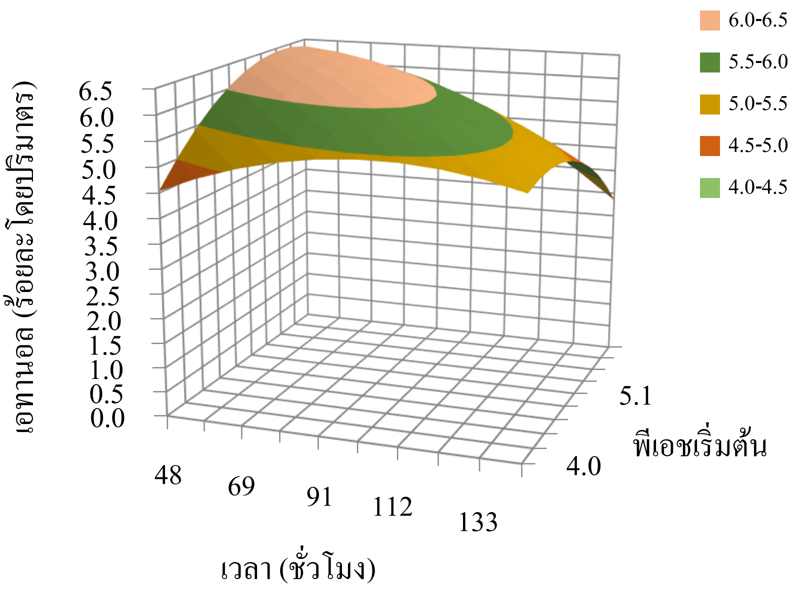


(ข)

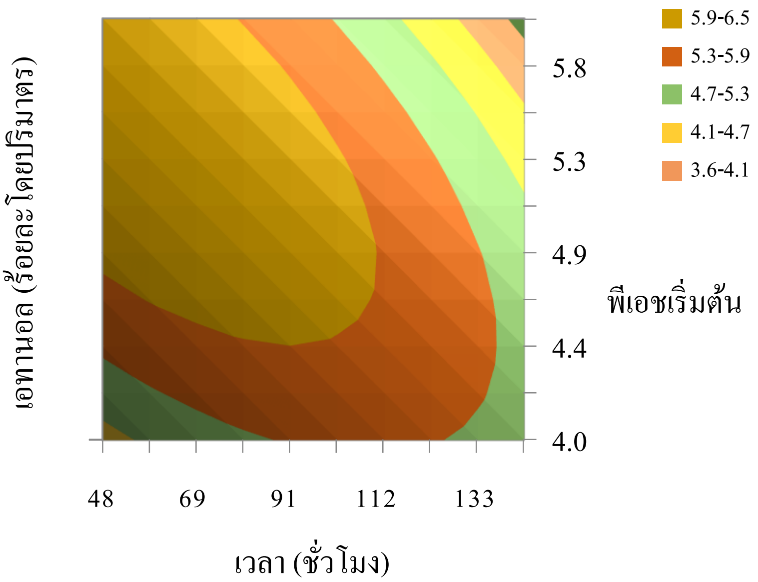
ภาพประกอบที่ 4-15 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นในการหมัก ต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-15 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ในช่วงร้อยละ 2.0-6.0 โดยมวล และพีเอชเริ่มต้นในช่วง 4.0-5.6 และพบว่าปริมาณเอทานอลจะลดลงเมื่อใช้ปริมาณยีสต์ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 มากกว่าร้อยละ 6.0 โดยมวล พีเอชเริ่มต้นสูงกว่า 5.6 จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณเอทานอลสูงสุดนั้นต้องดำเนินการที่สภาวะพีเอชเริ่มต้นเป็น 5.65 ใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5.77 โดยมวล

(3) ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-16 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักต่อปริมาณเอทานอลแสดงดังภาพประกอบที่ 4-16 (ก) และ (ข) พบว่าได้ปริมาณผลผลิตเอทานอลสูงสุดที่ร้อยละ 6.473 โดยปริมาตร จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณผลผลิตเอทานอลสูงสุดนั้นมีพีเอชเริ่มต้น 5.65 และหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-9 ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5.77 โดยมวล ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ที่พีเอชเริ่มต้น 5.65 จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 6.510 โดยปริมาตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าวได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 6.473 โดยปริมาตร

4.7 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

4.7.1 ผลการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนดตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลส โดยมีตัวแปรตาม คือ น้ำตาลรีดิวซ์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-14 ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 11 ซึ่งใช้เวลาในการปรับสภาพ 150 นาที อุณหภูมิในการปรับสภาพ 90 องศาเซลเซียส และร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.2 โดยมวล ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 6.170 กรัมต่อลิตร

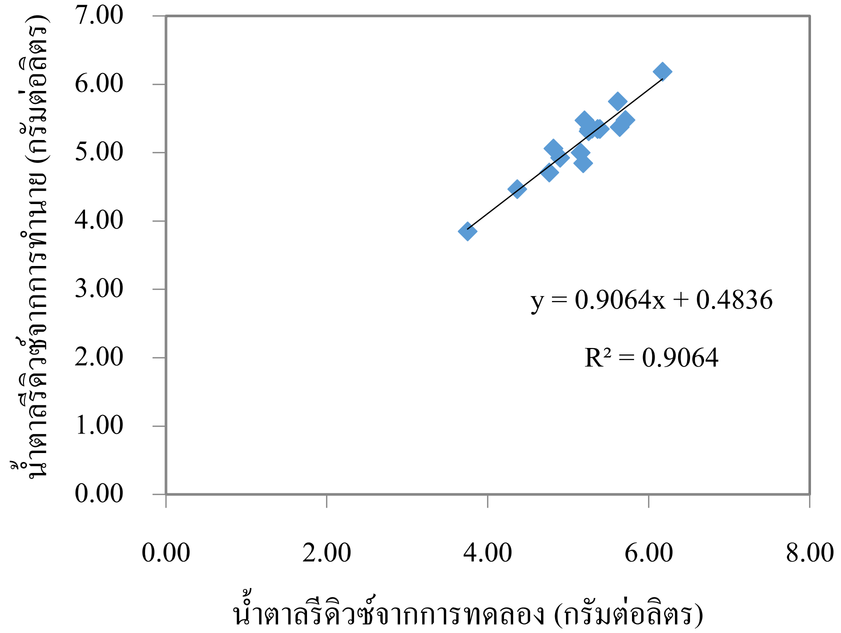
นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังแสดงในสมการที่ 4.3

น้ำตาลรีดิวซ์ = -100.0114+0.0605(เวลา)+2.2346(อุณหภูมิ)+19.9032(ร้อยละแอลฟาอะไมเลส)-1.7603×10^5(เวลา)^2-0.0119(อุณหภูมิ)^2+85.4187(ร้อยละแอลฟาอะไมเลส)^2 - 0.0005(เวลา×อุณหภูมิ)-0.0403(เวลา×ร้อยละแอลฟาอะไมเลส) -0.3387(อุณหภูมิ×ร้อยละแอลฟาอะไมเลส) (4.3)

ตารางที่ 4-14 ผลการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละ แอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	60	90	0.13	4.817	5.061
2	95	85	0.08	4.764	4.711
3	95	85	0.17	5.710	5.478
4	95	95	0.08	5.184	4.845
5	95	95	0.17	5.254	5.313
6	150	90	0.05	5.199	5.474
7	150	80	0.13	4.366	4.469
8	150	90	0.13	5.259	5.348
9	150	90	0.13	5.364	5.348
10	150	90	0.13	5.393	5.348
11	150	90	0.20	6.170	6.184
12	150	100	0.13	3.751	3.848
13	205	85	0.08	5.637	5.374
14	205	85	0.17	5.615	5.749
15	205	95	0.08	4.897	4.925
16	205	95	0.17	5.153	5.002
17	240	90	0.13	5.296	5.351

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินจาก P value ที่ได้จากแบบจำลองของแต่ละปัจจัย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด คือ อุณหภูมิ แสดงดังตารางที่ 4-15 เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9064 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-17 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.7861) จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4-18 ถึง 4-20



ภาพประกอบที่ 4-17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

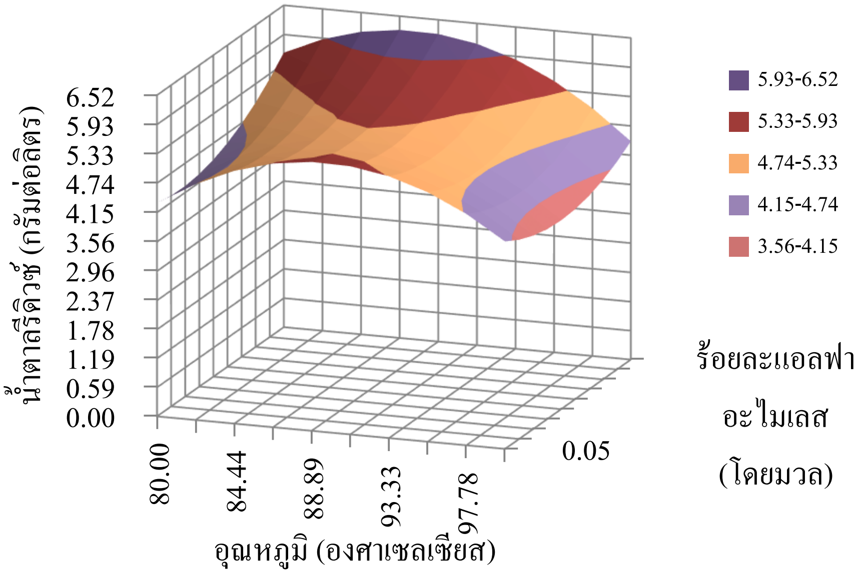
ตารางที่ 4-15 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-100.0114	19.8138	-5.0476	0.0015
เวลา	b1	0.0605	0.0315	1.9220	0.0961
อุณหภูมิ	b2	2.2346	0.4140	5.3973	0.0010
ร้อยละ แอลฟาอะไมเลส	b3	19.9032	38.4519	0.5176	0.6207
เวลา×เวลา	b4	-1.7603E-05	0.0000	-0.6552	0.5332
อุณหภูมิ×อุณหภูมิ	b5	-0.0119	0.0023	-5.2559	0.0012
ร้อยละแอลฟาอะไมเลส× ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b6	85.4187	38.8926	2.1963	0.0641
เวลา×อุณหภูมิ	b7	-0.0005	0.0003	-1.6168	0.1500
เวลา× ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b8	-0.0403	0.0370	-1.0867	0.3132
อุณหภูมิ× ร้อยละแอลฟาอะไมเลส	b9	-0.3387	0.4084	-0.8295	0.4342

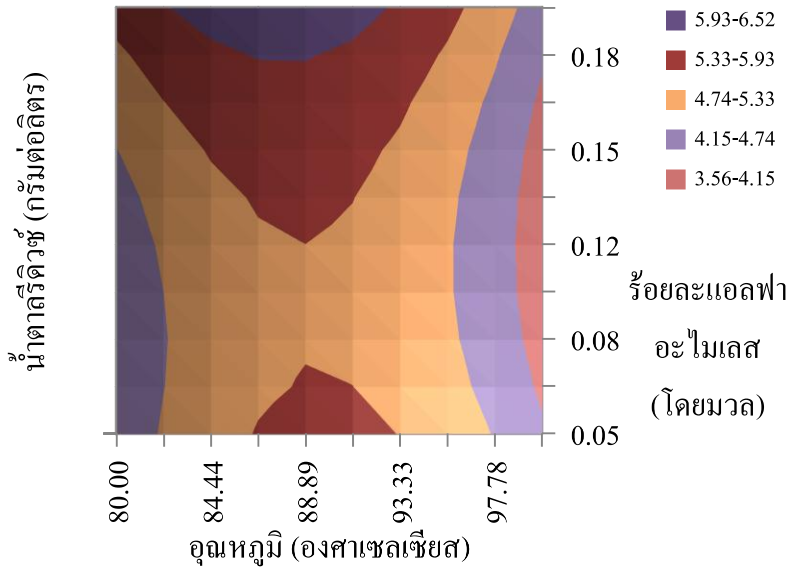
4.7.1.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยแอลฟาอะไมเลส

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วย เวลา อุณหภูมิ และร้อยละแอลฟาอะไมเลสต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลาง แสดงดังภาพประกอบที่ 4.18 ถึง 4.20

(1) ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย



(ก)

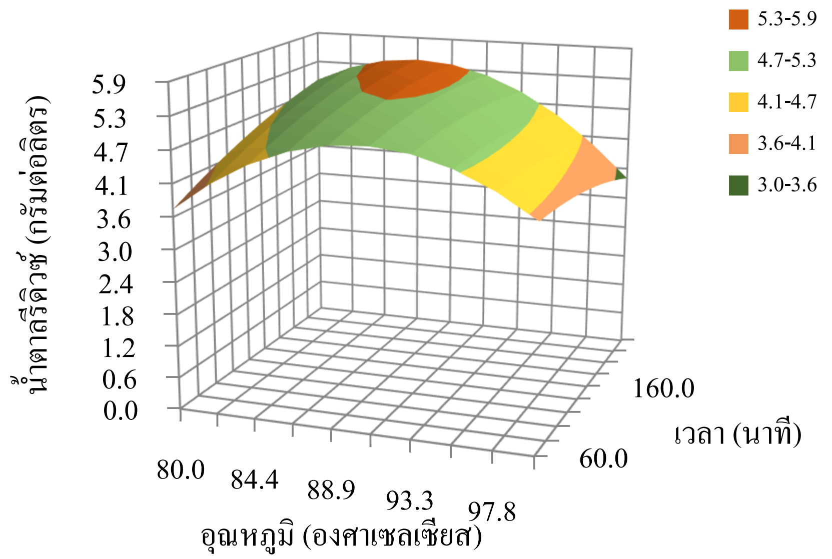


(ข)

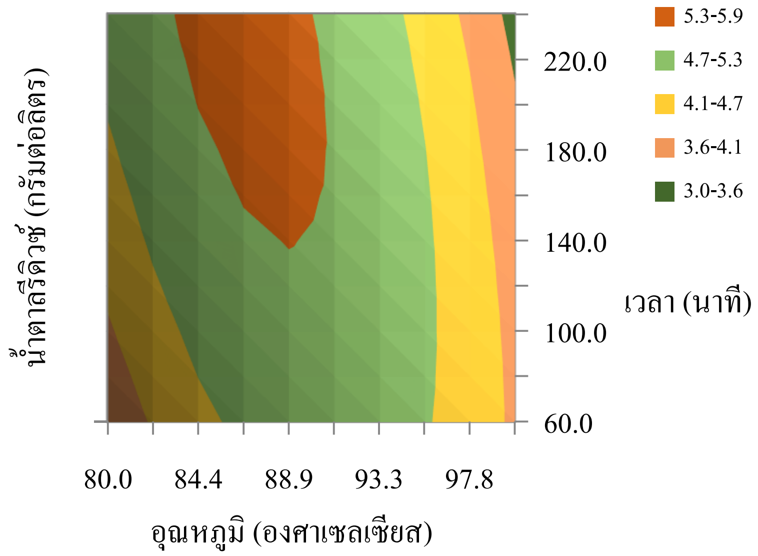
ภาพประกอบที่ 4-18 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละแอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้เวลาในการปรับสภาพและย่อย 150 นาที

ผลของปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-18 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิในช่วง 80.0-91.1 องศาเซลเซียส จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเอนไซม์สามารถย่อยได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 87.6 องศาเซลเซียส ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.2 โดยมวล สามารถย่อยแกนข้าวโพดได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด เนื่องจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสามารถย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิก (α-1,4 Glycosidic linkages) ได้อย่างรวดเร็ว จากงานวิจัยของไพลิน (2545) ได้ศึกษาการละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำการศึกษาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยปรับพีเอชที่ 4, 5, 6, 7, 8, 9, และ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 75, 85, 90 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พีเอช 6 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 13.66 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(2) ผลของอุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพด



(ก)

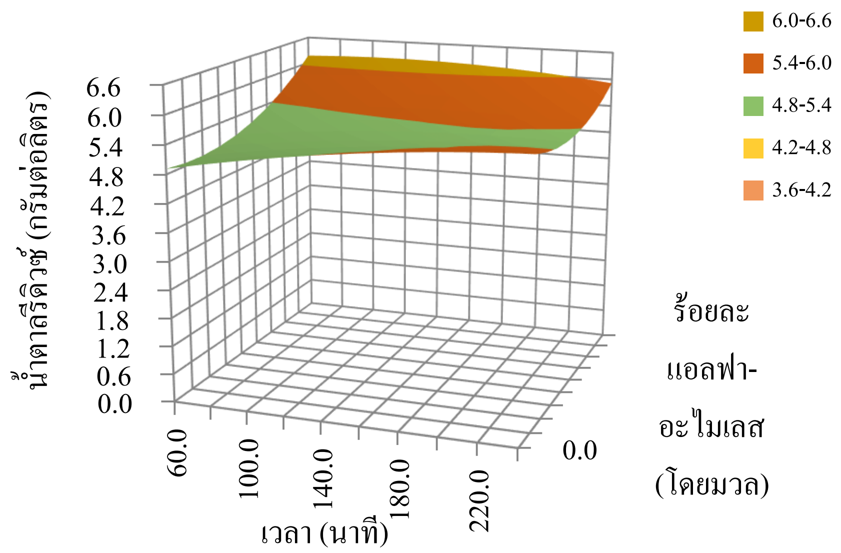


(ข)

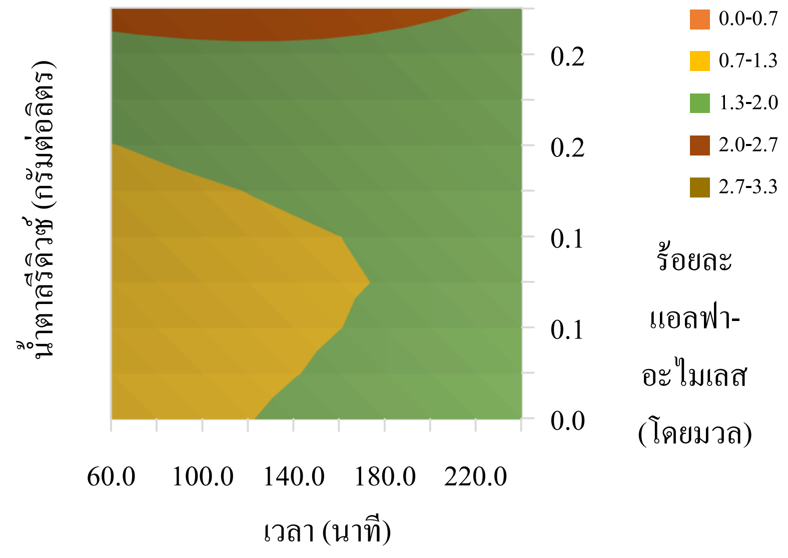
ภาพประกอบที่ 4-19 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้ร้อยละแอลฟาอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของอุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพและย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แสดงดังภาพประกอบที่ 4-19 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มของอุณหภูมิและระยะเวลาในการปรับสภาพและย่อย แต่การเพิ่มของอุณหภูมิในช่วง 88.9-100 องศาเซลเซียสจะส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส คือ ประมาณ 87.6 องศาเซลเซียส ทำการปรับสภาพและย่อยเป็นเวลา 150 นาที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของปรียารัตน์ (2550) ได้ทำการย่อยกากมันสำปะหลัง 0.25 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 166.7 มิลลิยูนิต ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 120 นาที และเติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 333.33 มิลลิยูนิต พร้อมใส่เชื้อ *S. cerevisiae* 5048 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอล 0.832 กรัมต่อลิตร

(3) ผลของร้อยละแอลฟาอะไมเลสและเวลาในการปรับสภาพและย่อย



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-20 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละแอลฟาอะไมเลสและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้อุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย 90 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเวลาในการปรับสภาพและย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-20 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มของปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในช่วงร้อยละ 0.17-0.2 โดยมวล และระยะเวลาในการปรับสภาพและย่อยในช่วง 100-180 องศาเซลเซียส ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด จึงควรใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.2 โดยมวล และดำเนินการปรับสภาพและย่อยเป็นเวลา 150 นาที

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-11 ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.20 โดยมวล ทำการปรับสภาพและย่อยเป็นระยะเวลา 150 นาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 87.6 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 6.251 กรัมต่อลิตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าวได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 6.208 กรัมต่อลิตร

4.7.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนด ตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ และร้อยละกลูโคอะไมเลส โดยมีตัวแปรตาม คือ น้ำตาลรีดิวซ์ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-16 ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 10 ซึ่งใช้เวลาในการย่อย 360 นาที อุณหภูมิในการย่อย 60 องศาเซลเซียส และร้อยละกลูโคสอะไมเลส 0.13 โดยมวล ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 13.815 กรัมต่อลิตร

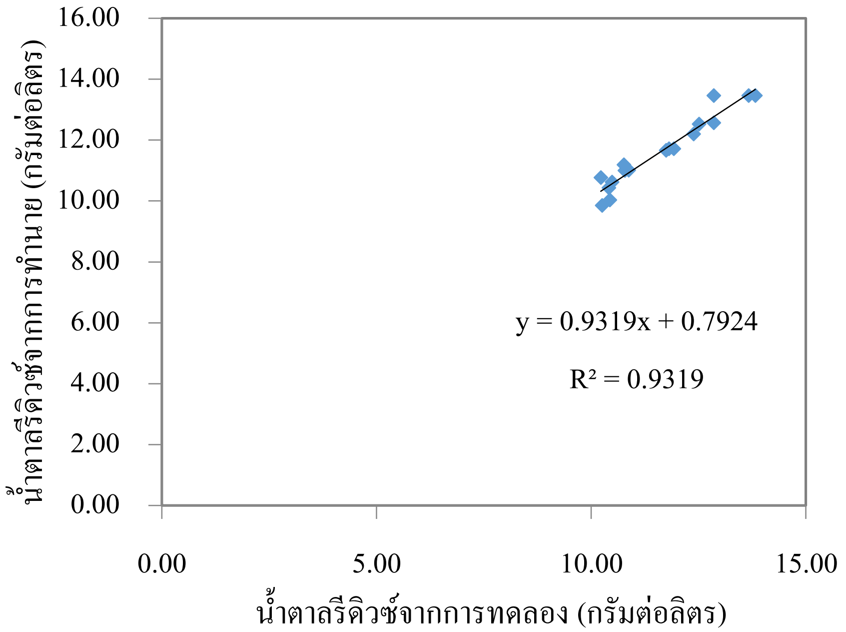
จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังแสดงในสมการที่ 4.4

น้ำตาลรีดิวซ์ = -119.2841+0.1087(เวลา)+3.2034(อุณหภูมิ)+246.7250(ร้อยละกลูโคสอะไมเลส)-0.0001(เวลา)^2-0.0274(อุณหภูมิ)^2-393.5210(ร้อยละกลูโคสอะไมเลส)^2-0.0005(เวลา×อุณหภูมิ)-0.2984(เวลา×ร้อยละกลูโคสอะไมเลส) -0.5775(อุณหภูมิ×ร้อยละกลูโคสอะไมเลส) (4.4)

ตารางที่ 4-16 ผลการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	240	60	0.13	10.759	11.189
2	290	55	0.08	10.255	9.854
3	290	55	0.17	12.505	12.534
4	290	65	0.17	12.381	12.201
5	290	65	0.08	10.426	10.035
6	360	50	0.13	10.405	10.435
7	360	60	0.05	10.217	10.777
8	360	60	0.13	12.854	13.462
9	360	60	0.13	13.660	13.462
10	360	60	0.13	13.815	13.462
11	360	60	0.20	11.920	11.720
12	360	70	0.13	10.779	11.008
13	430	55	0.17	10.476	10.622
14	430	55	0.08	11.741	11.666
15	430	65	0.08	12.852	12.573
16	430	65	0.17	10.867	11.013
17	480	60	0.13	11.808	11.725

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินจาก P value ที่ได้จากแบบจำลองของแต่ละปัจจัย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด คือ อุณหภูมิ×อุณหภูมิ แสดงดังตารางที่ 4-17 เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9319 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-21 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.8443) จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4-22 ถึง 4-24



ภาพประกอบที่ 4-21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการทดลองจริงและ ค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของกระบวนย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

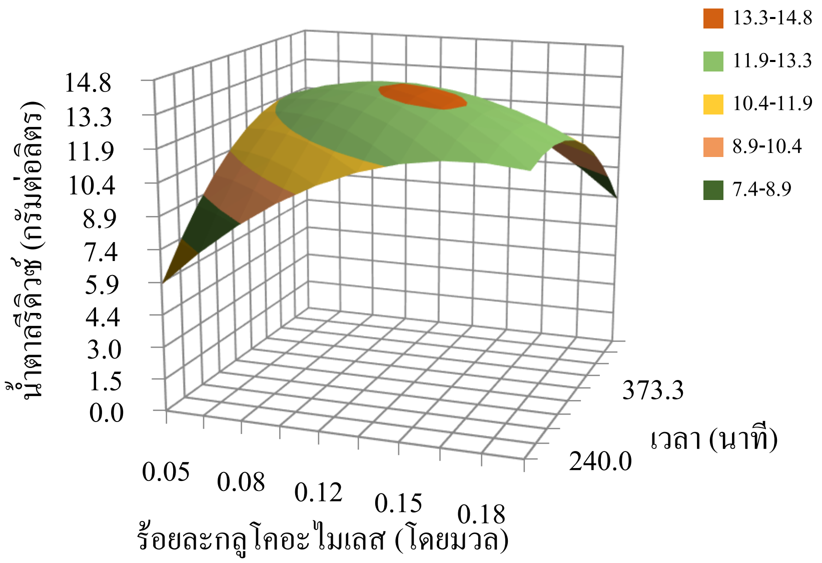
ตารางที่ 4-17 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-119.2841	21.2091	-5.6242	0.0008
เวลา	b1	0.1087	0.0364	2.9902	0.0202
อุณหภูมิ	b2	3.2034	0.5492	5.8331	0.0006
ร้อยละ กลูโคอะไมเลส	b3	246.7250	52.9341	4.6610	0.0023
เวลา×เวลา	b4	-0.0001	0.0000	-4.8331	0.0019
อุณหภูมิ×อุณหภูมิ	b5	-0.0274	0.0043	-6.4293	0.0004
ร้อยละกลูโคอะไมเลส× ร้อยละกลูโคอะไมเลส	b6	-393.5210	73.3970	-5.3615	0.0011
เวลา×อุณหภูมิ	b7	0.0005	0.0005	1.0707	0.3198
เวลา× ร้อยละกลูโคอะไมเลส	b8	-0.2984	0.0542	-5.5009	0.0009
อุณหภูมิ× ร้อยละกลูโคอะไมเลส	b9	-0.5775	0.7593	-0.7605	0.4718

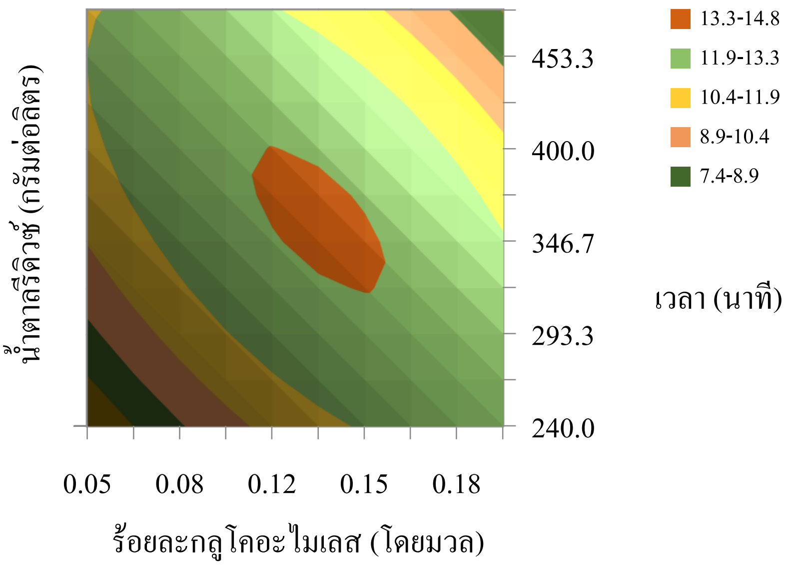
4.7.1.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยกลูโคอะไมเลส

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วย เวลา อุณหภูมิ และร้อยละกลูโคอะไมเลสต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลาง แสดงดังภาพประกอบที่ 4-22 ถึง 4-24

(1) ผลของร้อยละกลูโคอะไมเลสและเวลาในการปรับสภาพและย่อย



(ก)

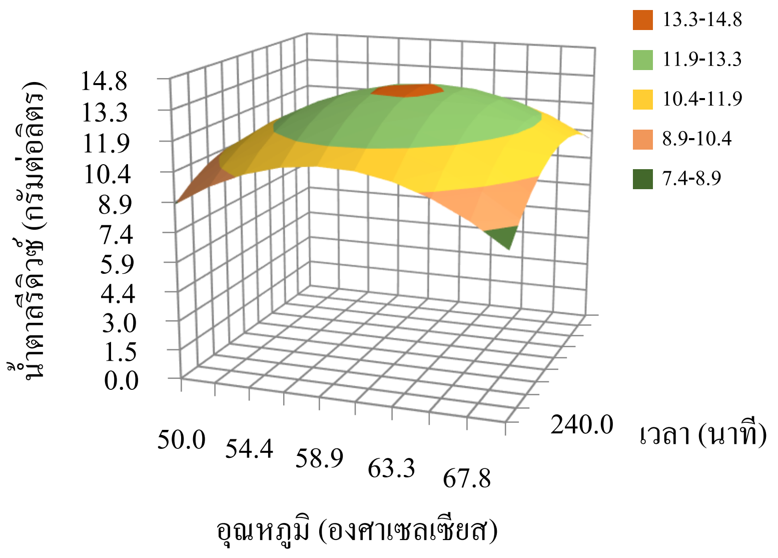


(ข)

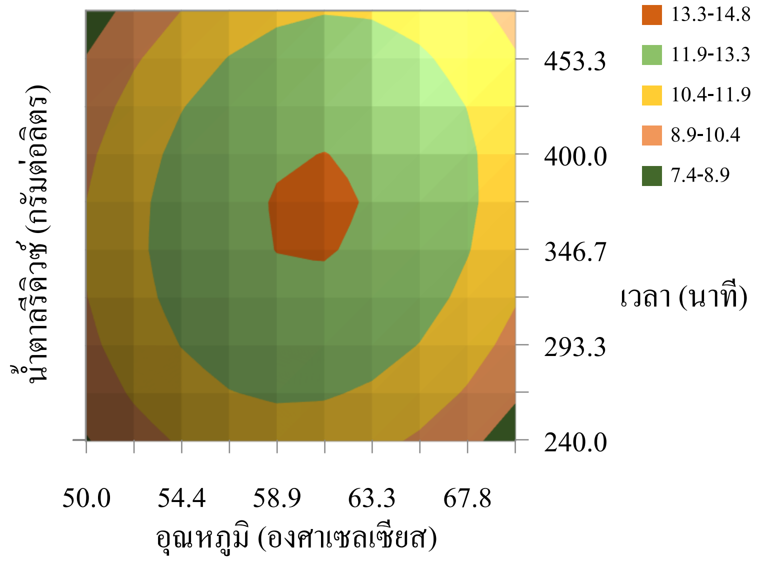
ภาพประกอบที่ 4-22 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละกลูโคอะไมเลสและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้อุณหภูมิในการย่อย 60 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและระยะเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แสดงดังภาพประกอบที่ 4-22 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นและทำการย่อยเป็นเวลานาน 240-373 นาที แต่เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสมากกว่าร้อยละ 0.13 โดยมวล และย่อยเป็นเวลานานกว่า 373 นาที จะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 360 นาที พบว่าการใช้เอนไซม์กลูโคสอะไมเลสต้องมีความเหมาะสมไม่มากหรือน้อยจนเกินไป ถ้าน้อยเกินไปจะไม่เพียงพอต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาล ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย ถ้ามากเกินไปเอนไซม์จะเกิดการยับยั้งกันเอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของบัญชา (2554) ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลส โดยการปรับสภาพและย่อยเมล็ดขนุนสดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสก่อนที่อุณหภูมิ 90.9 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 160 นาที ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล หลังจากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 240-480 นาที ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.05-0.2 โดยมวล พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 360 นาที ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 82.98 กรัมต่อลิตร

(2) ผลของอุณหภูมิและเวลาในการย่อย



(ก)

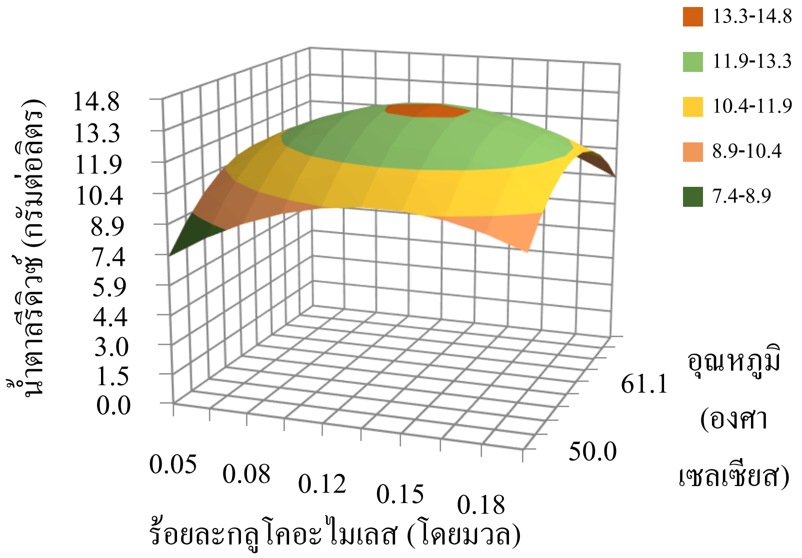


(ข)

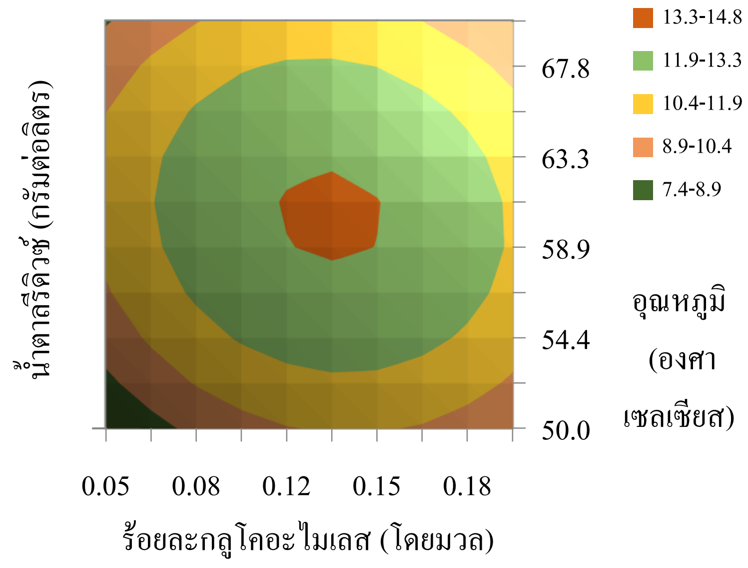
ภาพประกอบที่ 4-23 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้ร้อยละกลูโคอะไมเลส 0.13 โดยมวล

ผลของเวลาและอุณหภูมิในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แสดงดังภาพประกอบที่ 4-23 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิในการย่อยเพิ่มขึ้นและทำการย่อยเป็นเวลานาน 240-373 นาที แต่เมื่อใช้อุณหภูมิในการย่อยมากกว่า 60 องศาเซลเซียส และย่อยเป็นเวลานานกว่า 373 นาที จะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือ ย่อยเป็นเวลานาน 360 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นไกลโคโปรตีน (Manjunath et al., 1983) ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส เมื่อมีอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้โปรตีนแปลงสภาพจากธรรมชาติ จึงทำให้เอนไซม์มีสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาลดลงหรือเสียไป ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

(3) ผลของร้อยละกลูโคอะไมเลสและอุณหภูมิในการปรับสภาพและย่อย



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-24 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกลูโคอะไมเลสและอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้เวลาในการย่อย 360 นาที

ผลของปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและอุณหภูมิในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แสดงดังภาพประกอบที่ 4-24 (ก) และ (ข) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้น และทำการย่อยที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสมากกว่าร้อยละ 0.13 โดยมวล และย่อยที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือ ใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Srinorakutara และคณะ (2004) ได้ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูโลสและเพคติเนสก่อน หลังจากนั้นย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูโลส (15 NCU) และเพคติเนส (122.5 PG) ต่อกากมันสำปะหลังแห้ง 1 กรัม ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (8.36 LU) ต่อกากมันสำปะหลังแห้ง 1 กรัม ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ 5.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

(0.23 GAU) ต่อกากมันสำปะหลังแห้ง 1 กรัม ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าสามารถย่อยได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 122.4 กรัมต่อลิตร

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-13 ผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล ทำการย่อยเป็นระยะเวลา 360 นาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 13.493 กรัมต่อลิตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าวได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ 13.251 กรัมต่อลิตร

4.8 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

4.8.1 ผลการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนดตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ ปริมาณยีสต์ขนมปัง ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้น โดยมีตัวแปรตาม คือ ปริมาณเอทานอล ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-18 ซึ่งปริมาณเอทานอลสูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 16 ซึ่งใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 6.78 โดยมวล ใช้ระยะเวลาในการหมัก 120 ชั่วโมง และพีเอชเริ่มต้น 5.5 ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.295 โดยปริมาตร

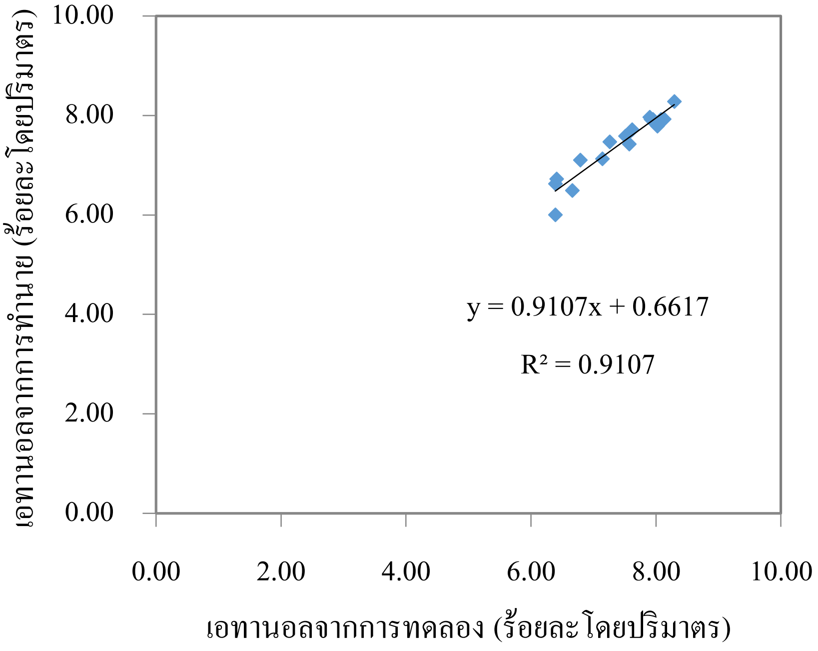
นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณเอทานอล แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในสมการที่ 4.5

ปริมาณเอทานอล = -18.7649-0.1736(ร้อยละยีสต์ขนมปัง)+0.7213(ระยะเวลา)+9.5093(พีเอชเริ่มต้น)-0.0071(ร้อยละยีสต์ขนมปัง)^2-0.2815(ระยะเวลา)^2-0.9611(พีเอชเริ่มต้น)^2+0.1492(ร้อยละยีสต์ขนมปัง$\times$ระยะเวลา)-0.0751(ร้อยละยีสต์ขนมปัง$\times$พีเอชเริ่มต้น) + 0.2362(ระยะเวลา$\times$พีเอชเริ่มต้น) (4.5)

ตารางที่ 4-18 ผลการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปังที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

ลำดับที่	ร้อยละยีสต์ขนมปัง (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	2.00	96	5.0	8.125	7.928
2	3.22	72	4.5	6.789	7.106
3	3.22	72	5.5	7.264	7.472
4	3.22	120	4.5	7.141	7.132
5	3.22	120	5.5	7.898	7.970
6	5.00	48	5.0	6.392	6.004
7	5.00	96	4.0	6.662	6.494
8	5.00	96	5.0	7.949	7.923
9	5.00	96	5.0	8.085	7.923
10	5.00	96	5.0	7.924	7.923
11	5.00	96	6.0	7.570	7.430
12	5.00	144	5.0	7.509	7.590
13	6.78	72	4.5	6.392	6.627
14	6.78	72	5.5	6.410	6.725
15	6.78	120	4.5	7.617	7.715
16	6.78	120	5.5	8.295	8.285
17	8.00	96	5.0	8.024	7.790

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินจาก P value ที่ได้จากแบบจำลองของแต่ละปัจจัย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าปริมาณเอทานอลมากที่สุด คือ เวลา×เวลา แสดงดังตารางที่ 4-19 เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9107 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-25 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.7960) จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณเอทานอล ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4-26 ถึง 4-28



ภาพประกอบที่ 4-25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง

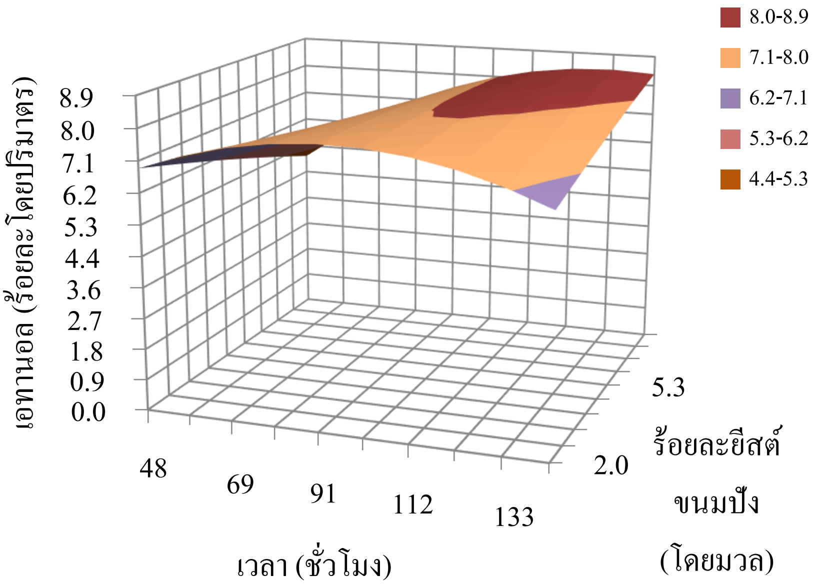
ตารางที่ 4-19 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-18.7649	9.2169	-2.0359	0.0812
ร้อยละยีสต์ขนมปัง	b1	-0.1736	0.7098	-0.2446	0.8138
เวลา	b2	0.7213	1.2345	0.5843	0.5774
พีเอชเริ่มต้น	b3	9.5093	2.9098	3.2681	0.0137
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× ร้อยละยีสต์ขนมปัง	b4	-0.0071	0.0294	-0.2403	0.8170
เวลา×เวลา	b5	-0.2815	0.0678	-4.1507	0.0043
พีเอชเริ่มต้น× พีเอชเริ่มต้น	b6	-0.9611	0.2713	-3.5425	0.0094
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× เวลา	b7	0.1492	0.0598	2.4940	0.0414
ร้อยละยีสต์ขนมปัง× พีเอชเริ่มต้น	b8	-0.0751	0.1197	-0.6279	0.5500
เวลา× พีเอชเริ่มต้น	b9	0.2362	0.2130	1.1091	0.3040

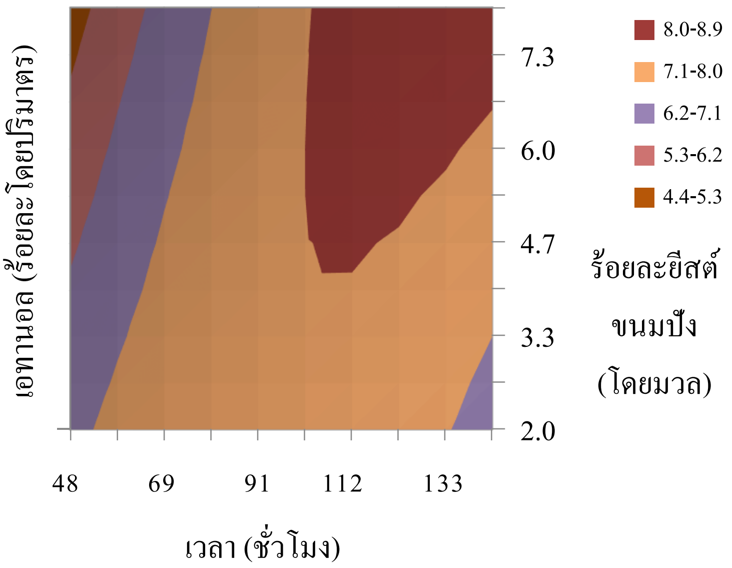
4.8.1.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณยีสต์ขนมปัง ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลางแสดงดังภาพประกอบที่ 4-26 ถึง 4-28

(1) ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและระยะเวลาในการหมักเอทานอล



(ก)

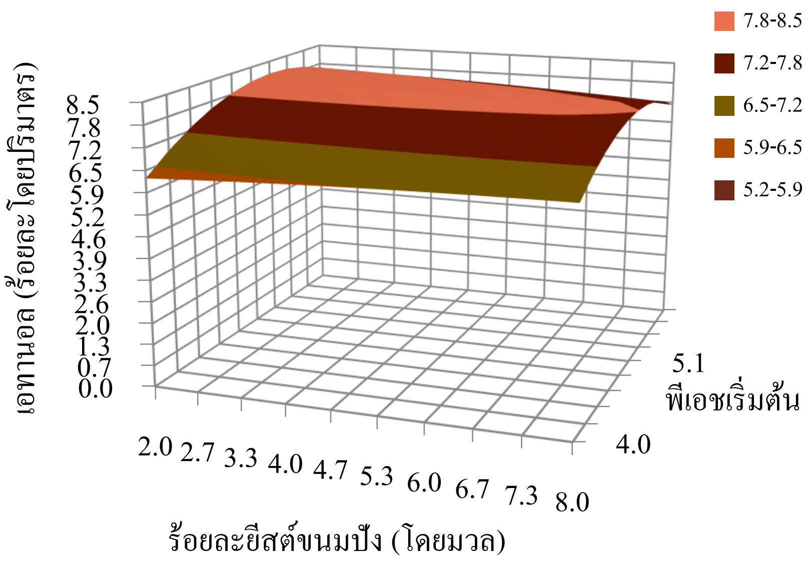


(ข)

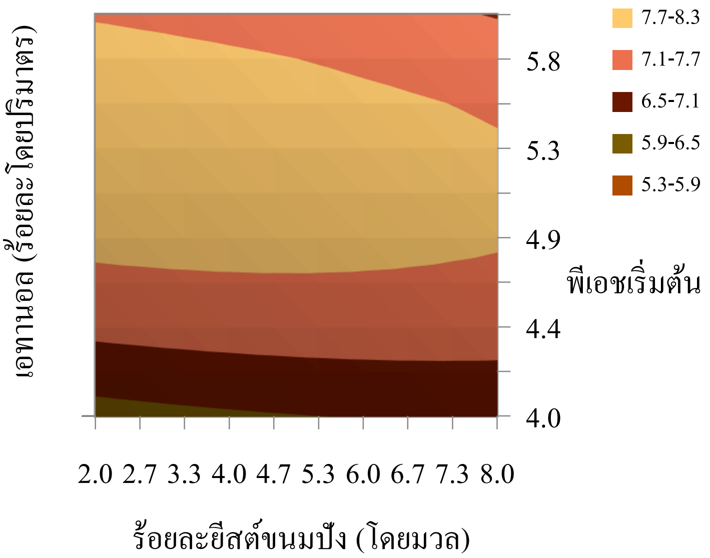
ภาพประกอบที่ 4-26 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ขนมปังและเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและเวลาในการหมักต่อปริมาณเอทานอลดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-26 (ก) และ (ข) พบว่าเมื่อปริมาณยีสต์ขนมปังเพิ่มขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น ในช่วงระยะเวลาหมัก 120-144 ชั่วโมง เนื่องจากการใช้ยีสต์ขนมปังน้อยกว่าร้อยละ 4 โดยมวล นั้นไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอลและเมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ขนมปังตั้งแต่ร้อยละ 4 โดยมวล ผลผลิตเอทานอลที่ได้มีปริมาณสูงขึ้น ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในช่วงปัจจัยที่ศึกษา คือ ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล และเวลาในการหมัก 135 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอัสมา (2555) ได้ทำการศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้เต้าตาลโตนดผสมเปลือกส้มด้วยยีสต์ขนมปัง ปรับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 ปัจจัยที่ศึกษา คือ ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 1-10 โดยมวลของวัตถุดิบ และจำนวนชั่วโมงในการหมัก 24-240 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (ในช่วง 27-29 องศาเซลเซียส) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล คือ การใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 5 โดยมวลของวัตถุดิบ และทำการหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

(2) ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



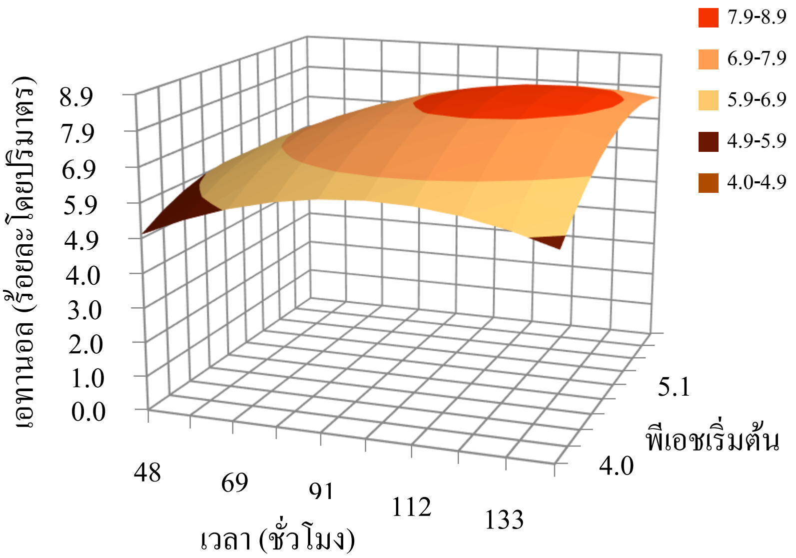
(ก)



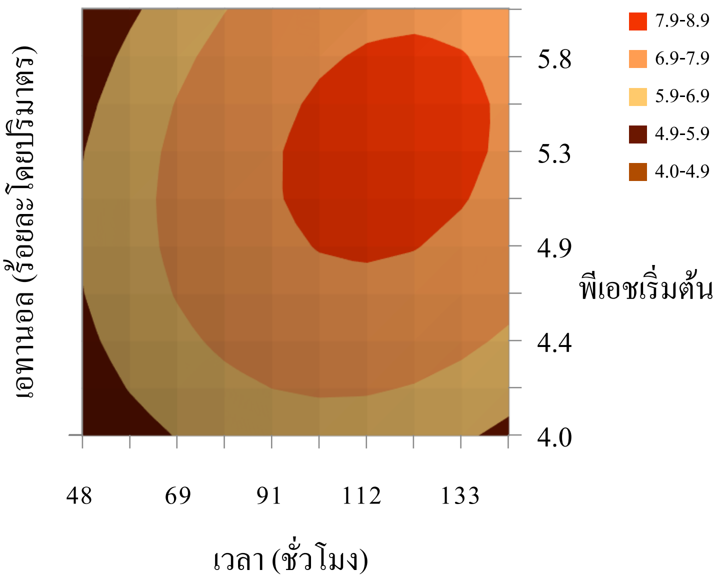
ภาพประกอบที่ 4-27 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ขนมปังและพีเอชเริ่มต้นในการหมักต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-27 (ก) และ (ข) พบว่าพีเอชเริ่มต้นในช่วง 4.0-4.7 ปริมาณเอทานอลที่ได้มีคงที่ เมื่อเพิ่มพีเอชเริ่มต้นตั้งแต่ 4.7-5.3 ปริมาณเอทานอลที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 และปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 5.33

(3) ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-28 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ขนมปัง ร้อยละ 5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักต่อปริมาณเอทานอลดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-28 (ก) และ (ข) พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในช่วงพีเอชเริ่มต้น 4.0-5.3 จะเห็นได้ว่าปริมาณเอทานอลจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นในช่วงชั่วโมงที่ 1 ถึง 120 เนื่องจากมีน้ำตาลเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ จึงมีการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสายฤดี (2555) ได้ทำการหมักเอทานอลจากเส้นใยปาล์มด้วยยีสต์ขนมปังโดยปรับพีเอชเริ่มต้นให้เป็น 5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ศึกษาระยะเวลาในการหมักเป็นเวลา 1-168 ชั่วโมง พบว่าที่ระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมงให้ปริมาณเอทานอลมากที่สุด

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ขนมปัง ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-15 ผลการคำนวณสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล ทำการหมักเป็นระยะเวลา 135 ชั่วโมง ที่พีเอชเริ่มต้น 5.33 จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.521 โดยปริมาตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าวได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 8.158 โดยปริมาตร

4.8.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

จากการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม RSM ที่กำหนดตัวแปรอิสระ 3 ตัวแปร ได้แก่ ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้น โดยมีตัวแปรตาม คือ ปริมาณเอทานอล ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-20 ซึ่งปริมาณเอทานอลสูงสุดในการทดลอง คือ สภาวะที่ 6 ซึ่งใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล ใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมงและพีเอชเริ่มต้นเป็น 5 ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 9.197 โดยปริมาตร

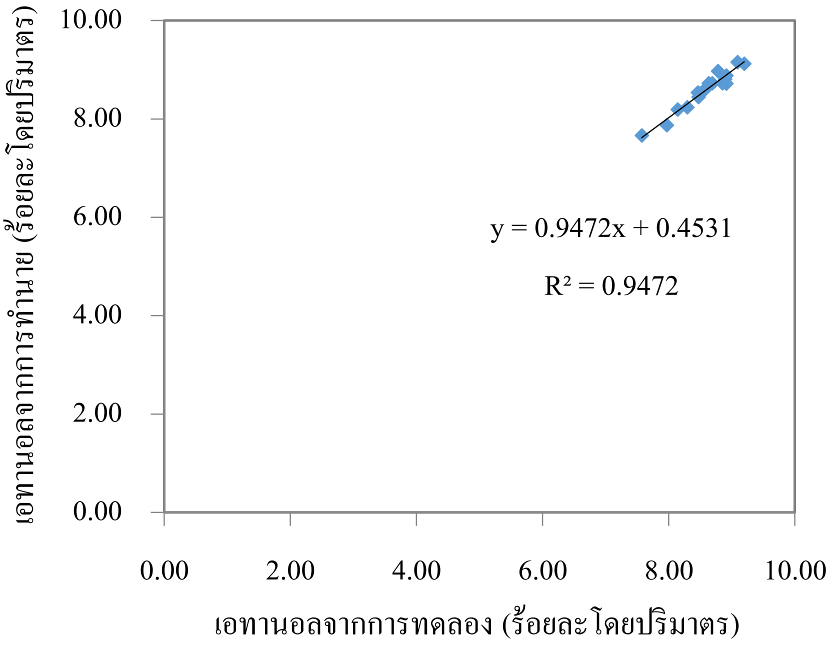
นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ตามหลักการ Analysis of variance (ANOVA) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติของปริมาณเอทานอล แล้วนำมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้โปรแกรม Essential regression สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรในการทดลองที่มีผลต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในสมการที่ 4.6

ปริมาณเอทานอล = -24.3452+1.3507(ร้อยละยีสต์)+0.2078(ระยะเวลา) +11.6445 (พีเอชเริ่มต้น)-0.0056(ร้อยละยีสต์)^2+0.1047(ระยะเวลา)^2-0.9550(พีเอชเริ่มต้น)^2-0.0225(ร้อยละยีสต์×ระยะเวลา)-0.2500(ร้อยละยีสต์×พีเอชเริ่มต้น) -0.1850(ระยะเวลา×พีเอชเริ่มต้น) (4.6)

ตารางที่ 4-20 ผลการทดลองการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ที่สภาวะต่างๆ โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์

ลำดับที่	ร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 (โดยมวล)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	พีเอชเริ่มต้น	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	
				ผลการทดลอง	ผลการทำนาย
1	2.00	96	5.00	8.887	8.809
2	3.22	72	4.50	8.290	8.237
3	3.22	72	5.50	8.780	8.972
4	3.22	120	4.50	8.491	8.518
5	3.22	120	5.50	8.906	8.883
6	5.00	48	5.00	9.197	9.126
7	5.00	96	4.00	7.571	7.663
8	5.00	96	5.00	8.632	8.723
9	5.00	96	5.00	8.686	8.723
10	5.00	96	5.00	8.852	8.723
11	5.00	96	6.00	7.973	7.873
12	5.00	144	5.00	9.086	9.158
13	6.78	72	4.50	8.567	8.600
14	6.78	72	5.50	8.472	8.445
15	6.78	120	4.50	8.905	8.721
16	6.78	120	5.50	8.140	8.196
17	8.00	96	5.00	8.461	8.537

การพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลองที่ได้จะประเมินจาก P value ที่ได้จากแบบจำลองของแต่ละปัจจัย ปัจจัยที่มีผลต่อค่าปริมาณเอทานอลมากที่สุด คือ พีเอชเริ่มต้น แสดงดังตารางที่ 4-21 เมื่อนำค่าจากการทำนายและค่าจากการทดลองมาพล็อตกราฟจะได้ค่า R^2 เท่ากับ 0.9472 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-29 ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 แสดงว่าค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลจากการทดลองจริง (R^2adjusted = 0.8793) จากข้อมูลแบบจำลองที่ได้สามารถแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับค่าปริมาณเอทานอล ในรูปของกราฟพื้นผิวและกราฟโครงร่างได้ดังภาพประกอบที่ 4.30 ถึง 4-32



ภาพประกอบที่ 4-29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าผลผลิตเอทานอลจากการทดลองจริงและค่าจากการทำนายด้วยโปรแกรม Essential regression ของการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

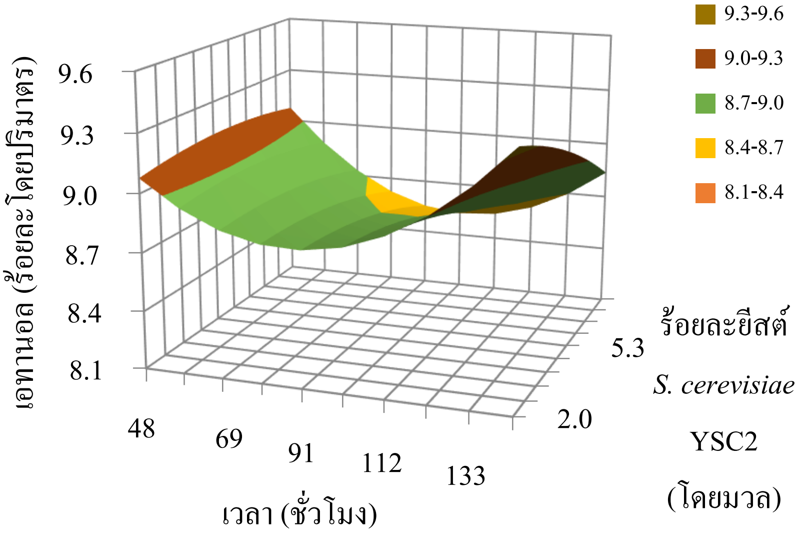
ตารางที่ 4-21 ผลการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ และค่าสถิติต่างๆ ของกระบวนการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 โดยใช้ผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

Term	Coefficient	Value	Standard Error	t – value	P – value
ค่าคงที่	b0	-24.3452	4.4358	-5.4883	0.0009
ร้อยละยีสต์	b1	1.3507	0.3416	3.9542	0.0055
เวลา	b2	0.2078	0.5941	0.3498	0.7368
พีเอชเริ่มต้น	b3	11.6445	1.4004	8.3152	0.0001
ร้อยละยีสต์× ร้อยละยีสต์	b4	-0.0056	0.0141	-0.3974	0.7029
เวลา×เวลา	b5	0.1047	0.0326	3.2066	0.0149
พีเอชเริ่มต้น× พีเอชเริ่มต้น	b6	-0.9550	0.1306	-7.3139	0.0002
ร้อยละยีสต์×เวลา	b7	-0.0225	0.0288	-0.7804	0.4608
ร้อยละยีสต์× พีเอชเริ่มต้น	b8	-0.2500	0.0576	-4.3407	0.0034
เวลา× พีเอชเริ่มต้น	b9	-0.1850	0.1025	-1.8046	0.1141

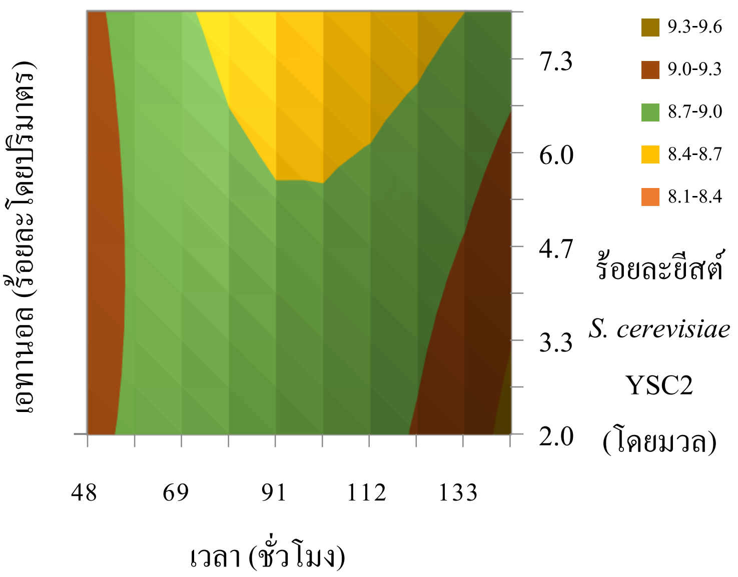
4.8.2.1 ผลของปัจจัยสำคัญ (ตัวแปรอิสระ) ต่อปริมาณผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระทั้ง 3 ซึ่งประกอบด้วยปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ระยะเวลา และพีเอชเริ่มต้นต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล ได้นำเสนอในรูปกราฟพื้นผิวสามมิติ (Surface plot) และกราฟโครงร่าง (Contour plot) ของความสัมพันธ์ตัวแปรต่างๆ เพื่อคาดคะเนสภาวะที่เหมาะสม การพล็อตค่าจะพิจารณาได้ครั้งละสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรหนึ่งมีค่าคงที่เป็นค่ากลางแสดงดังภาพประกอบที่ 4-30 ถึง 4-32

(1) ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และระยะเวลาในการหมักเอทานอล



(ก)

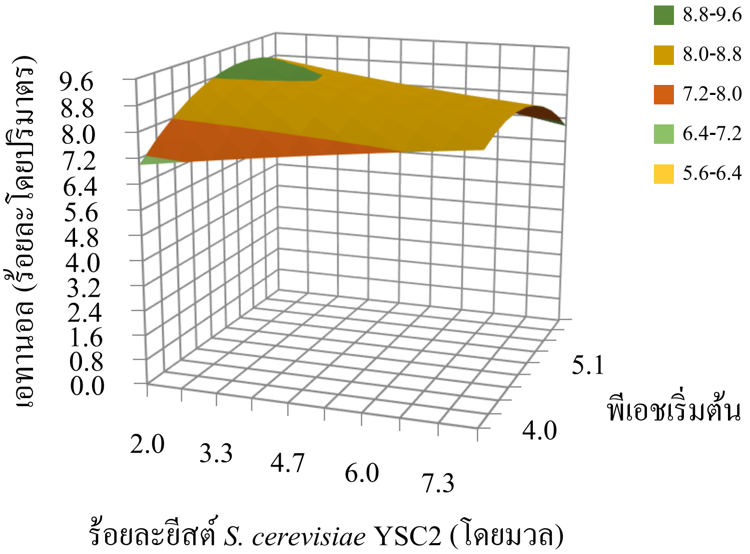


(ข)

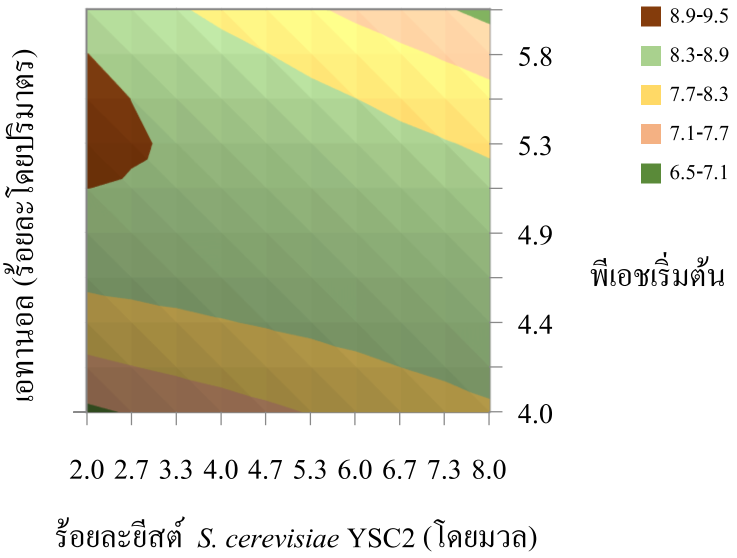
ภาพประกอบที่ 4-30 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และเวลาที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และจำนวนชั่วโมงในการหมักต่อปริมาณเอทานอลดังแสดงในประกอบที่ 4-30 (ก) และ (ข) พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดที่ร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดนั้น ต้องใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 2 โดยมวล และทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

(2) ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)

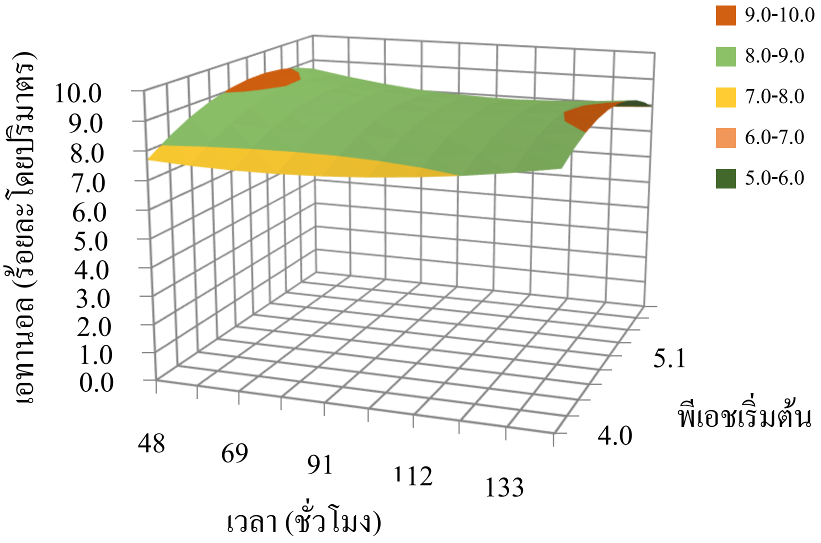


(ข)

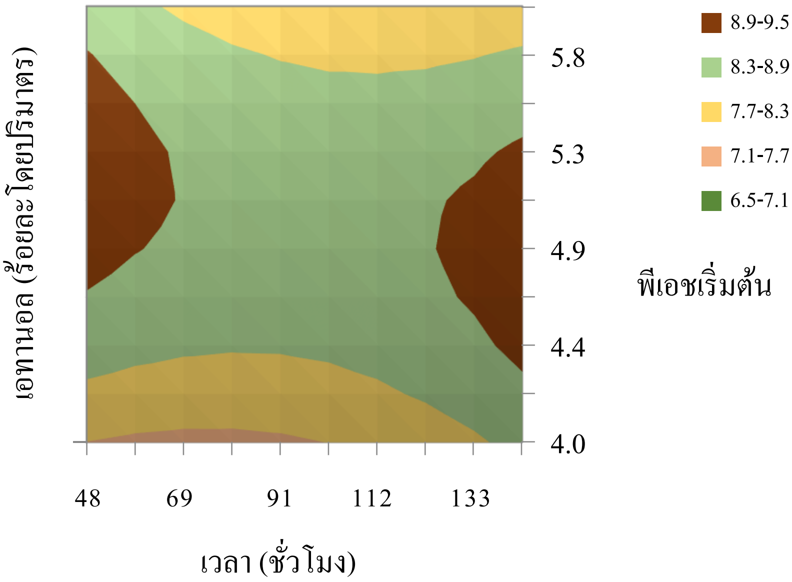
ภาพประกอบที่ 4-31 กราฟพื้นผิว (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้เวลาในการหมัก 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 และพีเอชเริ่มต้นในการหมัก ต่อปริมาณเอทานอล ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4-31 (ก) และ (ข) พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดที่ร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดนั้นมีพีเอชเริ่มต้น 5.64 และใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 2 โดยมวล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Irfan (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากสารสกัดแครอบโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสภาวะที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด คือ ใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร้อยละ 3 พีเอชเริ่มต้น 5.5 และหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

(3) ผลของเวลาและพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอล



(ก)



(ข)

ภาพประกอบที่ 4-32 กราฟพื้นผิว (ก) กราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการหมักและพีเอชเริ่มต้นที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตเอทานอล โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 5 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ผลของพีเอชเริ่มต้นและระยะเวลาในการหมักต่อปริมาณเอทานอลดังแสดงในประกอบที่ 4-32 (ก) และ (ข) พบว่าได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร จากกราฟจะเห็นได้ว่าที่ปริมาณเอทานอลสูงสุดนั้นต้องปรับพีเอชเริ่มต้นที่ 5.64 และทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Narendranath และ Power (2005) ได้ศึกษาผลของพีเอชในการหมักเอทานอลด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ในช่วงพีเอช 4.0, 4.5, 5.0 และ 5.5 พบว่าที่พีเอช 5.5 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 15.75 โดยปริมาตร

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ภายใต้สมมติฐานสมการควบคุมตัวแปรต่างๆ ในขอบเขตสูงสุดและต่ำสุดที่ตั้งไว้ แสดงดังตารางที่ 3-15 ผลการคำนวณสภาวะที่เหมาะสมแบบ CCD คือ ใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ร้อยละ 2 โดยมวล ทำการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงที่พีเอชเริ่มต้น 5.64 จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 9.470 โดยปริมาตร จากการทดลองจริงที่สภาวะดังกล่าวได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร

4.9 การประมาณต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการผลิตแบบต่างๆ และการเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียของกระบวนการผลิตแต่ละวิธี

ราคาสารเคมีที่ใช้ในการประมาณต้นทุนการผลิตแสดงดังตารางที่ 4-22

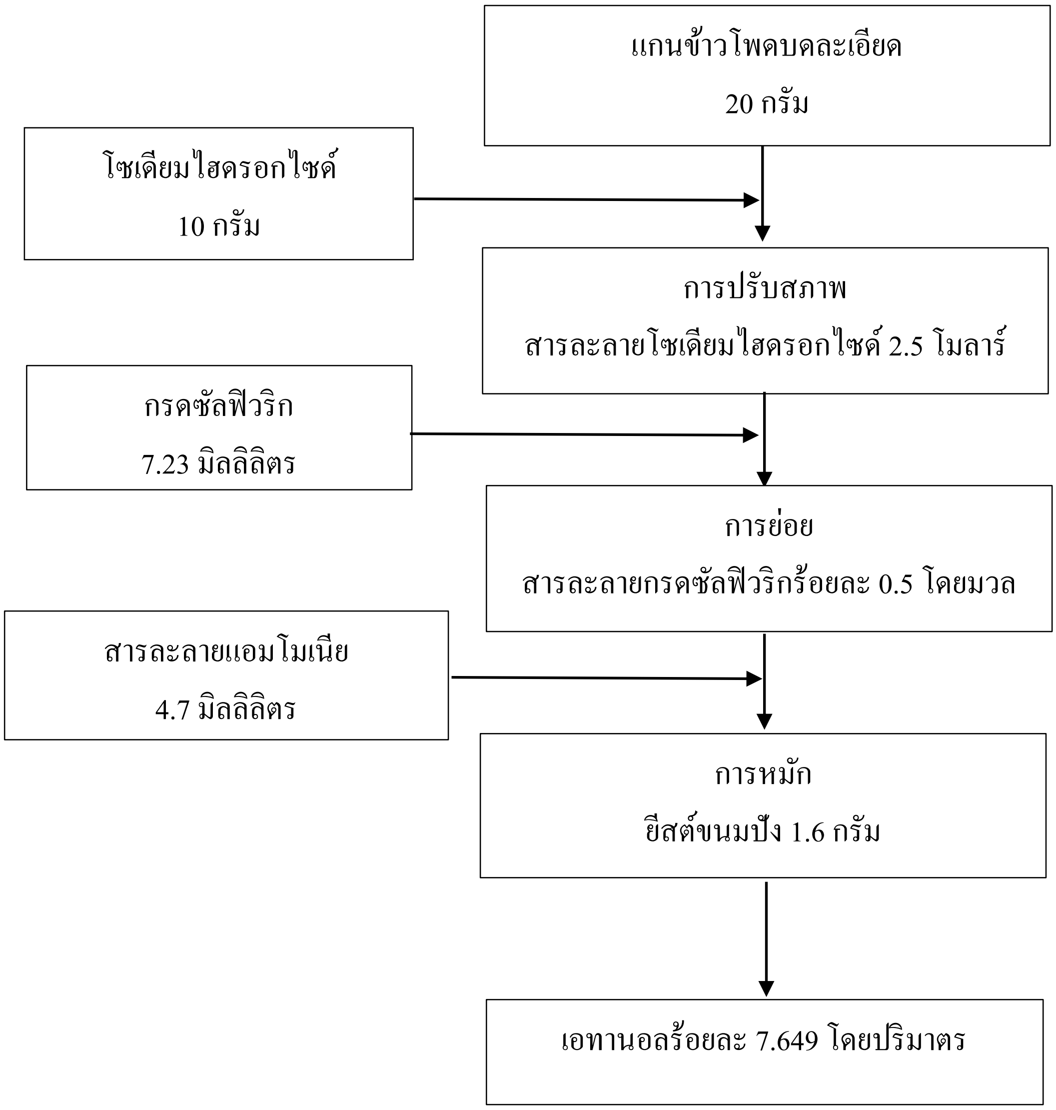
ตารางที่ 4-22 ราคาสารเคมี (Commercial grade) ที่ใช้

สารเคมี	ราคาต่อหน่วย
เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส*	81.33 บาทต่อกิโลกรัม
เอนไซม์กลูโคอะไมเลส*	130.12 บาทต่อกิโลกรัม
ยีสต์ขนมปัง*	65.06 บาทต่อกิโลกรัม
ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 *	299.36 บาทต่อกิโลกรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์*	13.83 บาทต่อกิโลกรัม
สารละลายแอมโมเนีย*	7.40 บาทต่อลิตร
กรดซัลฟิวริก*	14.37 บาทต่อลิตร
น้ำ**	0.32 บาทต่อลิตร

ที่มา: * http://www.alibaba.com

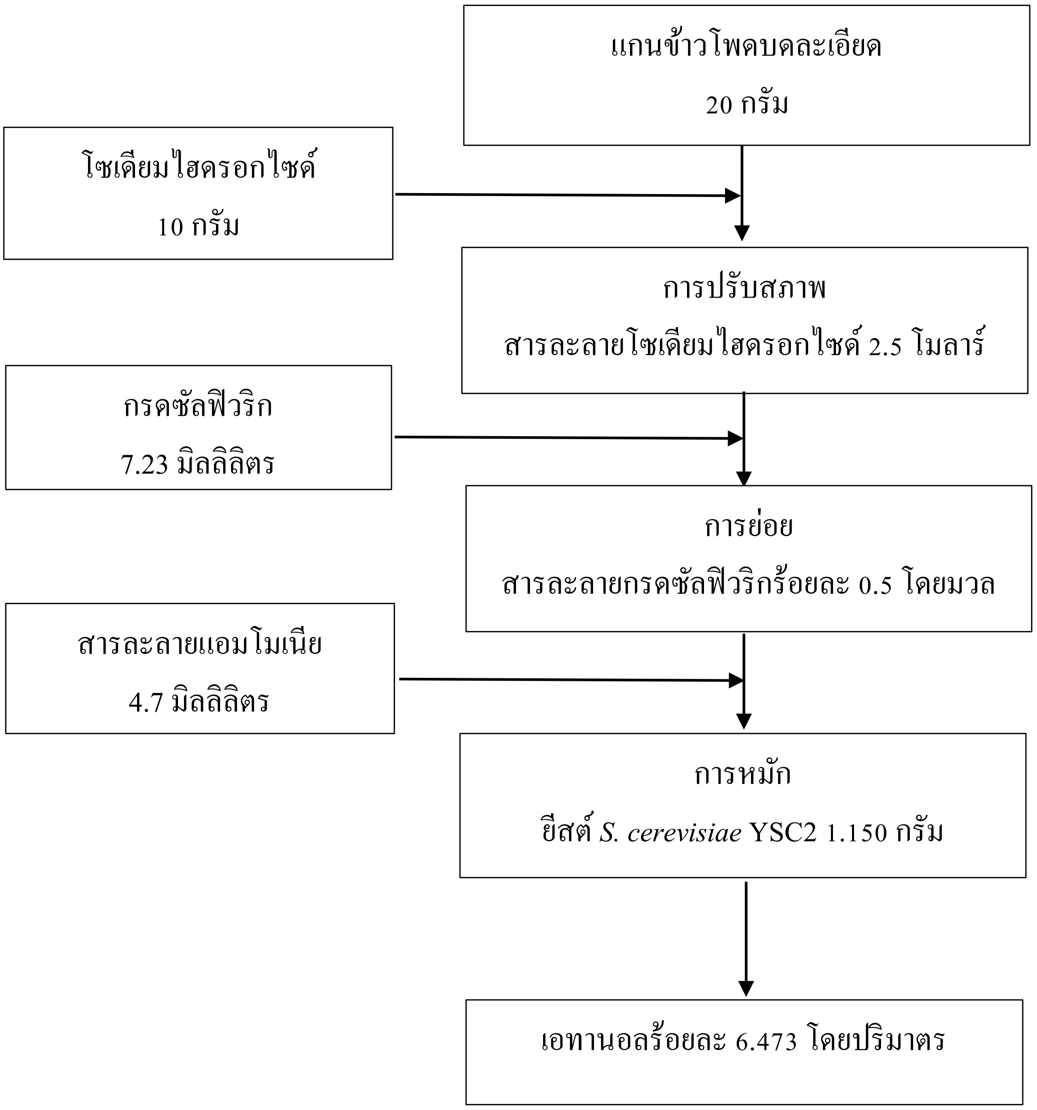
** http://www.pwa.co.th/service/tariff_rate.html

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ขนมปัง ปริมาณการใช้วัตถุดิบและสารเคมีต่างๆ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-33 และการประมาณต้นทุนการผลิตแสดงดังตารางที่ 4-23



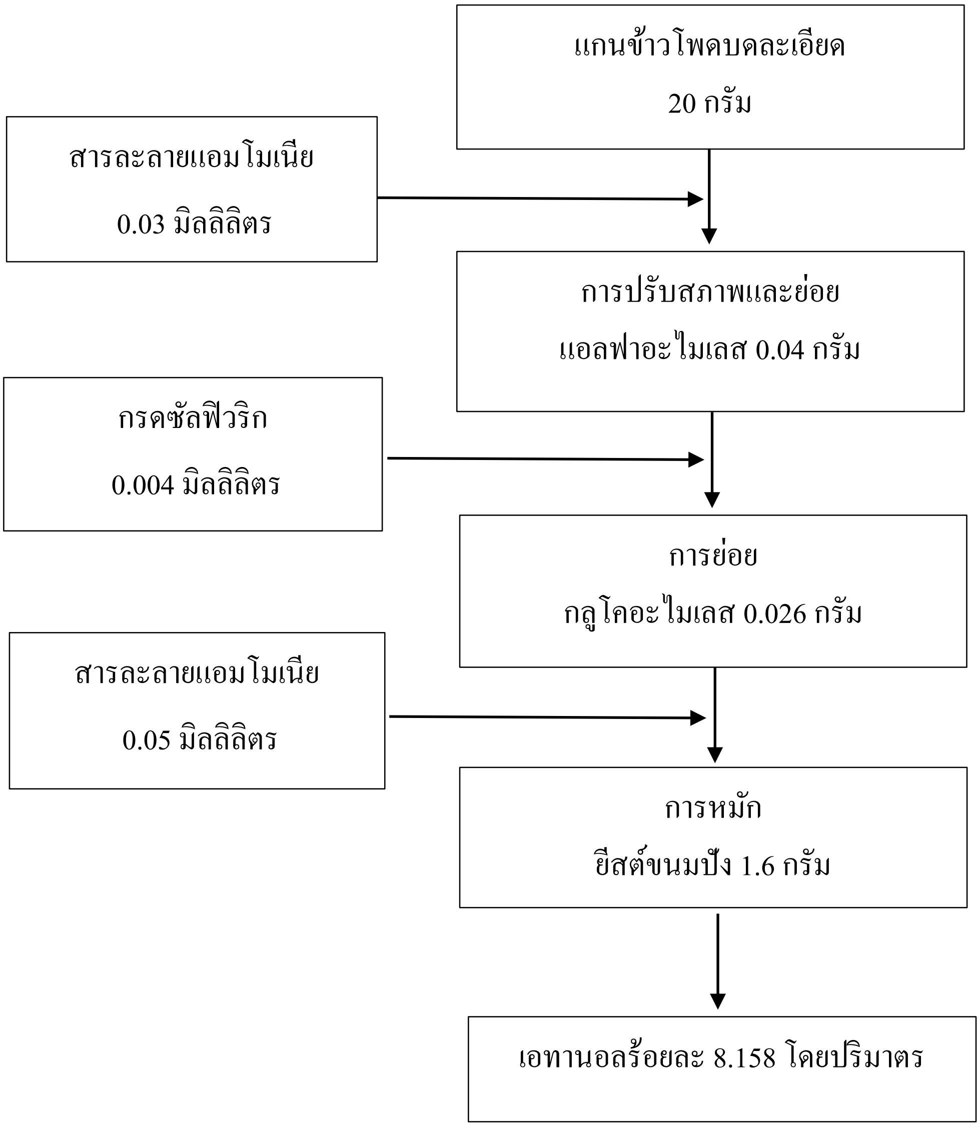
ภาพประกอบที่ 4-33 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ขนมปัง

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 ปริมาณการใช้วัตถุดิบและสารเคมีต่างๆ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-34 และการประมาณต้นทุนการผลิตแสดงดังตารางที่ 4-23



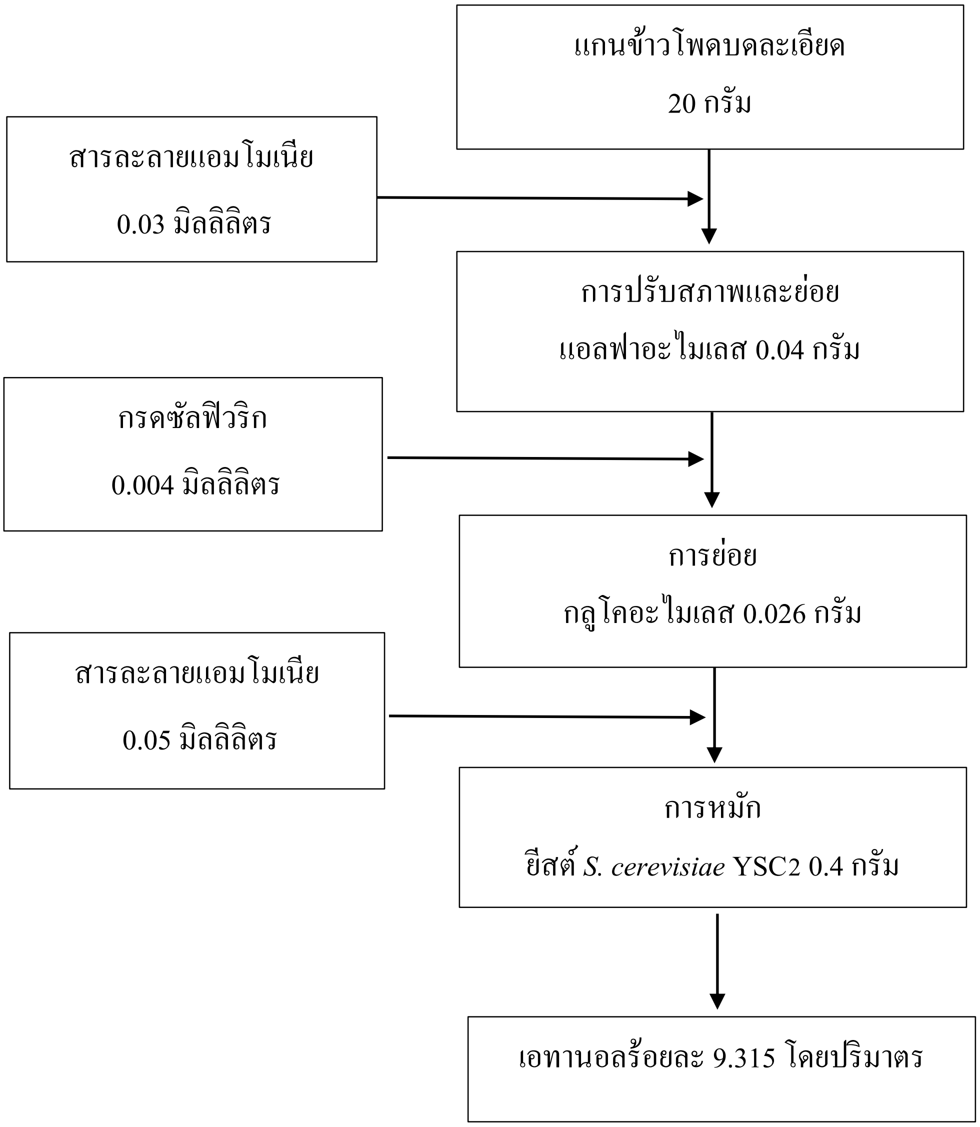
ภาพประกอบที่ 4-34 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง ปริมาณการใช้วัตถุดิบและสารเคมีต่างๆ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-35 และการประมาณต้นทุนการผลิตแสดงดังตารางที่ 4-24



ภาพประกอบที่ 4-35 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 ปริมาณการใช้วัตถุดิบและสารเคมีต่างๆ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-36 และการประมาณต้นทุนการผลิตแสดงดังตารางที่ 4-24



ภาพประกอบที่ 4-36 แผนภาพแสดงการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2

ตารางที่ 4-23 ต้นทุนในการผลิตและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี

สารเคมีที่ใช้	หมักด้วยยีสต์ขนมปัง		หมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2	
	ปริมาณที่ใช้	ราคา (บาท)	ปริมาณที่ใช้	ราคา (บาท)
โซเดียมไฮดรอกไซด์	10 กรัม	0.1383	10 กรัม	0.1383
กรดซัลฟิวริก	7.23 มิลลิลิตร	0.1039	7.23 มิลลิลิตร	0.1039
สารละลายแอมโมเนีย	4.7 มิลลิลิตร	0.0348	4.7 มิลลิลิตร	0.0348
ยีสต์	1.6 กรัม	0.1041	1.15 กรัม	0.3443
น้ำ	94.68 มิลลิลิตร	0.03039	94.68 มิลลิลิตร	0.03039
รวม		0.4114		0.6516

ตารางที่ 4-24 ต้นทุนในการผลิตและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

สารเคมีที่ใช้	หมักด้วยยีสต์ขนมปัง		หมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2	
	ปริมาณที่ใช้	ราคา (บาท)	ปริมาณที่ใช้	ราคา (บาท)
เอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส	0.040 กรัม	0.00325	0.040 กรัม	0.00325
สารละลาย แอมโมเนีย	0.030 มิลลิลิตร	0.00022	0.030 มิลลิลิตร	0.00022
เอนไซม์ กลูโคอะไมเลส	0.026 กรัม	0.00338	0.026 กรัม	0.00338
กรดซัลฟิวริก	0.004 มิลลิลิตร	0.00005	0.004 มิลลิลิตร	0.00005
ยีสต์	1.600 กรัม	0.10410	0.400 กรัม	0.11974
สารละลาย แอมโมเนีย	0.050 มิลลิลิตร	0.00037	0.050 มิลลิลิตร	0.00037
น้ำ	101.450 มิลลิลิตร	0.03257	101.450 มิลลิลิตร	0.03257
รวม		0.14394		0.15959

การเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้และต้นทุนในการผลิตเอทานอลทั้ง 4 วิธี แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4-25 พบว่าการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ขนมปังให้ผลผลิตเอทานอลมากที่สุด 549.31 ลิตรต่อตัน แต่การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 มีค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำสุด 15.32 บาทต่อลิตร จะเห็นได้ว่าการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีมีราคาต้นทุนในการผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้เอนไซม์ 2-4 เท่า เนื่องจากการใช้สารเคมีแม้ว่าจะมีราคาต่อหน่วยที่ต่ำกว่าแต่มีการใช้ในปริมาณมาก ส่งผลให้มีราคาต้นทุนในการผลิตที่สูงกว่า ส่วนการใช้เอนไซม์แม้ว่าจะมีราคาต่อหน่วยที่สูงกว่าแต่มีการใช้ในปริมาณน้อย จึงส่งผลให้มีราคาต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่า ซึ่งสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้มากและมีความเป็นไปได้ของการลงทุนเพื่อสร้างโรงงานผลิตเอทานอล

ตารางที่ 4-25 แสดงผลผลิตเอทานอลและต้นทุนในการผลิตทั้ง 4 วิธี

การปรับสภาพและย่อย	ชนิดของยีสต์	ผลผลิต* (ลิตรต่อตัน)	ค่าใช้จ่าย (บาทต่อตัน)	ค่าใช้จ่าย (บาทต่อลิตร)
สารเคมี	ขนมปัง	549.31	20,571	37.45
	S. cerevisiae YSC2	462.13	32,579	70.50
เอนไซม์	ขนมปัง	466.41	7,197	15.43
	S. cerevisiae YSC2	520.75	7,979	15.32

* ลิตรเอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตร ต่อตันของวัตถุดิบแกนข้าวโพด

ตารางที่ 4-26 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆ ซึ่งหมักโดย *Saccharomyces cerevisiae*

วัตถุดิบ	ผลผลิต (ลิตรต่อตัน)	อ้างอิง
แกนข้าวโพดที่ปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี	462.13	งานวิจัยนี้
แกนข้าวโพดที่ปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์	520.75	งานวิจัยนี้
เมล็ดขนุนสด	486.000	บัญชา (2554)
เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์	396.000	บัญชา (2554)
มันสำปะหลัง	160.000	Suthamma (2007)
ข้าวโพด	375.000	Suthamma (2007)
ข้าว	375.000	Suthamma (2007)
อ้อย	70.000	Suthamma (2007)
กากน้ำตาล	240.000	Suthamma (2007)

ตารางที่ 4-27 การเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆ ซึ่งหมักโดยยีสต์ขนมปัง

วัตถุดิบ	ผลผลิต (ลิตรต่อตัน)	อ้างอิง
แกนข้าวโพดที่ปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี	549.31	งานวิจัยนี้
แกนข้าวโพดที่ปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์	466.41	งานวิจัยนี้

จากตารางที่ 4-26 แสดงการเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบต่างๆ ซึ่งหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าการใช้แกนข้าวโพดสามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าวัตถุดิบอื่นๆ เนื่องจากแกนข้าวโพดมีองค์ประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต และปริมาณน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคสอะไมเลสมากพอที่จะผลิตเอทานอลได้มากกว่าวัตถุดิบอื่น

จากตารางที่ 4-27 แสดงการเปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์ขนมปัง พบว่าการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟิวริกจากแกนข้าวโพด 1 ตัน สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส เนื่องจากการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพและย่อยเป็นระยะเวลานานกว่าการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ ทำให้วัตถุดิบมีความพร้อมที่จะย่อยได้มากกว่าและสามารถย่อยได้ง่ายกว่า ส่งผลให้สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์

ตารางที่ 4-28 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมีและเอนไซม์

รายการ	การปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี		การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์	
การปรับสภาพ	ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)	2.5	ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	0.2
	อุณหภูมิในการปรับสภาพ (องศาเซลเซียส)	60	อุณหภูมิในการปรับสภาพ (องศาเซลเซียส)	87.6
	ระยะเวลาในการปรับสภาพ (ชั่วโมง)	18	ระยะเวลาในการปรับสภาพ (ชั่วโมง)	2.5
การย่อย	ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (ร้อยละโดยมวล)	0.5	ร้อยละกลูโคอะไมเลส (โดยมวล)	0.13
	อุณหภูมิในการย่อย (องศาเซลเซียส)	100	อุณหภูมิในการย่อย (องศาเซลเซียส)	60
	ระยะเวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	3	ระยะเวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	6
น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	12.420		13.251	

ตารางที่ 4-29 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลแต่ละกระบวนการ

รายการ	การปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี		การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์	
	หมักด้วย ยีสต์ขนมปัง	หมักด้วย ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2	หมักด้วย ยีสต์ขนมปัง	หมักด้วย ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2
ร้อยละยีสต์ (โดยมวล)	8	5.77	8	2
เวลาการหมัก (ชั่วโมง)	48	48	135	48
พีเอชเริ่มต้น	5.12	5.65	5.33	5.64
ปริมาณเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	7.649	6.473	8.158	9.315
ต้นทุนในการผลิต (บาทต่อลิตร)	37.45	70.50	15.43	15.32

ตารางที่ 4-30 การเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียระหว่างการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมีและเอนไซม์

รายการ	การปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี	การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์
ข้อดี	- เก็บดูแลรักษาง่าย เนื่องจากสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้	- ปฏิกิริยามีความจำเพาะเจาะจงจึงสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าการใช้สารเคมี (เล็กน้อย)
ข้อเสีย	- ใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพและย่อยนานกว่าการใช้เอนไซม์ทำให้สิ้นเปลืองพลังงาน - ใช้ปริมาณสารเคมีในการปรับพีเอชมากกว่าการใช้เอนไซม์ทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูง	- การเก็บรักษามีความยุ่งยาก เนื่องจากต้องเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ (5 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 4-31 การเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสียแต่ละกระบวนการ

รายการ	การปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี		การปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์	
	ยีสต์ขนมปัง	ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2	ยีสต์ขนมปัง	ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2
ข้อดี	- สามารถหาซื้อได้ง่าย - ต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ถึง 2 เท่า -ให้ผลผลิตเอทานอลมากที่สุด 549.31 ลิตรต่อตัน	- ใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 น้อยกว่ายีสต์ขนมปัง	- สามารถหาซื้อได้ง่าย	- อัตราการหมักเอทานอลเกิดขึ้นได้เร็วทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง - มีต้นทุนในการผลิตต่ำสุด - ได้ปริมาณเอทานอลมากกว่าการใช้ยีสต์ขนมปัง
ข้อเสีย	- ใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังมากกว่ายีสต์ *S. cerevisiae* YSC2	- การเก็บรักษามีความยุ่งยาก เนื่องจากต้องเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ (5 องศาเซลเซียส)	- ใช้ปริมาณยีสต์ขนมปังมากกว่ายีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 -ใช้เวลาในการหมักมากกว่ายีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ทำให้สิ้นเปลืองพลังงาน	- การเก็บรักษามีความยุ่งยาก เนื่องจากต้องเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ (5 องศาเซลเซียส)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด

แกนข้าวโพดเป็นผลผลิตเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและเส้นใยมากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้

5.2 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี

สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ คือ ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 11.633 กรัมต่อลิตร และย่อยต่อในสภาวะที่เหมาะสมด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวล ควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 12.420 กรัมต่อลิตร

5.3 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์

สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพและย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส คือ ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.20 โดยมวล ควบคุมอุณหภูมิที่ 87.6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 6.208 กรัมต่อลิตร และย่อยต่อในสภาวะที่เหมาะสมด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือ ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.13 โดยมวล ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 360 นาที จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 13.251 กรัมต่อลิตร

5.4 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast)

สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟิวริก โดยทำการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) คือ ใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล พีเอชเริ่มต้นประมาณ 5.12 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 7.649 โดยปริมาตร

5.5 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดซัลฟิวริก โดยทำการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 คือ ใช้ยีสต์ร้อยละ 5.77 โดยมวล พีเอชเริ่มต้นประมาณ 5.65 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 6.473 โดยปริมาตร

5.6 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast)

สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส โดยทำการหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) คือ ใช้ยีสต์ขนมปังร้อยละ 8 โดยมวล พีเอชเริ่มต้นประมาณ 5.33 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 135 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 8.158 โดยปริมาตร

5.7 การศึกษาการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลด้วยผลผลิตที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส โดยทำการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 คือ ใช้ยีสต์ร้อยละ 2 โดยมวล พีเอชเริ่มต้นประมาณ 5.64 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเอทานอลร้อยละ 9.315 โดยปริมาตร

5.8 การเปรียบเทียบข้อดี-ข้อเสีย และการประมาณต้นทุนการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการผลิตแบบต่างๆ

5.8.1 การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker’s yeast)

การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker’s yeast) มีข้อดี คือ มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ถึง 2 เท่า ได้ผลผลิตเอทานอลมากที่สุด 549.31 ลิตรต่อตัน และมีต้นทุนในการผลิต 37.45 บาทต่อลิตร

5.8.2 การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารเคมี และหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 มีข้อดี คือ ใช้ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* YSC น้อยกว่ายีสต์ขนมปัง แต่มีข้อเสีย คือ ให้ผลผลิตเอทานอล 462.13 ลิตรต่อตัน ซึ่งน้อยกว่าการใช้ยีสต์ขนมปัง และมีต้นทุนในการผลิตมากที่สุด 70.50 บาทต่อลิตร

5.8.3 การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast)

การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) มีข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลาในการหมักนานกว่าการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* YSC2 ทำให้สิ้นเปลืองพลังงาน ซึ่งให้ผลผลิตเอทานอล 466.41 ลิตรต่อตัน และมีต้นทุนในการผลิต 15.43 บาทต่อลิตร

5.8.4 การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์ และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2

การปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์และหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YSC2 มีข้อดี คือ ใช้ระยะเวลาในการหมักเร็ว ทำให้ประหยัดพลังงานมากกว่าการใช้ยีสต์ขนมปัง ให้ผลผลิตเอทานอล 520.75 ลิตรต่อตัน มีต้นทุนในการผลิตต่ำที่สุด 15.32 บาทต่อลิตร

ข้อเสนอแนะ

ในขั้นตอนของการหมักควรมีการศึกษาส่วนของ pH ระหว่างหมัก เนื่องจากสามารถควบคุมให้คงที่ทุกการทดลองได้เพียงแค่ pH เริ่มต้นเท่านั้น และอุณหภูมิระหว่างทำการหมัก เนื่องจากยีสต์แต่ละชนิดมีความสามารถผลิตเอทานอลในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. *เทคโนโลยีของแป้ง*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กล้าณรงค์ ศรีรอด, สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, ปฐมา จาตกานนท์ และสิทธิโชค วัลลภาทิพย์. 2549. *การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยการปรับปรุงการย่อยแป้งดิบด้วยเอนไซม์*. รายงานการวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.

เกศมณี ตาดทอง, ขนิษฐา สกุลวา, นฤมล แป้นอินทร์ และวีรยา คำภา. 2546. *การผลิตเอทานอลจากเปลือกสับปะรด*. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏนครสวรรค์.

คณะกรรมาธิการการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร. 2545. *พลังงานทดแทน เอทานอล และไบโอดีเซล*. กรุงเทพฯ: คณะกรรมาธิการ.

ชลดา ซื่อสัตย์, บงกชรัตน์ ปิติยนต์, ธีรภัทร ศรีนรคุตร และวิเชียร กิจปรีชาวนิช. 2547. การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์* ครั้งที่ 42: 450-458.

บัญชา โลหรัตน์. 2554.การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปรียารัตน์ โยวะผุย. 2550. การศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลควบคู่กับการหมักจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พักตร์ประไพ ประจำเมือง และวิชัย ลีลาวัชรมาศ. 2546. เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ* 11 (4): 28-31.

ไพลิน ตั้งไพโรจน์. 2545. การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาเนสและแอลฟาอะไมเลส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยุทธศักดิ์ สุบการี. 2551. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยใช้วิธี Simultaneous saccharification and fermentations (SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์. 2550. *โครงการวิจัยการศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบกะ.* มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.

วรายุทธ เนติกานต์. 2553. การใช้เศษของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องเพื่อการผลิตเอทานอลอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอลและฟอสเฟตไอออน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วีระสิทธิ์ กัลป์ยากฤต และทรงศักดิ์ บูรณเศวตธรรม. 2547. การคัดเลือกจุลินทรีย์จากลูกแป้งที่ผลิตเอนไซม์และแอลกอฮอล์เพื่ออุตสาหกรรมสาโท. *การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์* ครั้งที่ 42.

ลักขณา เหล่าไพบูลย์, พัฒนา เหล่าไพบูลย์, ประสิทธิ์ ใจศิล และพรเทพ ถนนแก้ว. 2550. *การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน*. รายงานการวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2538. *วิศวกรรมเคมีชีวภาพพื้นฐาน 1.* กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

สายฤดี ด้วงหวัง. 2555. การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสในทลายปาล์มด้วยวิธี Separation Hydrolysis and Fermentation. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อรอุมา สวัสดิ์กิจ. 2546. การศึกษาเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่แยกได้จากดินโดยใช้เมล็ดทุเรียนเป็นสับสเตรท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อัสมา หมาดหล้า. 2555. การผลิตเอทานอลจากส่วนผสมเปลือกอ่อนของเต้าตาลโตนดและเปลือกส้ม. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Abedinifara, S., Keikhosro, K., Khanahmadic, M., and Taherzadehb, M.J. 2009. Ethanol production by *Mucor indicus* and *Rhizopus oryzae* from rice straw by separate hydrolysis and fermentation. *Biomass Bioenergy* 33, 5 (May): 828-833. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953409000129.

Binod, P., Sindhu, R., Singhania, R.R., Vikram, S., Devi, L., Nagalakshmi, S., Kurien, N., Sukumaran R.K., and Pandey, A. 2010. Bioethanol production from rice straw: An overview. *Bioresource Technology* 101, 13 (July): 4767-4774. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409014862.

Cazetta, M.L., Celligoi, M.A.P.C., Buzato, J.B., and Scarmino, I.S. 2007. Fermentation of molasses by *Zymomonas mobilis*: Effects of temperature and sugar concentration on ethanol production. *Bioresource Technology* 98, 15 (November): 2824–2828. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852406004512.

Cheng, K., Wang, W., Zhang, J., Zhao, Q., Li, J., and Xue, J. 2011. Statistical optimization of sulfite pretreatment of corncob residues for high concentration ethanol production. *Bioresource Technology* 102, 3 (February): 3014–3019. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410016603.

Dombek, K. M., and Ingram, L. O. 1986. Magnesium ilmition and its role in apparent toxicity of ethanol during yeast fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 52, 5 (November): 975-981. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC239160.

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2006. Functionality of selected strains of moulds and yeasts from Vietnamese rice wine starters. *Food Microbiology* 23, 4 (June): 331-340. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002005000663.

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M., and Nout, M.J.R. 2007. Characteristics of some traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (*men*). *LWT-Food Science and Technology* 40, 1 (January): 130-135. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643805001763.

Gaspar, M., Kalman, G. and Reczey, K. 2007. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production. *Process Biotechemistry* 42, 7 (July): 1135-1139. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511307001109.

Icoz, E., Tugrul, K. M., Saral, A.and Icoz, E. 2008. Research on ethanol production and use from sugar beet in Turkey. *Biomass& Bioenergy* 33, 1 (January): 1-7. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953408001219.

Kadar, Zs., Szengyel, Zs., and Reczey, K. 2004. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* 20, 1 (July): 103-110. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669004000135.

Kannan, T.R., Sangiliyandi, G., and Gunasekaran, P. 1998. Improved ethanol production from sucrose by a mutant of *Zymomonas mobilis* lacking sucrases in immobilized cell fermentation. *Enzyme and Microbial Technology* 22, 3 (February): 179-184. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022997001580.

Kahar, P., Taku, Taku, K., and Tanaka1, S. 2010. Enzymatic digestion of corncobs pretreated with low strength of sulfuric acid for bioethanol production. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 110, 4 (October): 453–458. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138917231000157X.

Keikhosro, K., Giti, E. and Taherzadeh, M.J. 2006. Ethanol production from dilute-acid pretreated rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with *Mucor indicus*, *Rhizopus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 1 (December): 138-144. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022906002985.

Kiransree, N., Sridhar, M., and Venkateswar R.L. 2000. Characterisation of thermotolerant, ethanol tolerant fermentative *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production. *BioprocessEngineering* 72, 243-246. http://link.springer.com/article/10.1007/PL00009114#page-1.

Limtong, S., Sintara, S., Suwannarit, P., and Lotong, N. 2002. Yeast diversity in Thai traditional alcoholic starter. *Kasetsart Journal : Natural Science* 36, 149-158.

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

Limtong, S., Sringiew, C., and Yongmantchai, W. 2007. Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology* 98, 17 (December): 3367-3374. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407003586.

Liu, K., Lin, X., Yue, Jun., Li, X., Fang, Xu., Zhu, M., Lin, J., Qu, Y., and Xiao, L. 2010. High concentration ethanol production from corncob residues by fed-batch strategy. *Bioresource Technology* 101,13 (July): 4952–4958. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085240901517X.

Ming, C., Liming, X., and Peijian, X. 2007. Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59, 2 (March): 85–89. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830506001326.

Peace G. 1993. *Taguchi methods. 2nd ed.* The United Stetes of America: Addison-Wesley Publishing Company.

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

Sree, K.N., Sridhar, M., Rao, K.C., and Pandey, A. 1999. Ethanol production in solid substrate fermentation using thermotolerant yeast. *Process Biochemistry* 34, 2 (February): 115-119. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959298000740.

Srinorakutara. T., Suesat. C., Pitiyont. B., Kitpreechavanit. W., and Cattithammanit. S. 2004. Utilization of Waste from Cassava Starch Plant for Ethanol Production. *The Joint International Conference on "Sustainable Energy and Environment (SEE)* 3-042: 345-349.

Turhana. I., Bialkab. L., Demircib. Ali., and KarhanaEthanol M. 2010. Production from carob extract by using Saccharomyces cerevisiae. *Bioresource Technology* 101, 14 (July): 5290-5296. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410002683.

Zhang, M,. Wang, F,. Su, R,. Qi, Wei. and He, Z. 2010. Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment. *Bioresource Technology* 101, 13 (July): 4959-4964. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409015144.

Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Zhang, X., Wang, C., Yu, F. and Jin, S. 2005. Production of ethanol from microwave-assisted alkali pretreated wheat straw. *Process Biochemistry* 41, 4 (April): 869-873. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135951130500440X.

Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. 1995. *Wine analysis and production.* New York: The Champman&Hall enolory library.

ข้าวโพด. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. http://kanchanapisek.or.th (สืบค้นเมื่อ 12 มิถุนายน 2556).

โครงสร้างทางเคมีของเอทานอล. กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์ กระทรวงพลังงาน. http://water-pacific.com (สืบค้นเมื่อ 4 กรกฎาคม 2556).

อนาคตอุตสาหกรรมข้าวโพดหวานของไทย. สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. http://www.oae.go.th (สืบค้นเมื่อ 10 พฤศจิกายน 2554).

Structure of amylose. Plant physiology. http://5e.plantphys.net (สืบค้นเมื่อ 4 กรกฎาคม 2556).

Structure of amylosepectin. Plant physiology. http://5e.plantphys.net (สืบค้นเมื่อ 4 กรกฎาคม 2556).

อัตราค่าน้ำประปา. การประปาส่วนภูมิภาค. http://www.pwa.co.th/service/tariff_rate.html (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Yeast High efficient Saccharomyces cerevisiae alcohol producer. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Fermipan Instant Dry Yeast. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Ammonia Solution 25%. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Alpha-Amylase from Aspergillus oryzae. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Glucoamylase from Aspergillus niger. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Sulfuric acid. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

Sodium hydroxide. http://www.alibaba.com (สืบค้นเมื่อ 7 กันยายน 2556).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugars) โดยวิธี Modified Dinitrosalicylic Acid (Miller, 1959)

1.1 การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic Acid

สารละลาย Dinitrosalicylic Acid ประกอบด้วยสารเคมีต่างๆดังนี้

3,5-Dinitrosalicylic Acid	1%	w/v
Phenol	0.2%	w/v
Sodium sulfite	0.05%	w/v
Sodium hydroxide	1%	w/v
Sodium potassium tartrate	20%	w/v

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Dinitrosalicylic Acid 2.5 กรัม ฟีนอล 0.5 กรัม โซเดียมซัลไฟท์ 0.125 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 50 กรัม ลงไป จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย Magnetic Stirrer และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในสารตัวอย่าง

1.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

(1) เตรียม Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 100, 200, 400, 500, 600 700, และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปต Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1, 2, 4, 5, 6, 7 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

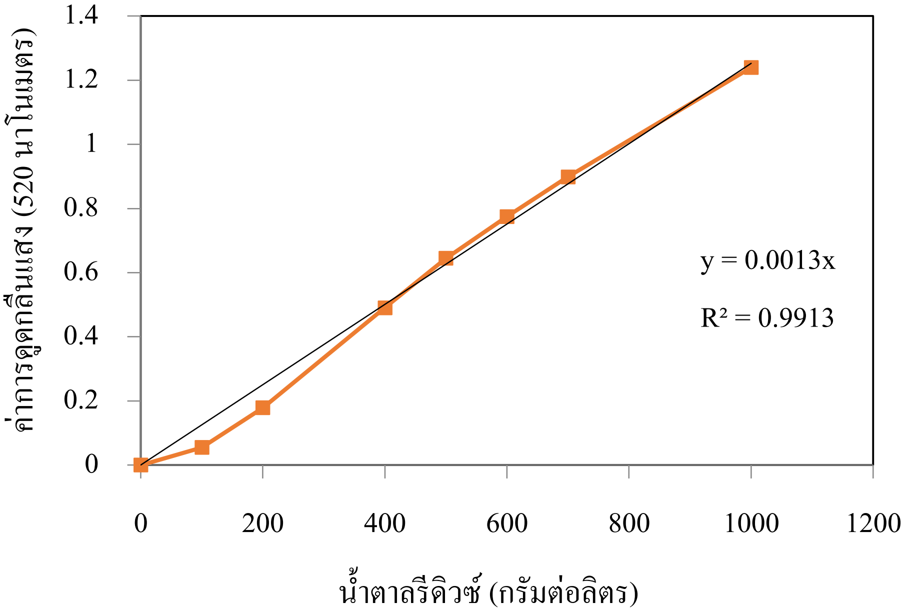
1.2.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารละลายกลูโคสเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

(2) ปิเปตสารละลาย Dinitrosalicylic Acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(3) ทำให้สารตัวอย่างเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวางลงบนน้ำแข็ง

(4) เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบที่ ก-1 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ ก-1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.3 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารตัวอย่าง

(1) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

(2) ปิเปตสารละลาย Dinitrosalicylic Acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

(3) นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(4) ทำให้หลอดทดลองเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวางหลอดทดลองลงบนน้ำแข็ง

(5) เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบที่ ก-1)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugars) โดยวิธี Modified Phenol Sulfuric Method (Dubois et al., 1956)

2.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร

(2) 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล

(3) 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก

2.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารตัวอย่าง

2.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

(1) เตรียมสาร Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร โดยปิเปต Stock สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ 1, 2, 3, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

2.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารละลายกลูโคสเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

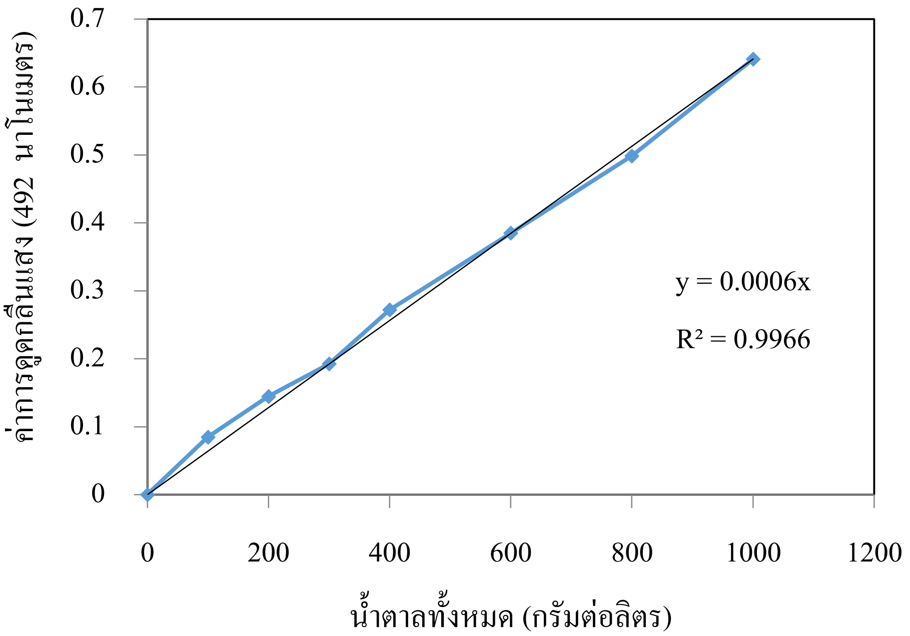
(2) ปิเปตสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าเพื่อให้สารผสมกัน

(3) ปิเปต 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าเพื่อให้สารผสมกัน

(4) นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(5) ทำให้หลอดทดลองเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวางหลอดทดลองลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible

Spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบที่ ก-2 เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ ก-2 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง

(1) ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

(2) ปิเปตสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ ฟีนอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าเพื่อให้สารผสมกัน

(3) ปิเปต 98 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าเพื่อให้สารผสมกัน

(4) นำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(5) ทำให้หลอดทดลองเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว โดยวางหลอดทดลองลงบนน้ำแข็ง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพประกอบที่ ก-2)

3. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมัก

3.1 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

(1) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography, GC)

(2) 99.9 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล

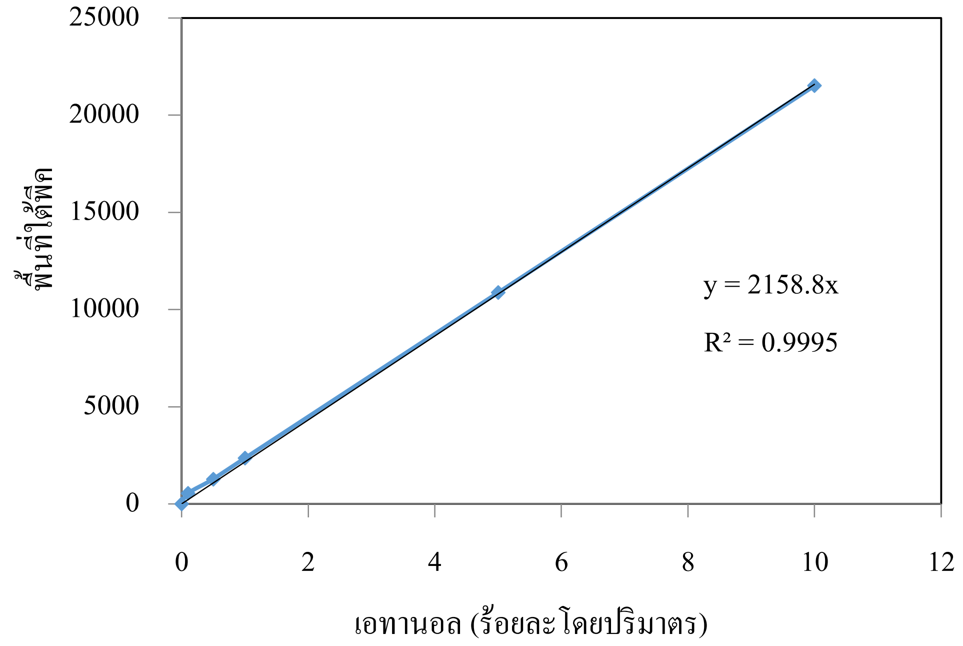
เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยปิเปต 99.9 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล ปริมาณ 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอลเพื่อใช้วิเคราะห์หาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่หมักได้

นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ ไปตรวจวัดตามสภาวะดังตารางที่ ก-1 จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้พีค (Peak) ที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงในภาพประกอบที่ ก-3 เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของเอทานอลที่หมักได้

ตารางที่ ก-1 สภาวะในการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (GC)

	Condition
Inlet temperature	150 °C
Carrier gas	He, flow 20 ml/min, Split mode 2.0 min
Oven temperature	Initial temperature 150 °C held for 6 min
Column	HP-Innowax, length 30 m, internal diameter 0.32 mm and film thickness 0.25 μm



ภาพประกอบที่ ก-3 กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอลสำหรับการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอล

ภาคผนวก ข

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

ตารางที่ ข-1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำตาลรีดิวส์ (กรัมต่อลิตร)			
	1 โมลาร์	1.5 โมลาร์	2 โมลาร์	2.5 โมลาร์
50	0.062	0.075	0.093	0.082
60	0.057	0.057	0.067	0.090
70	0.041	0.041	0.055	0.087
80	0.014	0.042	0.080	0.093

ตารางที่ ข-2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ร้อยละ 0.5 โดยมวล	ร้อยละ 1.0 โดยมวล	ร้อยละ 1.5 โดยมวล	ร้อยละ 2.0 โดยมวล
1	0.506	0.115	0.027	0.030
2	0.585	0.022	0.013	0.017
3	0.997	0.028	0.013	0.019
4	0.808	0.142	0.191	0.195
5	0.839	0.145	0.194	0.212
6	0.883	0.146	0.157	0.212

ตารางที่ ข-3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ร้อยละ 0.5 โดยมวล	ร้อยละ 1.0 โดยมวล	ร้อยละ 1.5 โดยมวล	ร้อยละ 2.0 โดยมวล
1	0.980	0.002	0.000	0.041
2	1.023	0.011	0.000	0.013
3	1.367	0.019	0.003	0.010
4	1.537	0.106	0.016	0.005
5	1.341	0.065	0.024	0.017
6	1.133	0.060	0.023	0.002

ตารางที่ ข-4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ร้อยละ 0.5 โดยมวล	ร้อยละ 1.0 โดยมวล	ร้อยละ 1.5 โดยมวล	ร้อยละ 2.0 โดยมวล
1	0.706	0.069	0.053	0.037
2	0.833	0.081	0.030	0.010
3	1.357	0.057	0.079	0.055
4	1.128	0.079	0.033	0.046
5	1.096	0.041	0.052	0.049
6	0.875	0.061	0.049	0.061

ตารางที่ ข-5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5-2 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ร้อยละ 0.5 โดยมวล	ร้อยละ 1.0 โดยมวล	ร้อยละ 1.5 โดยมวล	ร้อยละ 2.0 โดยมวล
1	0.714	0.042	0.045	0.044
2	0.769	0.056	0.021	0.026
3	0.867	0.047	0.051	0.049
4	0.969	0.073	0.068	0.067
5	1.047	0.037	0.035	0.036
6	1.055	0.042	0.063	0.055

ตารางที่ ข-6 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ร้อยละ 0.5 โดยมวล เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90-120 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	90 องศาเซลเซียส	100 องศาเซลเซียส	110 องศาเซลเซียส	120 องศาเซลเซียส
1	0.506	0.980	0.706	0.714
2	0.585	1.023	0.833	0.769
3	0.997	1.367	1.357	0.867
4	0.808	1.537	1.128	0.969
5	0.839	1.341	1.096	1.047
6	0.883	1.133	0.875	1.055

ตารางที่ ข-7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

การทดลองที่	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	6	0.984	6.135
2	10	1.139	8.240
3	14	1.025	4.702
4	18	1.007	4.457
5	24	0.991	5.033

ตารางที่ ข-8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

กาทดลองที่	ความเข้มข้น (โมลาร์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	2	50	10	0.954	12.249
2	2	60	24	0.848	12.534
3	2.5	50	24	1.236	11.915
4	2.5	60	10	1.272	11.568

ตารางที่ ข-9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5-1 โดยมวล เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

การทดลองที่	ความเข้มข้น (ร้อยละโดยมวล)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	0.5	100	3	1.659	11.068
2	0.5	110	4	0.981	11.043
3	1	100	3	1.183	10.672
4	1	110	4	1.121	11.803

ตารางที่ ข-10 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์ขนมปังที่ระยะเวลาหมัก 48-120 ชั่วโมง โดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

การทดลองที่	ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
1	48	0.037
2	72	0.038
3	96	0.042
4	120	0.040

ตารางที่ ข-11 แสดงปริมาณเอทานอลที่หมักด้วยยีสต์ขนมปังร้อยละ 2-10 โดยมวล โดยใช้ผลผลิตหลังการปรับสภาพและย่อยด้วยสารเคมี แบบล้างน้ำให้เป็นกลางก่อนทำการย่อยด้วยสารละลายกรด

การทดลองที่	ร้อยละของยีสต์	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
1	2	0.024
2	4	0.036
3	6	0.052
4	8	0.091
5	10	0.091

ตารางที่ ข-12 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

การทดลองที่	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	6	3.902	218.685
2	10	4.523	257.268
3	12	4.568	243.224
4	14	4.059	244.716
5	18	10.954	270.334
6	24	10.164	292.948

ตารางที่ ข-13 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2-2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วย่อยต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

การทดลองที่	ความเข้มข้น (โมลาร์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	2	50	18	9.542	330.459
2	2	60	24	10.704	360.972
3	2.5	50	24	11.098	339.975
4	2.5	60	18	11.627	356.152

ตารางที่ ข-14 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อยละ 0.5-1 โดยมวล เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส หลังจากปรับสภาพแกนข้าวโพดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แบบไม่มีการล้างน้ำหลังการปรับสภาพ

การทดลองที่	ความเข้มข้น (ร้อยละโดยมวล)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)
1	0.5	100	3	12.420	270.994
2	0.5	110	4	9.644	257.633
3	1	100	3	10.460	254.975
4	1	110	4	9.622	275.790

ตารางที่ ข-15 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพและย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละแอลฟาอะไมเลส (โดยมวล)	น้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	
				น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด
1	60	90	0.13	4.817	244.300
2	95	85	0.08	4.764	249.656
3	95	85	0.17	5.710	251.919
4	95	95	0.08	5.184	242.664
5	95	95	0.17	5.254	267.582
6	150	90	0.05	5.199	260.567
7	150	80	0.13	4.366	243.700
8	150	90	0.13	5.259	256.130
9	150	90	0.13	5.364	258.126
10	150	90	0.13	5.393	262.288
11	150	90	0.20	6.170	266.305
12	150	100	0.13	3.751	252.978
13	205	85	0.08	5.637	255.969
14	205	85	0.17	5.615	246.452
15	205	95	0.08	4.897	272.155
16	205	95	0.17	5.153	273.161
17	240	90	0.13	5.296	265.948

ตารางที่ ข-16 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยแกนข้าวโพดด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละกลูโคสอะไมเลส (โดยมวล)	น้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	
				น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด
1	240	60	0.13	10.759	477.443
2	290	55	0.08	10.255	431.054
3	290	55	0.17	12.505	432.657
4	290	65	0.17	12.381	489.457
5	290	65	0.08	10.426	452.862
6	360	50	0.13	10.405	416.960
7	360	60	0.05	10.217	454.324
8	360	60	0.13	12.854	433.571
9	360	60	0.13	13.660	435.232
10	360	60	0.13	13.815	446.072
11	360	60	0.20	11.920	450.434
12	360	70	0.13	10.779	476.187
13	430	55	0.17	10.476	433.761
14	430	55	0.08	11.741	423.925
15	430	65	0.08	12.852	482.543
16	430	65	0.17	10.867	468.499
17	480	60	0.13	11.808	467.365

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาววรลักษณ์ คงจินดามุณี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5410120105

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2554

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ทุนการศึกษาโครงการปริญญาตรี-โท 5 ปี

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Chongkhong, S. and Kongjindamunee, W. 2012. PRETREATMENT AND HYDROLYSIS OF CORN CORE BY USING CHEMICALS COMPARED TO NATURAL MICROORGANISMS. Proceeding of the 10th International PSU Engineering Conference (IPEC-10), May 14-15, 2012, Hatyai, Songkhla, Thailand.

Kongjindamunee, W. and Chongkhong, S. 2013. OPTIMIZATION OF ENZYMATIC CLARIFICATION FROM CORNCOB. Proceeding of the 3rd International Thai Chemical Engineering and Applied Chemistry conference, Octuber 17-18, 2013, Khon Kaen, Thailand.