รายงานการวิจัย

การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เอนไซม์และเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง

Ethanol Production from Sweet Potato by Enzyme and Microorganisms from Look-Pang

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2554
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2554 ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของนักศึกษาปริญญาตรีและปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ และสาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขาชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนมาในการวิจัย

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล
หัวหน้าโครงการวิจัย

RCH
TP
593
ด1164ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 131189
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ค. 2557

b 12601676

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการวิจัย การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เอนไซม์และเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง

ผู้วิจัย ร.ศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำมันเทศซึ่งเป็นพืชจำพวกแป้งชนิดหนึ่งทางการเกษตร มาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตเอทานอล และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยมันเทศ เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งมันเทศของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในกระบวนการลิเคอแฟกชัน คือความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และใช้ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.43 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งมันเทศของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 และใช้ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 41.78 กรัมต่อลิตร จากนั้น นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดในสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่แยกได้จากลูกแป้งกระบวนการหมักเอทานอล โดยการย่อยแป้งมันเทศเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation , SHF) ให้ปริมาณเอทานอล 14.55 กรัมต่อลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง สำหรับกระบวนการย่อยแป้งมันเทศเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF) ได้ปริมาณเอทานอล 12.62 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า ได้แก่ เชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 หมักในสภาวะอาหารเหลว ในการคัดเลือกเชื้อราพบว่า เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุด 43.81 กรัมต่อลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที และจากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอล จากกระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF) โดยใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 หมักต่ออีก 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 13.87 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบกระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวกัน (SSF) โดยเติมเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.51 กรัมต่อลิตร ในกระบวนการ SHF และ SSF หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Project Ethanol Production from Sweet Potato by Enzyme and Microorganisms from Look-Pang

Researcher Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

The aim of this work was to utilize sweet potato (starchy tubers) for the production of bio-ethanol. The study of optimal conditions for α -amylase and glucoamylase was carried on. These enzymes hydrolyzed sweet potato starch and the maximum reducing sugars were resulted. The optimum α -amylase concentration and volume were 0.05% (w/v) and 5 ml , respectively at 90 ˚C for 2 h and provided the concentration of reducing sugar of 16.43 g/l. Followed by the optimum glucoamylase concentration and volume (0.015 (w/v) and 20 ml) at 60 ˚C for 4 h. The concentration of reducing sugar was 41.78 g/l. After hydrolyzation of sweet potato starch with these two enzymes at optimal conditions and fermented by *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 isolated from Look-pang. The ethanol concentration was 14.55g/l in the case of separate hydrolysis and fermentation process (SHF) in 72 h. For simultaneous saccharification and fermentation process (SSF) , the maximum concentration of ethanol was 12.62 g/l. Ethanol production from sweet potato by using theisolates from look-pang including *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 were carried out liquid state culture.The highest reducing sugar of 2.37 $g \cdot l^{-1}$ was found when used *A.rouxii* MNT 037 and 6% sweet potato starch medium at 30 ˚C , 130 rpm and 48 hour fermentation. Separated enzymatic hydrolysis and fermentation (SHF) was then investigated. The cultivation of *A.rouxii* MNT 037 for 48 hour and followed by *S.cerevisiae* YRK 017 for 72 hour. This process resulted 13.87 $g \cdot l^{-1}$ of ethanol which was more than that produced from simultaneous enzymatic hydrolysis and fermentation (SSF). *A.rouxii* MNT 037 and *S.cerevisiae* YRK 017 were co-cultured for 72 hour and were given 9.51 $g \cdot l^{-1}$ ethanol concentration. Both SHF and SSF were studied at 30 ˚C and 130 rpm in shaked flasks.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... 2
บทคัดย่อภาษาไทย..... 3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... 5
สารบัญเรื่อง..... 6
สารบัญตาราง..... 7
สารบัญรูป..... 8
บทที่ 1 บทนำ..... 9
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 9
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 11
1.3 ขอบเขตงานวิจัย..... 11
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 12
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 13
บทที่ 3 วิธีการทดลอง..... 35
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานและการทดลอง..... 42
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงาน..... 61
บรรณานุกรม..... 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการหมักเอทานอล..... 16
ตารางที่ 2.2 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Saccharomyces*..... 18
ตารางที่ 2.3 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Schizosaccharomyces*..... 19
ตารางที่ 2.4 แสดงส่วนประกอบในหัวมันเทศน้ำหนัก 100 กรัม..... 27
ตารางที่ 4.1 แสดงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสม
ต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ
ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง..... 43
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสม
ต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ
ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง..... 45
ตารางที่ 4.3 แสดงผลความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสม
ต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ
ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง..... 47
ตารางที่ 4.4 แสดงผลปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสม
ต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของ แป้งมันเทศ
ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง..... 49
ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมัก
แป้งมันเทศ โดยกระบวนการ SHF และ SSF เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 51
ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะเขย่า-
ที่ 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 54
ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆ และระยะเวลาหมัก
ที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล..... 56
ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก
แบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) และกระบวนการหมัก
แบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)..... 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างเคมีของเอทานอล....13

รูปที่ 2.2 เซลล์ *Saccharomyces cerevisiae*.... 18

รูปที่ 2.3 วงจรในการแตกหน่อของยีสต์....18

รูปที่ 2.4 เซลล์ *Schizosaccharomyces pombe*....19

รูปที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*.... 20

รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลส....21

รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลเพคติน....22

รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของมันเทศ.... 23

รูปที่ 2.9 การย่อยอะไมโลสด้วยเอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส....28

รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์
แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ....44

รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์
แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ.... 46

รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์
กลูโคอะไมเลสในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ....48

รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส
ในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ.... 50

รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้ราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศ
ในสภาวะอาหารเหลว เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที
อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.... 54

รูปที่ 4.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
ที่เกิดขึ้นจากการหมักของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน....57

รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก
แบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)....60

รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก
แบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation).... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แหล่งพลังงานที่ใช้กันในปัจจุบันนี้ส่วนใหญ่มาจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียม คือ น้ำมันเบนซิน และน้ำมันดีเซล ซึ่งมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ ทำให้ราคาน้ำมันเชื้อเพลิงเหล่านี้เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงมีความพยายามในการหาพลังงานอื่นมาทดแทนในรูปแบบต่างๆ เช่น พลังงานลม น้ำ แสงอาทิตย์ และพลังงานชีวมวล เอทานอล เป็นแหล่งพลังงานใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในขณะนี้ โดยพบว่า 90% ได้จากกระบวนการหมัก (Fermentations) ที่เหลือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา (Synthesis) จากปัญหาเรื่องน้ำมันในตลาดโลกมีราคาแพง ประเทศไทยต้องเสียเงินตราต่างประเทศในการนำเข้าน้ำมัน ประกอบกับอัตราการใช้น้ำมันของประเทศไทยมีอัตราเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วมีพลังงานทดแทนอีกชนิดหนึ่งที่ประเทศเราให้ความสนใจอย่างหนึ่ง คือ แก๊สโซฮอล์ ซึ่งแก๊สโซฮอล์เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงที่ได้จากการผสมระหว่างเอทานอล หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อย และหมักด้วยจุลินทรีย์เพื่อให้ได้เอทานอล จากนั้นนำแอลกอฮอล์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์โดยการกลั่น นำแอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์สูง (99.5%) มาผสมในน้ำมันเบนซินจะได้น้ำมันแก๊สโซฮอล์ มาใช้กับรถยนต์ได้ วัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตเอทานอลมีสามประเภท คือ วัตถุดิบที่ให้น้ำตาล เช่น อ้อย บีทรูท ข้าวฟ่างหวาน กากน้ำตาล และผลไม้ ซึ่งวัตถุดิบประเภทนี้สามารถนำมาหมักเอทานอลได้โดยตรง และวัตถุดิบประเภทแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด รวมทั้งวัตถุดิบประเภทเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ เช่น กากชานอ้อย ซังข้าวโพด (Lin and Tanaka, 2006) แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักธัญพืชได้รับการสนใจมาหลายปีแล้ว วัตถุดิบที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตขึ้นอยู่แต่ละประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกานิยมใช้ข้าวโพด ขณะที่ฝรั่งเศสนิยมใช้ข้าวสาลี มีการศึกษากันมากมายในการนำวัตถุดิบชนิดต่างๆ มาใช้ผลิตเอทานอล เช่น วัสดุประเภทเซลลูโลส (Phillipidis and Smith, 1995) มันสำปะหลัง (Amutha and Gunaskaran, 1994; Parada et al, 1996., Ahn et al, 1995) แป้งสาคู (Pranamuda et al, 1994) ข้าวฟ่าง (Du Preez et al, 1985., Bajomo and Yong, 1994) blackstrap molasses (Johnes et al, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มันเทศ (Sweet Potato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* เป็นพืชในวงศ์ Convolvulaceae เป็นพืชหัวใต้ดินเถาเลื้อยราบไปบนพื้นดิน ปลูกเป็นพืชไร่ มีเนื้อสีหลายสีตามสายพันธุ์ ประเทศไทยสามารถปลูกมันเทศได้ทั่วทุกภาค และปลูกได้ตลอดปี โดยเฉพาะฤดูการทำนา ในปีเพาะปลูก 2546 – 2547 มีพื้นที่ปลูกมันเทศทั้งประเทศรวม 30,905 ไร่ มีปริมาณผลผลิต 56,432 ตัน เฉลี่ยผลผลิต 1.82 ตัน/ไร่ มันเทศที่ปลูกในประเทศไทยมีการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภค ประกอบอาหารคาวหวานเป็นหลัก มีคุณค่าทางเภสัชวิทยา เนื่องจากมีสารเบต้าแคโรทีนที่ลดความเสี่ยงต่อการเกิดเซลล์มะเร็งในอวัยวะภายในของสตรีหลายชนิด เช่น มะเร็งมดลูก มะเร็งรังไข่ มะเร็งเต้านม และมีเกลือโปแตสเซียมช่วยในการรักษาสมดุลของของเหลวในร่างกาย ทำให้การทำงานของหัวใจและความดันโลหิตปกติ (แสงไทย, 2545) นอกจากนี้มันเทศมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่ามันฝรั่ง โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตมีสูงกว่ามันฝรั่งมาก จึงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล

ในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งในระดับอุตสาหกรรม ต้องนำวัตถุดิบเหล่านี้มาผ่านการย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ก่อนที่จะเข้าสู่กระบวนการหมัก (Sanchez et al, 2008) ด้วยจุลินทรีย์ การย่อย (hydrolysis) แป้งด้วยกรดหรือเอนไซม์เป็นการเปลี่ยนแป้งให้อยู่ในรูปน้ำตาลที่หมักได้ (fermentable sugar) ปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้งมากกว่าการใช้กรด เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง แต่ราคาของเอนไซม์ค่อนข้างสูง (Surmely et al, 2004) ซึ่งเอนไซม์ที่นิยมนำมาใช้ในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล เช่น α-amylase, β-amylase, amyloglucosidase เป็นต้น สำหรับการใช้กรดย่อยแป้งมีข้อเสียหลายอย่าง เช่น ผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นจากการใช้กรดย่อยจะไปยับยั้งการเจริญของยีสต์ที่ใช้หมักเอทานอล ต้องมีการปรับสภาพสารที่ผ่านการย่อยด้วยกรดให้มีสภาวะเป็นกลางก่อนนำไปใช้หมัก รวมทั้งอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง แต่มีข้อดี เช่น ปฏิกิริยาเกิดขึ้นรวดเร็ว (Tasic et al, 2009) จากนั้นนำมาหมักด้วยจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) หรือแบคทีเรีย (*Zymomonas mobilis*) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล

ลูกแป้งเหล้าเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์มากมาย โดยเชื้อที่มีบทบาทในกระบวนการหมักสาโทหรือไวน์ข้าวและมีในปริมาณสูง เช่น *Rhizopus oryzae, Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ซึ่งเชื้อราเหล่านี้มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง และมีเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* มีคุณสมบัติในการหมักแอลกอฮอล์ได้สูง (วิมลลักษณ์, 2547) มีการศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้มันเทศเป็นวัตถุดิบ เช่น Yu และคณะ (1994) ศึกษาการหมักแอลกอฮอล์จากมันเทศแห้งโดยใช้เซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึง พบว่ากิจกรรมการหมักเอทานอลของยีสต์ในถังหมักจะสูงและคงที่เป็นเวลามากกว่า 3 เดือน และมากกว่า 6 เดือน เมื่อใช้การหมักในถังหมัก 1 ลิตร (Bench – top scale) และในถังหมักขนาด 1,000 ลิตร (pilot scale) ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการหมักแอลกอฮอล์ในถังหมักทั้งสองแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.8 กรัมเอทานอล/ลิตร.ชั่วโมง และ 9.2 กรัมเอทานอล/ลิตร.ชั่วโมง ตามลำดับ อัตราการใช้แป้งประมาณร้อยละ 90 ค่าทางจลนศาสตร์ของการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์ที่ถูกตรึงได้ทำการศึกษา Wu และคณะ (2009) รายงานว่ามันเทศมีเอนไซม์ β - amylase ซึ่งใช้ในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในปริมาณสูง สำหรับประเทศไทยการนำมันเทศมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอลมีการศึกษาค่อนข้างน้อย งายวิจัยนี้จึงได้สนใจที่จะนำมันเทศมาหมักเอทานอล โดยการใช้เอนไซม์ทางการค้า เช่น α - amylase และ glucoamylase มาใช้ในการย่อยแป้งในมันเทศให้เป็นน้ำตาลที่หมักได้ เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง เช่น *Rhizopus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยมาหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่แยกได้จากลูกแป้งและมีคุณสมบัติในการหมักแอลกอฮอล์ได้สูง เปรียบเทียบผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการใช้เอนไซม์ทางการค้าและการใช้เชื้อรา รวมทั้งศึกษาค่าทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากการใช้มันเทศเป็นวัตถุดิบ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการนำมันเทศ ซึ่งเป็นพืชหัวทางการเกษตรชนิดหนึ่งมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักเอทานอลเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน

2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ทางการค้า เช่น α - amylase และ amyloglucosidase (Sigma, Aldrich) มาย่อยมันเทศ เพื่อให้ได้น้ำตาลที่ยีสต์สามารถนำไปใช้หมักเป็นเอทานอลได้ (fermentable sugar)

3. เพื่อศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า เช่น *Rhizopus oryzae, Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces couxii* มาใช้ย่อยแป้งในมันเทศ เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่ยีสต์สามารถนำไปหมักเป็นเอทานอลได้

4. นำน้ำตาลที่สามารถหมักได้จากข้อ 2 และ 3 มาหมักต่อด้วยเชื้อยีสต์ *S.cerevisiae* เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากข้อ 2 และ 3 และค่าจลนศาสตร์ของการหมักเอทานอลจากมันเทศ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาองค์ประกอบของมันเทศ เพื่อจะได้นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตเอทานอล และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำเอนไซม์ทางการค้า คือ α - amylase และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

amyloglucosidase (Sigma, Aldrich) มาใช้ในการย่อยแป้งในมันเทศ ให้เป็นน้ำตาล (fermentable sugar) ที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้หมักเอทานอล เช่น อุณหภูมิ pH และเวลาในการย่อยของเอนไซม์แต่ละชนิด จากนั้นศึกษาการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า คือ *Rhizopus oryzae Amylomyces rouxii* และ *Aspergillus oryzae*นำมาย่อยแป้งในมันเทศเพื่อให้ได้น้ำตาลที่หมักได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลที่หมักได้สูงสุด มาหมักต่อด้วยยีสต์ *S.cerevisiae* ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลที่สามารถหมักได้เป็นเอทานอล เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการใช้เอนไซม์และการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า และค่าจลนศาสตร์ของการหมักเอทานอลจากมันเทศ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

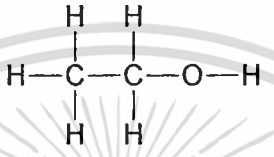
1. สามารถนำมันเทศซึ่งเป็นพืชหัวทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน

2. สามารถควบคุมกระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศโดยใช้กระบวนการการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้าและการใช้จุลินทรีย์โดยตรงเพื่อให้ผลิตเอนไซม์มาย่อยแป้งในมันเทศให้เป็นน้ำตาลที่สามารถหมักได้ และนำมาหมักต่อด้วยเชื้อยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล



รูปที่ 2.1 โครงสร้างเคมีของเอทานอล
ที่มา : Wikipedia® (2008)

เอทานอลเป็นวัสดุใสไม่มีสี ติดไฟได้ เป็นสารเคมีอินทรีย์ที่หมักได้จากพืชในกลุ่มแป้งหรือน้ำตาล เอทานอลเป็นที่รู้จักกันในชื่อทั่วไปว่า "เอทิลแอลกอฮอล์" มีผสมอยู่ในสุราหรือเครื่องดื่มที่ผสมแอลกอฮอล์ทุกชนิดที่ใช้บริโภค เอทานอลมีลักษณะและโครงสร้างเคมีคล้ายกับสารเคมีอินทรีย์อีกชนิดหนึ่งคือ เมทานอล หรือเมทิลแอลกอฮอล์ แต่เมทานอลสกัดจากขบวนการกลั่นวัสดุ ปิโตรเคมีและเป็นวัสดุที่มีพิษเมื่อนำมาบริโภค ส่วนใหญ่ใช้ในอุตสาหกรรมที่ผลิตภัณฑ์ไม่นำมาบริโภคหรือมาใช้โดยตรงกับมนุษย์หรือสัตว์ เอทานอลในทางเคมีเป็นกลุ่มสารประกอบอินทรีย์มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH ซึ่งมีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 2.1 ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และอ๊อกซิเจน เป็นไฮดรอกซิลดิริเวทีฟของไฮโดรคาร์บอน เกิดจากการแทนที่ ไฮโดรเจนอะตอมด้วย hydroxyl group (OH) เอทานอลบริสุทธิ์ (anhydrous) มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซลเซียส คุณสมบัติของเอทานอลใช้เป็นสารเพิ่มอ๊อกเทนในน้ำมันแก๊สโซลีนได้ทำให้มีการใช้ผสมแก๊สโซลีนอย่างแพร่หลายแทนสารผสมที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งมีการค้นพบว่าเป็นสารที่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อมีการรั่วไหลออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะและเคยมีกรณีปนเปื้อนในน้ำดื่มในสหรัฐอเมริกา และหากมีการห้ามใช้ สาร MTBE ผสมในเชื้อเพลิงทำให้มีความต้องการใช้เอทานอลเพิ่มขึ้น (วิโรจน์, 2553)

เอทานอล ถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เหล้า ไวน์ และเบียร์ ใช้ในอุตสาหกรรมยา ใช้เป็นตัวทำละลายในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เช่น สีแล็กเกอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาเคลือบน้ำมัน และขี้ผึ้ง (ครีมขัดรองเท้า) เป็นเรซิน ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์สารเคมีและชีวเคมี ใช้เป็นสารเพิ่มค่าอ๊อกเทนในน้ำมันเบนซินที่เรียกว่าแก๊ซโซฮอล์ ใช้เป็นอาหาร เช่นน้ำส้มสายชู เจลาติน ใช้ทางด้านการแพทย์ เช่น ใช้เช็ดแผล ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้เป็นตัวรีเอเจนต์ในห้องปฏิบัติการและอื่นๆ เป็นต้น (หนังสือพลังงานทดแทนเอทานอล และไบโอดีเซล)

2.2 การผลิตเอทานอล

แหล่งพลังงานที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้มาจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียม คือ น้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล และยังมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ ในทางกลับกันค่าราคาน้ำมันในยุคนี้ยังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหลายประเทศจึงพยายามหาพลังงานอื่นมาทดแทนในรูปแบบต่างๆ เช่น พลังงานลม น้ำ แสงอาทิตย์และพลังงานชีวมวล

เอทานอลเป็นแหล่งพลังงานใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในขณะนี้ พบว่าร้อยละ 90 ได้มาจากกระบวนการหมัก ที่เหลือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา ในกระบวนการผลิตเอทานอลกระบวนการหมักเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่จุลินทรีย์จะเป็นตัวไปเปลี่ยนวัตถุดิบให้กลายมาเป็นเอทานอล (www.nrel.gov)

$$C_6H_{12}O_6 \quad \text{--------} > \quad 2\,CH_3CH_2OH \quad + \quad 2\,CO_2$$

วัตถุดิบ(น้ำตาล) เอทิลแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์

กระบวนการหมักเอทานอล สามารถทำได้ทั้งในระบบต่อเนื่อง (Continuous) และแบบกะ (Batch) แต่กระบวนการหมักส่วนใหญ่ยังคงนิยมใช้แบบกะ เนื่องจากต้นทุนไม่สูงมากและง่ายต่อการควบคุมดูแลรักษา อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักประมาณ 30 – 35 องศาเซลเซียส การที่ใช้อุณหภูมิสูงเนื่องจากต้องการเฉพาะเอทานอล จึงไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงสารที่ให้กลิ่นรส ซึ่งจะเอิดได้น้อย และระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิสูง ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง อีกทั้งยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้อีกด้วย (Hacking และคณะ, 1984)

2.2.1 ขั้นตอนเบื้องต้นในการผลิตเอทานอล แบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมัก
2. การเตรียมหัวเชื้อ และการหมัก
3. การคัดแยกผลิตภัณฑ์เอทานอลและการทำให้บริสุทธิ์
4. การใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์รองและของเสีย

(ที่มา :http://www.science.cmu.ac.th/department/ic/document/pic/dc8.pdf)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขั้นเตรียมวัตถุดิบก่อนกระบวนการหมัก ถ้าใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบก็จะนำมาทำการเจือจางด้วยน้ำ เพื่อปรับความเข้มข้นของน้ำตาลให้เหมาะสม จึงสามารถนำเข้าสู่กระบวนการหมักได้ แต่ถ้าใช้วัตถุดิบประเภทแป้ง ก็จะต้องย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลก่อน โดยการใช้กรดหรือเอนไซม์ โดยทั่วไปแล้วนิยมใช้เอนไซม์ เนื่องจากสะดวก ปฏิกิริยาที่เกิดต่อวัตถุดิบไม่รุนแรง และผลิตภัณฑ์เอทานอลที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงกว่า

ขั้นตอนต่อไปเป็นการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ และเริ่มทำการหมัก โดยสภาวะที่ใช้ในการหมักจะเกิดได้ภายใต้สภาวะที่ไร้ออกซิเจน หรือมีออกซิเจนเล็กน้อย และใช้เวลาในการหมักประมาณ 2-3 วัน จนได้น้ำหมักที่มีเอทานอลผสมอยู่ ในทางปฏิบัติแล้ว ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้ประมาณร้อยละ 95 ส่วนน้ำตาลที่เหลือ ยีสต์ใช้สำหรับการเจริญของเซลล์ หรือเปลี่ยนไปเป็นผลพลอยได้ชนิดอื่นๆ เช่น ฟูเซลออยล์ (Fusel oil) กรดแลกติก กลีเซอรีนและอะซิทัลดีไฮด์ เป็นต้น

น้ำหมักที่ได้จะนำมาผ่านการกลั่นลำดับส่วน ซึ่งจะได้เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 95.6 แต่โดยปกติจะเรียกเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งยังไม่สามารถใช้ผสมลงในน้ำมันเบนซินได้เพราะจะเกิดการแยกชั้นของน้ำกับน้ำมัน จึงต้องมีการใช้เทคโนโลยีเพื่อแยกน้ำออกจากเอทานอล เรียกว่า เอทานอลไร้น้ำ (Anhydrous ethanol หรือ Absolute ethanol) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 99.5 เมื่อเอทานอลที่ได้ มีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 99.5 แล้ว สามารถนำมาผสมกับน้ำมันเบนซิน เป็นน้ำมันแก๊สโซฮอล์ได้ โดยมีขั้นตอนคือ นำเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร อัตราส่วนร้อยละ10 ใส่ลงในถังผสมแล้วเติมสารป้องกันการกัดกร่อน (Corrosion inhibitor) ลงไป จากนั้นเติมน้ำมันเบนซิน 91 หรือน้ำมันเบนซิน 95 ลงไปอัตราส่วนร้อยละ 90 เดินเครื่องสูบหมุนเวียน เพื่อให้น้ำมันและส่วนผสมเข้ากัน ใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที จะได้แก๊สโซฮอล์ (ทนงศักดิ์, 2548)

2.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเอทานอล

วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการหมักเอทานอล สามารถแบ่งออกได้เป็น

2.3.1 น้ำตาล จากวัตถุดิบพวกอ้อย หัวบีท กากน้ำตาลและของเสียจากโรงอาหารบางประเภท

2.3.2 แป้ง วัตถุดิบจากพวกข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลังและอื่นๆ

2.3.3 เซลลูโลส จากวัตถุดิบพวกเศษไม้และของเหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น ชานอ้อย ฟางข้าว ซังข้าวโพด เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น น้ำหางนม น้ำแช่เยื่อกระดาษ น้ำแช่ข้าวโพดและน้ำทิ้งจากโรงงานผลไม้ เป็นต้น

ในบรรดาวัตถุดิบทั้งหลาย น้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่สุดโดยเฉพาะกากน้ำตาล เป็นวัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ส่วนวัตถุดิบประเภทแป้ง เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของแป้งประกอบด้วย อะไมโลส และ อะไมโลเพคติน โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นกลูโคส ดังนั้นจึงต้องใช้เอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาล แล้วจึงนำไปใช้หมักแอลกอฮอล์ นอกจากนี้ยังใช้กรดในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลก็ได้แต่เป็นขั้นตอนที่ไม่เหมาะสมหลายประการ เช่น การกัดกร่อนภาชนะด้วยกรด เป็นต้น

วัตถุดิบประเภทเซลลูโลสจะต้องผ่านขั้นตอนแปรสภาพ โดยอาจใช้การย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น เซลลูเลส หรือด้วยกรด อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนทั้งสองก็มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน

ตารางที่ 2.1 แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการหมักเอทานอล

ชนิดของคาร์โบไฮเดรต	วัตถุดิบที่ใช้	ส่วนประกอบที่ได้จากการย่อยสลาย
ซูโครส	อ้อย บีท กากน้ำตาล	กลูโคสและฟรุคโตส
แป้ง	ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง มันฝรั่ง เผือก	กลูโคส มอลโตส มอลโตไตรโอส และเดกซ์ตริน
เซลลูโลส	ไม้ เศษไม้ ของเหลือจากการเกษตร (ชานอ้อย, ฟางข้าว)	กลูโคส แมนโนส กาแลคโตส อราบิโนส และไซโลส
แลคโตส	น้ำหางนม	กลูโคสและกาแลคโตส

ที่มา : กมล และ สุเปรมปรีดิ์ (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.4 เชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

2.4.1.1 ให้ความเข้มข้นของเอทานอลและมีอัตราการหมักได้เอทานอลสูง

2.4.1.2 ทนต่อเอทานอลที่เกิดขึ้น เนื่องจากถ้าเชื้อจุลินทรีย์มีความไวต่อเอทานอลจะทำให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายปริมาณต่ำ

2.4.1.3 ทนทานต่อสภาวะกรดหรือพีเอชต่ำ

2.4.1.4 มีความสามารถในการตกตะกอน เพื่อแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักได้ง่าย

2.4.1.5 มีความคงตัวทางพันธุกรรม ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย

2.4.1.6 สามารถทนต่อแรงดันออสโมซิสที่เปลี่ยนแปลงไปได้

(ที่มา : www.agro.cmu.ac.th/e_books/.../%BA%B7%B7%D5%E84.ppt)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญ ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการหมักที่ใช้ยีสต์ในการผลิตจัดเป็นอุตสาหกรรมหมักที่ใหญ่ที่สุด มีดังนี้

1. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Alcoholic beverages) ได้แก่เบียร์ และสุราชนิดต่างๆ
2. ยีสต์ในการทำขนมปัง (Bakers' yeast)
3. ยีสต์อาหารคนและอาหารสัตว์ (Food and fodder yeast)
4. แอลกอฮอล์เชื้อเพลิง (Fuel alcohol)

2.4.2 วงจรชีวิตของยีสต์

ยีสต์จีนัส *Saccharomyces* มีรูปร่างเป็นเซลล์เดียว (unicellular) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 ไมครอน เจริญได้ดีในสภาวะที่มี และไม่มีออกซิเจน การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ (ascospore) และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (budding)

2.4.3 ยีสต์ที่ผลิตเอทานอล

2.4.3.1 จีนัส *Saccharomyces*

ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces uvarum, Saccharomyces bataiae, Saccharomyces carlsbergensis, Saccharomyces globosus* โดยเชื้อยีสต์เหล่านี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้แตกต่างกัน (http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301)

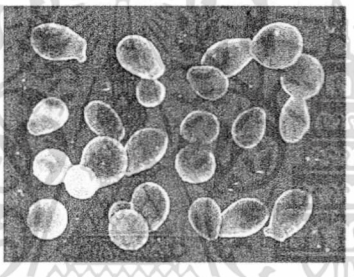
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

131189

ตารางที่ 2.2 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Saccharomyces*

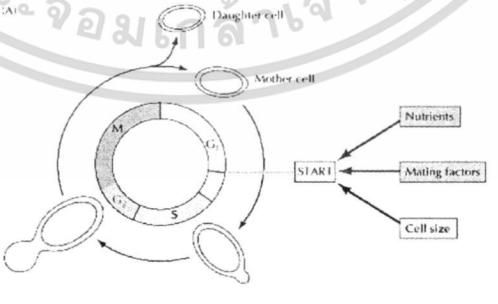
แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ของยีสต์
กลูโคส	ผลิตได้ทุกสายพันธุ์
กาแลคโตส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
ซูโครส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
มอลโตส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
แลคโตส	ไม่มีสายพันธุ์ที่ผลิตได้

ที่มา : กมล และ สุเปรมปรีดิ์ (2540)



รูปที่ 2.2 เซลล์ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : http://www.diwinetaste.com/html/dwt20071/Images/SaccharomycesCerevisiae.jpg



รูปที่ 2.3 วงจรในการแตกหน่อของยีสต์

ที่มา : www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/picrender.fcgi

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

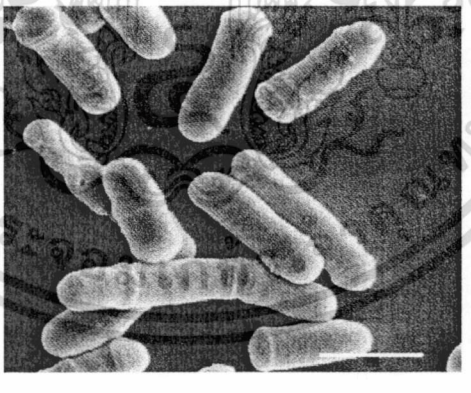
2.4.3.2 จีนัส *Schizosaccharomyces*

ได้แก่ *Schizosaccharomyces pombe, Schizosaccharomyces mellacei, Schizosaccharomyces formosensis, Schizosaccharomyces vordermani* ซึ่งยีสต์เหล่านี้ใช้แหล่งคาร์บอนได้แตกต่างกัน

ตารางที่ 2.3 แสดงแหล่งคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Schizosaccharomyces*

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ของยีสต์
กลูโคส	ผลิตได้ทุกสายพันธุ์
กาแลคโตส	ไม่มีสายพันธุ์ที่ผลิตได้
ซูโครส	ผลิตได้ทุกสายพันธุ์
มอลโตส	ผลิตได้ทุกสายพันธุ์
แลคโตส	ไม่มีสายพันธุ์ที่ผลิตได้

ที่มา : กมล และ สุเปรมปรีดิ์ (2540)



รูปที่ 2.4 เซลล์ *Schizosaccharomyces pombe*

ที่มา : http ://www.bscb.org/newsletter/summer2006/pombe1.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ยีสต์ที่พบในลูกแป้ง

ยีสต์ *Ascomycetous yeast*

Class Ascomycetes

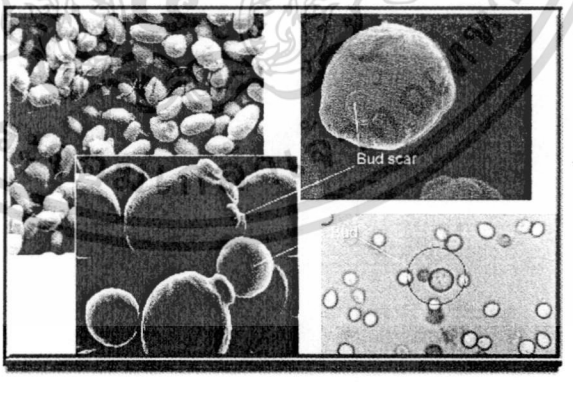
Subclass Hemiascomycetidae

Order Endomycetales

Family Saccharomycetaceae

Genus Saccharomyces sp.

Family *Saccharomycetaceae* ยีสต์จะทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ ยีสต์มีความเกี่ยวข้องในกระบวนการหมักจะมีการสร้าง Ascospores แบบอาศัยเพศอยู่ใน Asci ได้แก่ ยีสต์สกุล *Saccharomyces* sp. และ *Candida* sp. เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติในการหมักน้ำตาลได้ดี ดังนั้น ในกระบวนการหมักผักและผลไม้หรือปลาสดร่วมกับกากน้ำตาล (อาจใช้น้ำตาลทรายแดง น้ำตาลอ้อย) ยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากการหมักวัสดุอินทรีย์ด้วยน้ำตาล (1-2 วัน จะได้กลิ่นแอลกอฮอล์) ยีสต์ในธรรมชาติจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ เนื่องจากได้แหล่งอาหารจากน้ำตาล โดยจะปรากฏอยู่ที่บริเวณผิวหน้าของวัสดุหมักเป็นฟองที่ลอกเป็นฝ้าอยู่ที่ผิวของน้ำหมักอาจจะเรียกว่า TopYeasts เมื่อการหมักลดลงจะตกตะกอนลง



รูปที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : http://158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/

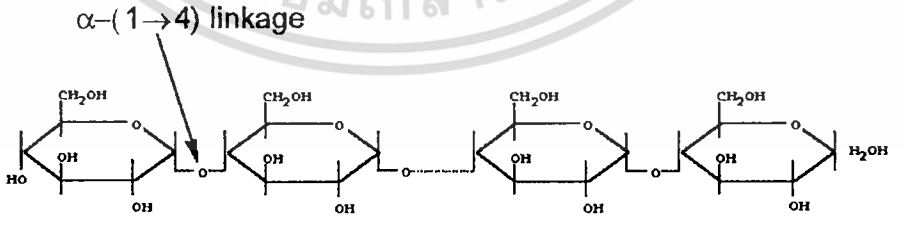
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Montesinos และ Navarro (1999)ได้ทำการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการ SSF จากแป้งข้าวสาลีโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส พบว่า จากการย่อยแป้งเบื้องต้น 6 ชั่วโมง ด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 270 AGUต่อกิโลกรัมของแป้ง ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักประมาณ 60 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสเป็น 540 AGU ต่อกิโลกรัมของแป้ง ระยะเวลาการหมักลดลงเหลือ 21 ชั่วโมง และให้ความเข้มข้นของเอทานอลเท่ากับ 67 กรัมต่อลิตร องค์ประกอบของน้ำตาลในน้ำหมักหลังจากผ่านการย่อยแล้วอาจจะมีปริมาณแตกต่างกันระหว่างการหมักในสองกระบวนการนี้ มอลโทสซึ่งเป็นน้ำตาลที่หมักได้ถูกผลิตในความเข้มข้นที่สูงขึ้นระหว่างกระบวนการย่อย ทำให้กระบวนการหมักใช้เวลาสั้นลง

2.5 แป้ง (พักตร์ประไพ, 2546)

2.5.1 องค์ประกอบภายในแป้ง

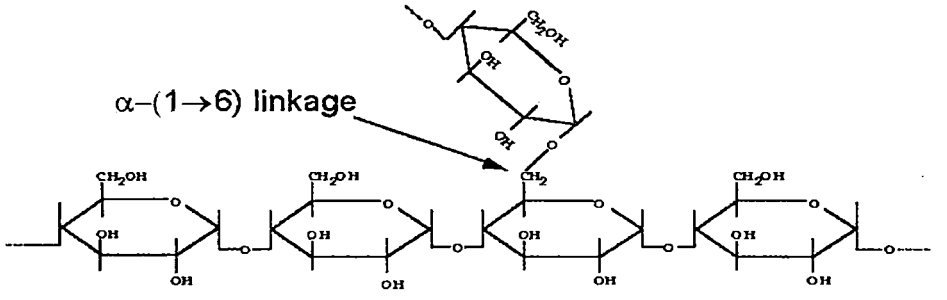
แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอยู่ในพืชซึ่งพบทั้งในใบ ลำต้น ราก ผล และเมล็ด แป้งมีมวลโมเลกุลตั้งแต่ 10,000 ถึง 1,000,000 มีสูตรทั่วไปเป็น $(C_6H_{10}O_5)_n$ นอกจากนั้น ยังพบว่าแป้งประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ 2 ชนิด และทั้งสองชนิดเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส (แป้งเป็นพอลิเมอร์กลูโคสเป็นมอนอเมอร์) แต่มีมวลโมเลกุลและโครงสร้างต่างกัน พอลิแซ็กคาไรด์ทั้งสองชนิดในแป้งได้แก่ อะไมโลส(Amylose) และอะไมโลเปคติน(Amylopectin) โดยปกติในแป้งมีอะไมโลส ประมาณร้อยละ 20-28 นอกนั้นเป็นอะไมโลเปคติน อะไมโลส ประกอบด้วยกลูโคส 250-300 โมเลกุล ซึ่งต่อกันเป็นโซ่ยาวแบบไม่มีกิ่งแต่โซ่ของอะไมโลสขดเป็นเกลียวแบบเฮลิกซ์ (Helix) ส่วนอะไมโลเปคตินบางครั้ง พบว่ามีกลูโคสถึง 1000 โมเลกุล มีโครงสร้างต่างจากอะไมโลส คือ นอกจากกลูโคสต่อเป็นโซ่ยาวแล้วยังต่อแบบเป็นกิ่งด้วย



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลส

ที่มา : www.cheng.cam.ac.uk

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของอะไมโลเพคติน

ที่มา : www.cheng.cam.ac.uk

2.5.2 กลไกการย่อยแป้ง

การย่อยแป้งโดยทั่วไปประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การเจลาติไนเซชัน (gelatinization)

ซึ่งเป็นขั้นตอนการทำให้เม็ดแป้งพองตัว โดยเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำขณะที่ได้รับความร้อน ทำให้เม็ดแป้งพองตัว เรียกอุณหภูมิช่วงนี้ว่า อุณหภูมิการเกิดเจล (gelatinization temperature)

2. การเกิดลิเคอแฟคชัน (Liquefaction)

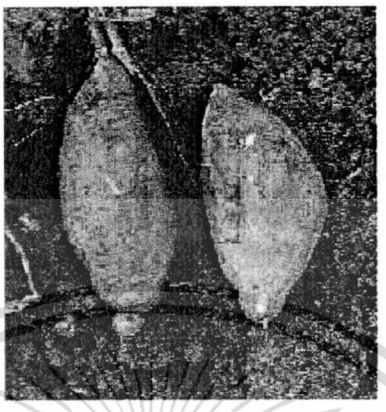
เป็นขั้นตอนการลดความหนืดของแป้งที่เกิดเจล โดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่มของลูกโซ่กลูโคส ทำให้แยกเป็นสายสั้นๆ มีขนาดโมเลกุลเล็กลง และมีความหนืดลดลง กว่า30 ปีที่ผ่านมามีการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแทนการใช้กรดย่อยที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า

3. การเกิดแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification)

เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลภายหลังการย่อยจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลสูงกว่า ผลผลิตที่ได้คือ กลูโคส มอลโทส หรือมอลโทไตรโอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 มันเทศ (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ เล่มที่ 5)



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของมันเทศ

มันเทศเป็นพืชที่เป็นเถาเลื้อยราบไปบนพื้นดิน มีรากสะสมอาหารขยายใหญ่เรียกว่า หัว หัวมันเทศมีคุณประโยชน์มาก เพราะใช้เป็นอาหารของมนุษย์ได้เป็นอย่างดี ใช้มันเทศปรุงอาหารได้ทั้งคาวหวาน อาหารคาว ได้แก่ แกงเลียง แกงคั่วแกงกะหรี่ และแกงมัสมั่น เป็นต้น อาหารหวาน ได้แก่ มันเทศต้มน้ำตาล มันเทศแกงบวด มันเทศทอด มันเทศเชื่อม มันเทศกวน มันเทศฉาบ มันเทศรังนก และมันเทศเผา เป็นต้น หัวมันเทศมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง จึงใช้รับประทานแทนข้าวได้ นอกจากเป็นอาหารของมนุษย์แล้ว มันเทศยังใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ได้อีกด้วย เช่น เป็นอาหารหมู อาหารวัว และอาหารแพะ เป็นต้น มันเทศใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ทั้งหัว เถา และใบ ทั้งยังเป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมได้หลายอย่าง เช่น ใช้ผลิตแป้ง ทำแอลกอฮอล์และน้ำส้มสายชู มันเทศเป็นพืชอาหารที่มีความสำคัญอันดับที่ 5 ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวเจ้า ข้าวโพดและมันฝรั่ง ในประเทศไทยจะปลูกมันเทศกันทั่วๆ ไป แต่ไม่ได้ปลูกในปริมาณมากเพราะมีข้าวเจ้าเป็นอาหารหลักอยู่แล้ว

มันเทศนับว่าเป็นพืชที่เหมาะกับดินฟ้าอากาศของประเทศไทยอย่างยิ่ง เพราะสามารถเจริญเติบโตได้ดี และให้ผลผลิตของหัวค่อนข้างสูง มันเทศปลูกได้ปีละ 2 ครั้ง คือ ในฤดูฝนตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนมิถุนายน และอีกครั้งหนึ่งหลังฤดูฝน คือ ในราวเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน การปลูกมันเทศเริ่มจากการเตรียมดินไถและพรวน 2-3 ครั้ง เสร็จแล้วยกร่องห่างกันประมาณ 1 เมตรความสูงของร่องประมาณ 50 เซนติเมตร แล้วตัดเถามันเทศยาวประมาณ 50 เซนติเมตร ฝังลงไปบนสันร่องห่างกันประมาณ 50 เซนติเมตร จากนั้นก็พรวนดินและกำจัดวัชพืช ถ้าไม่ได้ปลูกใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤดูฝนก็ต้องคอยรดน้ำ มันเทศจะทอดยอดงอกงาม เมื่อคอยต่อไป 90-150 วัน หัวมันเทศก็จะแก่และขุดได้

ในปี พ.ศ. 2516 ประเทศต่างๆ ทั่วโลกผลิตมันเทศได้รวมกัน 133 ล้านตัน ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนผลิตได้มากที่สุด คือ ผลิตได้ 111 ล้านตัน บราซิล 2.3 ล้านตัน อินโดนีเซีย 2.1 ล้านตัน ญี่ปุ่น 2 ล้านตัน สาธารณรัฐเกาหลี 1.6 ล้านตัน สำหรับประเทศไทยในปีเดียวกันผลิตมันเทศเพียงสองแสนแปดหมื่นตันเท่านั้น

ประเทศไทย มันเทศสามารถขึ้นงอกงามได้ทั่วทุกภาค ภาคกลางผลิตมันเทศได้มากที่สุด ภาคเหนือได้น้อยที่สุด ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ประมาณ 1 ตันเศษ จังหวัดนครศรีธรรมราชเป็นจังหวัดที่มีเนื้อที่ปลูกและผลผลิตสูงสุดในประเทศ

2.6.1 ประวัติความเป็นมาของมันเทศ

มันเทศมีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่บริเวณเขตร้อนของทวีปอเมริกา แต่มันเทศที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ไม่มีหลักฐานแน่นอนว่ามีวิวัฒนาการมาจากพืชป่าชนิดใด อย่างไรก็ดีมนุษย์ก็รู้จักปลูกมันเทศมานานนับพันปีแล้ว ในสมัยโบราณนั้นมันเทศเป็นอาหารหลักของมนุษย์สองเขต คือ พวกอินเดียนในอเมริกากลาง และบริเวณเทือกเขาแอนดีส ประเทศเปรู พวกอินเดียนทั้งสองแหล่งนี้ปลูกข้าวโพดเพื่อใช้เป็นอาหารหลัก และในขณะเดียวกันก็ปลูกมันเทศด้วย อีกเขตหนึ่ง คือ ชนเผ่าโพลิเนเชียนที่อาศัยอยู่บนหมู่เกาะต่างๆ ในมหาสมุทรแปซิฟิก และตอนเหนือของเกาะนิวซีแลนด์ เชื่อกันว่ามันเทศที่ชาวโพลิเนเชียนปลูกกันในสมัยก่อนนั้น นำมาจากทวีปอเมริกาในคริสต์ศตวรรษที่ 16 หลังจากชาวยุโรปค้นพบทวีปอเมริกา นักสำรวจชาวสเปนได้นำมันเทศไปสู่ประเทศสเปน จากประเทศสเปนก็แพร่ต่อไปยังประเทศอื่นๆ ในยุโรป

ทางด้านเอเชีย ต้นมันเทศก็ถูกนำมายังอินเดีย ฟิลิปินส์ จีน และญี่ปุ่น โดยนักสำรวจสเปนและโปรตุเกส สำหรับประเทศไทยไม่มีหลักฐานบันทึกว่าได้มีการนำมันเทศเข้ามาปลูกในสมัยใดแต่เข้าใจกันว่ามีผู้นำมันเทศมาแพร่หลายในราวสมัยกรุงศรีอยุธยาเป็นราชธานีเพราะมีเรือสำเภาไปมาค้าขายระหว่างประเทศจีน พวกจีนคงจะได้นำติดมือมา ตามนิสัยที่ไปอยู่ที่ไหนก็หาพันธุ์พืชไปปลูกบริโภค ในปัจจุบันมันเทศปลูกกันทั่วไปในประเทศไทย แต่ส่วนใหญ่แหล่งปลูกเป็นจังหวัดในทางภาคกลาง

2.6.2 การจำแนกมันเทศทางพฤกษศาสตร์

มันเทศถูกลำดับทางพฤกษศาสตร์ ดังนี้

วงศ์ (Family) *Convolvulaceae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกุล (Genus) *Ipomoea*

ชนิด (Species) *Batatas*

2.6.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มันเทศมีชื่อภาษาจีนว่า "ฮวงกั้ว" ชาวพื้นเมืองในอเมริกาใต้ เรียกมันเทศว่า บาตาตาส์ ชาว ยุโรปได้เอาสำเนียงชาวพื้นเมืองไปใช้ และเพี้ยนไปเป็น โพเตโต (potato) เนื่องจากมันมี 2 ชนิดด้วยกัน คือ ชนิดหวานและไม่หวาน ชนิดหวาน เรียกว่า สวีทโพเตโต (sweet potato) คือ มันเทศนั่นเอง ส่วนชนิดไม่หวานเรียกว่า ไอริชโพเตโต (Irish potato) เราเรียกว่ามันฝรั่ง มันเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า อิโพเมีย บาตาตาส (*Ipomoea batatas*) และอยู่ในวงศ์คอนโวลวูลาเซีย (Convolvulaceae) พืชที่อยู่วงศ์นี้ จะพบมากในแถบเส้นศูนย์สูตร และภายใต้แถบศูนย์สูตร มีลำต้นเป็นเถาหรือเป็นพุ่มตั้งตรง และมีจำนวนน้อยที่เป็นประเภทไม้ยืนต้น พืชพวกนี้อาจเจริญในที่แห้งแล้ง ในน้ำ และอาจเป็นพวกตัวเบียน (parasite) โดยทั่วไปแล้วเมื่อใบหรือลำต้นเป็นแผลพืชในวงศ์นี้จะให้น้ำยางสีขาว

สกุลที่สำคัญที่สุดของวงศ์คอนโวลวูลาเซียคืออิโพเมีย ซึ่งมีอยู่ประมาณ 400 ชนิด แต่มีมันเทศเป็นพืชปลูกเพียงชนิดเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยทั่วไปแล้ว สกุลอิโพเมีย เป็นพืชที่มีเถาพันคดเคี้ยวไปมา หรือเลื้อยราบไปบนพื้นดิน และมีจำนวนน้อยที่เป็นพุ่มตั้งตรง

2.6.3.1 ราก

มันเทศมีระบบรากแบบรากฝอย ซึ่งเกิดจากข้อของลำต้นที่ใช้ปลูก หรือเกิดจากลำต้นที่ทอดไปตามพื้นดิน รากมันเทศจะเป็นที่สะสมอาหารและใช้รับประทานได้

2.6.3.2 ใบ

เป็นแบบใบเดี่ยว เกิดสลับกันบนข้อของลำต้น มีขนาดและรูปร่างต่างกัน ความแตกต่างของใบนั้นมิใช่เกิดจากพันธุ์เท่านั้น แม้แต่ในต้นเดียวกันก็อาจมีรูปร่างแตกต่างกันได้ บางใบมีขอบใบเรียบ บางใบมีใบเป็นแฉก และบางใบมีรูปร่างคล้ายหัวใจ เป็นต้น ใบมีขนเล็กน้อย และมักจะมีสีม่วงอยู่ตามเส้นใบ ก้านใบอาจจะยาวหรือสั้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์นั้นๆ

2.6.3.3 ดอก

มันเทศที่ปลูกในเขตอบอุ่นมักไม่ออกดอก ส่วนการปลูกในเขตร้อนจะออกดอก แต่มักไม่ติดเมล็ด ดอกเกิดตามมุมของใบ มีก้านช่อดอก (peduncle) แข็งแรง ซึ่งมักจะยาวกว่าก้านใบ ดอกมีกลีบเลี้ยง (sepal) 5 กลีบ ซึ่งโดยปกติจะแยกเป็น อิสระซึ่งกันและกัน หรืออาจเชื่อมติดกันที่โคนกลีบดอก (petal) มี 5 กลีบ กลีบดอกเหล่านั้นจะเชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย (corolla tube) มีลักษณะคล้ายดอกผักบุ้ง กลีบดอกมีสีชมพูปนม่วง มีเกสรตัวผู้ (stamen) 5 อัน และแยกเป็นอิสระซึ่งกันและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กัน ก้านชูอับเกสรตัวผู้เรียกว่า ก้านอับเกสรมีความยาวไม่เท่ากัน และเชื่อมติดอยู่กับฐานของกลีบดอก รังไข่ มี 2 ส่วน บางดอกอาจจะมี 4 ส่วน แต่ละส่วนจะมีไข่ 1 หรือ 2 ที่รับละอองเกสรตัวผู้ (stigma) มี 2 แฉกอยู่ที่ก้าน (style) เชื่อมติดกับรังไข่

2.6.3.4 ผล

มีเปลือกแข็งหุ้ม มีลักษณะเป็นแคปซูล(capsule) ภายในเปลือกแข็งมีเมล็ดเล็กสีดำค่อนข้างแบน ด้านหนึ่งของเมล็ดเรียบ ส่วนอีกด้านหนึ่งเป็นเหลี่ยม ทางด้านเรียบจะเห็นรอยที่เมล็ดติดกับผนังรังไข่เรียกว่า ไฮลัม (hilum) และมีรูเล็กๆ เรียกว่า ไมโครไพล์ (micropyle) เปลือกของเมล็ดค่อนข้างหนา และน้ำซึมผ่านได้ยาก

2.6.3.5 หัว

มันเทศลงหัวในระดับความลึกไม่เกิน 9 นิ้ว หัวมันเทศเกิดจากการขยายตัวของราก ซึ่งเนื้อเยื่อภายในรากที่เรียกว่าพาเรนไคมา (parenchyma) เป็นส่วนที่สะสมแป้ง รากที่ขยายตัวเป็นหัวขึ้นมาอาจเกิดจากรากของลำต้นที่ใช้ปลูก หรือจากรากที่เกิดจากข้อของลำต้นที่เลื้อยไปตามดินก็ได้ ดังนั้นมันเทศต้นหนึ่งๆ อาจมีหัวมากกว่า 50 หัว ลักษณะหัวส่วนมากมีรูปร่างทรงกระบอก ด้านหัวท้ายเรียวตรงกลางป่องออก สีผิวของหัวและสีของเนื้ออาจจะเป็นสีแดง เหลือง ขาว หรือสีนวลแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ผิวอาจจะเรียบหรือขรุขระและมักจะมีรากแขนงเกิดในร่องของหัว หัวมันเทศนอกจากจะให้อาหารจำพวกแป้งแล้ว ยังอุดมสมบูรณ์ไปด้วยวิตามิน เอ (โดยเฉพาะหัวที่มีสีเหลือง) วิตามิน บี และ ซี อีกด้วย

2.6.4 ประโยชน์

หัวมันเทศมีแป้ง โปรตีน ไขมัน และ วิตามินต่างๆ ค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ได้เป็นอย่างดี คุณค่าอาหารของหัวมันเทศ เมื่อมีน้ำหนัก 100 กรัม จะมีคุณค่าดังตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงส่วนประกอบในหัวมันเทศน้ำหนัก 100 กรัม

ส่วนประกอบ	หัว
น้ำ	70 กรัม
แคลอรี	100 กิโลแคลอรี
แป้ง	25 กรัม
โปรตีน	1.70 กรัม
ไขมัน	0.30 กรัม
เถ้า	1.00 กรัม
แคโรทีน	2000 – 5000 หน่วย
	ในเนื้อหัวสีเหลือง
วิตามินบี ๑	0.10 มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวิน	0.05 มิลลิกรัม
ไนอาซีน	0.70 มิลลิกรัม
วิตามินซี	25 มิลลิกรัม

ที่มา : http://guru.sanook.com/search/knowledge_search.php?qID=&wi=&hnl=&ob=&asc=&q= การจำแนกมันเทศทางพฤกษศาสตร์&select=1&id=1487#ประวัติความเป็นมาของมันเทศ

ประโยชน์ที่ได้จากหัวมันเทศ อาจจำแนกได้ดังนี้

1. ใช้ทำเป็นของคาว เช่น แกงเลียง แกงคั่ว แกงกะหรี่ และแกงมัสมั่น เป็นต้น
2. ใช้ทำเป็นของหวาน เช่น แกงบวด มันทอด รังนก ฉาบ เชื่อม กวน ต้มน้ำตาลและมันปิ้ง
3. ใช้ในอุตสาหกรรมการกลั่นสุรา
4. ใช้เลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะสุกร ให้มันเทศอย่างเดียวหรือผสมกับอาหารอื่นก็ได้

2.7 เอนไซม์อะไมเลสและกลูโคอะไมเลส (พักตร์ประไพ, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์เป็นเอนไซม์ที่ขับออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) คือ เอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ สามารถย่อยแป้งได้

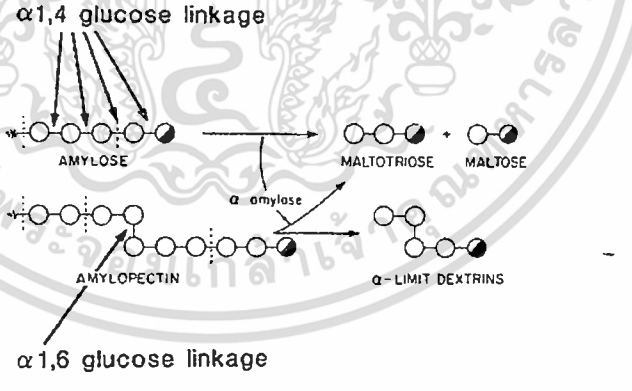
2.7.1 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลสโดยแบ่งตามตำแหน่งการย่อยแป้ง (วารสารศูนย์บริการวิชาการ, 2546)

2.7.1.1 เอ็นโดอะไมเลส (endoamylase)

เป็นอะไมเลสประเภทที่ย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ของอะไมโลส หรืออะไมโลเพคตินแต่ไม่ย่อยพันธะ 1,6-กลูโคซิดิกของอะไมโลเพคติน ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้มอลโตสและกลูโคส เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่แอลฟา-อะไมเลส (□-amylase) หรืออะไมโล (1-4) เด็กซ์ทริเนส (amylo(1-4) dextrinase)

2.7.1.2 เอ็กโซอะไมเลส (exoamylase)

ย่อยแป้งจากปลายสายด้านที่ไม่เกิดการรีดิวส์ เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ เบต้า-อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส สำหรับเบต้า-อะไมเลส หรือ อะไมโล (1-4) มอลโตซิเดส จะย่อยแป้งที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิดิกเข้าไปทีละ 2 หน่วยกลูโคสแต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะที่ต่อแบบพันธะแอลฟา-ดี (1-6) ได้ ผลที่ได้จากการย่อยจึงเป็นน้ำตาลมอลโตส และ ลิมิตเด็กซ์ทริน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย



รูปที่ 2.9 การย่อยอะไมโลสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ที่มา : http://gastroresource.com/GITextbook/en/images/imgchp7/fig9.gif

2.7.2 จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2.1 จากแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* และ *Bacillus licheniformis*

2.7.2.2 จากเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger, A. oryzae*

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่างสายพันธุ์ คุณสมบัติของเอนไซม์จะแตกต่างกัน เช่น เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ผลิตจากแบคทีเรียจะทนอุณหภูมิได้สูงกว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากเชื้อรา

2.7.3 การนำเอาเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส มาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม (ดุษณี, 2537)

2.7.3.1 อุตสาหกรรมทอผ้า

ใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้งที่ตกค้างในผ้า ที่ผ่านการทอแล้ว

2.7.3.2 อุตสาหกรรมขนมปัง

ในการเตรียมแป้งที่ใช้ทำขนมปังจะเติมเอนไซม์อะไมเลสลงไปเพื่อช่วยย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลที่ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นในแป้งหมักทำให้ ขนมปังฟู

2.7.3.3 อุตสาหกรรมเครื่องดื่มน้ำผลไม้

น้ำผลไม้ที่ได้จะมีความขุ่นจากแป้งจึงเติมเอนไซม์เพื่อทำให้ใสขึ้น

2.7.3.4 อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์

2.7.3.5 อุตสาหกรรมการผลิตกลูโคสไซรับเพื่อใช้เป็นสารให้ความหวานในอุตสาหกรรม

2.7.4 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Uhlig, 1998)

เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคส ทั้งพันธะแอลฟา-1,4และพันธะกิ่ง แอลฟา-1,6 โดยที่การตัดพันธะกิ่งช้ากว่าการตัดพันธะแอลฟา-1,4 ในการย่อยแป้งให้ได้กลูโคสจะต้องใช้กลูโคอะไมเลสร่วมกับแอลฟาอะไมเลส เอนไซม์กลูโคอะไมเลสมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50-110 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่พีเอช 3.5-5 และที่อุณหภูมิ ±55 องศาเซลเซียส เอนไซม์กลูโคอะไมเลสพบในจุลินทรีย์ เช่น *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus* spp.

เอนไซม์กลูโคอะไมเลสแบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

2.7.4.1 ชนิดที่สามารถย่อยแป้งดิบได้ หรือ GA-1 (raw starch digestive)

2.7.4.2 ชนิดที่ไม่สามารถย่อยแป้งดิบได้ หรือ GA-11 (raw starch indigestive)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GA-1 เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล เอนไซม์นี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็น GA-1′ และ GA-11′ ได้เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส และแอลฟาแมนโนลิเดสซึ่งทำให้ไม่สามารถย่อยแป้งได้

2.8 กระบวนการผลิตเอทานอล (http://www.vcharkarn.com/varticle/38199)

2.8.1 กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกจากกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation ; SHF)

เป็นกระบวนการผลิตเอทานอลแบบธรรมดามีทั้งหมด 3 ขั้นตอนดังนี้

2.8.1.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ (Preparation of Feedstock)

ซึ่งถ้าเป็นประเภทแป้งหรือเซลลูโลสนั้น จะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยแป้งหรือ เซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลก่อน ด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์เมื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมแล้วสามารถนำไปหมักได้

2.8.1.2 ขั้นตอนการหมัก (Fermentation)

เป็นกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส (Glucose) ไปเป็นเอทานอลโดยอาศัยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอลจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่ใช้ยีสต์สำหรับผลิตเอทานอลซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม *Saccharomyces* มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอลในสภาวะที่ pH มีค่าระหว่าง 3.0 ถึง 5.0 อุณหภูมิระหว่าง 26-32 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของน้ำตาลระหว่าง 16 – 22 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ทั้งนี้ระยะเวลาในการผลิตเอทานอล จะขึ้นอยู่กับปริมาณของยีสต์ที่ใช้

2.8.1.3 ขั้นตอนการกลั่น (Distillation)

เป็นกระบวนการให้ความร้อนในการแยกเอทานอลออกจากของผสมโดยใช้กระบวนการกลั่นตามลำดับ ซึ่งสามารถแยกเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์ประมาณร้อยละ 95 โดยปริมาตร

2.8.2 กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน (Simultaneous saccharification and fermentation; SSF)

กระบวนการหมักเอทานอลโดยระบบ SSF โดยรวมขั้นตอนการย่อยครั้งสุดท้ายเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พร้อมกับการหมักด้วยเชื้อยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน หลังจากย่อยแป้งครั้งแรกด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแล้ว จะทำการเติมเอนไซม์กลูโค อะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมเลสพร้อมเชื้อยีสต์ ทำให้การย่อยแป้งครั้งสุดท้ายด้วยเอนไซม์เกิดขึ้นพร้อมกับการหมักด้วยเชื้อยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาและประหยัดพลังงานของกระบวนการผลิต เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นแป้ง กระบวนการผลิตแบบ SSF น้ำแป้งที่ได้จากการย่อยครั้งแรกจะนำมาใช้ในกระบวนการหมักเลย โดยเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและเชื้อยีสต์เพิ่มลงไปพร้อมกัน ดังนั้น ตัวอย่างน้ำหมักก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักเอทานอลจึงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าสมมูลย์เด็กโทรสต่ำกว่าตัวอย่างที่ได้ เมื่อสิ้นสุดการย่อยครั้งสุดท้ายของกระบวนการผลิต การหมักแบบ SSF จะ ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก โดยที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นก่อนหมักจะมีค่าต่ำ และจะมีค่าต่ำตลอดการหมัก ทั้งนี้ เนื่องจากการหมักแบบ SSF จะทำการย่อยให้น้ำตาลกลูโคสออกมาตลอดเวลา น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจะถูกยีสต์ใช้ไปในทันทีเพื่อหมักเป็นแอลกอฮอล์ทันที ดังนั้น การหมักแบบ SSF จึงไม่มีการสะสมของน้ำตาลกลูโคสช่วยให้ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อยีสต์ดีขึ้นด้วย

2.9 ปัจจัยที่สำคัญต่อการหมักเอทานอล

(www1.mod.go.th/.../etanol%20home%20page%20&%20proposal.doc)

2.9.1 ความเข้มข้นของน้ำตาล

กรณีที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินขีดจำกัด คือ ประมาณร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเกิดการรบกวนของสารตั้งต้นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นได้ยาก การหมักจะเป็นไปอย่างช้าและไม่สมบูรณ์ทำให้เกิดกรดแลกติก กรดน้ำส้ม และสารอินทรีย์ต่างๆ ขึ้นได้ ซึ่งส่วนมากจะเกิดในบรรยากาศของออกซิเจน แต่บางทีสามารถเกิดในบรรยากาศของคาร์บอนไดออกไซด์ได้ โดยปกติแล้วในกระบวนการหมักจะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 18 โดยปริมาตร เพื่อให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้โดยปกติ และให้เอทานอลในปริมาณสูงเหมาะแก่การนำไปกลั่น คือประมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

จากการทดลองการหมักแบบต่อเนื่องของน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส โดยเชื้อ *Zymomonas mobilis* CP4 โดย Buzato และคณะ ในปี ค.ศ. 1994 สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่า 2.6 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง ที่ 0.3 ต่อชั่วโมง 1.8 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง ที่ 0.21 ต่อชั่วโมง และ 2.53 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเจือจาง ที่ 0.32 ต่อชั่วโมง เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ตามลำดับ

2.9.2 ความเข้มข้นของเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่มีเอทานอลในปริมาณมากจะมีผลทำให้การหมักช้าลง และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นเกินขีดจำกัด หรือมีความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่าร้อยละ 15 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ซึ่งขีดจำกัดอาจจะสูงหรือต่ำกว่านี้ ขึ้นกับชนิดของยีสต์ แต่เท่าที่พบจะสูงไม่เกินร้อยละ 18 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ถ้าเกินกว่านี้สามารถขัดขวางและหยุดการทำงานของยีสต์ได้

2.9.3 คาร์บอนไดออกไซด์และความดัน

คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากปฏิกิริยาในการใช้น้ำตาลของยีสต์ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ด้วย ถ้าไม่มีการระบายคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากระบบหมัก ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งถ้าความดันสูงถึง 7.5 บรรยากาศ จะทำให้อัตราเร็วของการหมักลดลงจนกระทั่งความดันสูงถึง 8.0 บรรยากาศ อัตราความเร็วของการหมักจะช้ามากหรือเกือบจะไม่เกิด

2.9.4 ออกซิเจน

ออกซิเจนจะถูกใช้ในการเจริญเติบโตและการแตกหน่อในกระบวนการหายใจ เพื่อทำให้เกิดพลังงานในการดำเนินชีวิต ซึ่งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของยีสต์ในที่มีออกซิเจน จะไม่ให้เอทานอลออกมา แต่จะมีเพียงคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดขึ้นเท่านั้น

2.9.5 กรดน้ำส้มหรือกรดอะซิติก

กรดน้ำส้มหรือกรดอะซิติกจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยความเข้มข้นของกรดที่มากกว่าร้อยละ 0.1 จะมีผลต่อการเจริญเติบโต ถ้ามีกรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทาริกเกิดขึ้นด้วย ก็จะมีผลเช่นเดียวกับกรดน้ำส้ม

2.9.6 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน

ยีสต์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีระหว่าง พีเอช 3-5 จึงมีผลทำให้อัตราการเจริญของยีสต์และอัตราการหมักเพิ่มมากขึ้น ความเป็นกรดจะกีดขวางการเจริญของแบคทีเรียและราบางชนิด ซึ่งความเป็นกรดในช่วงดังกล่าว จะสามารถป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย และราบางชนิดได้

2.9.7 สารเร่งการเจริญเติบโต

นอกจากน้ำตาลแล้ว ยีสต์ยังต้องการสารประกอบอื่นๆ เพื่อการเจริญเติบโต สารเหล่านี้ ได้แก่ วิตามินบีรวม เช่น ไบโอติน ไทอามีน ไรโบฟลาวิน กรดนิโคตินิก และกรดแพนโธทินิก นอกจากนี้ไทอามีนฟอสเฟต ยังเป็นโคแฟคเตอร์ที่ใช้ในการเปลี่ยนกรดไพรูวิก ให้กลายเป็น เอทานอลอีกด้วย

2.9.8 โลหะ

ในพวกธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวจะมีพวกธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม และแมงกานีส ซึ่งเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และในกระบวนการหมักเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทานอลจากกลูโคส ถ้าปริมาณของโลหะมากเกินไป จะกลายเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ สารประกอบพวกซัลเฟอร์จะทำให้ยีสต์แก่เร็ว ส่วนพวกเหล็ก อลูมิเนียม สังกะสี ไม่ค่อยมีผลมากนักต่อปฏิกิริยาการหมัก แต่ถ้าเป็นพวกแคดเมียม ทองแดง ปรอท ออสเมียม และเงิน จะเป็นสารที่ทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปอย่างช้าๆ

2.9.9 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการทำงานของยีสต์ และมีผลทางอ้อมต่อปริมาณเอทานอลและสารประกอบอะโรมาติกต่างๆ อุณหภูมิส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักจะอยู่ประมาณ 10-30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วงนี้ จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เพิ่มมากขึ้นเป็นสองเท่า ถ้าอุณหภูมิสูงมากๆ จะทำให้เอนไซม์ในยีสต์เกิดสภาพว่องไวต่อปฏิกิริยาลดลง ในช่วงระหว่างอุณหภูมิ 55-56 องศาเซลเซียส ซึ่งจะทำให้ยีสต์ตายได้ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของยีสต์ที่นำมาใช้ในการหมัก ถ้าอุณหภูมิในการหมักต่างกัน จะทำให้ผลิตภัณฑ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้นแตกต่างกันได้ เช่น ที่อุณหภูมิการหมักต่ำๆ จะเกิดสารพวกเอสเทอร์ อะซีตอล (ที่มา : http://as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf)

Diez และ Yokoya (1996) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และค่า pH ต่อการผลิตเอทานอลในระหว่างการหมักซูโครส โดยเชื้อ *Zymomonas mobilis* พบว่าอุณหภูมิในช่วงที่ศึกษาที่อุณหภูมิระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส และ pH 5.7 พบว่าที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ทำให้ ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด 0.483 กรัม ต่อน้ำตาล 1 กรัม

นอกจากนั้น Abate และคณะ (1995) ศึกษาการผลิตเอทานอล โดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันของเชื้อ *Zymomonas mobilis* และ *Saccharomyces* sp. ผลิตเอทานอล โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ปริมาณเอทานอล 0.5 กรัมต่อน้ำตาล 1 กรัม และปริมาณเอทานอลที่วัดได้เท่ากับ 1.5 กรัมต่อชั่วโมง

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Srishuwong และคณะ (2009) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันฝรั่งโดยกระบวนการ SSF พบว่าการนำมันฝรั่งมาเตรียมวัตถุดิบ (pretreatment) ด้วยเอนไซม์ โดยใช้เอนไซม์เพกติเนส (pectinase) เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) และเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) ซึ่งสามารถลดความหนืดของมันฝรั่งได้ จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบมาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมันฝรั่งที่ผ่านการย่อยมาเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) 1.65 AGUต่อกรัม เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 30.2 มิลลิโมลาร์ โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 61.5 ชั่วโมง ซึ่งเป็นกระบวนการ Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ในการผลิตเอทานอล ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 16.61 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

Ebrahimi และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเศษขนมปัง พบว่าการนำเศษขนมปังมาใช้เป็นอาหารหมักเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล โดยผ่านการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลใน 2 ขั้นตอน โดยใช้ amylolytic enzyme (การศึกษาครั้งนี้ใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส) การย่อยแป้งข้าวสาลีนำมาใช้ในการเปรียบเทียบผลในการทดลองนี้ ในขั้นตอนแรกคือ กระบวนการลิเคอแฟกชัน(liquefaction) โดยศึกษาผลของอุณหภูมิที่ 50-85 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารตั้งต้นร้อยละ 20 และร้อยละ 35 จากการทดลองพบว่า การนำสารละลายขนมปังร้อยละ 20 มาเข้ากระบวนการลิเคอแฟกชัน เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ร้อยละ 70 โดยไม่คำนึงถึงอุณหภูมิ การนำสารละลายขนมปังร้อยละ 35 มาเข้ากระบวนการลิเคอแฟกชันโดยใช้วิธี fed-batch ได้สารละลายที่มีลักษณะคล้ายแป้งเปียก พบว่าร้อยละ 65 ไม่ละลายที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลที่เรียกว่าแซคคาริฟิเคชัน (saccharification) ทำให้ได้ค่าสมมูลเด็กซ์โทรส(dextrose equivalent ,DE) มากกว่าร้อยละ 95 และเกือบร้อยละ 80 เป็นปริมาณของแข็งที่ไม่ละลาย การหมักเอทานอลจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ทำให้ได้ปริมาณเอทานอล 350 กรัมต่อขนมปังแห้ง 1 กิโลกรัม การใช้ขนมปังที่เก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน แซคคาริฟิเคชัน และผลผลิตของเอทานอลที่ได้

Ohgren และคณะ (2007) ศึกษาการเปรียบเทียบระหว่างกระบวนการ Simultaneous Saccharification and Fermentation และกระบวนการ Separate Hydrolysis and Fermentation โดยใช้ซังข้าวโพดที่ผ่านการ separate ด้วยไอน้ำ พบว่ากระบวนการ SSF และ SHF จะแตกต่างกัน การใช้ปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำร้อยละ 8 จะทำให้การผลิตเอทานอลลดลง ในการทดลองนี้มีการใช้เอนไซม์ 10 FPUต่อกรัมของปริมาณของแข็ง และใช้ความเข้มข้นของยีสต์ในระบบการหมักแบบ SSF 1 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) ของ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เมื่อนำสารละลายทั้งหมดจากการ pretrearment มาใช้ในการทดลองและทำการเจือจางให้ได้ร้อยละ 8 ของปริมาณของแข็ง โดยใช้น้ำและปรับพีเอช พบว่ากระบวนการหมัก SSF จะให้ผลของการผลิตเอทานอลสูงกว่ากระบวนการ SHF ร้อยละ13 โดยกระบวนการ SSF มีผลผลิตเอทานอลร้อยละ72.4 ขณะที่กระบวนการ SHF มีผลผลิตเอทานอลร้อยละ 59.1 ของทฤษฎี มีสารประกอบบางชนิดที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ pretreatment วัตถุดิบมีผลไปยับยั้งการผลิตเอทานอลในกระบวนการ SSF และ SHF ที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3
วิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 จุลินทรีย์

Rhizopus oryzae MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ซึ่งเชื้อราและเชื้อยีสต์เหล่านี้แยกได้จากลูกแป้งเหล้าในประเทศไทย (วิมลลักษณ์, 2547) เก็บรักษาเชื้อโดยเชื้อราเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์เลี้ยงบนอาหาร YM Agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ฮีมาไซโตมิเตอร์
2. กล้องจุลทรรศน์
3. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) ; JULABO
4. เตาอบไมโครเวฟ ; MITSUBISHI
5. ตู้เย็น
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
7. หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave) ; TOMY ES-315
8. ตู้อบความร้อน (Hot air oven) ; MEMMERT 600
9. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ; SHIMADZU 1601
10. เครื่องชั่ง ; METLER PG803
11. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ; ISSCO BVT123
12. เครื่องเขย่าอัตโนมัติ (Automatic Shaker) ; GALLENKAMP

3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (Scharlau)
2. แอมโมเนียมซัลเฟต (Scharlau)
3. แมกนีเซียมซัลเฟต (Scharlau)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ฟอสเฟตทาร์เทรต
5. คอปเปอร์ซัลเฟต
6. ทวีน 80
7. โซเดียมไฮดรอกไซด์
8. โซเดียมซัลเฟต
9. กรดซัลฟูริค
10. กลูโคสแอนไฮดรัส
11. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
12. แคลเซียมคลอไรด์
13. ยีสต์สกัด

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมแป้งมันเทศ

นำมันเทศมาล้างดินออกให้สะอาด หั่นเป็นแผ่นบางๆ ประมาณชิ้นละ 1 มิลลิเมตร นำไปเรียงบนถาดแสตนเลส แล้วนำเข้าอบที่ตู้อบ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จนกระทั่งชิ้นมันเทศแห้ง นำชิ้นมันเทศที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาดรูตะแกรงเบอร์ 35 จะได้ผงแป้งมันเทศมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.188 มิลลิเมตรเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลอง

3.2.2 การเตรียมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase)

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์

3.2.2.1.1 เตรียมโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต ปริมาณ 16.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.2.2.1.2 ปิเปตกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 11.55 มิลลิลิตรละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

เมื่อต้องการเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ให้นำโซเดียมอะซิเตตที่เตรียมได้ ปริมาตร 35.2 มิลลิลิตร ผสมกับกรดอะซิติกที่เตรียมได้ ปริมาตร 14.8 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมดเป็น 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.0 โดยใช้ NaOH 1 โมลาร์ เป็นตัวปรับพีเอชของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสปริมาณ 0.05 , 0.1 , 0.15 และ 0.20 กรัม นำมาละลายด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้หลอดฉีดยาพร้อมชุดกรอง Swinex ซึ่งการกรองเอนไซม์จะกระทำในตู้ปลอดเชื้อ

3.2.3 การเตรียมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017

เขี่ยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 จำนวน 1 ลูป ใส่ลงในฟลาสก์ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth ปริมาตร 75 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสง(optical density ,OD) 0.5

3.2.4 ศึกษากระบวนการลิเคอแฟกชัน (Liquefaction) ของมันเทศ โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

3.2.4.1 ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้วปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที หรือจนกระทั่งแป้งเริ่มมีความหนืดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ในระหว่างการต้มต้องมีการคนแป้งมันเทศตลอดเวลาเพื่อป้องกันการไหม้ เมื่อครบเวลา นำลงจาก Hot plate stirrer และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 , 0.10 , 0.15 และ 0.20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเติมสารละลายเอนไซม์ฟลาสก์ละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Srichuwong, 2009) เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

จากการทดลองคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด มาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.4.2 ศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้วปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที หรือจนกระทั่งแป้งเริ่มมีความหนืดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ในระหว่างการต้มต้องมีการคนแป้งมันเทศตลอดเวลาเพื่อป้องกันการไหม้ เมื่อครบเวลา นำลงจาก Hot plate stirrer และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.1 โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดังนี้ 5,10,15 และ 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

3.2.5 ศึกษากระบวนการแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification) ของมันเทศโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

3.2.5.1 การเตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

เตรียมความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ดังนี้ ร้อยละ 0.005,0.010,0.015 และ 0.020 น้ำหนักโดยปริมาตร โดยการชั่งเอนไซม์กลูโคอะไมเลสปริมาณ 0.005,0.010,0.015 และ 0.020 กรัม นำมาละลายด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้หลอดฉีดยาพร้อมชุดกรอง Swinex ซึ่งการกรองเอนไซม์จะกระทำในตู้ปลอดเชื้อ

3.2.5.2 ศึกษาความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสม ต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสม มาย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) ความเข้มข้นร้อยละ 0.005,0.010,0.015 และ 0.020 โดยเติมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (Srichuwong, 2009) เมื่อครบกำหนดเวลานำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.3 ศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแล้ว มาย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.2.5.2 โดยเติมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสปริมาตร 5,10,15 และ 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

3.2.6 กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation ; SHF)

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยโดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดดังกล่าวข้างต้น นำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ที่แยกได้จากลูกแป้ง โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในขั้นต้น และปริมาณเอทานอลที่ได้โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี (Gas Chromatrography ; GC)

การทดลองนี้ใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี Shimadzu 17A Chromatograph โดยมีแก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา คอลัมน์ที่ใช้ DB-WAX ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิลิตร อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ส่วนตัวตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง (Detector) คือชนิด Flame Ionization Detector (FID)

3.2.7 กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation ; SSF)

นำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษามาแล้วขั้นต้น นำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นต้น และเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ที่แยกได้จากลูกแป้ง โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีในขั้นต้น และปริมาณเอทานอลที่ได้โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟี เปรียบเทียบผลการทดลองกับการหมักในหัวข้อ 3.2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.8 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งมันเทศให้เป็นน้ำตาลได้สูง

นำแป้งมันเทศ 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นจากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ร้อยละ 10 โดยปริมาตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Somogyi Nelson (Nelson , 1944) คัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.9 ศึกษาผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด

แปรผันความเข้มข้นของแป้งมันเทศดังนี้ ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 น้ำหนักโดยปริมาตรโดยนำแป้งมันเทศ 2 4 6 8 และ 10 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น ทำการเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.8 ร้อยละ 10 โดยปริมาตรนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง โดยเก็บน้ำหมักที่หมักได้ในแต่ละฟลาสก์ปริมาตร 10 มิลลิลิตรไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson คัดเลือกความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่เหมาะสมต่อการหมักและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยแป้งมันเทศเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.10 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่ได้คัดเลือกไว้โดยใช้กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separated enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF) และกระบวนการย่อยกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

3.2.10.1 กระบวนการ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)

เตรียมความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.9 ปริมาณ 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมสารแขวนลอยสปอร์จากเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.4 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาหัวข้อ 3.2.9 เมื่อครบกำหนดเติมสารแขวนลอยเซลล์ยีสต์ที่เตรียมไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักต่อเป็นเวลา 3 วัน ที่สภาวะเดิมเก็บปริมาตรน้ำหมักทุก 24 ชั่วโมง โดยนำน้ำหมัก 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยง ที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC)โดยทำการฉีดในสภาวะของก๊าซโครมาโตรกราฟฟี (GC17A Chromatograph shimadzu) ต่อกับเครื่องShimadu ใช้คอลัมน์ DB-WAX (Agilent J&W GC column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร โดยระบบจะทำงานที่อุณหภูมิจาก 60 องศาเซลเซียส ถึง 180 องศาเซลเซียส โดยใช้ฮีเลียมเป็นตัวพาและมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

3.2.10.2 กระบวนการ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

เตรียมความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.9 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรใน ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.8 ลงไปปริมาตรร้อยละ10 และ เติมสารแขวนลอยเซลล์ยีสต์ ร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงไปพร้อมกัน นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันทำการเก็บปริมาตรของน้ำหมักทุก 24 ชั่วโมง โดยนำน้ำหมักปริมาตร 10 มิลลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในกระบวนการ SHF และ SSF

3.2.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Rang Test (DMRT) มีจำนวนซ้ำ 3 และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการดำเนินงานและการทดลอง

4.1 ผลการศึกษากระบวนการลิเคอแฟกชัน (Liquefaction) ของมันเทศ โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

4.1.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้ว ปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสลงไปฟลาสก์ละ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.20 น้ำหนักต่อปริมาตร คือ 19.60 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.1 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Duangjai และคณะ (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งเมล็ดขนุน โดยใช้เอนไซม์และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จากการศึกษาพบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.20 น้ำหนักโดยปริมาตร ย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้ความเข้มข้น ร้อยละ 0.05 0.10 และ 0.15 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นต่างๆ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ในการทดลองต่อไปจึงใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.05 เช่นเดียวกับการทดลองนี้

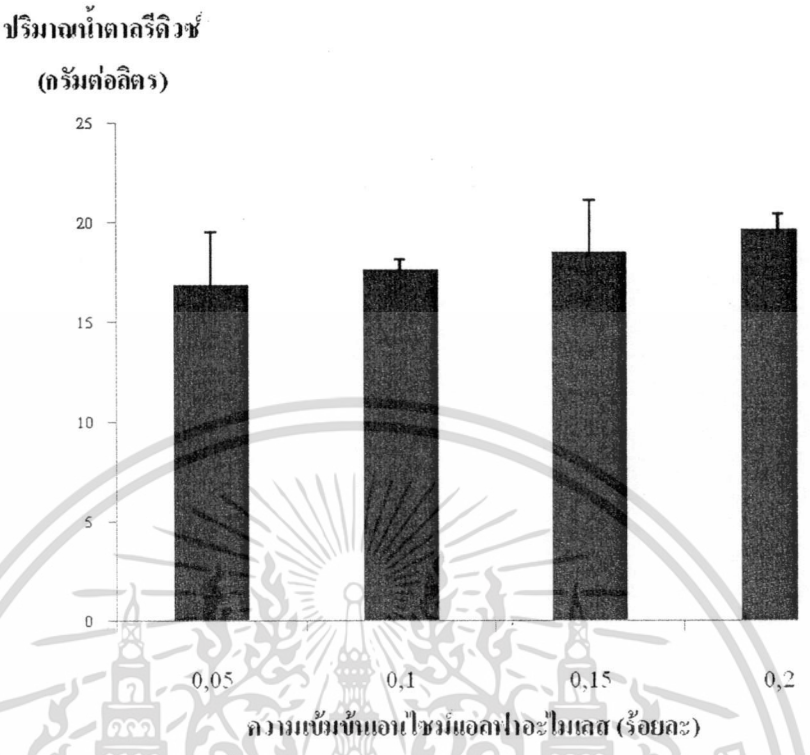
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.05	16.85±2.64 [a]
0.10	17.62 ± 0.46 [a]
0.15	18.46 ± 2.64 [a]
0.20	19.60 ± 0.80 [a]

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ

4.1.2 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้วปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยแปรผันปริมาณของสารละลายเอนไซม์ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 20 มิลลิลิตร คือ 16.47 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในปริมาณ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

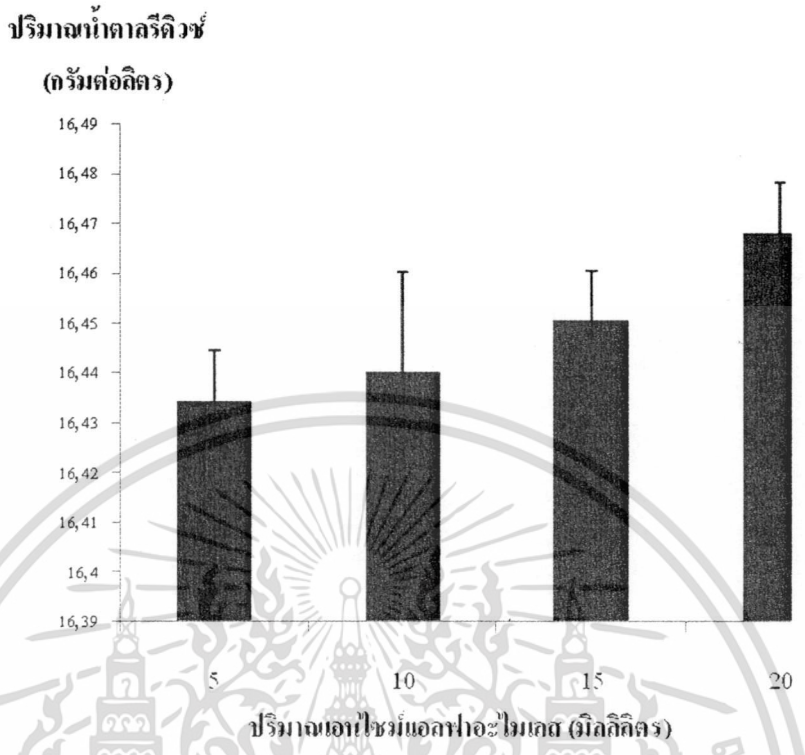
ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P>0.05) แสดงดังตารางที่ 4.2 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Duangjai และคณะ (2010) ซึ่งพบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสปริมาณ 5 10 และ 15 มิลลิลิตร แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้เอนไซม์ปริมาณ 5 10 และ 20 มิลลิลิตร ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกัน ในการทดลองต่อไปจึงได้ใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 5 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการประหยัดปริมาณเอนไซม์ที่ใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
5	16.43 ± 0.01^{a}
10	16.44 ± 0.02^{a}
15	16.45 ± 0.01^{a}
20	16.47 ± 0.01^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ

4.2 ผลการศึกษากระบวนการแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification) ของแป้งมันเทศ โดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

จากการนำแป้งมันเทศมาย่อยด้วยสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยแล้วมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 0.010 0.015 และ 0.020 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเติมสารละลายเอนไซม์ฟลาสก์ละ 10 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

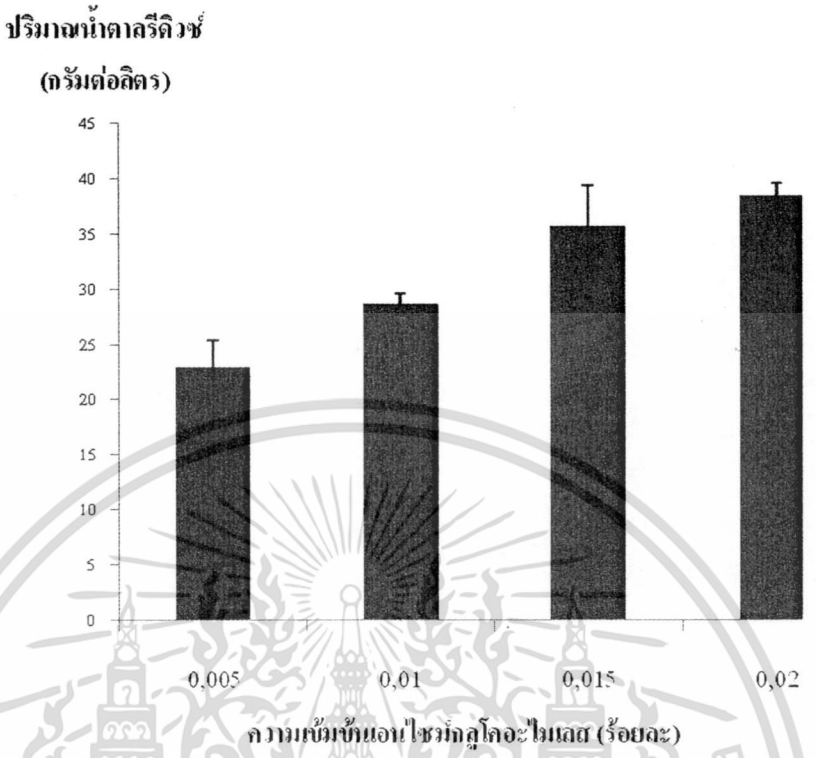
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.020 คือ 38.37 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า การใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.020 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P>0.05$) กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 และมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 และ 0.010 แสดงดังตารางที่ 4.3 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.3 แสดงผลความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.005	22.91 ± 2.45^{c}
0.010	28.59 ± 0.98^{b}
0.015	35.61 ± 3.65^{a}
0.020	38.37 ± 1.21^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะ ไมเลสในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ

4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

จากการนำแป้งมันเทศมาย่อยด้วยสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยแล้วมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.015 โดยเติมสารละลายเอนไซม์ฟลาสก์ละ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 20 มิลลิลิตร คือ 41.78 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในปริมาณ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4 ดังนั้นในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

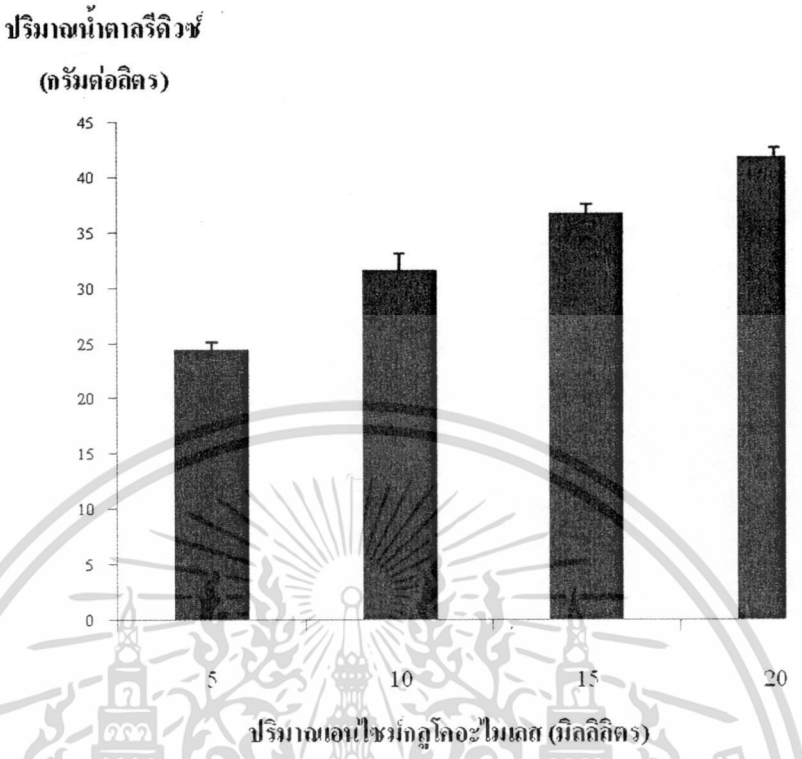
ทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.015 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงผลปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
5	24.43 ± 0.60^{d}
10	31.56 ± 1.45^{c}
15	36.71 ± 0.83^{b}
20	41.78 ± 0.80^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ

Jamai และคณะ (2007) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* แบบอิสระและตรึงเซลล์ โดยสังเกตจากการแสดงออกของเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) และในการผลิตเอทานอลจากแป้ง ทำการเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ *Candida tropicalis* YMEC14 , *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces occidentalis* โดยพบว่า แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสและทำการหมักแป้งด้วยเชื้อ *S. occidentalis* หรือ *C. tropicalis* จะทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น ร้อยละ 100 และพบว่าแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสแล้วทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* จะทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นถึง ร้อยละ 400 เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสมาก่อนแล้วทำการหมักด้วยเชื้อ *S. occidentalis* และในการศึกษาครั้งนี้พบว่าในการหมักแป้งด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* จำเป็นต้องใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ในการย่อยแป้งก่อนการหมักควบคู่กัน เพื่อทำให้เกิดการหมักแป้งที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Eksteen (2003) และ Shigechi (2004) ด้วยเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation ; SHF)

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมแล้วนำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจากกระบวนการหมัก ได้ปริมาณเอทานอล 14.55 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.83 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.5

4.4 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation ; SSF)

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมมาย่อยต่อโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่มีความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมพร้อมกับการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจากกระบวนการนี้ ได้ปริมาณเอทานอล 12.62 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.56 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักแป้งมันเทศโดยกระบวนการ SHF และ SSF เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

กระบวนการหมัก	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	
SHF เวลาที่ใช้ทั้งหมด 78 ชั่วโมง	41.78 ± 0.65	0.83 ±0.06	14.55 ± 0.21
SSF เวลาที่ใช้ทั้งหมด 74 ชั่วโมง	16.43 ± 0.01	0.56 ±0.03	12.62 ±0.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมัก โดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (SHF) ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมัก โดยการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการหมักโดยการทำให้เป็นน้ำตาลแยกจากการหมัก หรือเรียกว่า Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) กระบวนการนี้เป็นการทำให้การย่อยของเอนไซม์ เกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงกว่ากระบวนการหมัก ซึ่งเป็นข้อดีเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิที่สูงในการย่อยของเอนไซม์ จะทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการหมัก ซึ่งต้องใช้อุณหภูมิในการหมักไม่สูงมากนัก (Sderstrm et al, 2005)

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และคณะ (2554) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกทุเรียนโดยใช้เชื้อยีสต์เดี่ยวและเชื้อยีสต์ผสม เปลือกทุเรียนเป็นผลพลอยได้จากผลิตผลทางการเกษตร จึงมีต้นทุนต่ำ การผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกทุเรียนได้นำมาใช้ในการศึกษา โดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมัก (SSF) ได้ศึกษาการปรับสภาพเปลือกทุเรียนโดยการใช้น้ำกลั่น กรดซัลฟูริกเจือจางและโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางที่อุณหภูมิ 121 และ135 องศาเซลเซียส การหมักทำโดยการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง ใช้เปลือกทุเรียน 1.5% สับสเทรตที่ปรับสภาพมาผสมกับเอนไซม์อะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส ไซแลนเนส เซลลูเลส และเพกติเนส จากการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5221 ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 6.19 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF ที่ให้ผลผลิตเอทานอล 5.88 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR5045 ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 5.58 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 5.44 กรัมต่อลิตร และการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5221 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 ร่วมกัน ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 9.39 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 8.83 กรัมต่อลิตร

มีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาการหมักเอทานอลโดยกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF ส่วนใหญ่พบว่ากระบวนการหมักแบบ SSF ให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่ากระบวนการแบบ SHF ดังเช่นงานวิจัยของ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร (2554) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 *S. cerevisiae* KM1195 *S. cerevisiae* KM72553 และเชื้อยีสต์ผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR5048 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 จากการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* KM1195 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 3.57 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR5048 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 พบว่าจากการหมักในกระบวนการ SHF ให้ผลผลิตเอทานอล 3.35 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ซึ่งให้ผลผลิตเอทานอล 3.22 กรัมต่อลิตร

Nikolic et al (2009) ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งข้าวโพดโดยกระบวนการ simultaneous enzymatic saccharification and fermentation (SSF) โดยใช้เซลล์ตรึงรูปของ *Saccharomyces cereviae* var *ellipsoideus* พบว่าปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้คือ ร้อยละ 9.42น้ำหนักต่อน้ำหนัก จะได้หลังจากการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงโดยใช้กระบวน SSF ขณะที่เมื่อการใช้กระบวนการหมักแบบ SHF จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.01 น้ำหนักต่อน้ำหนัก ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากระบวนการ SSF จะมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมากกว่า ใช้พลังงานน้อยกว่ากระบวนการ SHF และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการหมักเอทานอล พบว่ากระบวนการ SSF สามารถลดเวลาในการหมักลงได้ 4 ชั่วโมง (ในขั้นตอน saccharification) ซึ่งทำให้ประหยัดพลังงานและกระบวนการ SSF สามารถเกิดขึ้นได้ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (55 องศาเซลเซียส)

4.5 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูง

ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลของเชื้อราแต่ละชนิด โดยเลี้ยงบนแป้งมันเทศเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยนำแป้งมันเทศ 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037, *Aspergillus oryzae* MNT 029 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บส่วนใสที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีการ Somogyi Nelson จากการทดลองพบว่า การใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 26.79 กรัมต่อลิตร ขณะที่ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.17 และ7.88 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.6 นำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อราทั้งสามชนิดมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้เชื้อราทั้งสามชนิด มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) จึงได้คัดเลือกเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มาใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ ศศิมา และคณะ (2552)

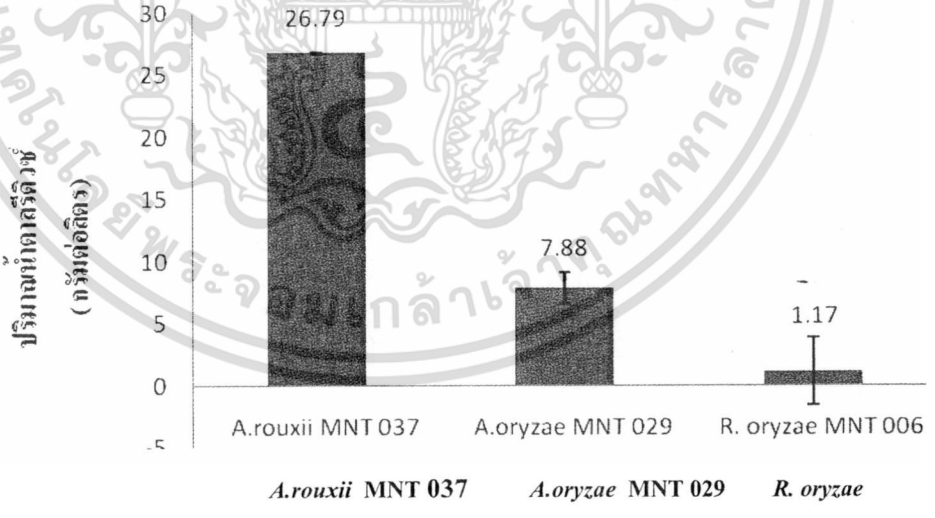
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า พบว่าการใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้เชื้อ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะเขย่าที่ 130 รอบต่อนาทีที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของเชื้อรา	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
Rhizopus oryzae MNT 006	1.17 ± 0.04^{c}
Aspergillus oryzae MNT 029	7.88 ± 1.24^{b}
Amylomyces rouxii MNT 037	26.79 ± 2.72^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้ราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะอาหารเหลว เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037

จากการศึกษาความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะสูงสุดที่ 48 ชั่วโมงของการหมักทุกความเข้มข้นของแป้งมันเทศ เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงตามระยะการหมัก อาจเนื่องมาจาก เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มีการเจริญมากขึ้น ในขณะที่สับสเตรทจะถูกใช้ไปเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มใส่เชื้อ ทำให้สับสเตรทมีปริมาณลดลง จึงไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 และเมื่อใช้แป้งมันเทศ ร้อยละ 6 8 และ 10 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง คือ 43.81 48.77 และ 56.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้แป้งมันเทศ ความเข้มข้นร้อยละ 6 8 และ 10 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($P > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.7 และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะของสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 6 จะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว มีความหนืดเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 ซึ่งจะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว และมีความหนืดสูง ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองจะสอดคล้องกับการทดลองของ Talisa และคณะ (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะ หลังโดยใช้เชื้อที่แยกได้จาก Tan-koji และ *S. cerevisiae* จากการทดลองหัวข้อนี้ จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 6 และหมักโดยใช้ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง มาใช้ในการศึกษาต่อไป Yuwa (2010) ศึกษาการปลดปล่อยน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้ง โดยใช้เชื้อรา 2 ชนิด คือ *Rhizopus* sp.#2Bu และ *Rhizopus* sp.#3Bu ย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังที่สุกแล้ว พบว่า ปริมาณน้ำตาลถูกสร้างขึ้นมาในระยะเวลาต่างๆ ของการย่อยแป้งโดยเอนไซม์จากเชื้อราทั้งสองชนิด น้ำตาลที่สร้างขึ้นมาเชื้อราเหล่านี้ใช้ในการเจริญ และน้ำตาลส่วนที่เหลือจะถูกวิเคราะห์ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ที่หลงเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้แป้งตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกมาจะเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะเชื้อ *Rhizopus* sp.#3Bu จะใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าเชื้อ *Rhizopus* sp.#2Bu ที่ความเข้มข้นต่างๆของแป้งพบว่าแป้งที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 หมักเป็นเวลา 3 วัน โดยจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 15.55 กรัมต่อลิตร

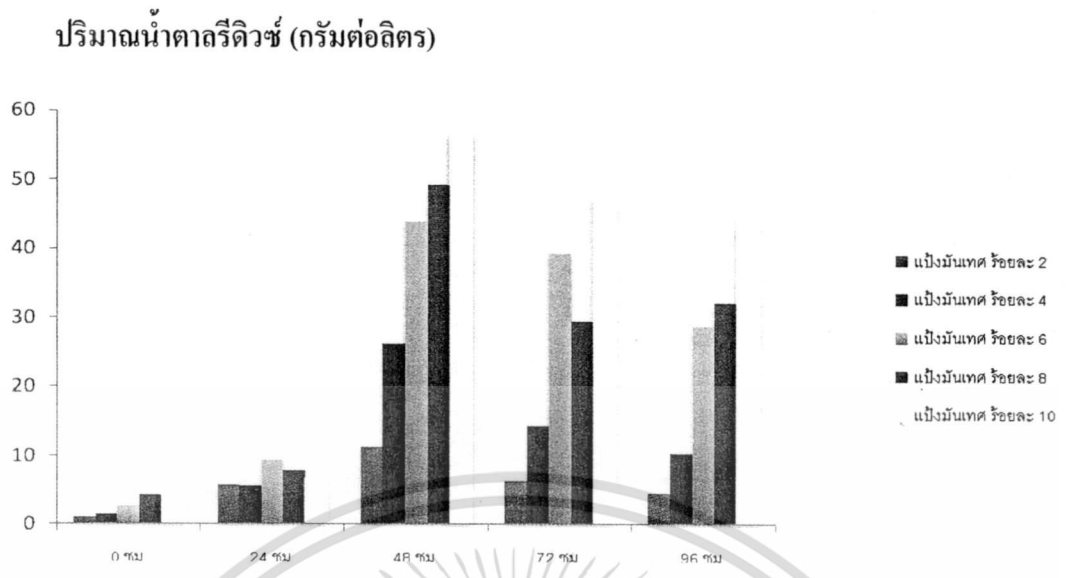
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆและระยะเวลาหมักที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

ปริมาณความเข้มข้นของแป้งมันเทศ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่เวลา					
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.	120 ชม.
ร้อยละ 2	1.05 ±0.05 ^{c}	5.74 ± 3.85 ^{a}	11.27 ± 0.53 ^{c}	6.38±0.76 ^{c}	4.58 ± 3.01 ^{c}	1.56 ± 0.30 ^{c}
ร้อยละ 4	1.47 ± 0.01 ^{c}	5.64± 0.62 ^{a}	25.90 ± 3.34 ^{bc}	14.30 ± 2.60 ^{bc}	10.37 ± 3.05 ^{c}	5.06± 0.02 ^{c}
ร้อยละ 6	2.59 ± 0.13 ^{b}	9.28 ± 4.84 ^{a}	43.81 ± 28.10 ^{ab}	29.76 ± 21.11 ^{ab}	28.98 ± 8.63 ^{b}	25.30 ± 0.77 ^{b}
ร้อยละ 8	4.18 ± 0.14 ^{a}	7.78 ± 1.04 ^{a}	48.77 ± 3.78 ^{ab}	39.17 ± 0.57 ^{a}	34.98 ± 7.13 ^{ab}	25.81 ± 0.64 ^{b}
ร้อยละ 10	4.22 ± 0.15 ^{a}	6.64 ± 0.19 ^{a}	56.77 ± 11.08 ^{a}	47.46 ± 3.04 ^{a}	44.74 ± 3.53 ^{a}	57.28 ± 8.83 ^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน

4.7 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 และเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดย กระบวนการย่อยแยกจากการหมัก (Separated Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF) และ กระบวนการย่อยกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

4.7.1 กระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (Separated Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF)

จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตรหมักด้วยเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ปริมาตรร้อยละ 10 หมักต่อ 72 ชั่วโมง ที่สภาวะเดิม เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ใช้น้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยของ *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนไปเป็นเอทานอล เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีดิวซ์ที่ลดลง เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักที่ระยะเวลา 24 48 และ72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.8

4.7.2 กระบวนการย่อยสลายกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะการหมักนานขึ้น ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้น ใน 72 ชั่วโมง ขบวนการหมักจะให้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักที่ 72 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในชั่วโมงที่ 24 และ48 แสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF และSSF พบว่า จากการหมักโดยกระบวน SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF โดยพบว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอล 13.81 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 ของการหมักโดยใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมงขณะที่ใช้กระบวนการ SSF ใช้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Marques และคณะ (2008) ศึกษาการนำตะกอนที่ได้จากกระบวนการผลิตกระดาษมาผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการ SHF และ SSF โดยเชื้อ *Pichia stipitis* พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการ SHF คือ 19.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 179 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล 18.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 48 ชั่วโมง Saha และ Cotta (2006) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากฟางข้าวสาลีที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า การหมักโดยกระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมักแบบ SSF โดยมีปริมาณเอทานอล 18.9±0.9 กรัมต่อลิตร และ 15.1±0.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ กระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF จะเสร็จสมบูรณ์ภายใน 48 ชั่วโมงของการหมักโดยกระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการSSF หลังจาก 48 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลจะคงที่หรือลดลงเล็กน้อย Saha และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เปลือกข้าวที่ผ่านการบำบัดด้วยปูนขาวและใช้เอนไซม์ย่อยให้เป็นน้ำตาล จากนั้นนำมาหมักเอทานอล จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้กระบวนการหมักแบบ SHF ขั้นตอนในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ย่อยใช้เวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมักด้วย Recombinant *E.coli* strain FRR 5 ใช้เวลาหมัก 19 ชั่วโมง รวมเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 99 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตเอทานอล 9.8 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ขณะที่ใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาเพียง 53 ชั่วโมง และให้ผลผลิตเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

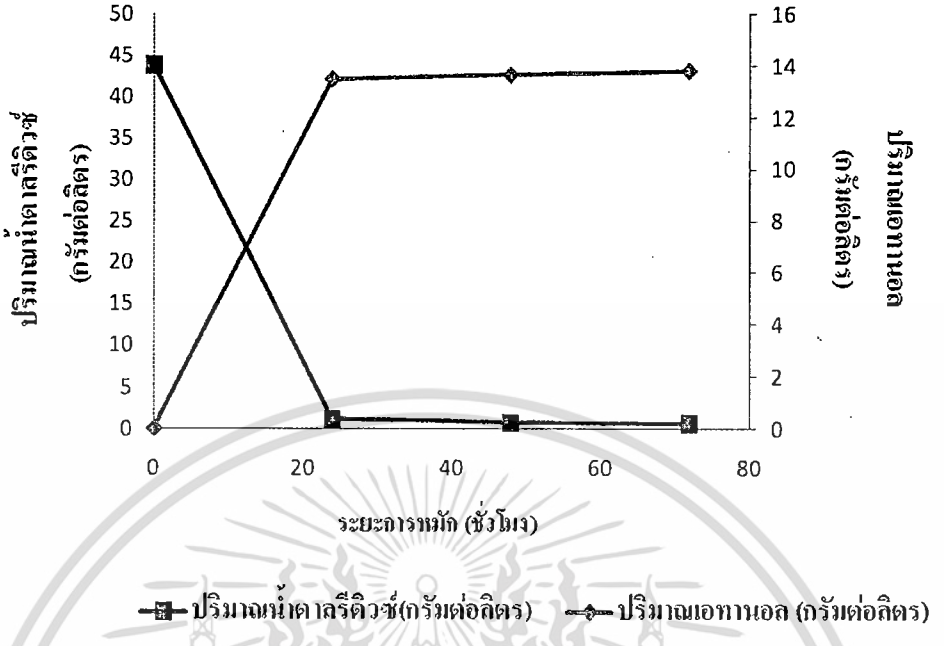
ทานอล 11.0 ± 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะระยะเวลาที่ใช้หมัก จะเห็นได้ว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ใช้เวลาในการหมักจริงน้อยกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF คือ 19 และ 53 ชั่วโมง ตามลำดับ Yuwa (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อราที่คัดเลือกได้จากลูกแป้งและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiea* พบว่า *Rhizopus* sp.#3Bu ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 25.9 จากการใช้แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6 ที่เวลา 72 ชั่วโมง การหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมของ *Rhizopus* sp.#3Bu และ S. *cerevisiea* 5088 โดยเติมเชื้อยีสต์หมักเอทานอลภายหลังการเติมเชื้อราที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเอทานอลจะได้สูงสุดหลังจากเติมเชื้อราที่ 24 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณเอทานอล 14.36 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) และกระบวนการหมักแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

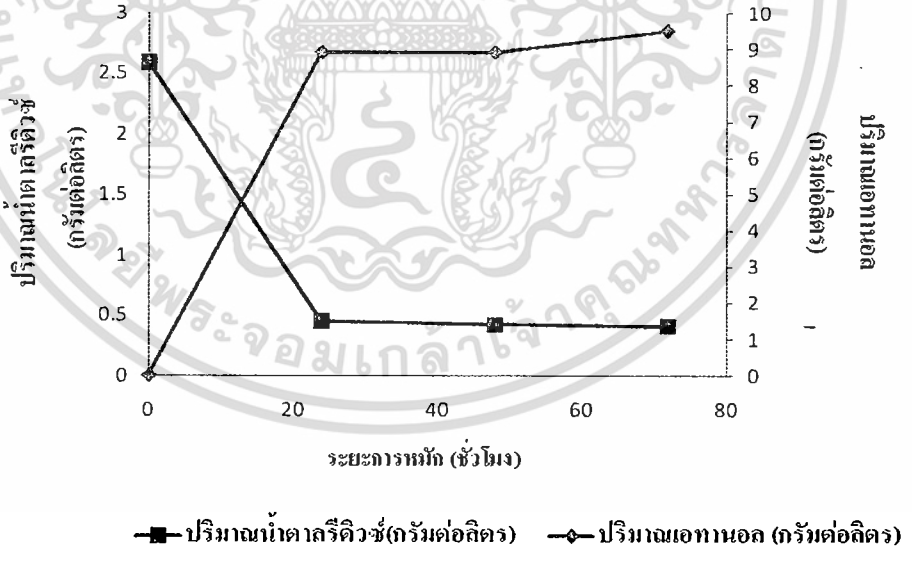
ระยะการหมัก (ชั่วโมง)	กระบวนการหมักแบบ SHF ใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมง			กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง		
	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
4	1.41 ± 0.06^{a}	13.49 ± 0.22^{a}	0.55 ± 0.01^{a}	0.45 ± 0.01^{a}	8.91 ± 0.10^{b}	0.36 ± 0.01^{b}
8	0.73 ± 0.03^{b}	13.65 ± 0.77^{a}	0.56 ± 0.03^{a}	0.42 ± 0.01^{b}	8.89 ± 0.24^{b}	0.36 ± 0.01^{b}
2	0.62 ± 0.02^{c}	13.81 ± 0.22^{a}	0.57 ± 0.01^{a}	0.41 ± 0.02^{b}	9.51 ± 0.16^{a}	0.39 ± 0.01^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแนวตั้งตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินงาน

จากการศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เอนไซม์และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า พบว่าความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ คือ การใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.43 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน คือ การใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.015 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 41.78 กรัมต่อลิตร

ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศ พบว่าจากกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation ; SHF) โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมย่อยแป้งมันเทศให้เป็นน้ำตาลและทำการหมักเอทานอลโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 14.55 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้ปริมาณเอทานอลมากกว่าในกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation ; SSF) ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล 12.62 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษากระบวนผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า ซึ่งประกอบด้วยเชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 หมักในสภาวะอาหารเหลว จากการทดลองการคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง พบว่าการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด และจากการทดลองหาความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้ง เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 พบว่าความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 43.81 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอล จากกระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF) โดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักต่ออีก 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 13.87 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมด 120 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบกระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (SSF) โดยเติมเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.51 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 72 ชั่วโมง ในกระบวนการ SHF และ SSF หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาทีเช่นเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองจะเห็นว่าเราควรจะเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF เพราะปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ SSF และ SHF ต่างกันไม่มากนัก โดยกระบวนการ SSF ใช้เวลาในการผลิตที่น้อยกว่ากระบวนการ SHF ถึง 48 ชั่วโมง และ ยังประหยัดพลังงานมากกว่า โดยที่เรานำเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 มาใช้ในการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กมล **ตันติรักษ์** และสุเปรมปรีดิ์ **สุพรหมอินทร์**. 2540. การศึกษาการอยู่ร่วมกันของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces carlsbergensis* ATCC 44732 และ *Schizosaccharomyces pombe* ATCC 2476 ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล.โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร. 2554. การศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแยกจากการหมักและการทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมักจากใบมันสำปะหลัง. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 45 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วันที่ 1-4 กุมภาพันธ์. สาขาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 314-320

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจรและณัตติยา จันทวงษา. 2554. การศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกทุเรียนโดยใช้เชื้อยีสต์เดี่ยวและเชื้อยีสต์ผสม. การประชุมวิชาการครั้งที่ 45 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วันที่ 1-4 กุมภาพันธ์. สาขาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 242-249

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเหล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

ดวงพร คันธโชติ. 2530. ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์ กรุงเทพฯ

ทนงศักดิ์ วงษ์ลา. 2548. น้ำมันแก๊สโซฮอล์ พลังงานเพื่ออนาคต. วารสารนโยบายพลังงาน ฉบับที่ 69,32-37

ธีรภัทร ศรีนรคุตร เลิศลักษณ์ แก้ววิมล และ ละเอียด แซ่โง้ว. 2549. การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 77-84

พนิดา สุริยะพันธ์. 2554. การคัดแยกยีสต์ทนร้อนที่สามารถใช้ไซโลสเพื่อการผลิตเอทานอล.การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. หน้า 400 – 405.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พักตร์ประไพ ประจำเมือง. 2546. เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง. วารสารศูนย์บริการวิชาการ ฉบับที่ 4, 28-31

ยุทธศักดิ์ สุบการี. 2551. สภาพที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation ,(SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 62 หน้า

วิมลลักษณ์ รัตนปรีดากุล. 2549. การศึกษาเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าเปรียบเทียบกับเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตสาโท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 5. 2523. พืชหัว

Abate, C., Callieri, D., Rodriguez, E. and Garro, O. 1995. Ethanol Production by a Mixed Culture of Flocculent Strains of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces* sp. Applied Microbiology and Biotechnology. 45:580-583

Amonpitak,T.Y. 2010. Ethanol production from cassava starch by selected fungi from Tan-Koji and *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology. 9(1), 84-88.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International 16th Edition. (ED) Patricia cunniff. AOAC International. Arlington.

Baks, T., Janssen, A. and Boom, R. 2006. The Effect of Carbohydrate on Alpha-amylase Activity Measurements. Enzyme and Microbial Technology. 39:114-119

Chaplin, M. 2001. Production of glucose syrup. [online]Jan17 . Availablefromhttp:// www.sbu.ac.uk /biology/enztech/glucose.html.

Diez, J.C. and Yokota, F. 1996. Effect of Temperature and pH on Ethanol and Levan Production during Sucrose Fermentation by *Zymomonas mobilis*. Arquivos-de-Biologia-e-Technologia. 36 : 1, 129-137

Douglas, W. and Mitchinson, C. 1997. Enzymes involved in the processing of starch to sugars. Trends in Biotechnology . 349-352.

Dubois, M., Gilles K.A. and Smith, J. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugar and Related Substances. Anal. Chem. 28, 350-365

Ebrahimia, F., Khanahmadib, M., Roodpeymaa, S., Mohammad, J. 2008. Ethanol Production

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

from Bread Residues. Biomass and Bioenergy. 32 : 333 – 337

Hacking, A.J., Taylor, I.W.F. and Hanas, C.M. 1984. Selection of Yeast Able to Produce Ethanol from Glucose at 40°c. Applied Microbiology and Biotechnology. 19 : 361-363.

Jamai, L., Ettayebi, K ., Yamani, J., Ettayebi, M., 2007. Production of Ethanol from Starch by Free and Immobilized *Candida tropicalis* in the Presence of -amylase. Bioresource Technology. 98: 2765–2770

Jekel, M. 2005. Gas Chromatography Determination of Ethanol in Wine by Head-Speace Gas Chromatography. Department of Agro-Industry, Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkram Rajabhat University.

Nelson, N. 1944. A Photometric Adaptation of Somogyi Method for The Determination of Glucose. J. Biol. Chem. 153: 375-380

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

Nikolic, S., Mojovic, L., Rakin, M and Pejin, D. 2009. Bioethanol Production from Corn Meal by Simultaneous Enzymatic Saccharification and Fermentation with Immobilized Cells of *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus*. Fuel

Marques, S., Alves, L., Roseiro, J.C. and Girio, F.M. 2008. Conversion of Recycled Paper Sludge to Ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipitis*, Department of Biotechnology, INETI, Portugal

Mukojimab, N., Tokuyasua K. 2 0 0 9. Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) of Very High Gravity (VHG) Potato Mash for The Production of Ethanol. Biomass and Bioenergy. 33: 890-898

Rattanachomsri, U., Tanapongpipat, S., Eurwilaichitr, L. and Champreda, V. 2010. Simultaneous Non-Thermal Saccharification of Cassava Pulp by Multi-Enzyme Activity and Ethanol Fermentation by *Candida tropicalis*, Enzyme Technology Laboratory, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Thailand

Ohgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J and Zacchi, G., 2007. A Comparison between Simultaneous Saccharification and Fermentation and Separate Hydrolysis and Fermentation Using Steam-Pretreated Corn Stover. Process Biochemistry, 42:834-839

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ochaikul, D., Poungmalee, B., Yimyai, T and Keawkaew, S. 2010. Production of Ethanol from Jackfruit Seeds Starch by Enzymatic Hydrolyzation and *Saccharomyces cerevisiae* Fermentation. Proceeding of NZMS NZSBMB Joint Meeting, 30 November-3 December, The University of Auckland, New Zeland.

Rogers, P. , Tribe, D. and Lee, J. 1979. Kinetics of alcohol production by *Zymomonas mobilis* at high sugar concentrations. Biomass and Bioenergy. 165–170.

Saha, C. B. and Cotta , M. A. 2006. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. Biotechnol . Prog . 22: 449 – 453.

Saha, C. B. and Cotta , A. M. 2008. Lime pretreatment,enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol.Biomass and Bioenergy 32 : 971 – 977.

Srichuwonga, S., Fujiwara, M., Wanga, X., Seyama, T., Shiroma, R., Arakanea, M., Uhlig, H. 1998. Industrial Enzymes and Their Application. New York : John Wiley and Sons, Inc.

Zhao, J. and Xia, L. 2010. Ethanol Production from Corn Stover Hemicellulosic Hydrolysate Using Immobilized Recombinant Yeast Cells, Department of Chemical and Biochemical Engineering, Zhejiang University, China

[Online]. Available : www.doae.go.th

[Online].Available : http://www.agro.cmu.ac.th/e_books/.../%BA%B7%B7%D5%E84.ppt

[Online].Available : http://www.pttplc.com

[Online].Available : http://www.science.cmu.ac.th/department/ic/document/pic/dc8.pdf

[Online].Available : http ://www.bscb.org/newsletter/summer2006/pombe1.jpg

[Online].Available : http ://www. cheng.cam.ac.uk

[Online].Available : http://as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf

[Online].Available : http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2549/biol0649sl_app.pdf

[Online].Available : http://www.chemtrack.org/Board-Detail.asp?TID=0&ID=357

[Online].Available : http://www.dede.go.th/dede/index.php?id=518

[Online].Available : http://www.diwinetaste.com/html/dwt200701/images/Saccharomyces Cerevisiae.jpg

[Online].Available : http://gastroresource.com/GITextbook/en/images/imgchp7/fig9.gif

[Online].Available : http://las.perkinelmer.com/local/Thailand/AS_GC.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/picrender.fcgi

[Online].Available : www.psmc2006.com/%E0%CD%B8%D2%B9%CD%C5-III.pdf

[Online].Available : http://www.research.sci.ubu.ac.th/SystemResearch/Detail/detail _Proj.php?index=2551A11702020

[Online].Available:http://guru.sanook.com/search/knowledge_search.php?qID=&wi=&hnl= &ob=&asc=&q=การจำแนกมันเทศทางพฤกษศาสตร์&select=1&id=1487#ประวัติความเป็นมาของมันเทศ

[Online].Available :http://water-pacific.com/index.php/2010-08-14-10-07-37

[Online].Available :www.nrel.gov

[Online].Available :http://www.science.cmu.ac.th/department/ic/document/pic/dc8.pdf

[Online].Available : http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301

[Online].Available : http://158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/

[Online].Available : http://home.kku.ac.th/uac/journal/year%20_11_4_2546/07_11_4_2546.pdf

[Online].Available : http://1.mod.go.th/.../etanol%20home%20page%20&%20proposal.do

[Online]. Available :www.en.wikiprdia.org/

[Online].Available:www.as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf

[Online].Available http://www.thaiart.info/archives/6772

[Online]. Available :www.botanic.hr/praktikum/Aspergillus_sp2.htm

[Online]. Available :www.micol.fcien.edu.uy/atlas/Deuteromycetes.htm

[Online]. Available :www.indonesiakutercinta.wordpress.com/

[Online]. Available :www.158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/

[Online]. Available :www.statemaster.com/encyclopedia/Rhizopus

[Online]. Available :www.mycology.adelaide.edu.au

[Online]. Available :www.vcharkarn.com

[Online]. Available :www. *Neutron.rmutphysics.com*

[Online]. Available :www.variety.teenee.com

[Online]. Available :www.thaiart.info/archives/6772

[Online]. Available :www.2.diw.go.th /sura/สาโท/05.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้