



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากมันเทศ
แบบรวมการย่อยแป้งและการหมักเข้าไว้ในขั้นตอนเดียวกัน

โดย ดร. วรสิทธิ์ โทจำปา และคณะ

พฤษภาคม 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากมันเทศ
แบบรวมการย่อยแป้งและการหมักเข้าไว้ในขั้นตอนเดียวกัน

คณะผู้วิจัย สังกัด

- | | |
|------------------------------|------------------|
| 1. ดร. วรสิทธิ์ โทจำปา | คณะเกษตรศาสตร์ ฯ |
| 2. ผศ.ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส | คณะวิทยาศาสตร์ |

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนครสวรรค์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเทศสายพันธุ์ไต้หวันโดยใช้กระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์และกิจกรรมของยีสต์ร่วมกันภายในขั้นตอนเดียว โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วนคือ การศึกษาการย่อยมันเทศโดยเอนไซม์ การศึกษาการผลิตเอทานอลจากกลูโคสของยีสต์ และการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน การย่อยมันเทศใช้เอนไซม์ทางการค้าชื่อ STARGEN™ ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของมันเทศ และความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อการย่อยมันเทศโดยใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล มีทั้งหมด 3 ปัจจัยๆ ละ 3 ระดับ ดังนี้ อิทธิพลอุณหภูมิได้แก่ 30 , 35 และ 40 องศาเซลเซียส อิทธิพลความเข้มข้นมันเทศได้แก่ ร้อยละ 30, 40 และ 50 โดยน้ำหนักสดต่อปริมาตร และอิทธิพลเอนไซม์ได้แก่ ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด พบว่าอุณหภูมิที่ 40 และ 35 องศาเซลเซียส มีผลต่อการย่อยมันเทศอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยให้ค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสเท่ากับ 0.2956 และ 0.2767 กรัมต่อ 100 กรัมมันเทศสด ตามลำดับ และให้ค่าเฉลี่ยอัตราการผลิตกลูโคสเท่ากับ 1.6778 และ 1.3733 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำค่าผลได้กลูโคสและค่าอัตราการผลิตกลูโคสไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าสภาวะอุณหภูมิที่ 35 – 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด เป็นสภาวะที่มีแนวโน้มการผลิตกลูโคสสูงสุด การศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการเติบโตของยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353) และการผลิตเอทานอลได้แก่ อิทธิพลความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 20, 40 และ 70 กรัมต่อลิตร และอิทธิพลอุณหภูมิของการหมักที่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่สูงขึ้นไม่มีผลยับยั้งการเติบโตและการผลิตเอทานอลของยีสต์ อีกทั้งยังให้ปริมาณเอทานอลมากขึ้นอีกด้วย ยีสต์สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกันจึงเลือกจากสภาวะที่ยีสต์สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ และเป็นสภาวะที่เอนไซม์ STARGEN™ ย่อยมันเทศแล้วให้กลูโคสสูง โดยสภาวะที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากมันเทศ คือสภาวะอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด ได้ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายเท่ากับ 30.02 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.63 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ภายในระยะเวลา 46 ชั่วโมง คิดเป็นผลได้เอทานอลเท่ากับ 60 กรัมเอทานอลต่อกิโลกรัมมันเทศสด

คำสำคัญ: มันเทศ เอทานอล การย่อยด้วยเอนไซม์ การทำให้เหลว การทำให้หวาน การหมัก

Abstract

This research focused on the ethanol production from a sweet potato through a simultaneous liquefaction, saccharification and fermentation (SLSF) process. It was a combination of an enzyme and yeast activity together in one step. The study was divided into 3 different parts: sweet potato hydrolysis, an ethanol production from glucose by yeast and an ethanol production by a SLSF process. The commercial enzyme, STARGENTM, was used in sweet potato hydrolysis studies. Effect of temperature, sweet potato concentration and enzyme concentration on hydrolysis efficiency were evaluated by factorial experiment. The first factor being 3 temperature figures as 30, 35 and 40 °C, the second factor being 3 sweet potato concentration of 30, 40 and 50 %w/v and the last factor being the 3 enzyme concentration of 0.1, 0.2 and 0.3 %v/w. The result showed that the temperatures at 40 and 35 °C obviously influenced the hydrolysis sweet potato with the statistical significance at $p < 0.05$ with the average glucose yield of 0.2956 and 0.2767 g/100g sweet potato, respectively. The average glucose production rate of 1.6778 and 1.3733 g/l/h were obtained at 40 and 35 °C, respectively. Those two average parameters were later analyzed to find the most appropriate condition. It was found that glucose was produced the highest at the temperatures between 35 and 40 °C, at the sweet potato concentration of 50 %w/v and at the enzyme concentration of 0.2 %v/w. The factors that influenced the growth of *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353 and ethanol production were evaluated using the initial glucose concentration of 20, 40 and 70 g/l and the fermentation temperatures of 30, 35 and 40 °C. It showed that the higher glucose concentration did not inhibit yeast growth and ethanol production. Moreover, it enhanced the ethanol production. Yeast could grow and produce ethanol at 30 and 35 °C, but did not at 40 °C. Therefore, the ethanol production using SLSF process was performed using the combined optimum condition of enzymatic hydrolysis and fermentation. The SLSF condition was the temperature at 35 °C, the sweet potato concentration of 50 %w/v and the enzyme concentration of 0.2 %v/w. The final ethanol concentration of 30.02 g/l was obtained. The ethanol productivity of 0.63 g/l/h was obtained within 46 hours. The ethanol yield was 60 g/kg of sweet potato.

Keyword: Sweet potato, Ethanol, Enzymatic hydrolysis, Liquefaction, Saccharification, Fermentation

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการ แบบจำลองทางจุลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากมันเทศแบบรวมการย่อยแป้งและการหมักเข้าไว้ในขั้นตอนเดียวกัน

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ธันวาคม 2553 – 30 พฤษภาคม 2556

ที่มาและความสำคัญ

มันเทศ (Sweet potato) เป็นพืชหัวที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกับมันสำปะหลัง เนื่องจากมันเทศเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ทุกฤดูกาลตลอดทั้งปี และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวสั้น จึงเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งซึ่งสามารถนำมาผลิตเอทานอลได้ สำหรับประเทศไทยนั้นมีการผลิตมันเทศรวมปีละประมาณ 300,000 ตัน เพื่อการบริโภค ซึ่งกรมวิชาการเกษตรมีการวิจัยด้านพันธุ์อยู่ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และมีพันธุ์ที่ให้ปริมาณแป้งสูง เช่น พันธุ์พจ.166-5 และ พจ.65-16 ซึ่งมีปริมาณแป้งสูงถึงร้อยละ 30.7 และ 27.2 ตามลำดับ โดยพันธุ์พจ.65-16 นั้น ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงถึง 2,834 กิโลกรัมต่อไร่ และเป็นพันธุ์ที่มีขนาดหัวโตเหมาะสำหรับผลิตเพื่ออุตสาหกรรม และมีดรชนีเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูงในฤดูแล้ง ดังนั้นมันเทศจึงเป็นวัตถุดิบทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเอทานอลได้ในระดับอุตสาหกรรมได้ การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสภาวะที่ควรใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศสด โดยกระบวนการทำให้เหลว ทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน (Simultaneous Liquefaction Saccharification and Fermentation: SLSF) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ระยะเวลาสั้นและสิ้นเปลืองพลังงานน้อยกว่าการผลิตแบบดั้งเดิม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยมันเทศดิบโดยเอนไซม์ STARGEN™
2. เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอลด้วย *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353
3. เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากมันเทศดิบ

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเทศสายพันธุ์ได้หวันโดยใช้กระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์และกิจกรรมของยีสต์ร่วมกันภายในขั้นตอนเดียว โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วนคือ การศึกษาการย่อยมันเทศโดยเอนไซม์ การศึกษาการผลิตเอทานอลจากกลูโคสของยีสต์ และการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้

เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน การย่อยมันเทศใช้เอนไซม์ทางการค้าชื่อ STARGEN™ ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของมันเทศ และความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อการย่อยมันเทศโดยใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล มีทั้งหมด 3 ปัจจัยๆ ละ 3 ระดับ ดังนี้ อิทธิพลอุณหภูมิได้แก่ 30 , 35 และ 40 องศาเซลเซียส อิทธิพลความเข้มข้นมันเทศได้แก่ ร้อยละ 30, 40 และ 50 โดยน้ำหนักสดต่อปริมาตร และอิทธิพลเอนไซม์ได้แก่ ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด พบว่าอุณหภูมิที่ 40 และ 35 องศาเซลเซียส มีผลต่อการย่อยมันเทศอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยให้ค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสเท่ากับ 0.2956 และ 0.2767 กรัมต่อ 100 กรัมมันเทศสด ตามลำดับ และให้ค่าเฉลี่ยอัตราการผลิตกลูโคสเท่ากับ 1.6778 และ 1.3733 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำค่าผลได้กลูโคสและค่าอัตราการผลิตกลูโคสไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสม พบว่าสภาวะอุณหภูมิที่ 35 – 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด เป็นสภาวะที่มีแนวโน้มการผลิตกลูโคสสูงสุด การศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการเติบโตของยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353) และการผลิตเอทานอลได้แก่ อิทธิพลความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นที่ 20, 40 และ 70 กรัมต่อลิตร และอิทธิพลอุณหภูมิของการหมักที่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่สูงขึ้นไม่มีผลยับยั้งการเติบโตและการผลิตเอทานอลของยีสต์ อีกทั้งยังให้ปริมาณเอทานอลมากขึ้นอีกด้วย ยีสต์สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกันจึงเลือกจากสภาวะที่ยีสต์สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ และเป็นสภาวะที่เอนไซม์ STARGEN™ ย่อยมันเทศแล้วให้กลูโคสสูง โดยสภาวะที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากมันเทศ คือสภาวะอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด ได้ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายเท่ากับ 30.02 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.63 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ภายในระยะเวลา 46 ชั่วโมง คิดเป็นผลได้เอทานอลเท่ากับ 60 กรัมเอทานอลต่อกิโลกรัมมันเทศสด

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสามารถนำมันเทศมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกันได้

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
มันเทศ.....	5
คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัตถุดิบจำพวกแป้ง.....	12
การย่อยแป้งโดยเอนไซม์.....	15
ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยแป้ง.....	16
เอทานอล.....	24
ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์.....	31
การรวมกระบวนการย่อยแป้งการหมักไว้ในขั้นตอนเดียว.....	32
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	33
เครื่องมือและอุปกรณ์.....	33
สารเคมี.....	33
วิธีการวิจัย.....	34
การย่อยสารแขวนลอยมันเทศด้วยเอนไซม์.....	35
การผลิตเอทานอลโดยยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BCC 15353.....	36
การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการ SLSF.....	36
การวิเคราะห์.....	37
การคำนวณ.....	38

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	39
4 ผลการวิจัย.....	40
องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของมันเทศ.....	40
การผลิตกลูโคสจากมันเทศโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ.....	44
การผลิตเอทานอลโดยยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BCC 15353.....	62
การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการ SLSF.....	71
5 บทสรุป.....	76
บรรณานุกรม.....	78

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ลักษณะสีหัว สีเนื้อ ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่นำมาคัดเลือกพันธุ์เพื่อผลิตเอทานอล..	6
2 ค่าเฉลี่ยผลผลิต (กก./ไร่) ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550.....	7
3 ค่าเฉลี่ยผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต ปริมาณมันแห้ง ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550.....	8
4 องค์ประกอบผลผลิต ปริมาณมันแห้ง และดัชนีการเก็บเกี่ยวของมันเทศ 12 สายพันธุ์ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550....	9
5 ข้อมูลต้นทุนการผลิตเอทานอลของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ปี 2549.....	10
6 สรุปวัตถุดิบและความท้าทายของเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเอทานอล ของสาธารณรัฐประชาชนจีน.....	11
7 คุณสมบัติด้านความเหนียวของสารละลายแป้งมันเทศและแป้งชนิดอื่นๆ.....	13
8 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของมันเทศสายพันธุ์ได้หวาน และอื่นๆ.....	41
9 ผลผลิตแป้งต่อปีจากมันเทศและมันสำปะหลัง.....	42
10 ค่าผลได้กลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์.....	52
11 ค่าอัตราการผลิตกลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์.....	57
12 อิทธิพลของความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นต่อค่าจลนพลศาสตร์และผลได้.....	69
13 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อค่าจลนพลศาสตร์และผลได้.....	70

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ภาพถ่ายอิเล็กตรอน (1000x) ของแป้งก่อนการย่อยและหลังการย่อยด้วย อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์ (35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แถบสเกล = 10 ไมโครเมตร).....	19
2 การปรากฏของรูพรุนและหลุม (แสดงตามลูกศร) บนพื้นผิวของ (a) เม็ดแป้ง ข้าวโพดก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ และ (b) เม็ดแป้งถั่วเขียว.....	20
3 ภาพถ่ายอิเล็กตรอน (3000x) (a, b) แป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (c, d) แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการพรี ทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (e, f) แป้งมันเทศที่ไม่ผ่านการพ รีทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (g, h) แป้งมันเทศที่ผ่านการพ รีทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์.....	21
4 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของแป้งมันเทศก่อน (a) และหลัง (b) การพรีทรีตเมนต์.....	23
5 โครงสร้างและสมการการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคส และฟรุคโทส.....	25
6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง (Conventional process).....	29
7 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นแบบย่อยเป็นน้ำตาลและหมักในขั้นตอน เดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF process).....	30
8 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังแบบย่อยแป้งดิบเป็นน้ำตาล และ หมักในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Liquefaction, Saccharification & Fermentation process, SLSF).....	23
9 มันเทศสายพันธุ์ได้วัน.....	40
10 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งมันเทศสายพันธุ์ได้วัน.....	43
11 การย่อยสารแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ และความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ.....	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
12	การย่อยสารแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ.....	47
13	การย่อยสารแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ.....	49
14	การเติบโตของจุลินทรีย์บนเป็อนในระหว่างการย่อยมันเทศที่อุณหภูมิต่างๆ	50
15	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่เอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร).....	54
16	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่ความเข้มข้นมันเทศที่ร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก).....	55
17	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่อุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส).....	56
18	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและความเข้มข้นมันเทศต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2).....	59
19	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก).....	60
20	พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส).....	61
21	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร....	63
22	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร.....	64
23	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 70 กรัมต่อลิตร ...	65
24	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	66
25	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	67
26	การเพาะเลี้ยง <i>S. cerevisiae</i> BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	68
27	การผลิตเอทานอลแบบรวมกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน (SLSF)	72

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

ปัจจุบันมีความสนใจการใช้พลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างมากทั่วโลก เนื่องจากปริมาณน้ำมันดิบที่มีอยู่อย่างจำกัด การเปลี่ยนแปลงสภาวะอากาศจากการปล่อยแก๊สเรือนกระจก และความต้องการที่จะส่งเสริมเศรษฐกิจตามชนบท โดยทั่วไปการใช้พลังงานชีวภาพใช้ในรูปแบบของเหลวในภาคการขนส่ง ซึ่งช่วยบรรเทาการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกได้ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มรายได้ของผลผลิตทางการเกษตรในประเทศที่กำลังพัฒนา

ในวันที่ 9 มีนาคม ปี 2550 สหรัฐอเมริกาและบราซิลได้ลงลายมือชื่อร่วมกันในข้อตกลง Memorandum of Understanding (MOU) เพื่อเพิ่มความร่วมมือด้านพลังงานชีวภาพ เร่งการวิจัยและพัฒนาด้านพลังงานชีวภาพของทั้งสองฝ่าย ช่วยสร้างโรงงานผลิตพลังงานทางชีวภาพในประเทศที่สาม และเร่งการพัฒนาพลังงานเชื้อเพลิงทางชีวภาพทั่วโลก (Balat and Balat, 2009, pp. 2273-2282) สำหรับประเทศไทยนั้น นายอภิสิทธิ์ เวชชาชีวะ นายกรัฐมนตรีปัจจุบันได้แถลงนโยบายด้านพลังงานชีวภาพต่อรัฐสภา เมื่อวันที่ 30 ธันวาคม 2551 ดังนี้ ดำเนินการให้นโยบายด้านพลังงานทดแทนเป็นวาระแห่งชาติ โดยสนับสนุนการผลิตและการใช้พลังงานทดแทน โดยเฉพาะการพัฒนาเชื้อเพลิงชีวภาพและชีวมวล เช่น แก๊สโซฮอลล์ (อี 10 อี 20 และอี 85) ไบโอดีเซล และไบโอแก๊ส เป็นต้น เพื่อเสริมสร้างความมั่นคงด้านพลังงาน ลดภาวะมลพิษ และเพื่อประโยชน์ของเกษตรกร โดยสนับสนุนให้มีการผลิตและใช้พลังงานหมุนเวียนในระดับชุมชน หมู่บ้าน ภายใต้มาตรการสร้างแรงจูงใจที่เหมาะสม รวมทั้งสนับสนุนการใช้แก๊สธรรมชาติในภาคขนส่งให้มากขึ้น โดยขยายระบบขนส่งแก๊สธรรมชาติให้ครอบคลุมพื้นที่ทั่วประเทศ ตลอดจนส่งเสริมและวิจัยพัฒนาพลังงานทดแทนทุกรูปแบบอย่างจริงจังและต่อเนื่อง (กระทรวงพลังงาน, 2551)

มันเทศ (Sweet potato) เป็นพืชหัวที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบเช่นเดียวกับมันสำปะหลัง เนื่องจากมันเทศเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ทุกฤดูกาลตลอดทั้งปี และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวสั้น จึงเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งซึ่งสามารถนำมาผลิตเอทานอลได้ (Yu, et al., 1996, pp. 1-6) ในมลรัฐ แมริแลนด์และอลาบามาของสหรัฐอเมริกา นั้นสามารถผลิตมันเทศที่มีปริมาณแป้งมากกว่าข้าวโพดที่ปลูกในพื้นที่เดียวกัน ประมาณ 2- 3 เท่า (Ziska, et al., 2009, pp. 1503–

1508) ส่วนประเทศจีนนั้นกำลังลงทุนพัฒนาการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกแยม มันสำปะหลัง และมันเทศ ซึ่งมันสำปะหลังนั้นนำเข้าจากประเทศไทยเป็นหลัก นอกจากนั้นจีนเองยังมีการผลิตมันเทศปีละประมาณ 20 ล้านตัน เพื่อการผลิตเอทานอล (Schwartz, 2008) สำหรับประเทศไทยนั้นมีการผลิตมันเทศรวมปีละประมาณ 300,000 ตัน เพื่อการบริโภค ซึ่งกรมวิชาการเกษตรมีการวิจัยด้านพันธุ์อยู่ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และมีพันธุ์ที่ให้ปริมาณแป้งสูง เช่น พันธุ์พจ.166-5 และ พจ.65-16 ซึ่งมีปริมาณแป้งสูงถึงร้อยละ 30.7 และ 27.2 ตามลำดับ โดยพันธุ์พจ.65-16 นั้นให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงถึง 2,834 กิโลกรัมต่อไร่ (นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550) พันธุ์พจ. 65-16 นี้เป็นพันธุ์ที่มีขนาดหัวโตเหมาะสำหรับผลิตเพื่ออุตสาหกรรม และมีटरช้นเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูงในฤดูแล้ง ดังนั้นมันเทศจึงเป็นวัตถุดิบทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเอทานอลได้ในระดับอุตสาหกรรมได้

สำหรับการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกแป้งนั้นส่วนใหญ่จะใช้มันเส้น เนื่องจากมีข้อได้เปรียบในด้านของการขนส่งและการเก็บรักษา อีกทั้งการเตรียมวัตถุดิบทำได้ง่ายกว่าหัวมันสด (สิทธิโชค วัลลภาทิพย์ และกัลลัณรงค์ ศรีรอด, 2552, pp. 24-26) แต่อย่างไรก็ตามช่วงในฤดูการเก็บเกี่ยวจะมีผลผลิตออกมามาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งมันเทศนั้น ตลาดจำหน่ายมีน้อย ประกอบกับตลาดต้องการแต่วัตถุดิบที่มีคุณภาพสูงเท่านั้นเพื่อใช้เป็นอาหาร ส่วนหัวมันที่ไม่มีคุณภาพไม่สามารถจำหน่ายได้ หรือจำหน่ายราคาถูก สร้างความเดือดร้อนให้เกษตรกรทุกปี (สรุปการประชุม คณะอนุกรรมการการศึกษาและติดตามแก้ไขปัญหาผลไม้ราคาตกต่ำข้าชากร ในคณะกรรมการการเศรษฐกิจ การพาณิชย์และอุตสาหกรรม วุฒิสภา ครั้งที่ 1/2552, 2552) ส่วนการทำให้เป็นมันเส้นต้องใช้ทั้งเวลาและแรงงานจำนวนมาก หากผลผลิตสามารถส่งจากไร่เข้าโรงงานได้ทันทีย่อมช่วยลดขั้นตอนของการเก็บรักษาวัตถุดิบได้ และจากศักยภาพของมันเทศที่สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้นี้เอง หากรัฐบาลมีการสนับสนุนอย่างจริงจังให้มีการศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศอย่างเป็นรูปธรรม จะสามารถช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ในระยะยาว และหากเป้าหมายของการผลิตมันเทศเปลี่ยนจากการผลิตเพื่อการบริโภคซึ่งตลาดมีอยู่อย่างจำกัด มาเป็นการผลิตเพื่อป้อนให้กับอุตสาหกรรมด้านพลังงานแล้ว จะทำให้สามารถรักษาเสถียรภาพของราคามันเทศได้ ส่งผลให้เกษตรกรผู้ปลูกมันเทศมีรายได้และคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสภาวะที่ควรใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศสดโดยกระบวนการทำให้เหลว ทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน (Simultaneous

Liquefaction Saccharification and Fermentation: SLSF) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้ระยะเวลาสั้น และสิ้นเปลืองพลังงานน้อยกว่าการผลิตแบบดั้งเดิม (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549)

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยมันเทศดิบโดยเอนไซม์ STARGEN™
2. เพื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอลด้วย *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353
3. เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากมันเทศดิบ

ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยนี้จะศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน (Simultaneous Liquefaction Saccharification and Fermentation: SLSF) โดยใช้แป้งที่เตรียมจากหัวมันเทศสดสายพันธุ์จากไต้หวัน ที่ทดลองปลูกโดยศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และใช้เอนไซม์ย่อยแป้งดิบทางการค้า STARGEN™ (Genencor International, CA) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นมันเทศ และอุณหภูมิต่ออัตราการย่อยแป้งเพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยแป้งดิบ และทำการทดลองหมักเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353 ซึ่งได้จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพระดับห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นกลูโคสและอุณหภูมิ แล้วคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ จากนั้นนำสภาวะทั้งสองที่ได้มาทดลองการผลิตเอทานอลจากมันเทศสดโดยกระบวนการ SLSF

กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย

โดยทั่วไปการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลก่อน ตั้งแต่ขั้นตอนการทำให้เหลว (Liquefaction) โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส ตามด้วยขั้นตอนการทำให้หวาน (Saccharification) โดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ให้ผลผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงนำน้ำตาลที่ได้มาเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งดังกล่าว เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานสูง และใช้ระยะเวลานาน ในปัจจุบันพบว่า STARGEN™ เป็นเอนไซม์ทางการค้าชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติของเอนไซม์ทั้งแอลฟาอะไมเลส

และกลูโคสโมเลกุลที่สามารถทำงานได้ที่สภาวะเดียวกัน และที่สำคัญมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบได้ดีที่อุณหภูมิห้อง ทำให้สามารถรวมขั้นตอนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักเอทานอลโดยยีสต์เข้าไว้ด้วยกันในขั้นตอนเดียวได้ ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า Simultaneous Liquefaction Saccharification and Fermentation (SLSF) โดยกระบวนการนี้ได้ประสบความสำเร็จในการผลิตเอทานอลจากมันเส้นแบบขั้นตอนเดียวโดยไม่ใช้ความร้อน (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549)

สำหรับเอนไซม์ STARGEN™ นั้นสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานคือ พีเอชระหว่าง 4.0 - 4.5 และอุณหภูมิในช่วง 20 – 40 องศาเซลเซียส (Shariffa, et al., 2009, pp. 434-440) ส่วนยีสต์ที่หมักและให้ผลผลิตเอทานอลสูงอาจจะมีสภาวะที่เหมาะสมแตกต่างจากสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ แต่เมื่อรวมกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและการหมักเข้าด้วยกัน จำเป็นต้องใช้สภาวะเดียวกัน จึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่จะต้องทราบสภาวะการย่อยแป้งมันเทศเพื่อผลิตกลูโคส และทราบสภาวะการเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล จากนั้นจึงนำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการผลิตเอทานอลจากมันเทศสด โดยกระบวนการ SLSF นั้น ยังขาดข้อมูลทางสภาวะที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากมันเทศ ดังนั้นการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการผลิตเอทานอล จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการนำมันเทศมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้อย่างเหมาะสม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มันเทศ

มันเทศพันธุ์ไต้หวันเนื้อสีขาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Ipomoea batatas* (L.) Lam มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศไต้หวัน และถูกนำมารวบรวมไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เมื่อปี พ.ศ. 2537 ลักษณะประจำพันธุ์ ส่วนหัวมีผิวสีแดง หัวรูปทรงแบบยาวรี (long elliptic) ขนาดของหัวเฉลี่ยกว้าง 6.5 เซนติเมตร ยาว 16.5 เซนติเมตร ลำต้นสีเขียว ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเฉลี่ย 0.4 เซนติเมตร ความยาวของปล้อง 4.0 เซนติเมตร ใบรูปทรงแบบหยักเป็นพู (lobed) ใบอ่อนสีเขียวปนม่วง ใบแก่สีเขียว ขนาดของใบเฉลี่ยกว้าง 6.0 เซนติเมตร ยาว 7.5 เซนติเมตร ดอกสีขาวปนม่วง ผลอ่อนสีเขียว ผลแก่สีน้ำตาล เมล็ดอ่อนสีขาว เมล็ดแก่สีน้ำตาลดำ อายุเก็บเกี่ยว 90 – 120 วัน ผลผลิตเฉลี่ย 5,000 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร, 2553)

มันเทศนับว่าเป็นพืชที่เหมาะสมกับดินฟ้าอากาศของประเทศไทยอย่างยิ่ง เพราะสามารถเจริญเติบโตได้ดี และให้ผลผลิตของหัวค่อนข้างสูง มันเทศปลูกได้ปีละ 2 ครั้ง คือ ในฤดูฝน ตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนมิถุนายน และอีกครั้งหนึ่งหลังฤดูฝน คือ ในราวเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน การปลูกมันเทศก็เริ่มจากการเตรียมดินไถและพรวน 2-3 ครั้ง เสร็จแล้วยกร่องห่างกันประมาณ 1 เมตร ความสูงของร่องประมาณ 50 เซนติเมตร แล้วตัดเถา มันเทศยาวประมาณ 50 เซนติเมตรฝังลงไปบนสันร่อง ห่างกันประมาณ 50 เซนติเมตร จากนั้นพรวนดินและกำจัดวัชพืช ถ้าไม่ได้ปลูกในฤดูฝนก็ต้องคอยรดน้ำ มันเทศจะทอดยอดงอกงาม เมื่อหัวมันมีอายุ 90 - 120 วัน หัวมันเทศจะแก่และขุดได้

จากการรายงานของ นรินทร์ พูนเพิ่ม (2550) ที่ได้ทำการศึกษาการคัดเลือกพันธุ์มันเทศเพื่อผลิตเอทานอล 12 สายพันธุ์ ที่มีคุณสมบัติพันธุ์เบื้องต้นดังตาราง 1 ซึ่งได้จากศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร มีผลผลิตเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1660 – 2834 กิโลกรัมต่อไร่

ตาราง 1 ลักษณะสีหัว สีเนื้อ ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่นำมาคัดเลือกพันธุ์เพื่อผลิตเอทานอล

พันธุ์	สีผิวเปลือก	สีเนื้อหัว	มันแห้ง(%)	รีดิวซิงค์ ซูการ์	ปริมาณแป้ง (%)
1.พจ. 166-5	แดง	ขาว	39.9	1.27	30.7
2.พจ. 65-16	แดง	ขาวครีม	38.4	0.70	27.2
3.PROC VS P5-11	ขาวครีม	เหลือง	35.6	1.33	25.4
4.PROCOPS-101-R81-3	แดง	ขาว	37.3	0.85	28.1
5.พจ. 129-6	ขาวครีม	ขาว	35.7	0.51	27.5
6.CIP 14-1	ชมพูอมส้ม	ขาว	32.3	0.80	21.6
7.พจ.268-3	แดงสดใส	ขาว			
8.พจ. 269-2	แดง	ส้ม			
9.จิ้น	แดง	ครีม	34.4	0.65	27.4
10.ได้หัว	แดง	เหลืองอ่อน	31.9	0.44	21.3
11.แม่ไฉ้	ม่วงแดง	ขาว	39.8	0.52	26.6
12.พจ. 223-6	แดง	ครีม			

ที่มา: นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550

ค่าเฉลี่ยผลผลิตหัวสดของมันเทศ 12 พันธุ์ที่ได้จากการทดลอง 5 แปลงที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นแสดงในตาราง 2 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตอยู่ในช่วง 704-2190 กิโลกรัมต่อไร่ โดยที่พันธุ์จิ้นให้ผลผลิตหัวสดสูงสุด รองลงมาได้แก่พันธุ์ได้หัว และพันธุ์ พจ 223-6 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 2186 และ 2080 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ ในฤดูฝนปี 2550 ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน มันเทศทั้ง 12 พันธุ์มีการเจริญเติบโตทางลำต้นดีมากแต่ให้ผลผลิตต่ำมาก 0 – 898 กิโลกรัมต่อไร่ โดยที่พันธุ์ PROCOPS-101-R81-3 ไม่ให้ผลผลิตเลย พันธุ์จิ้นให้ผลผลิตสูงสุด พันธุ์พจ. 129-6 เป็นอีกพันธุ์หนึ่งที่ยังคงให้ผลผลิตสูงในฤดูฝน

ตาราง 2 ค่าเฉลี่ยผลผลิต (กก./ไร่) ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550

พันธุ์	ปลายฤดูฝน ปี 2548	ฤดูแล้ง ปี 2549	ฤดูฝน ปี 2549	ฤดูแล้งปี 2550	ฤดูฝน ปี 2550	เฉลี่ย
1.พจ. 166-5	1154	715 ^{de}	1518 ^{cd}	2040 ^{def}	278 ^{bc}	1141
2.พจ. 65-16	1613	1241 ^{bcd}	1595 ^{cd}	2754 ^{bcd}	117 ^c	1464
3.PROC VS P5-11	1049	291 ^e	625 ^e	1619 ^f	0 ^c	717
4.PROCOPS-101- R81-3	2016	423 ^e	854 ^{de}	1762 ^{ef}	278 ^{bc}	1067
5.พจ. 129-6	1255	1191 ^{bcd}	3111 ^a	1404 ^f	829 ^a	1558
6.CIP 14-1	1893	740 ^{cde}	1420 ^{cde}	2643 ^{cde}	260 ^{bc}	1391
7.พจ.268-3	1582	928 ^{cde}	1760 ^c	1286 ^f	588 ^{ab}	1229
8.พจ. 269-2	1269	707 ^{de}	730 ^{de}	1341 ^f	542 ^{ab}	918
9.จีน	3008	1401 ^{bc}	2065 ^{bc}	3579 ^{ab}	898 ^a	2190
10.ไต้หวัน	1710	2333 ^a	1935 ^{bc}	4079 ^a	342 ^{bc}	2080
11.แม่ใจ	715	341 ^e	539 ^e	1730 ^{ef}	195 ^{bc}	704
12.พจ. 223-6	2987	1643 ^b	2676 ^{ab}	3317 ^{abc}	306 ^{bc}	2186
CV(%)		19.6	19.1	17	22	

ที่มา: นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550

จำนวนหัวต่อต้นและน้ำหนักต่อหัว ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวต่อต้นของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ได้จาก การทดลอง 5 แปลงที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นอยู่ในช่วง 1.6 – 4.1 หัวต่อต้น พันธุ์ พจ.223-6 ให้จำนวนหัวสูงสุด พันธุ์แม่ใจมีจำนวนหัวน้อยที่สุด ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่อหัวของทั้ง 12 พันธุ์ ที่วัดจากแปลงทดลองที่ 1 ที่ปลูกในปลายฝนปี 2548 มีค่า 98.5 – 268 กรัมต่อหัว พันธุ์ พจ.65-16 และพันธุ์ ไต้หวันมีน้ำหนักหัวสูงสุด พันธุ์ พจ.65-16 ให้น้ำหนักหัวต่อต้นสูงสุดและแตกต่างจากพันธุ์อื่น ๆ โดยมีความกว้างหัวเฉลี่ย 4.6 เซนติเมตร ความยาวหัวโดยเฉลี่ย 15 เซนติเมตร ดังตาราง 3

ปริมาณแป้งและมันแห้งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์แป้งที่ได้จากการวัดโดยเครื่องวัดแป้งในหัวสดมันสำปะหลังของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อยู่ในช่วง 1.3 – 11.3 % พันธุ์แม่ใจมีปริมาณแป้งสูงสุด พันธุ์ พจ.223-6 มีเปอร์เซ็นต์แป้งต่ำที่สุด พันธุ์ จีนมีแป้ง 6.5 %

ในทำนองเดียวกันมันแห้งของมันเทศ 12 พันธุ์ เฉลี่ย 25.4 – 32.9 % พันธุ์พจ.166-5 มีปริมาณมันแห้งสูงสุด ดังตาราง 3

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต ปริมาณมันแห้ง ของมันเทศ 12 พันธุ์ ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550

พันธุ์	จำนวน หัวต่อ ต้น	น้ำหนัก หัว (กรัม/ หัว)	ค่าเฉลี่ย ผลผลิต (กก./ไร่)	ปริมาณ แป้ง(%)	ปริมาณ มันแห้ง (%)	ผลผลิต มันแห้ง (กก./ ไร่)	ผลผลิต ต้นสด (กก./ไร่) แล้ง- 2550	ผลผลิต ต้นสด (กก./ไร่) ฝน-2550
1.พจ. 166-5	3.4	118.0	1141	6.9	32.9	354	2008 ^{abc}	3311 ^{ab}
2.พจ. 65-16	3.1	268.0	1464	4.0	32.5	477	1746 ^{bcd}	4162 ^{ab}
3.PROC VS P5-11	2.5	143.1	717	7.4	28.7	199	2657 ^a	2736 ^b
4.PROCOPS- 101-R81-3	2.3	126.7	1067	5.5	31.2	329	1468 ^{bcd}	3398 ^{ab}
5.พจ. 129-6	3.8	149.8	1558	2.5	28.9	453	1310 ^{cd}	3158 ^{ab}
6.CIP 14-1	3.1	128.8	1391	4.4	29.0	377	1603 ^{bcd}	3176 ^{ab}
7.พจ.268-3	2.3	180.6	1229	6.1	29.4	363	1103 ^d	4889 ^a
8.พจ. 269-2	2.1	144.2	918	3.4	25.4	232	1095 ^d	3278 ^{ab}
9.จัน	3.2	204.9	2190	6.5	29.9	642	1905 ^{a-d}	2903 ^{ab}
10.ไต้หวัน	2.7	262.7	2080	2.8	28.7	597	2071 ^{abc}	4093 ^{ab}
11.แม่ใจ	1.6	112.6	704	11.3	31.6	226	2175 ^{ab}	3968 ^{ab}
12.พจ. 223-6	4.1	98.5	2186	1.3	26.3	564	2198 ^{ab}	3778 ^{ab}
CV(%)							22	19

ที่มา: นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550

จากการรายงานของ นรินทร์ พูนเพิ่ม (2550) ที่ได้ทำการศึกษาการคัดเลือกพันธุ์มันเทศ เพื่อผลิตเอทานอล 12 สายพันธุ์ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ค่าเฉลี่ยผลผลิตหัวสดของมันเทศ 12 พันธุ์ที่ได้จากการทดลอง 5 แปลงแสดงในตารางที่ 3 มีค่าผลผลิตเฉลี่ยอยู่ในช่วง 704 – 2190

กิโลกรัมต่อไร่ โดยที่พันธุ์จีน ให้ผลผลิตหัวสดสูงสุด รองลงมาได้แก่พันธุ์พจ.223-6 และไต้หวัน ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 2186 และ 2080 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวต่อไร่ อยู่ในช่วง 1.6 – 4.1 หัวต่อต้น ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่อหัวมีค่า 98.5 – 268 กรัมต่อหัว พันธุ์ พจ.65-16 และพันธุ์ไต้หวันมีน้ำหนักหัวสดสูงสุด ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์แป้งในหัวมันสดอยู่ในช่วง 1.3 – 11.3% ในทำนองเดียวกันมันแห้งของมันเทศเฉลี่ย 25.4 – 32.9 %

มันเทศให้ผลผลิตลำต้นในฤดูฝนมากกว่าในฤดูแล้ง ผลผลิตต้นมันเทศ 12 พันธุ์ที่ปลูกในฤดูแล้งปี 2550 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อยู่ในช่วง 1103 – 2657 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่ผลผลิตต้นมันเทศ 12 พันธุ์ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2550 อยู่ในช่วง 2736 – 4889 กิโลกรัมต่อไร่ มันเทศสายพันธุ์ไต้หวันมีค่าดัชนีเก็บเกี่ยวซึ่งคำนวณจากผลผลิตหัวสดหารด้วยผลผลิตมวลรวม (ต้นสด+หัวสด) สูงสุดในฤดูแล้งมีค่า 0.66 เทียบเท่ากับพันธุ์จีน ซึ่งเป็นพันธุ์มันเทศที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อทำเอทานอล ดังตาราง 4

ตาราง 4 องค์ประกอบผลผลิต ปริมาณมันแห้ง และดัชนีการเก็บเกี่ยวของมันเทศ 12 สายพันธุ์ที่ปลูกประเมินพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในปี 2549 – 2550

พันธุ์	จำนวน หัวต่อต้น	น้ำหนักหัว (กรัม/หัว)	ค่าเฉลี่ย ผลผลิต (กก./ไร่)	ปริมาณ แป้ง(%)	ปริมาณ มันแห้ง (%)	Harvest Index แล้ง- 2550	Harvest Index ฝน-2550
1. พจ. 166-5	3.4	118.0	1141	6.9	32.9	.51 ^{bc}	.085 ^{cd}
2. พจ. 65-16	3.1	268.0	1464	4.0	32.5	.60 ^{ab}	.032 ^{cd}
3. PROC VS P5-11	2.5	143.1	717	7.4	28.7	.37 ^d	0.00 ^d
4. PROCOPS-101-R81-3	2.3	126.7	1067	5.5	31.2	.55 ^{ab}	.07 ^{cd}
5. พจ. 129-6	3.8	149.8	1558	2.5	28.9	.50 ^{bc}	.27 ^{ab}
6. CIP 14-1	3.1	128.8	1391	4.4	29.0	.61 ^{ab}	.06 ^{cd}
7. พจ.268-3	2.3	180.6	1229	6.1	29.4	.57 ^{ab}	.13 ^{cd}
8. พจ. 269-2	2.1	144.2	918	3.4	25.4	.54 ^{abc}	.16 ^{bc}
9. จีน	3.2	204.9	2190	6.5	29.9	.66 ^a	.34 ^a
10. ไต้หวัน	2.7	262.7	2080	2.8	28.7	.66 ^a	.08 ^{cd}
11. แม่โจ้	1.6	112.6	704	11.3	31.6	.42 ^{cd}	.04 ^{cd}
12. พจ. 223-6	4.1	98.5	2186	1.3	26.3	.59 ^{ab}	.07 ^{cd}
CV(%)						16.0	25

ที่มา: นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550

จากข้อมูลทางเศรษฐศาสตร์เกี่ยวกับการผลิตเอทานอลของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน พบว่ามีวัตถุดิบจำนวน 8 ชนิดที่สามารถใช้ผลิตเอทานอลได้ เช่น มันสำปะหลังสด มันเส้น อ้อย กากน้ำตาล ข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง และมันเทศ ดังแสดงในตาราง 5 ข้อมูลต้นทุนการผลิต เอทานอลในปี พ.ศ.2549 ด้วยเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลที่ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนใช้อยู่ในปัจจุบันพบว่าการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังหัวสดมีกำไรสูงสุด รองลงมาได้แก่มันเส้น และมันเทศ ส่วนการผลิตเอทานอลจากมันฝรั่ง ข้าวสาลี อ้อย และข้าวโพด ไม่คุ้มค่างดังตาราง (สุรพงษ์ เจริญรัต, 2549, หน้า 6 – 7)

ตาราง 5 ข้อมูลต้นทุนการผลิตเอทานอลของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ปี 2549

รายการ	มัน สำปะหลัง หัวสด	มัน เส้น	อ้อย	กาก น้ำตาล	ข้าว โพด	ข้าว สาลี	มันฝรั่ง	มันเทศ
ราคาวัตถุดิบ (บาท/ตัน)	2000	5750	1400	4000	6650	7200	3000	1900
ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ (ตัน)	7.0	2.7	16	16	5	3.2	9	8.7
รวมราคาวัตถุดิบที่ใช้ (บาท)	14,000	15,525	22,400	20,000	21,280	23,660	2,700	16,530
ค่าขบวนการผลิต (บาท)	4,000	3,000	3,500	2,500	4,000	4,000	4,000	4,000
ราคาต้นทุนเอทานอล (บาท)	18,000	18,525	25,900	22,500	25,280	27,660	31,000	20,530
ราคาขายเอทานอล (บาท)	22,500	22,500	22,500	22,500	22,500	22,500	22,500	22,500
รายได้ (บาท)	4,500	3,975	-3,400	0	-2,780	-5,160	-8,500	1,970

หมายเหตุ: อัตราแลกเปลี่ยน 1 หยวน = 5.00 บาท

ที่มา: สุรพงษ์ เจริญรัต, 2549, หน้า 6 – 7

ในปี 2552 ได้มีรายงานการผลิตเอทานอลในจีน โดยพบว่ามันเทศมีลักษณะหลายอย่าง ที่พึงประสงค์สำหรับการผลิตในดินแดนชายขอบเช่นความต้านทานภัยแล้ง ทนต่อดินเค็ม และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในภูมิประเทศที่ไม่สม่ำเสมอ (เช่นเป็นภูเขา ความลาดชันและเนินเขา) และดินไม่ดี มีศัตรูธรรมชาติน้อย พื้นที่แรกที่ปลูกมันเทศในจีน Long Lu County ตั้งอยู่ในจังหวัด

Hebei มีผลผลิตเฉลี่ย 37.5 ตัน/เฮกเตอร์ ปริมาณแป้งในมันเทศอยู่ระหว่าง 20% - 30% จากตาราง 6 มันเทศที่ใช้ในการผลิตเอทานอลประมาณ 8-9 ตันสด เพื่อผลิตเอทานอล 1 ตันของ น้ำมันเชื้อเพลิง การผลิตมันเทศอยู่ที่ประมาณ 130 ล้านตันต่อปี แบ่งออกได้ดังนี้ 1/3 มีไว้สำหรับการบริโภค 1/3 เป็นวัตถุดิบและที่เหลือ 1/3 เป็นเมล็ดหรือสลายตัวระหว่างการเก็บรักษา มันเทศสามารถปลูกได้อย่างกว้างขวางจากจังหวัดไหหนานไปยังจังหวัดภาคเหนือ Hebei เทคนิคการเพาะปลูกที่ดีขึ้น ทำให้เกษตรกรสามารถทำการเพาะปลูกได้สองครั้งให้ผลผลิต 45-60 ตัน/เฮกเตอร์ของ มันเทศสด ซึ่งอาจสูงถึง 90 ตัน/เฮกเตอร์ สำหรับขนาดพื้นที่ที่ใหญ่กว่ามีการใช้ที่ดินเพิ่มขึ้นในมณฑลกุ้ยโจว, หูหนาน, Hubei, เจียง, Anhui, เหอหนาน, ซานตง, Hebei และจังหวัด Shanxi อาจมีมากถึง 4.5 ล้านเฮกเตอร์ของที่ดินชายขอบที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกมันเทศเป็นวัตถุดิบสำหรับเอทานอล ประเทศจีนสามารถผลิต 15 ล้านตันเอทานอลจากมันเทศ อย่างไรก็ตามความท้าทายทางเทคโนโลยีสำหรับมันเทศเป็นวัตถุดิบนั้นจะต้องมีการปรับปรุงเทคโนโลยีและการหมัก กระบวนการทำให้หวาน (saccharification) นอกเหนือไปจากการกำจัดน้ำเสียและสารตกค้าง (Li and Chan - Halbrendt, 2009, pp. S162 – S169)

ตาราง 6 สรุปวัตถุดิบและความท้าทายของเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเอทานอลของสาธารณรัฐประชาชนจีน

วัตถุดิบ	การผลิตปัจจุบัน (ล้านตัน)	เอเคอร์ที่ สามารถปลูกได้ (ล้านเฮกเตอร์)	เอทานอลที่ สามารถผลิตได้ (ล้านตัน)	อัตราการเปลี่ยน วัตถุดิบ/เอทานอล (โดยน้ำหนัก)
1.มันสำปะหลัง	4.3	0.5	5	7.2/1
2.ข้าวฟ่างหวาน	2.5	8	30	15.3/1
3.เยรูซาเล็ม อาติไซค์	0.1	>5	1	15.4/1
4.มันเทศ	130	4.5	15	8-9/1

ที่มา: Li and Chan-Halbrendt, 2009, pp. S162 – S169

สถานการณ์มันเทศในประเทศไทย พบว่ามันเทศเป็นพืชที่ปลูกง่ายปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ดินที่เหมาะสมที่สุดเป็นดินร่วนปนทรายที่มีการระบายน้ำดี ประเทศไทยสามารถปลูก

มันเทศได้ทั่วทุกภาค และปลูกได้ตลอดปี โดยเฉพาะฤดูการทำนา เกษตรกรเก็บเกี่ยวข้าวแล้วจะไถพื้นที่ปลูกมันเทศ โดยไม่มีการรดน้ำอาศัยน้ำค้างในเวลากลางคืนเท่านั้น มันเทศก็จะลงหัวและเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ จึงเป็นพืชหลังนาที่ใช้น้ำน้อยและน่าสนใจพืชหนึ่ง แหล่งปลูกมันเทศเพื่อการค้าที่สำคัญของไทย อยู่ที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา พิษณุโลก เพชรบูรณ์ พิจิตร กาฬสินธุ์ ขอนแก่น นครราชสีมา บุรีรัมย์ เลย สุรินทร์ อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี พระนครศรีอยุธยา ตราด ระยอง สระแก้ว ราชบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช ปัตตานี สงขลา สุราษฎร์ธานี พัทลุง ในปีเพาะปลูก 2546/47 มีพื้นที่ปลูกมันเทศทั่วประเทศ รวม 30,905 ไร่ มีปริมาณผลผลิต 56,432 ตัน เฉลี่ยผลผลิต 1.82 ตัน/ไร่ มันเทศที่ปลูกในประเทศไทยมีการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภค ประกอบอาหาร คาวหวาน เป็นหลัก แต่ในต่างประเทศ เช่น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ฟิลิปปินส์ อเมริกาใต้ บางประเทศมีการพัฒนาทำธุรกิจแปรรูปมันเทศเพื่อทำเป็นแป้งมันเทศ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทำเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวมันเทศ ทำเป็นส่วนผสมอาหารเด็ก ทำเป็นพลังงานเชื้อเพลิง ทำเป็นสุรา ตลอดจนใช้เป็นอาหารว่าง ประเภทขนมขบเคี้ยวต่าง ๆ มากมาย ในเดือนกรกฎาคม (2551) คณะนักวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่มี รองศาสตราจารย์ ดร. ประสิทธิ์ ใจศิลป์ รองคณบดีคณะเกษตรศาสตร์ ในฐานะหัวหน้าทีมวิจัยพืชพลังงานพบว่า มันเทศเป็นพืชอีกชนิดที่นำมาหมักเป็นเอทานอลได้ เนื่องจากมันเทศให้เปอร์เซ็นต์แป้งสูงลักษณะเดียวกับมันสำปะหลัง แต่เป็นพืชล้มลุกเก็บเกี่ยวระยะสั้น เพียงแค่ 90 วัน ก็สามารถขุดหัวมันเทศมาใช้แปรรูปได้ สามารถปลูกหมุนเวียนสูงถึงปีละ 3 ครั้ง โดยให้ผลผลิตเบื้องต้น 2-3 ตัน/ไร่ โดยจะมีการวิจัยการเพิ่มผลผลิตต่อไร่หัวมันเทศให้สูงขึ้น ตามกรอบงานวิจัยการเพาะปลูกมันเทศเพื่อผลิตพลังงานทดแทนคาดว่าจะเริ่มได้ภายในเร็ว ๆ นี้ (นักวิจัย มข. รุกต่อยอดวิจัยแก่นตะวัน มุ่งผลิตเอทานอลรองรับการผลิต E85, 2551)

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัตถุดิบจำพวกแป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ในอัตราส่วน 6 : 10 : 5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายพอลิเมอร์มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่าปลายรีดิวซิง (reducing end group) แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะมิโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะมิโลเพกทิน) วางตัวในแนวรัศมี มีขนาดโมเลกุลโดยประมาณ 10^5 - 10^6 ดาลตัน และ 10^8 ดาลตัน ตามลำดับ แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของอะมิโลส และอะมิโลเพกทินแตกต่างกัน ทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกัน

โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups) จำนวนมากยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) แต่เนื่องจากเม็ดแป้งอยู่ในรูปของร่างแห (micelles) ดังนั้นการจัดเรียงตัวลักษณะนี้จะทำให้เม็ดแป้งละลายในน้ำเย็นได้ยาก ดังนั้นในขณะที่แป้งอยู่ในน้ำเย็นเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อย แต่เมื่อให้ความร้อนกับสารละลายน้ำแป้ง พันธะไฮโดรเจนจะคลายตัวลง เม็ดแป้งจะดูดน้ำแล้วพองตัว ส่วนผสมของน้ำแป้งจะมีความหนืดมากขึ้นและใสขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของน้ำอิสระที่เหลืออยู่รอบ ๆ เม็ดแป้งเหลือน้อยลง เม็ดแป้งเคลื่อนไหวได้ยากขึ้น ทำให้เกิดความหนืดปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization) อุณหภูมิที่สารละลายเริ่มเกิดความหนืดเรียกว่า อุณหภูมิเริ่มเจลาติไนซ์ เมื่อตรวจวัดโดยเครื่องมือวัดความหนืด มักจะเรียกจุดนี้ว่า อุณหภูมิที่เริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) หรือเวลาที่เริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting time) ซึ่งจะแตกต่างกันในแป้งแต่ละชนิด ความหนืดสูงสุดของสารละลายแป้งในระหว่างเจลาติไนซ์จะแปรเปลี่ยนไปตามชนิดของแป้ง ดังแสดงในตาราง 7 นอกจากนี้ระดับอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชันจะแตกต่างกันไปตามชนิดและองค์ประกอบของแป้ง เช่น ปริมาณไขมัน สัดส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน การจัดเรียงตัวและขนาดของเม็ดแป้ง เนื่องจากการจัดเรียงตัวของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินภายในเม็ดแป้งมีความหนาแน่นไม่สม่ำเสมอ ทำให้เม็ดแป้งมีขนาดต่างกัน แป้งชนิดต่าง ๆ มีลักษณะการเกิดเจลที่ต่างกันไป (กล้านรงค์ ศรีวรรต และเกื้อกัญ ปิยะจอมขวัญ, 2550)

ตาราง 7 คุณสมบัติด้านความหนืดของสารละลายแป้งมันเทศและแป้งชนิดอื่นๆ

ประเภทแป้ง	Peak viscosity (RVU)	Trough (RVU)	Break down (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback viscosity (RVU)	Peak time (°C)	Pasting temp. (°C)
ข้าวสาลี	33.3	21.8	11.5	41.8	20.1	5.0	-
มันฝรั่ง	543.9	165.4	378.5	204.8	39.4	3.0	69.1
มันเทศ	132.8	96.8	36.0	139.1	42.3	4.5	81.5
มันแกว	224.1	172.2	51.9	239.7	67.4	4.4	71.1
มันสำปะหลัง	134.9	75.9	59.0	122.5	46.6	4.3	72.7

ที่มา: Zaidul, et al., 2007, pp. 784-791

Zaidul, et al. (2007, pp.784-791) ได้ทำการศึกษาสมบัติความหนืดของแป้งข้าวสาลี มันฝรั่ง มันเทศ มันแกว และมันสำปะหลัง ด้วยเครื่อง Rapid visco analyzer (RVA) ที่ความเข้มข้นแป้งร้อยละ 6 พบว่าแป้งมันเทศมี pasting temperature 81.5°C peak viscosity, breakdown และ setback เท่ากับ 132.8, 36.0 และ 42.3 RVU ตามลำดับ ส่วน Shariffa, et al. (2009, pp. 434- 440) ได้รายงานคุณสมบัติเจลลิตีโนซ์ของมันเทศดิบ โดยใช้เครื่อง RVA และเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) พบว่ามันเทศมีอุณหภูมิเจลลิตีโนซ์ที่ $74.18 \pm 0.32^{\circ}\text{C}$ และ $66.28 \pm 0.24^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับ

Shariffa, et al. (2009, pp. 434- 440) ทำการตั้งสมมติฐานว่าการให้ความร้อนที่ต่ำกว่าจุดเจลลิตีโนซ์ (mild heat treatment) แก่เมล็ดแป้ง ทำให้เมล็ดแป้งเกิดการพองตัวมากขึ้น รูหรือรอยแยกที่เกิดอยู่บนเมล็ดแป้งจะเปิดออก ซึ่งเป็นผลดีต่อการเข้าทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดแป้ง โดยจะไปเพิ่มค่าระดับการย่อยของแป้ง และจากการทดลองพบว่าระดับการย่อยของแป้งเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับแป้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ช่วยให้การเข้าทำงานของเอนไซม์เกิดได้ดีขึ้น ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าในช่วงการให้ความร้อนเมล็ดแป้งเกิดการพองตัวขึ้นเล็กน้อย ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการขยายของรูขนาดเล็กและช่องภายในบนพื้นผิวเมล็ดแป้ง โดยช่องทางเหล่านี้จะยอมให้เอนไซม์แพร่เข้าไปอย่างง่ายดาย นอกจากนี้พบว่าค่าระดับการย่อยของแป้งมันสำปะหลังมีค่ามากกว่าแป้งมันเทศ โดยสอดคล้องกับการศึกษา Zhang and Oates (1999, pp. 157-163) รายงานว่าเมล็ดแป้งมันเทศมีความไวต่อเอนไซม์ α -amylase และ glucoamylase น้อยกว่าเมล็ดแป้งมันสำปะหลัง พื้นผิวที่ขรุขระของแป้งมันสำปะหลังเกิดขึ้นจากปรากฏการณ์ exo-corrosion ในการทำงานของเอนไซม์ ส่วน Valetudie, et al. (1993, pp. 270-276) รายงานว่า หลุมขรุขระอยู่บนขอบของเมล็ดแป้งมากกว่า ดังนั้นจึงเกิดรอยตัด (truncatures) ที่ปรากฏในแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นจุดที่อ่อนแอของโครงสร้างเมล็ดแป้งนำไปสู่ความไวที่มากขึ้นในการทำงานของเอนไซม์ Gallant, et al. (1992, pp. S3-S6) พบว่าพืชหัวเขตร้อนบางชนิดมีบริเวณความไวต่อเอนไซม์ที่จำเพาะเจาะจง ซึ่งจะเกิดเป็นหลุมโดยการทำงานแบบ endo-corrosion ของเอนไซม์ ดังนั้น หลุมขรุขระของแป้งมันสำปะหลังอาจเนื่องมาจากบริเวณที่จำเพาะต่อเอนไซม์

เมื่อนำแป้งมันเทศมาหาปริมาณอะมิโลส พบว่าปริมาณอะมิโลสของแป้งมันเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แตกต่างกับแป้งมันสำปะหลัง ทำให้เป็นที่น่าสนใจเกี่ยวกับปริมาณอะมิโลสจากแป้งมันเทศที่ผ่านการให้ความร้อนอาจจะมาจาก intrinsic amylose และจากการย่อยพันธะ α -1,4 และ α -1,6 โดย α -amylase และ glucoamylase ในระหว่างกระบวนการย่อย ซึ่งสอดคล้องกับ

การพองตัวที่เพิ่มขึ้นของแป้งดิบที่ผ่านการย่อยโดยเอนไซม์โดยตรง เนื่องมาจากปริมาณ intrinsic amylose ทำให้คงความเป็นเม็ดแป้งเอาไว้ได้ (Shariffa, et al., 2009, pp. 434-440)

การย่อยแป้งโดยเอนไซม์

เอนไซม์ คือ ชีวโมเลกุลที่สามารถเปลี่ยนแปลงซับสเตรต (substrate) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ในสถานะที่ไม่รุนแรง โดยปริมาณเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง เอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นโปรตีน เนื่องจากโปรตีนเป็นโมเลกุลที่มีการเรียงลำดับกรดอะมิโนที่แตกต่างได้มากมาย และมีความหลากหลายของกลุ่มฟังก์ชัน โปรตีนต่างชนิดสามารถจับอย่างจำเพาะและเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับซับสเตรตต่างประเภทได้ จึงทำให้เกิดเอนไซม์หลากหลายชนิด ซึ่งเร่งปฏิกิริยาเคมีได้ต่างกัน ประโยชน์โดยทั่วไปของเอนไซม์มีดังนี้

1. มีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา (catalytic efficiency) สูง
2. ทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นหลายล้านเท่า
3. เอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรต (substrate specificity) สูง
4. สามารถควบคุมการทำงาน (regulated property) ให้เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้
5. เอนไซม์ทำงานในสถานะที่ไม่รุนแรง (mild condition)
6. ประหยัดพลังงาน
7. ลดการปนเปื้อนของสารพิษสู่สิ่งแวดล้อม

การเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยเอนไซม์จะไปลดพลังงานกระตุ้น ในปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง (enzyme-catalyzed reaction) ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นถึง 10^5 - 10^{17} เท่า เมื่อเทียบกับปฏิกิริยาที่เกิดโดยไม่มีตัวเร่ง (non-catalyzed reaction) หรือเกิดโดยตัวเร่งอื่นที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzyme-catalyzed reaction) การที่เอนไซม์เพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยา (rate enhancement) เกิดจากการที่เอนไซม์สามารถลดพลังงานกระตุ้นของสารตัวกลางที่เกิดในสถานะแทรนซิชัน (transition state intermediate) ในระหว่างปฏิกิริยาได้ ดังนั้นการย่อยแป้งโดยเอนไซม์จึงมีข้อดีกว่ากรรมวิธีการย่อยโดยใช้กรด

วัตถุดิบจำพวกแป้งที่จะนำมาผลิตเอทานอลนั้น จะต้องมีการปรับสภาพเม็ดแป้งเบื้องต้น (pre-treatment) ก่อนที่จะย่อยด้วยเอนไซม์ เพราะโมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) จำนวนมากยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและเรียงตัวกันเป็นร่างแหทำให้เม็ดแป้งละลายน้ำเย็นได้ยาก โดยวิธีที่นิยมใช้คือการให้ความร้อนกับสารละลายแป้ง ซึ่งจะทำให้พันธะไฮโดรเจนจะคลายตัวออก เม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้ดีขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยพันธะไฮโดรเจนของแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ง่าย สำหรับสารละลายแป้งที่เตรียมจากหัวมัน

ทดสอบซึ่งมีแป้งอยู่ร้อยละ 17 น้ำหนักเปียก เมื่อนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นย่อยด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าให้ผลได้ของกลูโคสร้อยละ 15.56 น้ำหนักเปียก ในขณะที่สารละลาย แป้งจากมันสำปะหลังสดซึ่งมีแป้งอยู่ร้อยละ 28 น้ำหนักเปียก ให้ผลได้ของกลูโคสเท่ากับร้อยละ 25.27 น้ำหนักเปียก (Johnson, Padmaja, and Moorthy, 2009, pp. 616-620) ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้มากกว่าร้อยละ 95 สำหรับแป้งมันเทศและแป้งมันสำปะหลังนั้น มีอุณหภูมิเจลาติไนซ์เท่ากับ 74.18 ± 0.32 องศาเซลเซียส และ 70.42 ± 0.25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Shariffa, et al., 2009, pp. 434-440) ปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะลดพลังงาน ในการปรับสภาพเม็ดแป้งเบื้องต้นลง โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์ ของแป้ง พบว่าเมื่อนำสารละลายแป้งมาให้ความร้อนก่อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการย่อยด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการให้ความร้อนแก่แป้งมันเทศก่อนการย่อยจะได้ Dextrose Equivalent (DE) เท่ากับร้อยละ 34 ซึ่งสูงกว่าแป้งที่ไม่ผ่านความร้อน (DE = ร้อยละ 27) ในขณะที่แป้งมันสำปะหลังที่ ผ่านความร้อนก่อนได้ DE เท่ากับร้อยละ 50 มากกว่าแป้งที่ไม่ผ่านความร้อน (DE = ร้อยละ 36) (Shariffa, et al., 2009, pp. 434-440) เนื่องจากความร้อนทำให้รูพรุนที่พื้นผิวของเม็ดแป้งขยาย มากขึ้น ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปย่อยภายในเม็ดแป้งได้มากขึ้น การย่อยแป้งดิบโดยไม่ต้อง ผ่านการเจลาติไนซ์นั้นเป็นทางเลือกที่จะช่วยลดพลังงานและค่าใช้จ่ายลง สำหรับกระบวนการปรับ สภาพเม็ดแป้งแบบไม่ใช้ความร้อนนั้น การบ่มแป้งมันสำปะหลังในสารละลายต่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์) ก่อนที่จะนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ STARGEN™ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ช่วยทำให้แป้งสามารถถูกย่อยได้ดีขึ้นและได้ปริมาณน้ำตาล ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 18.80 (กล้าณรงค์ และคณะ, 2549) เนื่องจากต่างมีผลทำให้โครงสร้าง ของเม็ดแป้งอ่อนแอลง เอนไซม์จึงสามารถเข้าไปย่อยแป้งได้ดีขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยแป้ง

1. ปริมาณแป้ง

ความเข้มข้นของสารละลายแป้งสำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบนั้น จะเตรียมที่ความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 25 - 30 โดยน้ำหนักแห้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549; Shariffa, et al., 2009, pp. 434-440) ส่วนการเตรียมแป้งจากหัวมันสดนั้นจะใช้ ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเปียก (Johnson, Padmaja, and Moorthy, 2009, pp. 616-620) ความเข้มข้นแป้งสูงจะทำให้แป้งมีความหนืดสูงเป็นสาเหตุให้เกิดการต้านการ แยกชั้นของของแข็งและของเหลว (solid – liquid separation) (Srikanta, et al., 2006) ซึ่งความ

หนึ่งสูงเป็นสาเหตุของความยากลำบากหลายๆอย่างในกระบวนการ และอาจจะนำไปสู่การย่อยแบ่งไปเป็นน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์ (Wang, et al., 2008; Ingledew, et al., 1999)

2. ปริมาณเอนไซม์

ความเข้มข้นของเอนไซม์นั้นมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการผลิตเอทานอลจากแป้งเนื่องจากเกี่ยวข้องกับต้นทุน อัตราเร็วในการย่อยแป้งและปริมาณน้ำตาลที่ได้ การย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบที่บ่มด้วยด่างก่อนด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ความเข้มข้นร้อยละ 0.125, 0.25 และ 0.50 ได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 12.73, 16.99 และ 18.80 ตามลำดับ (กัลฉัตรศรี รวีรุต และคณะ, 2549) เช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลสย่อยแป้งข้าวโพดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อความเข้มข้นเอนไซม์มากขึ้นจะทำให้อัตราการย่อยสูงขึ้นด้วยเช่นกัน (Apar and Özbek, 2004, pp. 1877-1892) นอกจากนี้การใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกันก็ช่วยให้สามารถย่อยแป้งได้มากขึ้น โดยเอนไซม์ที่สามารถนำมาใช้ร่วมกับเอนไซม์ย่อยแป้งได้แก่ เซลลูเลส เพกตินเอส เบต้ากลูโคซิเดส เบต้ากลูคาเนสและเฮมิเซลลูเลส เป็นต้น ดังเช่นการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมหลายชนิดโดยไม่ผ่านความร้อนในกระบวนการหมักเอทานอลก็สามารถทำให้ได้น้ำตาลที่สามารถถูกหมักได้ (fermentable sugar) เพิ่มขึ้น (Rattanachomsri, et al., 2009, pp. 488-493) สำหรับมันเทศนั้นการย่อยแป้งดิบโดยตรงทำได้ยากกว่ามันสำปะหลัง เนื่องจากมันเทศมียางเหนียว (latex) และเมล็ดแป้งถูกกักอยู่ในโครงสร้างของเพกติน-เฮมิเซลลูโลส

3. พีเอช

พีเอชทำให้หมู่ฟังก์ชันของเอนไซม์ที่แตกตัวได้อยู่ในสถานะการแตกตัว (ionization state) ที่แตกต่างกัน ความแตกต่างของสถานะการแตกตัวของหมู่ฟังก์ชันที่บริเวณเร่งจะมีผลอย่างมากต่อโครงรูปของเอนไซม์ และอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรท หากพีเอชสูงหรือต่ำมาก ๆ จะมีผลให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติได้ เอนไซม์ทุกชนิดมีค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดในการทำงาน เรียกว่า optimum pH นอกจากค่าพีเอชแล้ว ค่าความแรงไอออนและชนิดของบัฟเฟอร์ยังส่งผลร่วมด้วย

Apar and Özbek (2004, pp. 1877-1892) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชในช่วง 4 – 9 เป็นเวลา 30 นาที ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ในการย่อยแป้งข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบของใบกวนที่ 300 รอบต่อนาที พบว่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 6.0 ให้ระดับการย่อยและกิจกรรมของเอนไซม์ที่ร้อยละ 47 และ 17 ตามลำดับ นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษาในการย่อยแป้งจากข้าว โดยแปรค่าพีเอชในช่วง 4.5 – 8.5 ในสภาวะเดียวกันพบว่าพีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 6.5 โดยให้ค่าระดับการย่อย และกิจกรรมเอนไซม์สัมพัทธ์ที่ร้อยละ 81.61 และ 79.42 ตามลำดับ (Apar and Özbek, 2005, pp. 1367-1379)

4. ผลของอุณหภูมิ

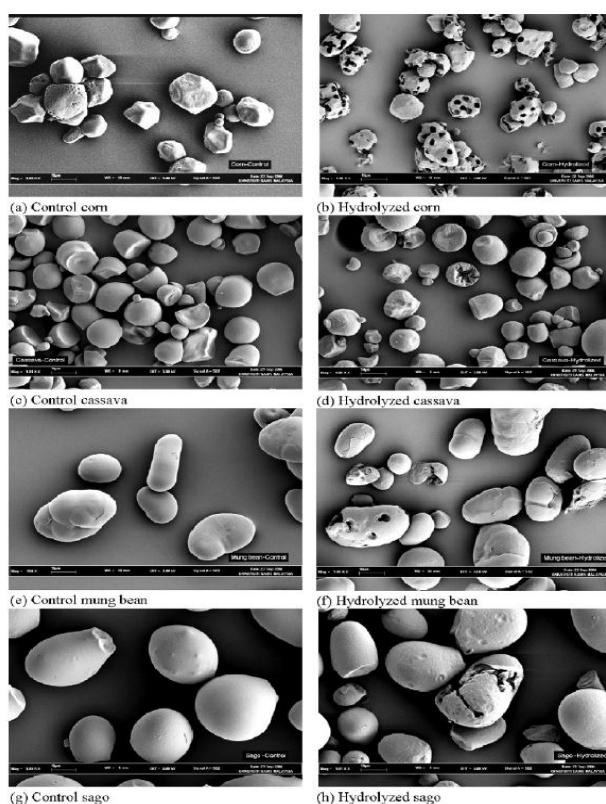
อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยแป้งดิบ การให้ความร้อนมากขึ้นจะทำให้ปฏิกิริยาในการย่อยเกิดได้ดีขึ้น เนื่องจากแป้งมีการพองตัว และละลายน้ำได้ดี แต่ทั้งนี้เอนไซม์จะต้องทนอุณหภูมิสูงได้ด้วย สำหรับเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ STARGEN™ (Genencor International, Palo Alto, CA) นั้นสามารถทำงานได้ช่วงอุณหภูมิ 20 – 40 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิต่างกันก็ทำให้เอนไซม์มีความสามารถในการทำงานแตกต่างกัน ซึ่งผลของอุณหภูมิต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาการย่อยแป้งนั้น สามารถทำนายได้โดยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้งที่เป็นสมการโพลีโนเมียล (Apar and Özbek, 2004, pp. 1877-1892) และแบบจลนพลศาสตร์ที่ปรับมาจาก Arrhenius Equation สำหรับการย่อยแป้งนั้นมีการพัฒนาแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์สำหรับการทำให้เหลว (liquefaction) และการทำให้หวาน (saccharification) ในกระบวนการผลิตฟรุคโตสไซรัป โดยพิจารณาถึงอัตราเร็วของการย่อย และการเสื่อมสภาพของเอนไซม์เนื่องจากอุณหภูมิด้วย (Morales, et al., 2008, pp. 25-30) นอกจากนี้ในขั้นตอนที่เรียกว่า mashing ของกระบวนการผลิตเบียร์ซึ่งมีการเพิ่มอุณหภูมิของถึงปฏิกิริยาเป็นระยะ ๆ เพื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลนั้น ก็ได้ถูกพัฒนาแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ขึ้นมาเพื่อแสดงผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์เบตา-อะไมเลส (Brandam, et al., 2003, pp. 43-52) และใช้ทำนายการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลกลูโคส

5. ลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้ง

ลักษณะการทำงานที่จำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับจุดกำเนิดทางพฤกษศาสตร์ ทั้งของเม็ดแป้งและเอนไซม์ร่วมกัน (Tester and Morrison, 1990) ดังนั้นเม็ดแป้งจากกลุ่มที่แตกต่างกันที่ประกอบด้วย ธัญพืช (ข้าวโพด), ราก (มันสำปะหลัง), พืชตระกูลถั่ว (ถั่วเขียว) และปาล์ม (สาคุ) จึงถูกเลือกใช้เพื่อศึกษาความไวและความต้านทานต่อการย่อยของเอนไซม์

แป้งก่อนการย่อยและหลังจากถูกย่อยทั้ง 4 ชนิดถูกศึกษาด้วยกล้องถ่ายภาพอิเล็กตรอน (ภาพ 1) แป้งก่อนการย่อยเป็นแป้งที่ถูกย่อยโดยปราศจากการเติมเอนไซม์ ในขณะที่แป้งหลังจากการถูกย่อยได้ทำการเติมเอนไซม์ STARGEN™ 001 ลงไป ความไวของเม็ดแป้งสามารถจำแนกตามความรุนแรงและรูปแบบที่เม็ดแป้งถูกกัดเซาะและสีกกร่อนได้ (Gallant, et al., 1982) ภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งบ่งบอกว่าเกิดการย่อยได้ไม่เหมือนกัน จากภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งข้าวโพดหลังจากการย่อยได้แสดงให้เห็นถึงรูพรุนอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งจากเม็ดถั่วเขียว, มันสำปะหลังและสาคุ หลังจากการย่อยเม็ดแป้งข้าวโพดและเม็ดแป้งถั่วเขียวแสดงหลุมลึก และโครงสร้างที่เป็นรูอย่างมากมายเมื่อเปรียบเทียบกับเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

และเม็ดแป้งสาคุ ในขณะที่เม็ดแป้งมันสำปะหลังและสาคุหลังการย่อยจะแสดงพื้นผิวที่ขรุขระกับบางเม็ดแป้งยังคงสภาพเดิม (ภาพ 1(d) และ 1(h)) O'Brien and Wang (2008) พบว่ารูปแบบโครงสร้างรูพรุนในระหว่างการย่อยของเอนไซม์จะมีขนาดใหญ่และลึกเข้าไปภายในเม็ดแป้งเป็นผลให้การย่อยเกิดขึ้นได้ดีและปรากฏรูพรุนบนพื้นผิวของเม็ดแป้งด้วย ปริมาณสัมพันธของรูพรุนบนเม็ดแป้งหลังการย่อยในแต่ละกลุ่มเป็นดังนี้ แป้งข้าวโพด > แป้งถั่วเขียว > แป้งมันสำปะหลัง > แป้งสาคุ

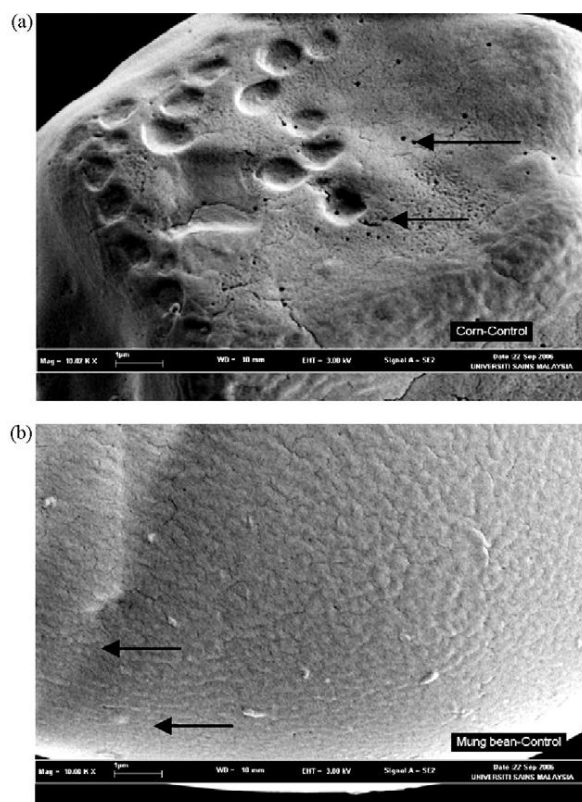


ภาพ 1 ภาพถ่ายอิเล็กตรอน (1000x) ของแป้งชนิดต่างๆก่อนการย่อยและหลังการย่อยด้วยอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์ (35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แถบสเกล = 10 ไมโครเมตร)

ที่มา: Uthumporn, Zaidul, and Karim, 2010

พื้นผิวเม็ดแป้งก่อนการย่อยจะมีลักษณะเรียบยกเว้นพื้นผิวบนเม็ดแป้งข้าวโพด (ภาพ 2) ในมุมมองขยายของเม็ดแป้งข้าวโพดและถั่วเขียวเผยให้เห็นรูเล็ก ๆ และหลุม ซึ่งแผ่ขยายอยู่ทั่วพื้นผิว (ภาพ 2(a) และ 2(b)) รูพรุนธรรมชาติเหล่านี้จะช่วยเพิ่มการแพร่กระจายของเอนไซม์

เข้าไปภายในเมล็ดแป้งในช่วงการย่อย (Sarikaya, et al., 2000) ทำให้เข้าใจภาพ 5(b) ได้อย่างแจ่มชัดว่าเมล็ดแป้งข้าวโพดถูกย่อยได้สูงด้วยการปรากฏของรูพรุนและหลุมเล็กอย่างมากและเป็นโครงสร้างพื้นผิวที่เฉพาะของพืชนั้น ๆ สอดคล้องกับการศึกษาของ Aggarwal and Dollimore (1998) แป้งที่ถูกย่อยได้อย่างรวดเร็วได้แก่ แป้งข้าวโพด และแป้งสาลี เนื่องจากมีพื้นผิวที่ยากต่อการทำงานของเอนไซม์เพื่อที่จะสร้างเป็นร่องลึกภายในเมล็ดแป้ง และในทางตรงกันข้ามเมล็ดแป้งมันสำปะหลังและเมล็ดแป้งสาคูก่อนการย่อย (1(e) และ 1(g)) ไม่มีรูพรุนหรือหลุมเล็กตามธรรมชาติอยู่

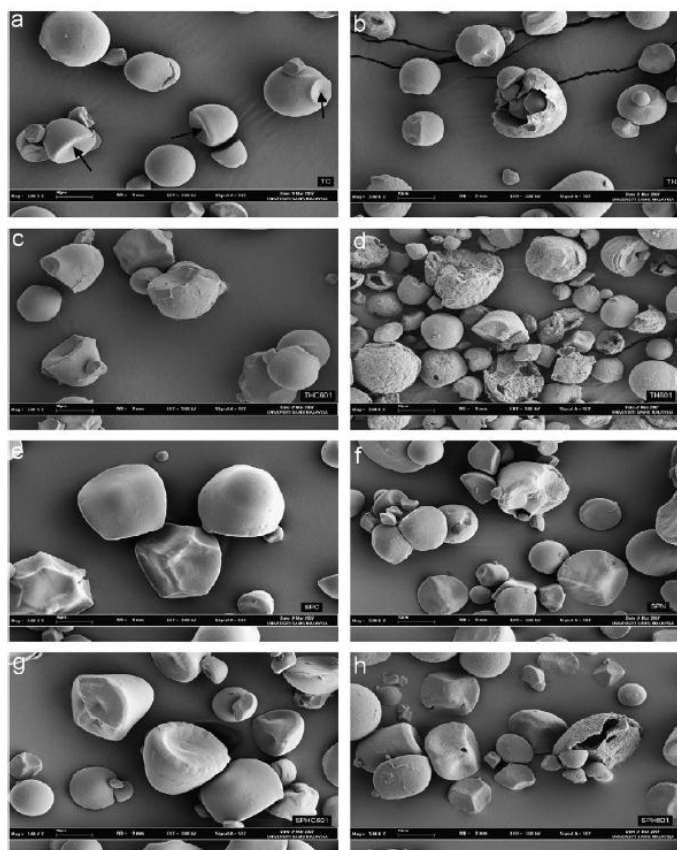


ภาพ 2 การปรากฏของรูพรุนและหลุม (แสดงตามลูกศร) บนพื้นผิวของ (a) เม็ดแป้งข้าวโพดก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ และ (b) เม็ดแป้งถั่วเขียว

ที่มา: Uthumporn, Zaidul, and Karim, 2010

Shariffa, et al. (2009) ได้ทำการศึกษาการพรีทรีตเมนต์ (60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที) และไม่พรีทรีตเมนต์ โดยย่อยเมล็ดแป้งมันเทศและแป้งมันสำปะหลังทางการค้า ด้วยด้วยเอนไซม์ StargenTM แสดงได้ดังรูป 3 พบว่าการกักร่อนของเอนไซม์เกิดขึ้นได้แค่เฉพาะบริเวณพื้นผิวของเมล็ดแป้ง เห็นได้จากพื้นผิวที่ขรุขระและถูกกักร่อนในเมล็ดแป้งที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์

(ภาพ 3(d) และ 3(h)) ซึ่งแสดงพื้นผิวขรุขระกับการกัดเซาะที่จำกัดและหลุมที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งมันสำปะหลังและมันเทศที่ไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ (ภาพ 3(b) และ 3(f)) ความร้อนของแป้งในน้ำเป็นสาเหตุในการทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเมอร์ เป็นเหตุให้เกิดการอ่อนแอของเม็ดแป้ง เอนไซม์จึงสามารถเข้าไปแพร่กระจายและย่อยแป้งได้อย่างง่ายดาย

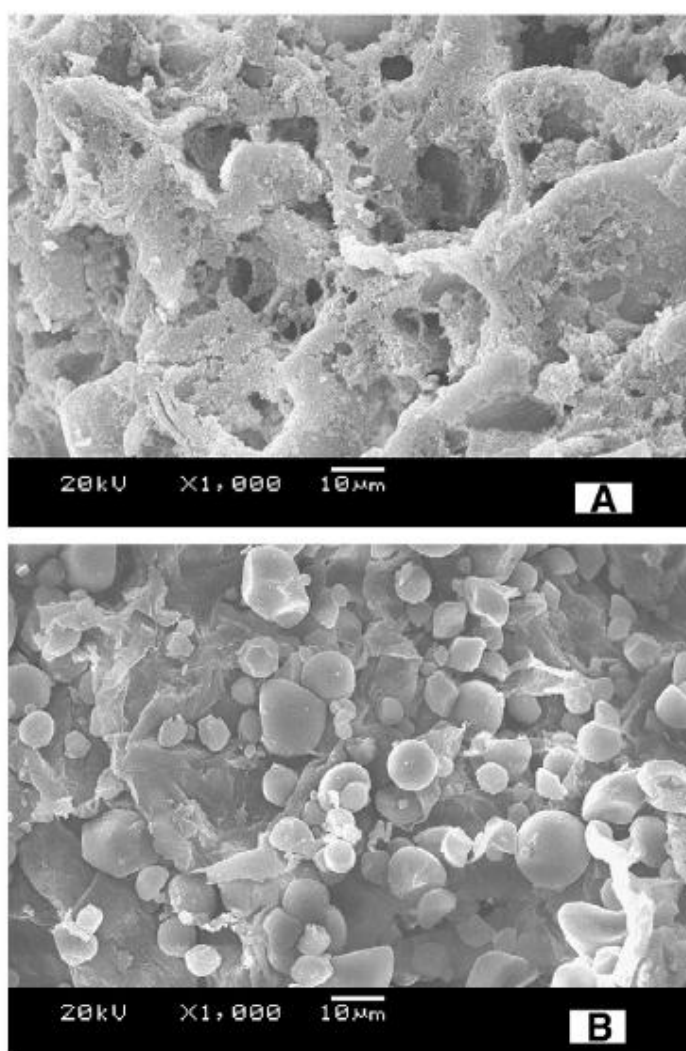


ภาพ 3 ภาพถ่ายอิเล็กตรอน (3000x) (a, b) แป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (c, d) แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (e, f) แป้งมันเทศที่ไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ (g, h) แป้งมันเทศที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์

ที่มา: Shariffa, et al., 2009

จากภาพ 3(b) และ 3(d) แสดงเม็ดแป้งมันสำปะหลังหลังการย่อยด้วยเอนไซม์ เปรียบเทียบกับเม็ดแป้งมันเทศ (ภาพ 3(f) และ 3(h)) ของทั้งที่มีการพรีทรีตเมนต์และไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยความร้อน (60 องศาเซลเซียส, 30 นาที) พื้นผิวเม็ดแป้งที่มีหลุมขนาดใหญ่หลาย ๆ หลุมสามารถพบได้ในเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านและไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์มากกว่ามันเทศ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang และ Oates (1999) ได้รายงานว่ามีเม็ดแป้งมันเทศมีความไวต่อเอนไซม์ α -amylase และ glucoamylase น้อยกว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลัง พื้นผิวที่ขรุขระของแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อาจเนื่องมาจากปรากฏการณ์ exo-corrosion ของเอนไซม์ทั่วทั้งพื้นผิว Valetudie, et al. (1993) รายงานว่าหลุมเกิดขึ้นได้มากกว่าบนขอบของเม็ดแป้ง ดังนั้นการปรากฏของหลุมตัด (truncatures) แสดงตามลูกศรภาพ 2a เป็นจุดที่อ่อนแอของเม็ดแป้ง นำไปสู่ความไวต่อการย่อยของเอนไซม์ที่สูงกว่า สอดคล้องกับ Gallant, et al. (1992) ที่ว่าหัวใจใต้ดินของพืชเขตร้อนมีบริเวณความไวที่จำเพาะเจาะจง ซึ่งสามารถกลายเป็นหลุมลึกเนื่องมาจากการทำงานของเอนไซม์แบบ endo-corrosion ได้ เพราะฉะนั้นหลุมขรุขระบนเห็นแป้งมันสำปะหลังบริเวณที่จำเพาะเจาะจงเหล่านี้ Juszczak, et al. (2003) ได้ค้นพบว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลังมีส่วนนูนและส่วนนูนบนพื้นผิวเม็ดแป้งมันสำปะหลังด้วย

จากการศึกษาของ Zhang, et al. (2010) ที่ได้พูดถึงการลดค่าความหนืดในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลจากมันเทศที่ความเข้มข้นแป้งสูง ๆ ซึ่งพบว่าข้อจำกัดของการใช้ปริมาณของแข็งความเข้มข้นสูง ๆ นี้ ทำให้น้ำแป้งเกิดความหนืดสูง นอกจากนี้พบว่าไม่สามารถเตรียมแป้งที่ความเข้มข้นสูง ๆ ได้ เพราะความหนืดสูงนี้ไม่สามารถให้ระดับเอทานอลที่สูงได้ การศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังสดนั้นจะให้ความหนืดสูงเป็นสาเหตุของความต้านทานต่อการแยกชั้นระหว่างของแข็งและของเหลวได้และประสิทธิภาพของการหมักที่ต่ำด้วย (Srikanta, et al., 2006) อีกทั้งความหนืดสูงยังเป็นสาเหตุของการจัดการกับความยากลำบากทั้งหลายในระหว่างกระบวนการ และนำไปสู่การย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์ได้ (Wang, D., et al., 2008; Ingledew, W.M., et al., 1999) ดังนั้นจึงทำการลดความหนืดโดยเอนไซม์ Xylanase ดังภาพ 4(a) เป็นภาคตัดขวางของหัวมันซึ่งเม็ดแป้งจะเรียงต่อกันเป็นพอลิเมอร์ภายในเมตริกซ์ ผิดปกติ



ภาพ 4 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนของน้ำมันเทศก่อน (a) และหลัง (b) การพรีทรีตเมนต์

ที่มา: Zhang, et al., 2010

ภาพ 4(b) แสดง ภาคตัดขวางหลังจากเติมเอนไซม์ xylanase ซึ่งจะ去做ลายผนังเซลล์ที่เป็นสาเหตุของกิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ลดลง ผนังเซลล์ของพืชชนิด dicotyledonous ประกอบด้วยวัตถุจำพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งจะกักเก็บน้ำไว้ในเมทริกซ์ของผนังเซลล์ของรากและหัวมันเป็นผลให้น้ำมันมีความหนืดสูง ความหนืดสูงของน้ำมันเทศเป็นสาเหตุการต้านทานต่อการแยกชั้นของของแข็ง-ของเหลวและประสิทธิภาพการหมักที่ต่ำ

เอทานอล

เอทานอล (ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) คือสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดติดไฟง่าย สามารถละลายน้ำและสารอินทรีย์อื่นได้ ให้ค่าพลังงานความร้อน (calorific value) โดยการเผาไหม้ประมาณ 12,800 บีทียู (BTU ย่อมาจาก British Thermal Unit ซึ่งเป็นค่าวัดพลังงาน) ต่อปอนด์ มีจุดเดือด 78 องศาเซลเซียส จุดเยือกแข็ง -117.3 องศาเซลเซียส และมีความถ่วงจำเพาะ 0.794 ที่ 11.6 องศาเซลเซียส

1. กระบวนการผลิตเอทานอล

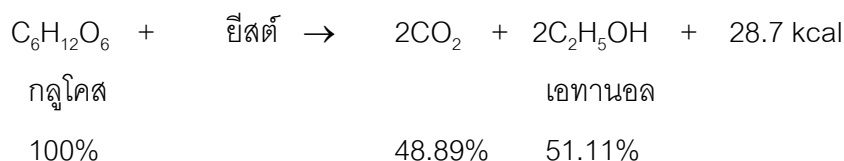
กระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis) และกระบวนการหมัก (Fermentation)

1.1 เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis)

เป็นการผลิตจากอนุพันธ์สารปิโตรเลียม เช่น เอทาลีน เป็นต้น เริ่มผลิตครั้งแรกในปี พ.ศ. 2404 โดยในระยะแรกเป็นการผลิตจากปฏิกิริยาทางอ้อมของเอทิลีน (Ethylene, C_2H_4) ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟริกได้ Ethyl sulphate จากนั้นจึงให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ได้เอทานอลและได้มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมขึ้นในปี พ.ศ. 2473 โดย Carbide and Chemical Corporation หรือ Union Carbide ในปัจจุบัน ต่อมา Shell Chemical Company ได้คิดค้นกระบวนการผลิตเอทานอลจากเอทาลีนโดยตรงโดยปฏิกิริยาการเติมน้ำ (hydration) ได้สำเร็จในปี พ.ศ. 2491 และได้มีบริษัทที่คิดค้นและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ Sasol Dow และ British Petroleum แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเทคโนโลยีการหมักเอทานอลได้รับการพัฒนาขึ้นประกอบกับกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีมีราคาต้นทุนวัตถุดิบที่สูง และกระบวนการผลิตที่ค่อนข้างยุ่งยาก ทำให้ในปัจจุบันปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีมีปริมาณน้อยมาก คิดเป็นปริมาณร้อยละ 7 ของปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ทั้งหมด

1.2 เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการหมัก (Fermentation)

เป็นการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโดยการหมักด้วยเชื้อยีสต์ ซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกยีสต์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) เป็นอาหาร และเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่าไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในสถานะที่ไม่มีออกซิเจนดังนี้

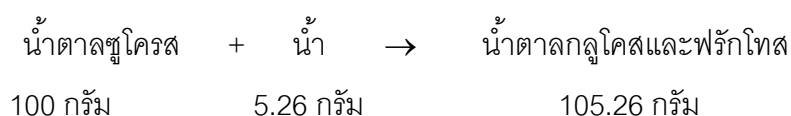
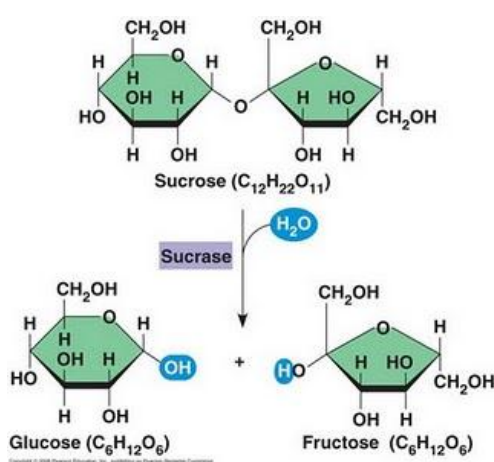


ตามทฤษฎีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 100 จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลเท่ากับร้อยละ 48.89 และ 51.11 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ แต่ในทางปฏิบัติจะเกิดการสูญเสียได้เป็นสารประกอบอื่น ๆ หรือใช้ในการสร้างเซลล์ของยีสต์ ขั้นตอนที่ 2 เป็นการกลั่นเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95 ปัจจุบันการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมทั่วโลกประมาณร้อยละ 93 ใช้กระบวนการหมัก

2. ประเภทวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล

วัตถุดิบทางการเกษตรที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลและสามารถผลิต เอทานอลได้ สามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภท ดังนี้

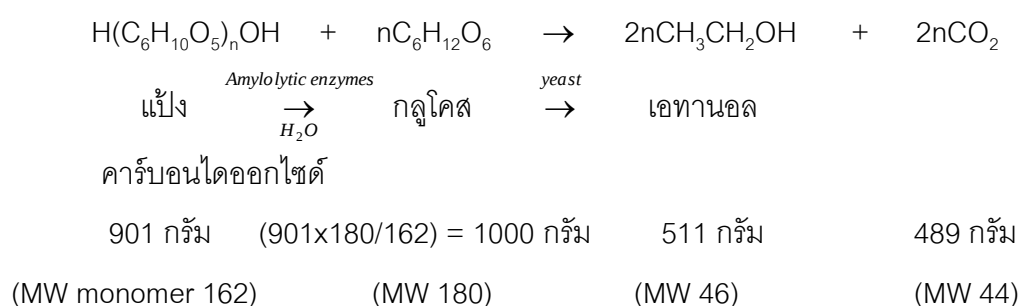
2.1 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Sugar) ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล และบีบน้ำตาล ยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการใด ๆ โดยวัตถุดิบเหล่านี้จะมีน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นองค์ประกอบหลัก มีโครงสร้างของน้ำตาลซูโครสและสมการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพื่อใช้ในกระบวนการหมัก ดังภาพ 5



ภาพ 5 โครงสร้างและสมการการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส

น้ำตาลนั้นอาจได้มาจากพืชโดยตรง เช่น อ้อยและบีท หรือได้มาจากการย่อยแป้งที่มีอยู่ในพืช เช่น ข้าวโพด ข้าว มันสำปะหลังและมันเทศ เป็นต้น ตลอดจนน้ำตาลที่ได้มาจากการย่อยวัตถุดิบที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ เช่น ฟางข้าว ชี้อ้อย กากมัน ชานอ้อย เป็นต้น ในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นอ้อย หรือกากน้ำตาลนั้น สามารถนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการหมักด้วยยีสต์ได้โดยตรง ทำให้อ้อยและกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่มีประสิทธิภาพมาก เนื่องจากต้นทุนการผลิตต่ำ อย่างไรก็ตามปริมาณวัตถุดิบที่เป็นอ้อยและกากน้ำตาลมีไม่แน่นอน และยังมีการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอื่นด้วย ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อราคาวัตถุดิบ ทำให้สามารถนำมาใช้เพื่อตอบสนองอุปสงค์สำหรับอุตสาหกรรมเอทานอลได้เพียงส่วนหนึ่งเท่านั้น อุตสาหกรรมจึงจำเป็นต้องมีทางเลือกของวัตถุดิบอื่นด้วย

2.2 วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starch) ได้แก่ มันสำปะหลัง (รวมทั้งมันเส้น) กล้วยพืช และมันฝรั่ง เป็นต้น โดยแป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ในอัตราส่วน 6 : 10 : 5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไป คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักได้ ดังปฏิกิริยา



ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่มีแป้งนั้น แป้งในวัตถุดิบจะต้องถูกย่อยให้ได้น้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดเล็กก่อน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากนั้นยีสต์จึงจะสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ ทั้งนี้ในการย่อยแป้งประกอบด้วยขั้นตอนการย่อย 2 ขั้นตอนคือ

2.2.1 การย่อยครั้งแรก (Liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิประมาณ 100 – 105 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลแป้งที่มีขนาดเล็กและมีความหนืดลดลง ของเหลวที่ได้จะมีค่าสมมูลเดกโทรส (Dextrose

equivalent, DE ซึ่งหมายถึงร้อยละโดยน้ำหนักของน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อคิดเป็นน้ำตาลกลูโคสที่มี (ในตัวอย่าง) อยู่ในช่วง 10 ถึง 20 เรียกผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้ว่า มอลโตเดกซ์ทริน (Maltodextrin)

2.2.2 การย่อยครั้งสุดท้าย (Saccharification) สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งควรมีสมมูลเดกซ์โทรส (Dextrose equivalent, DE) สูง ยีสต์จึงจะทำงานได้ดี ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะมิเลส (glucoamylase) เข้าไปย่อยให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งจะใช้เวลาในการย่อยระหว่างประมาณ 10 – 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 ถึง 60 องศาเซลเซียส (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ และสภาวะในการย่อย) เมื่อสิ้นสุดการย่อยจะให้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมเอนไซม์และฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนก่อนที่จะเข้ากระบวนการหมักด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล เมื่ออยู่ในสภาพปราศจากอากาศ (หรือมีอากาศจำกัด)

2.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ส่วนมากจะเป็นผลผลิตพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ เป็นต้น วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิดคือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่น ๆ เจือปนด้วย เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาว และอยู่ในรูปผลึก มีลักษณะเป็นเส้น เหนียวและไม่ละลายน้ำ เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (pentose) หลายชนิด เช่น ไซโลส (xylose) แมนโนส (mannose) และแอราบินอส (arabinose) เป็นต้น ไม่ละลายน้ำและเสถียรน้อยกว่าเซลลูโลสมาก ลิกนินเป็นพอลิเมอร์ของ Phenylpropane ที่ทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก ดังนั้นในการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสจึงประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ 3 ขั้นตอน ดังนี้

2.3.1 การปรับสภาพวัตถุดิบหรือการทำ Pretreatment เป็นการทำลายพันธะที่เซลลูโลสจับกับสารประกอบอื่น ๆ ออก เพื่อให้เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) สามารถเข้าถึงและย่อยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น วิธีการทำ Pretreatment มีหลายวิธี ทั้งวิธีทางเคมีได้แก่ การย่อยด้วยกรดเจือจาง การย่อยด้วยกรดเข้มข้น และการย่อยด้วยด่าง เป็นต้น วิธีทางกายภาพ ได้แก่ การระเบิดด้วยไอน้ำ (steam explosion) เป็นต้น หรืออาจใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบเป็นสำคัญ

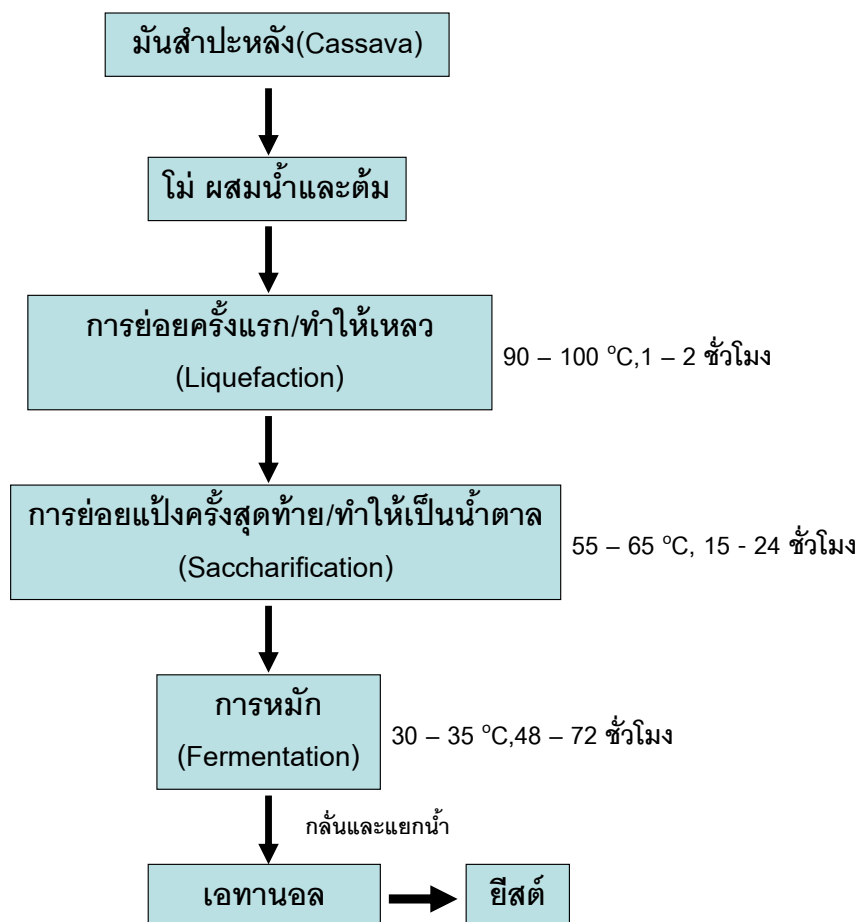
2.3.2 การย่อยมี 2 วิธี คือ การย่อยด้วยกรดและการย่อยด้วยเอนไซม์ การย่อยด้วยกรดจะมี 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกจะเป็นการย่อยเฮมิเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลเพนโตส จากนั้นขั้นตอนที่สองเป็นการย่อยเซลลูโลสให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์เทคโนโลยีที่

ใช้ปัจจุบันคือ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) ซึ่งเป็นการรวมการย่อยและการหมักในถังหมักเดียวกัน

2.3.3 การหมักน้ำตาลที่ได้ให้เป็นเอทานอล เมื่อมีการเปลี่ยนวัตถุดิบเป็นน้ำตาลแล้ว ขั้นตอนต่อไปเป็นการหมักน้ำตาลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลชนิดนั้น ๆ ได้ (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549)

3. การผลิตเอทานอลจากแป้ง

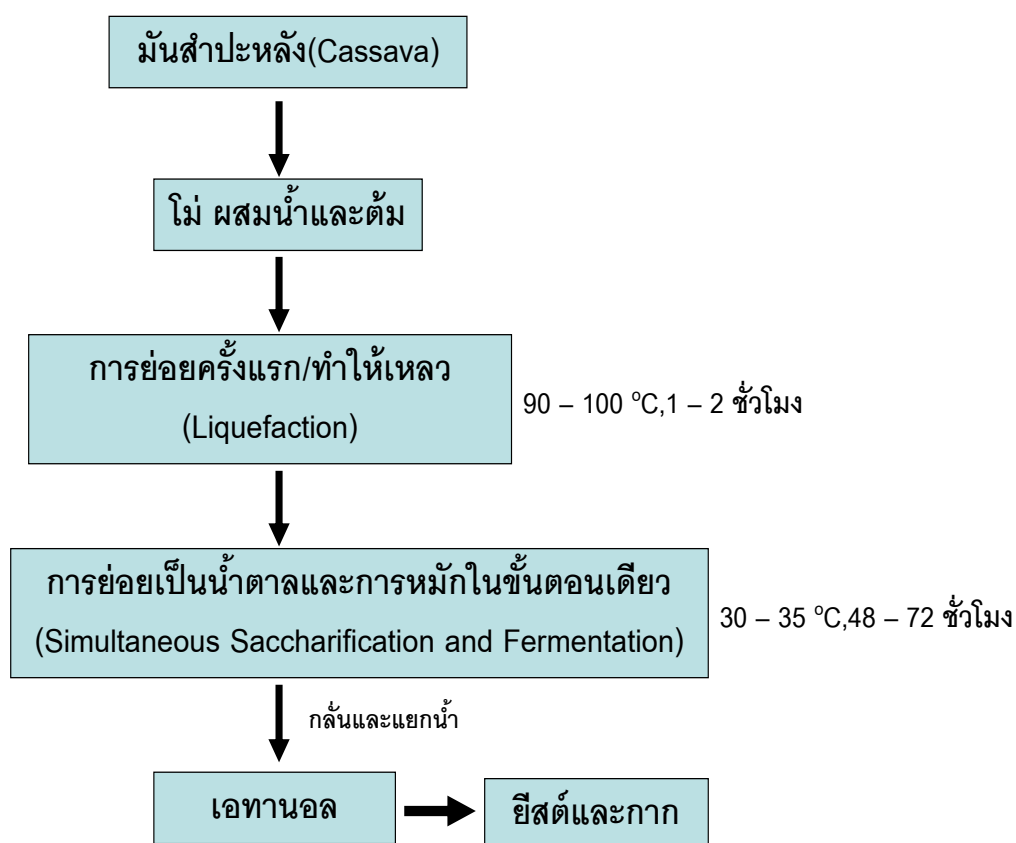
กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งแบบดั้งเดิมนั้น ประกอบด้วยขั้นตอนการทำให้เหลว (Liquefaction) โดยเอนไซม์กลุ่มแอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ให้โมเลกุลของแป้งมีขนาดเล็กลง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแซคคาไรด์สายสั้น ๆ คือ เดกซ์ตริน (dextrin) ซึ่งมักจะใช้อุณหภูมิสูงถึง 90 – 100 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ จากนั้นจึงทำให้หวาน (saccharification) โดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ที่อุณหภูมิประมาณ 55 - 65 องศาเซลเซียส ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ ซึ่งใช้เวลาค่อนข้างนานเพื่อให้เกิดการย่อยเดกซ์ตรินเป็นกลูโคส ส่วนการหมักนั้นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้คือยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 – 35 องศาเซลเซียส เปลี่ยนกลูโคสให้เป็นเอทานอล ใช้เวลาประมาณ 48 – 96 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการหมักจะได้ความเข้มข้นของเอทานอลประมาณร้อยละ 8 - 12 โดยปริมาตร จากนั้นจึงนำน้ำหมักเข้าสู่กระบวนการกลั่นต่อไป ดังแสดงในภาพ 6



ภาพ 6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง (Conventional process)

ที่มา: กล้าณรงค์ ศิริรอด และคณะ, 2549

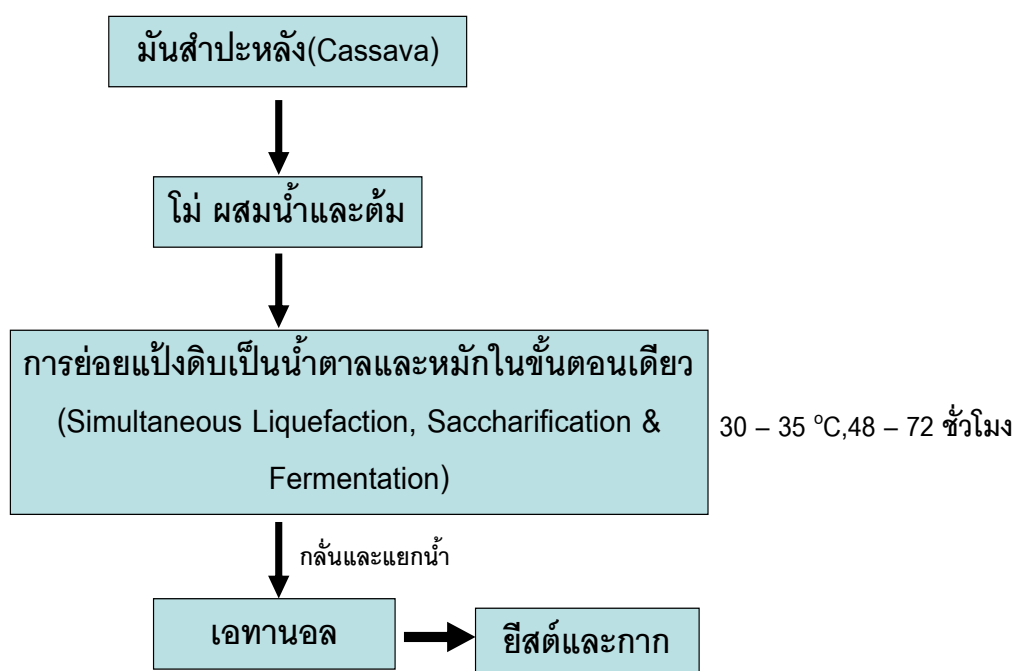
ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีที่เรียกว่า Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ขึ้นมาเพื่อย่อยวัตถุดิบจำพวกแป้ง โดยรวมขั้นตอนการทำให้หวานและการหมักเข้าไว้ด้วยกัน ซึ่งสามารถลดระยะเวลาและประหยัดพลังงานของกระบวนการได้ (Kim and Rhee, 1993, pp. 331-339; Lee, et al., 1986, pp. 293-297; Srichuwong, et al., 2009, pp. 890-898; Suresh, et al., 1999, pp. 301-304) ดังแสดงในภาพ 7



ภาพ 7 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นแบบย่อยเป็นน้ำตาลและหมักในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation: SSF process)

ที่มา: กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549

จากการค้นพบเอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งดิบได้ ทำให้การย่อยครั้งแรกหรือทำให้เหลวไม่จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิสูง (Robertson, et al., 2006, pp. 353-365) และยังทำให้กระบวนการหมักจากวัตถุดิบจำพวกแป้งใช้ระยะเวลาสั้น โดยสามารถรวมขั้นตอนการทำให้เหลว การทำให้หวานและการหมักเข้าไว้ด้วยกัน เรียกว่า Simultaneous Saccharification Liquefaction and Fermentation (SLSF) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อน มีการประยุกต์ใช้กระบวนการหมักแบบ SLSF กับการผลิตกรดแลกติกจากแป้งข้าวบาเลย์ (Linko and Javanainen, 1996, pp. 118-123) และการผลิตเอทานอลจากมันเส้น (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549) ดังแสดงในภาพ 8



ภาพ 8 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังแบบย่อยแป้งดิบเป็นน้ำตาลและหมักในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Liquefaction Saccharification and Fermentation process: SLSF)

ที่มา: กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์

ยีสต์มีบทบาทโดดเด่นในกระบวนการหมักซึ่งมีผลอย่างมากต่อคุณภาพและรสชาติของผลิตภัณฑ์ (Querol and Fleet, 2006) ยีสต์หนึ่งในบรรดาหลายชนิดได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* และ *S. bayanus* var. *uvorum* เป็นสปีชีส์ที่สำคัญที่สุดต่อกระบวนการหมักในปัจจุบัน (Pretorius, 2000, pp. 675-729; Querol and Fleet, 2006) ปัจจัยที่แตกต่างกันมีผลต่อกระบวนการหมัก ซึ่งมีผลต่อระบบนิเวศและการปรับตัวของจุลินทรีย์ในขณะนั้น อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Charoenchai, Fleet and Henschke, 1998, pp. 283-288) ตัวแปรที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือความเข้มข้นของน้ำตาลมีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 125 และ 250 กรัมต่อลิตร (Fleet and Heard, 1993, pp. 42-43) ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส (น้ำตาลในอุน่หลัก) จะมีผลต่อชนิดและสายพันธุ์ของยีสต์ในระหว่างการผลิต ซึ่งมีค่าความเป็นกรดตั้งแต่ 2.75-4.25 ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญ เพื่อความอยู่รอดและเจริญเติบโตของยีสต์ (Fleet and Heard, 1993, pp. 42-43)

1. ความเข้มข้นกลูโคส

การใช้กลูโคสความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเจริญและการหมักเอทานอล โดยอัตราการเจริญและเอทานอลลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสและยังพบว่าประสิทธิภาพการหมักเอทานอลลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่ม ทั้งนี้การยับยั้งส่วนหนึ่งเกิดจากการเพิ่มแรงดันออสโมซิสของความเข้มข้นน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลภายในเซลล์ ส่งผลเสียต่อองค์ประกอบของเซลล์ (สาวิตรี ลิ้มทอง, 2549)

2. อุณหภูมิ

ปกติจุลินทรีย์เจริญเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ การเลี้ยงยีสต์ส่วนใหญ่มักบ่มที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส โดยการเจริญจะลดลงมากที่ 20 องศาเซลเซียส และไม่เจริญที่ 60 – 70 องศาเซลเซียส (Halasz and Laszity, 1991)

การรวมกระบวนการย่อยแบ่งการหมักไว้ในขั้นตอนเดียว

กระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน หรือ SLSF เป็นการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์กับยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน ดังนั้นอัตราการย่อยแบ่งเป็นกลูโคสและอัตราการใช้กลูโคสของยีสต์จะต้องสอดคล้องกัน จากการรายงานการพัฒนากการผลิตเอทานอลจากเส้น โดยการปรับปรุงการย่อยแบ่งดิบด้วยเอนไซม์ของ กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ (2549) พบว่ามันสำปะหลังในรูปของมันเส้นสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล โดยพบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากมันเส้น โดยใช้กระบวนการหมักแบบ SLSF (Simultaneous Liquefaction Saccharification and Fermentation process: SLSF) ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังที่มีขั้นตอนการย่อยแบ่งเพื่อให้เหลว การย่อยให้หวาน และหมักด้วยเชื้อยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน จึงเป็นกระบวนการแบบขั้นตอนเดียวที่ไม่ใช้ความร้อน (Single step uncooked process) โดยให้เอนไซม์และยีสต์สามารถทำกิจกรรมด้วยกันภายใต้สภาวะเดียวกัน ซึ่งจากการทดลองใช้เอนไซม์ย่อยแบ่งดิบร่วมกับเชื้อยีสต์ พบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากมันเส้น โดยใช้กระบวนการ SLSF ที่เป็นกระบวนการแบบขั้นตอนเดียวและไม่ใช้ความร้อนได้ เมื่อพิจารณาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากมันเส้นด้วยกระบวนการหมักแบบ SLSF นี้พบว่าควรใช้เอนไซม์ย่อยแบ่งดิบเข้มข้นร้อยละ 0.25 สภาวะที่ใช้ในการผลิตคือ ใช้มันเส้นที่มีปริมาณแป้งร้อยละ 85 โดยน้ำหนักแห้ง เข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนักแห้ง เติมเอนไซม์ย่อยแบ่งดิบที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักแห้ง และเชื้อยีสตร้อยละ 5 โดยปริมาตร หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. แก๊สโครมาโทกราฟี (GC-14B, Shimadzu, Japan)
2. หม้อนิ่งความดันไอน้ำ (KT 30L, ALP, Tokyo Japan)
3. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (205Q, N-Biotek)
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Shellab, USA)
5. ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Biostat B, B. Braun, Germany)
6. เครื่องชั่งแบบละเอียด (ARC 2140, Ohaus, USA)
7. เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (Cyber Scan, Eutech instruments, Singapore)
8. ตู้อบลมร้อน (UM-Oven 120L, UMAC)
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Genensys 20, Thermo, USA)
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (WB-710, Optima, Thailand)
11. เครื่องกวนพร้อมใบปั่นกวน (HS120A, EZ Stir, Korea)
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Mikro 120, Hettich, Germany)
13. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (FESEM Leo Supra 50VP, Carl-Ziess SMT, Oberkochem, Germany)

สารเคมี

1. Glucose (Ajax Finechem, Australia)
2. Yeast extract (Himedia, India)
3. Ammonium sulfate, (MERCK, Germany)
4. Dipotassium hydrogen phosphate, (AnalaR, England)
5. Magnesium sulfate heptahydrate, (Fisher Scientific, UK)
6. Calcium chloride, (Ajax Finechem, Australia)
7. Ethanol, (MERCK, Germany)
8. Butanol, (MERCK, Germany)
9. Potassium dlhydrogen orthophosphate, (Fisher scientific, UK)

10. 3,5 Dinitrosalicylic acid, (Fluka, India)
11. Potassium Sodium (+)-Tartrate, (Ajax Finechem, Australia)
12. Sodium Hydroxide, (RCI LABSCAN LIMITED, Thailand)
13. O-toluidine, (Ajax Finechem, Australia)
14. Acetic acid, (MERCK, Germany)
15. Total Starch Kit, (Megazyme, Ireland)

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

1. มันเทศ

มันเทศชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Ipomoea batatas* (L.) Lam ที่ใช้ในการทดลองนี้มีถิ่นกำเนิดจากไต้หวัน เก็บรักษาและทดลองปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตรได้แนะนำให้นำมาทดลองผลิตเอทานอล เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูง โดยเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนพฤศจิกายน – มีนาคม ปี พ.ศ. 2552 - 2553 ในระหว่างการทดลองหัวมันเทศสดถูกเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เพื่อชะลอการลดลงของปริมาณแป้ง (Zhang, et al., 2002, pp.317-325)

2. เอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นเอนไซม์ทางการค้าชื่อ STARGEN™ (Genencor International, Palo Alto, CA) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก *Aspergillus kawachi* ที่ถูกแสดงออกใน *Trichoderma reesei* และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจาก *Aspergillus niger* ที่ทำงานส่งเสริมกันในการย่อยแป้งดิบ (granular starch) ให้เป็นกลูโคส มีพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานคือ 4.0 – 4.5 และช่วงอุณหภูมิที่แนะนำคือ 20 – 40 องศาเซลเซียส มีแอกติวิตีต่ำสุดเท่ากับ 456 GSHU/g (GSHU คือ Granular Starch Hydrolyzing Units)

3. จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักเอทานอลในงานวิจัยนี้ใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353 ซึ่งได้จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ซึ่งมีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบ (กรัมต่อลิตร) glucose 10, peptone 5, yeast extract 3, malt extract 3 ปรับพีเอช 6.2

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอล

อาหารเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* BCC 15353 สำหรับการผลิตเอทานอลประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) yeast extract 5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7.5, K_2HPO_4 3.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.75, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 และแหล่งอาหารคาร์บอน ปรับพีเอช 4.5

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด (total plate count) ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) peptone 5, yeast extract 2.5, glucose 1 และ agar 15 ปรับพีเอชเป็นกลาง (Atlas, 2004)

การย่อยสารแขวนลอยมันเทศด้วยเอนไซม์

1. การเตรียมน้ำแป้งจากหัวมันเทศสด

นำหัวมันเทศสดมาล้างและปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 5 กรัม ซึ่งมันเทศสดที่หั่นแล้วมา 300 400 และ 500 กรัม ใส่ในเครื่องปั่นให้ละเอียด แล้วเติมสารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ลงไปให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 1000 มิลลิลิตร ปรับพีเอช 4.5 ได้สารแขวนลอยที่มีความเข้มข้นของมันเทศร้อยละโดยน้ำหนักสดต่อปริมาตร (w/v) เท่ากับ 30 40 และ 50 ตามลำดับ

2. การย่อยด้วยเอนไซม์

การผลิตน้ำตาลจากมันเทศโดยการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์ทำการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของมันเทศ และความเข้มข้นของเอนไซม์ โดยในแต่ละปัจจัยทำการศึกษาดังนี้ อุณหภูมิ 3 ระดับได้แก่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของมันเทศ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 30, 40 และ 50 โดยน้ำหนักสดต่อปริมาตร (w/v) และความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศสด โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiments) มีทั้งหมด 3 ปัจจัย ๆ ละ 3 ระดับ (3^3 factorial) หรือ 27 การทดลอง จำนวน 2 ชั่วโมง

การย่อยแป้งทำโดยการนำสารแขวนลอยของมันเทศที่เตรียมได้ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใส่ในถังปฏิกรณ์ที่กวนผสมด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ตามที่ระบุในแต่ละการทดลอง หลังจากใส่เอนไซม์ลงไป ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวทุก ๆ ชั่วโมงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 7 จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 22 23 และ 24 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในของเหลวตัวอย่างทันที โดยการปรับพีเอชเป็น 1.5 -1.6 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ แล้วนำมาเหวี่ยงแยกของแข็งออก นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

การผลิตเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353

1. การเตรียมกล้าเชื้อ

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* BCC 15353 โดยเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ อายุ 24 ชั่วโมง จำนวน 1 ลูกปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรที่ใช้ในการหมักซึ่งประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) กลูโคส 20, yeast extract 5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7.5, K_2HPO_4 3.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.75, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 จากนั้นนำไปหมักในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. อิทธิพลของความเข้มข้นกลูโคส

ถ่ายกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* BCC 15353 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอล โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 20 40 70 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดปริมาตรทำงาน (working volume) 2 ลิตร กวนด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 6-12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดปริมาณเซลล์ยีสต์โดยวิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง และการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด วิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส และความเข้มข้นของเอทานอล

3. อิทธิพลของอุณหภูมิ

ถ่ายกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* BCC 15353 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอทานอล โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดปริมาตรทำงาน (working volume) 2 ลิตร กวนด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 6-12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดปริมาณเซลล์ยีสต์โดยวิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง และการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด วิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส และความเข้มข้นของเอทานอล

การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการ SLSF

เตรียมสารละลายแขวนลอยมันเทศสดความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนักปริมาตร 2 ลิตร เติมน้ำตาลทรายแดงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ทำการติดตั้งและกำหนดค่าการทำงานของถังปฏิกรณ์ที่มีปริมาตรการทำงานขนาด 2 ลิตร ปรับพีเอชของน้ำแป้งมันเทศที่ 4.5 ความเร็วในการปั่นกวนที่ 300 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส เติมน้ำมันความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และเติมกล้าเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 ของปริมาตรการทำงานของถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ทำการเก็บตัวอย่างทันที ณ ชั่วโมงที่ 0 จากนั้นเก็บตัวอย่างทุก 6-12 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่

ได้นำไปวัดปริมาณเซลล์ยีสต์โดยวิธีการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด (total plate count) วิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลรีดิคัล และเอทานอล

การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของมันเทศ

มันเทศสายพันธุ์ไต้หวันที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณแป้งทั้งหมดโดยวิธี amyloglucosidase/ α -amylase method (© Megazyme International Ireland Limited 2009) และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน อะมิโลส ไซมัน แก้ว และความชื้น (ตามมาตรฐาน AOAC 7th edition, 2000)

2. การตรวจสอบรูปร่างของเม็ดแป้งก่อนการย่อย

นำสารแขวนลอยมันเทศมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เพื่อแยกเม็ดแป้งออก นำมาแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วทำการดึงน้ำในเม็ดแป้งออกในสภาพเย็นจัด (lyophilized) จากนั้นนำเม็ดแป้งที่แห้งแล้วมาทำการถ่ายภาพรูปร่างโครงสร้างเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หรือ Scanning electron microscopy (FESEM Leo Supra 50VP, Carl-Ziess SMT, Oberkochen, Germany)

3. การหาน้ำหนักแห้งของแป้ง

นำน้ำแป้งมันเทศโดยแบ่งสารละลายน้ำแป้งที่ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะรองรับแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนัก

4. การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิคัล

ตัวอย่างจากการย่อยแป้งถูกนำมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิคัลโดยวิธี dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959)

5. การวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคส

ตัวอย่างจากการย่อยแป้งถูกนำมาวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี toluidine method (Hultman, 1959)

6. การวิเคราะห์เอทานอล

ตัวอย่างน้ำหมักถูกนำมาแยกเซลล์ออก แล้วนำมาวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ตามวิธีของ AOAC method (1990) โดยใช้คอลัมน์ Porapak Q column มีก๊าซไนโตรเจนเป็นตัวนำพาในอัตราการไหล 40 มิลลิลิตรต่อนาที

7. การนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด (total plate count)

นำตัวอย่างที่ได้มานับจำนวนเซลล์โดยวิธีตรวจนับในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบ (กรัมต่อลิตร) peptone 5, yeast extract 2.5, glucose 1 และ agar 15 ปรับพีเอชเป็นกลาง (Atlas, 2004)

8. การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำตัวอย่างสารละลายเซลล์ที่เก็บได้ใส่ลงในหลอดทดลองที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว 3 หลอดๆละ 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสออกเติมน้ำกลั่นลงไปหลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าและนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่

การคำนวณ

1. ผลได้ของกลูโคส

ผลได้ของกลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์ คำนวณจากสมการ

$$\text{ผลได้กลูโคส (กรัม/100กรัม)} = \frac{[\text{กลูโคสเริ่มต้น(กรัม)} - \text{กลูโคสสุดท้าย(กรัม)}] \times 100}{\text{ปริมาณมันเทศสด (กรัม)}}$$

2. อัตราการผลิตกลูโคส

อัตราการผลิตกลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์คำนวณจากความชันของกราฟระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสกับเวลา

3. อัตราการเติบโตของจุลินทรีย์

อัตราการเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์ได้จากความชันของกราฟระหว่าง $\ln$ CFU/ml กับเวลา (Shuler and Kargi, 1992) ในช่วงที่มีการเติบโตแบบเอ็กซีโพเนนเชียล

4. ผลได้ของเซลล์จากกลูโคส

สัมประสิทธิ์ผลได้ชีวมวล ($Y_{x/s}$) ถูกคำนวณในช่วงการเติบโตแบบเอ็กซีโพเนนเชียล ซึ่งหาได้จากค่าความชันของน้ำหนักเซลล์แห้งกับความเข้มข้นกลูโคส (Shuler and Kargi, 1992)

5. ผลได้ของเอทานอลจากกลูโคส

สัมประสิทธิ์ผลได้เอทานอล ($Y_{p/s}$) ถูกคำนวณในช่วงการเติบโตแบบเอ็กซีโพเนนเชียล ซึ่งหาได้จากค่าความชันของเอทานอลกับความเข้มข้นกลูโคส ตามลำดับ (Shuler and Kargi, 1992)

6. อัตราการผลิตเอทานอล

อัตราการผลิตเอทานอล (สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, วรสิทธิ์ โพจำปา และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ, 2544) คำนวณได้จากสมการ

$$Q_p \text{ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)} = \frac{\text{ความเข้มข้นเอทานอลสุดท้าย} - \text{ความเข้มข้นเอทานอลเริ่มต้น}}{\text{เวลาสุดท้าย} - \text{เวลาเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) และวิเคราะห์แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลและความสัมพันธ์ในแต่ละปัจจัย โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATISTICA 10 Trial Version (Stat Soft, Inc., Tulsa, OK, USA)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของมันเทศ

หัวมันเทศสายพันธุ์ไต้หวัน (ภาพ 9) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้นำมาจากศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จังหวัดพิจิตร ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตรได้แนะนำให้ผู้วิจัยนำมาทดลองผลิตเอทานอล เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่อไร่เฉลี่ยสูงประมาณ 5,000 กิโลกรัมต่อไร่ มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น 110 วัน (ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร, 2553) และมีटरชนีเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูงในฤดูแล้ง โดยมีค่าใกล้เคียงกับมันเทศสายพันธุ์จีน ซึ่งเป็นสายพันธุ์มันเทศที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอล (นรินทร์ พูนเพิ่ม และคณะ, 2550)

จากการรายงานของศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตรในปี พ.ศ. 2537 มันเทศสายพันธุ์นี้เป็นมันเทศเนื้อสีขาว หัวมีผิวสีแดงรูปทรงยาวรี (long elliptic) ขนาดของหัวเฉลี่ยกว้าง 6.5 เซนติเมตร ยาว 16.5 เซนติเมตร ลำต้นสีเขียวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.4 เซนติเมตร ความยาวของปล้อง 4 เซนติเมตร ใบเป็นรูปทรงแบบหยักเป็นพู (lobed) ใบอ่อนสีเขียวปนม่วง เมื่อใบแก่จะมีสีเขียวขนาดของใบเฉลี่ยกว้าง 6 เซนติเมตร ยาว 7.5 เซนติเมตร ดอกมีสีขาวปนม่วง ผลอ่อนสีเขียว ผลแก่สีน้ำตาล เมล็ดอ่อนสีขาว เมล็ดแก่สีน้ำตาลดำ อายุการเก็บเกี่ยว 90 – 120 วัน



ภาพ 9 มันเทศสายพันธุ์ไต้หวัน

ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของมันเทศสายพันธุ์ไต้หวันเปรียบเทียบกับมันเทศสายพันธุ์โอกูดซึ่งมีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด และมันสำปะหลังแสดงดังตาราง 8 พบว่าปริมาณอมิโลสของมันเทศสายพันธุ์ไต้หวันมีปริมาณน้อยกว่ามันสำปะหลัง แต่มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด โดยส่วนใหญ่แป้งจะมีโปรตีนอยู่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ซึ่งโปรตีนจะเกาะอยู่บริเวณพื้นผิวของเม็ดแป้งทำให้เกิดผลกระทบต่อลักษณะของแป้งคือ ทำให้เกิดประจุบนพื้นผิวเม็ดแป้ง มีผลต่อการกระจายของเม็ดแป้งทำให้แป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัว และอัตราการเกิดเจลที่ในสภาวะเปลี่ยนแปลงไป ส่วนปริมาณไขมันพบว่ามันเทศสายพันธุ์ไต้หวันมีปริมาณอยู่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ชนิดของไขมันที่มีอยู่ในแป้งมีผลต่อคุณสมบัติของแป้ง เช่นมีผลต่อความเหนียวของแป้ง เป็นต้น มันเทศสายพันธุ์ไต้หวันมีความชื้นร้อยละ 67.06 และเถ้าร้อยละ 3.17 ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้จะมีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของเม็ดแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2550) จากการวัดปริมาณแป้งทั้งหมดของหัวมันสดโดยใช้ชุดตรวจของ Megazyme® พบว่ามันเทศที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณแป้งอยู่เท่ากับร้อยละ 14 น้ำหนักเปียก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณอมิโลสที่ได้ในตาราง 8 พบว่าปริมาณแป้งทั้งหมดที่ชุดตรวจของ Megazyme® วัดได้นั้นน้อยกว่าปริมาณอมิโลสที่วัดจากวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐาน AOAC, 7th edition, 2000 เนื่องจากมันเทศมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยสารจำพวกกลีโคโนเซลลูโลส (Zhang, et al., 2010, pp. 1845 – 1850) ซึ่งจะไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ amyloglucosidase และ α -amylase ที่ชุดตรวจของ Megazyme® ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแป้งทั้งหมด เอนไซม์จึงทำงานไม่สมบูรณ์ ปริมาณแป้งทั้งหมดที่ได้จึงน้อยกว่าปริมาณอะมิโลสในตาราง 8

ตาราง 8 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของมันเทศสายพันธุ์ไต้หวัน และอื่นๆ

พันธุ์	อมิโลส (%)	โปรตีน (%;N*5.95)	ไขมัน (%)	ความชื้น (% wet basis)	เถ้า (%)	อ้างอิง
มันสำปะหลัง	27.81	1.85	0.00	50.28	1.51	วิลาวุธ, 2553
มันเทศสายพันธุ์โอกูด	20.47	3.91	0.44	72.19	3.37	อารยา, 2553
มันเทศสายพันธุ์ไต้หวัน	21.44	6.40	0.16	67.06	3.17	งานวิจัยนี้

หมายเหตุ: วิเคราะห์ตามมาตรฐาน AOAC, 7th edition, 2000

การรายงานค่าเฉลี่ยผลผลิตของ นรินทร์ พูนเพิ่ม (2550) สรุปว่าพันธุ์มันเทศที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อทำเอทานอลได้แก่พันธุ์พจ.65-16 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และพันธุ์จินซึ่งให้ผลผลิตสูงสุดที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จึงได้นำข้อมูลของทั้งสองสายพันธุ์นี้มาเปรียบเทียบกับมันเทศสายพันธุ์ได้หวันที่ใช้ในการทดลองนี้ และมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นพืชที่ได้รับความนิยมในการปลูกเพื่อผลิตเอทานอล ดังตาราง 9

ตาราง 9 ผลผลิตแบ่งต่อปีจากมันเทศและมันสำปะหลัง

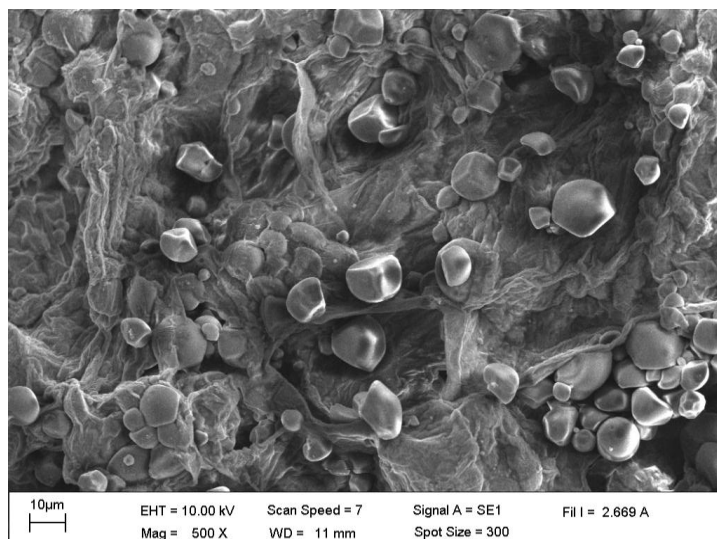
พันธุ์	ค่าเฉลี่ย ผลผลิต (กก./ไร่)	ปริมาณ แบ่ง(%)	การปลูก และเก็บ เกี่ยว (ครั้ง/ปี)	ปริมาณ แบ่ง ต่อไร่ (กก./ไร่)*	ปริมาณ แบ่ง ต่อปี (กก./ปี)*	อ้างอิง
มันสำปะหลัง	5,205	19.00	1	988.95	988.95	อนุชิต ทองกล้า และ คณะ, 2520
มันเทศสายพันธุ์ จิน	2,190	6.50	2	142.35	284.70	นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550
มันเทศสายพันธุ์ พจ. 65-16	2,186	1.30	2	28.41	56.82	นรินทร์ พูนเพิ่ม, 2550
มันเทศสายพันธุ์ ได้หวัน	5,000	14.00 ^a	2	700.00	1400.00	งานวิจัยนี้

หมายเหตุ: * ได้จากการคำนวณ และ ^a ปริมาณแบ่งทั้งหมดโดยชุดตรวจของ © Megazyme

พบว่ามันเทศสายพันธุ์ได้หวันมีค่าเฉลี่ยผลผลิตต่อไร่ และปริมาณแบ่งสูงกว่ามันเทศสายพันธุ์จินและมันเทศสายพันธุ์พจ.65-16 แสดงให้เห็นว่ามันเทศสายพันธุ์ได้หวันนี้มีศักยภาพที่จะส่งเสริมให้มีการปลูกในระดับอุตสาหกรรมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแป้ง

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิต และปริมาณแบ่งของมันเทศสายพันธุ์ได้หวันกับมันสำปะหลัง พบว่ามันเทศสายพันธุ์ได้หวันให้ผลผลิตต่อไร่และปริมาณแบ่งต่ำกว่ามันสำปะหลัง แต่อย่างไรก็ตามมันเทศสามารถเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวได้ปีละ 2 ครั้ง ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบในเชิงปริมาณแบ่งต่อปีโดยเฉลี่ยแล้วจะพบว่ามันเทศสายพันธุ์นี้จะสามารถนำไปผลิตแป้งได้มากกว่ามันสำปะหลัง

แป้งที่พบในธรรมชาติจะพบอยู่ในรูปเม็ดแป้ง (granule) ขนาดเล็ก โดยตรวจดูลักษณะของเม็ดแป้งมันเทศสายพันธุ์ไต้หวันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงดังภาพ 10



ภาพ 10 ภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งมันเทศสายพันธุ์ไต้หวัน

ภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งสามารถบ่งบอกความไวของเอนไซม์ในการย่อยได้ โดยลักษณะการทำงานที่จำเพาะเจาะจงของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับจุดกำเนิดทางพฤกษศาสตร์ทั้งของเม็ดแป้งและเอนไซม์ร่วมกัน (Tester and Morrison, 1990) จากภาพ 10 ไม่พบรูพรุนตามธรรมชาติบนเม็ดแป้งมันเทศ ซึ่งรูพรุนธรรมชาติเหล่านี้จะช่วยเพิ่มการแพร่กระจายของเอนไซม์เข้าไปภายในเม็ดแป้งในช่วงการย่อย (Sarikaya, et al., 2000) สอดคล้องกับภาพถ่ายอิเล็กตรอนเม็ดแป้งมันเทศของ Shariffa, et al. (2009) ที่ได้ทำการศึกษาการพรีทรีตเมนต์ (60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที) และไม่พรีทรีตเมนต์ โดยย่อยเม็ดแป้งมันเทศและแป้งมันสำปะหลังทางการค้าด้วยเอนไซม์ StargenTM พบว่าพื้นผิวเม็ดแป้งที่มีหลุมขนาดใหญ่หลาย ๆ หลุมสามารถพบได้ในเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านและไม่ผ่านการพรีทรีตเมนต์มากกว่ามันเทศ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang and Oates (1999) รายงานว่าเม็ดแป้งมันเทศมีความไวต่อเอนไซม์ α -amylase และ glucoamylase น้อยกว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลัง

Valetudie, et al. (1993) รายงานว่าหลุมบนเม็ดแป้งมันสำปะหลังเกิดขึ้นบนขอบของเม็ดแป้ง ดังนั้นการปรากฏของหลุม (truncatures) เหล่านี้เป็นจุดที่อ่อนแอของเม็ดแป้ง นำไปสู่ความไวต่อการย่อยของเอนไซม์ที่สูงกว่า สอดคล้องกับ Gallant, et al. (1992) ที่ว่าหัวใต้ดินของพืชเขตร้อนมีบริเวณความไวที่จำเพาะเจาะจง ซึ่งสามารถกลายเป็นหลุมลึกเนื่องมาจากการทำงาน

ของเอนไซม์แบบ endo-corrosion ได้ เพราะฉะนั้นหลุมขรุขระบนเม็ดแป้งมันสำปะหลังบริเวณที่จำเพาะเจาะจงเหล่านี้ทำให้เม็ดแป้งมันสำปะหลังมีความไวต่อเอนไซม์มากกว่าเม็ดแป้งมันเทศ Juszcak, et al. (2003) ได้ค้นพบว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลังมีส่วนนุ่มและส่วนนุ่มบนพื้นผิวเม็ดแป้งมันสำปะหลังด้วย

การผลิตกลูโคสจากมันเทศโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ

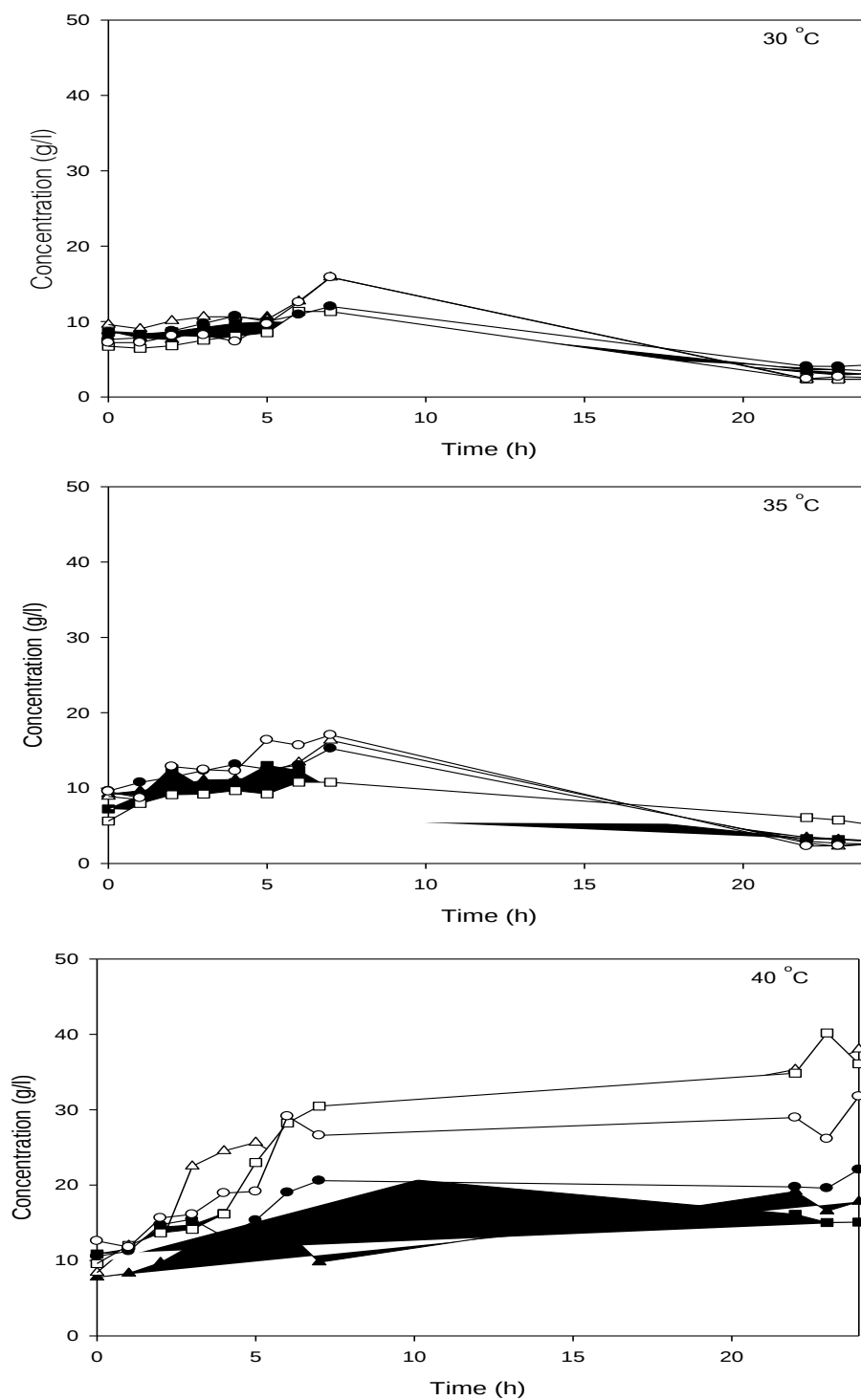
1. การย่อยหัวมันเทศสด

นำมันเทศสดมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ (STARGEN™) โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiments) มีทั้งหมด 3 อิทธิพล ๆ ละ 3 ระดับ (3^3 factorial) หรือ 27 การทดลอง โดยในแต่ละ 1 การทดลองจะทำการควบคุม 3 อิทธิพลให้คงที่ตลอดการทดลองได้แก่อิทธิพลอุณหภูมิ ความเข้มข้นมันเทศ และความเข้มข้นเอนไซม์ได้ปริมาณกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่เวลาต่าง ๆ ดังภาพ 11, 12 และ 13

ก่อนทำการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ทำการวัดปริมาณแป้งทั้งหมดในหัวมันเทศสดสายพันธุ์ได้หัวหนึ่ง พบว่าได้ปริมาณแป้งทั้งหมดประมาณร้อยละ 14 (น้ำหนักเปียก) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2.72 และน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 4.17

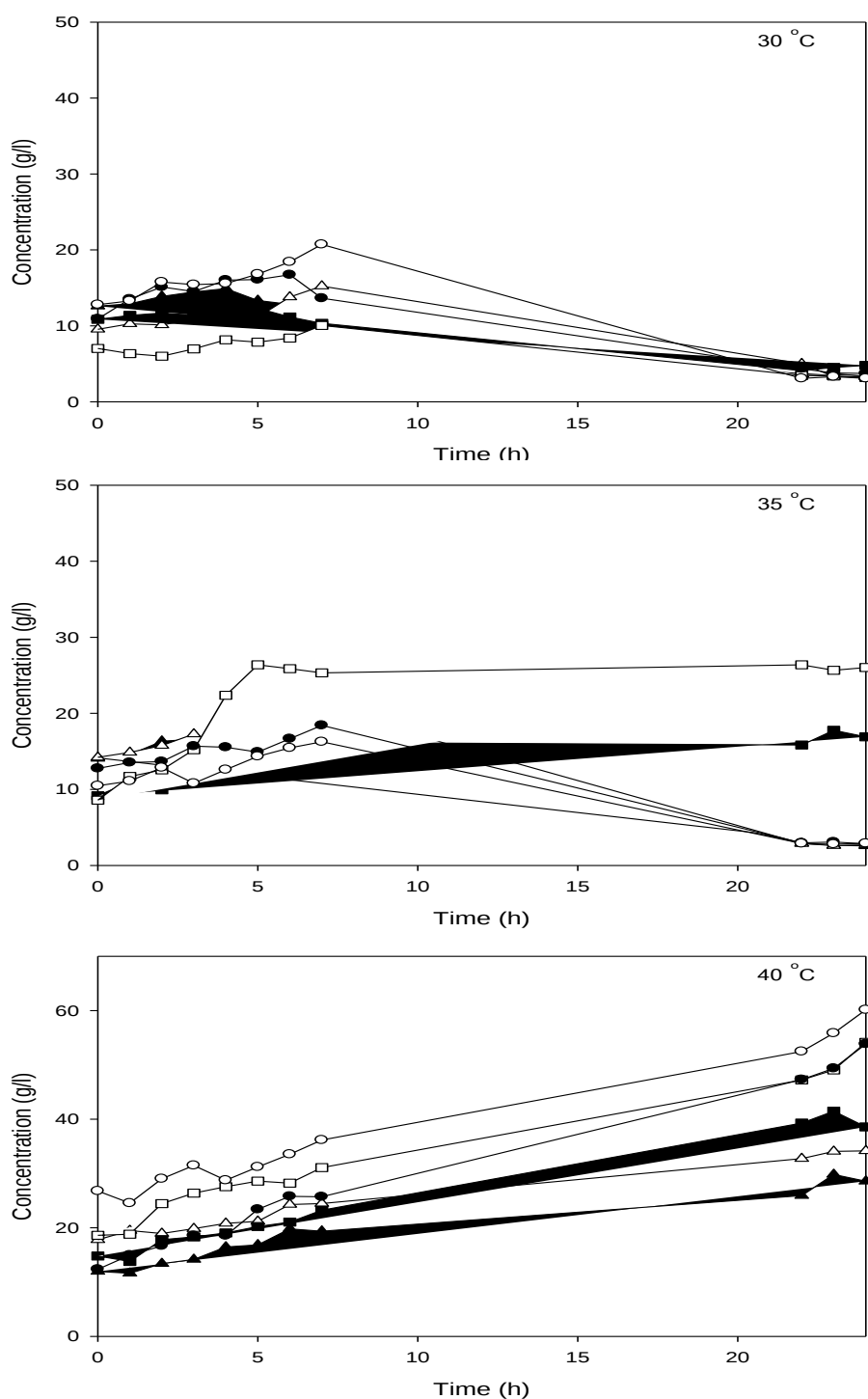
จากภาพ 11 เป็นการย่อยสารแขวนลอยมันเทศร้อยละ 30 โดยนำหนัสด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ย่อยแป้งและผลิตน้ำตาลได้น้อยในช่วง 1 – 7 ชั่วโมงแรก และเกิดการลดลงของกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงที่ 22, 23 และ 24 โดยลดลงต่ำกว่าปริมาณกลูโคสเริ่มต้น ซึ่งบ่งชี้ในอุณหภูมิการย่อยมันเทศที่ 30, 35 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเกิดการลดลงของปริมาณกลูโคสในช่วงที่ 7 ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร แต่มีปริมาณน้ำตาลที่ชั่วโมงสุดท้ายสูงกว่าการย่อยมันเทศที่อุณหภูมิอื่น ๆ

จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่ำ (30 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และกลูโคสที่เวลาต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นผลผลิตที่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์จะสูงกว่าน้ำตาลกลูโคส แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทำงานได้ดีขึ้น และเร่งปฏิกิริยาได้เร็วกว่าการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยภาพรวมจะพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเอนไซม์ทั้งสองตัวทำงานได้ดีขึ้น ส่วนปริมาณเอนไซม์ที่ใส่เข้าไปนั้นไม่ค่อยมีผลต่อการย่อยแป้งเมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกัน



ภาพ 11 การย่อยสลายแวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.1 (▲, △), 0.2 (■, □), 0.3 (●, ○) สัญลักษณ์ทึบคือปริมาณกลูโคส และสัญลักษณ์โปร่ง คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)

จากภาพ 12 เป็นการย่อยสารแขวนลอยมันเทศร้อยละ 40 โดยน้ำหนักด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์เกิดการย่อยและผลิตน้ำตาลช่วง 1 – 7 ชั่วโมงแรก และเกิดการลดลงของกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ในชั่วโมงที่ 22, 23 และ 24 โดยลดลงต่ำกว่าปริมาณกลูโคสเริ่มต้นซึ่งบ่มในอุณหภูมิการย่อยมันเทศที่ 30 องศาเซลเซียส และเกิดการลดลงของปริมาณน้ำตาลที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเช่นกัน ยกเว้นการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการลดลงของปริมาณกลูโคสในชั่วโมงสุดท้าย อย่างไรก็ตามการย่อยสารแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ย่อยด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เท่ากับ 53.14 และ 60.14 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

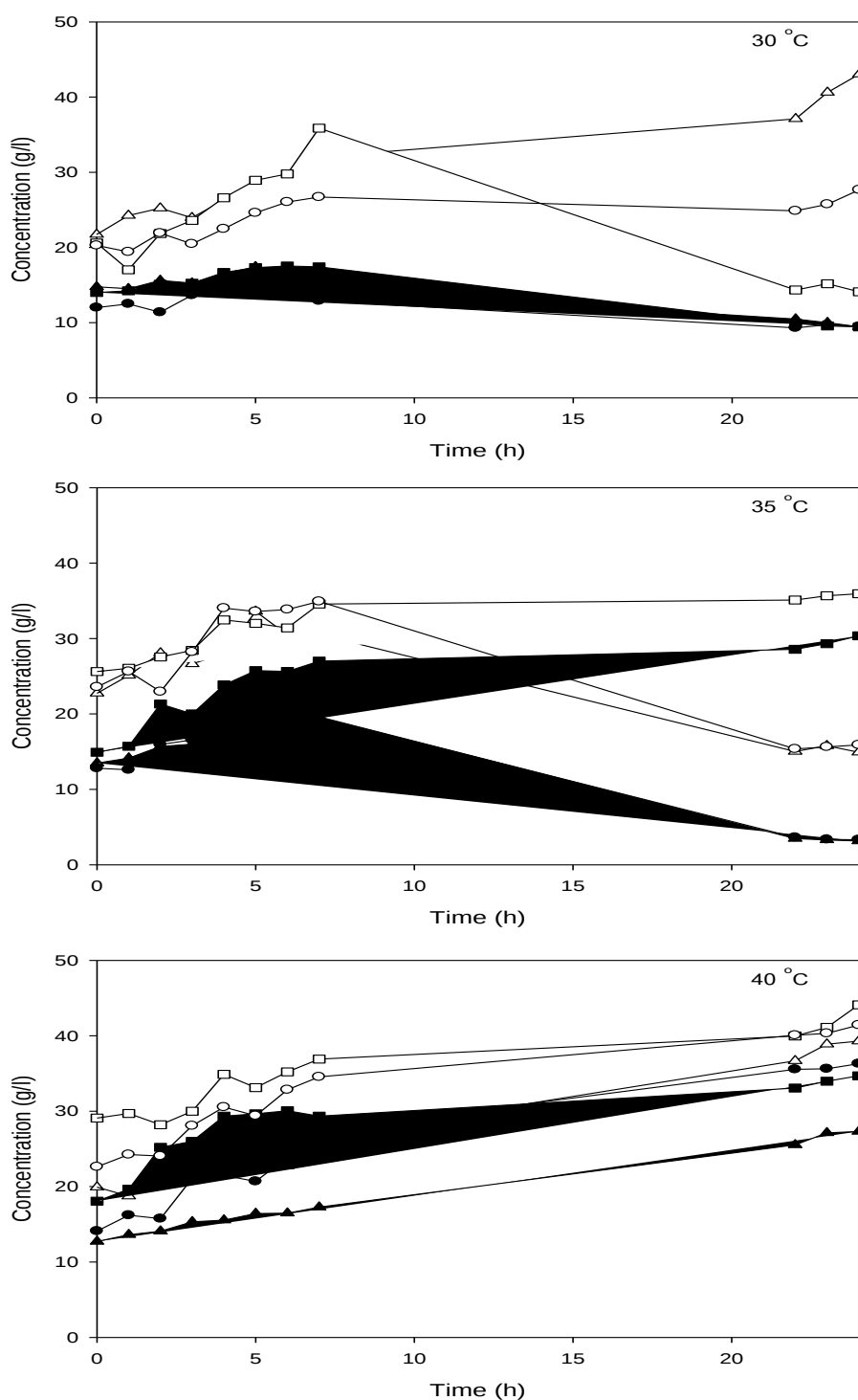


ภาพ 12 การย่อยสลายแวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.1 (▲, △), 0.2 (■, □), 0.3 (●, ○) สัญลักษณ์ทึบคือปริมาณกลูโคส และสัญลักษณ์โปร่ง คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

จากภาพ 13 เป็นการย่อยสารแขวนลอยมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักด้วยเอนไซม์ STARGENTM ร้อยละ 0.1, 0.2 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศ ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเกิดการลดลงของปริมาณน้ำตาลเช่นเดียวกับการย่อยสารแขวนลอยมันเทศ ร้อยละ 30 และ 40 โดยน้ำหนัก คือการย่อยสารแขวนลอยมันเทศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะเกิดการลดลงของปริมาณน้ำตาลไม่ว่าจะเป็นกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์ในทุกความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย ส่วนการย่อยสารแขวนลอยมันเทศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณน้ำตาลไม่เป็นรูปแบบที่แน่นอน เช่นการย่อยสารแขวนลอยมันเทศ ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบการลดลงของน้ำตาลที่ ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.1 และ 0.3 โดยปริมาตร แต่ไม่เกิดการลดลงที่เอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรเป็นต้น สุดท้ายการย่อยสารแขวนลอยมันเทศที่ 40 องศาเซลเซียส เกิดการลดลงของปริมาณน้ำตาลเพียงเล็กน้อยที่ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก แต่ไม่ทำให้ปริมาณ น้ำตาลสุดท้ายต่ำกว่าปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น ซึ่งความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 40 และ 50 โดยน้ำหนัก ไม่เกิดการลดลงของน้ำตาลแต่อย่างใด

อารยา บุญศักดิ์ (2553) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลอุณหภูมิต่อการย่อยสารแขวนลอย มันเทศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดพีเอช 3.0 ร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ให้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 11.90, 46.04 และ 50.84 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยมันเทศสายพันธุ์ไต้หวันที่ไม่ผ่าน การปรับสภาพด้วยกรดที่สภาวะการย่อยเดียวกันนี้ พบว่าที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศา เซลเซียส ให้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 14.09, 35.94 และ 44.11 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าการย่อยมันเทศ สายพันธุ์โอกูดเพียงเล็กน้อย

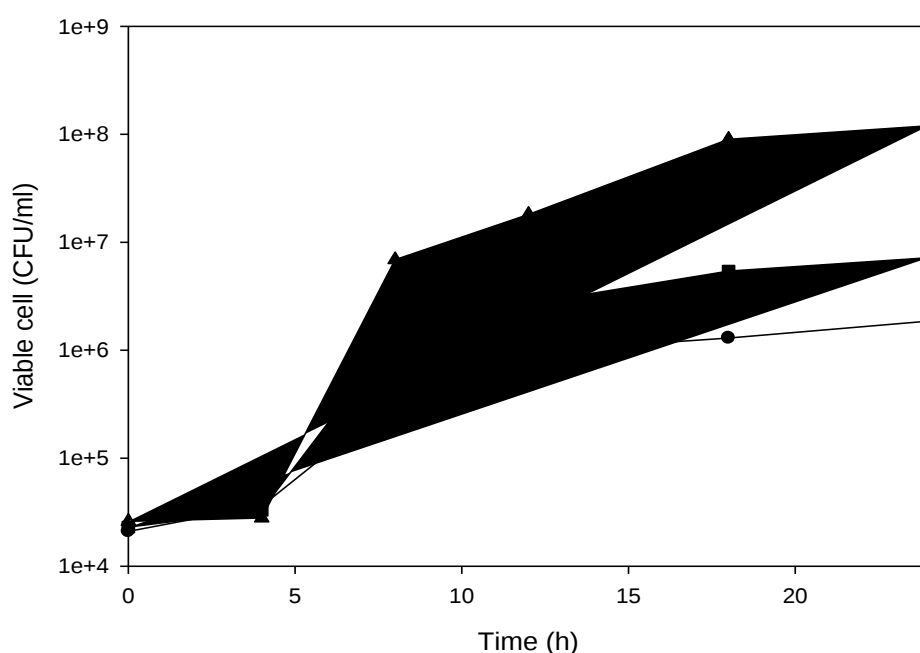
จากการศึกษาอิสระของ วิลาวรรณ์ แก้วเพิ่ม (2553) การย่อยสารแขวนลอย มันสำปะหลังดิบความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร บั่นทอนด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กันได้แก่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เมื่อตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าการย่อยสารแขวนลอย มันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 71.94, 97.64 และ 166.87 กรัมต่อ ลิตรตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยมันเทศที่สภาวะการย่อยเดียวกันนี้พบว่าที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เท่ากับ 14.09, 35.94 และ 44.11 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าการย่อย มันสำปะหลังเป็นอย่างมาก สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang and Oates (1999) รายงานว่า เม็ดแป้งมันเทศมีความไวต่อเอนไซม์ α -amylase และ glucoamylase น้อยกว่าเม็ดแป้ง มันสำปะหลัง



ภาพ 13 การย่อยสลายแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเอนไซม์ต่างๆ ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.1 (▲ , △), 0.2 (■ , □), 0.3 (● , ○) สัญลักษณ์ที่บคือปริมาณกลูโคส และสัญลักษณ์ไปรงคือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

2. การเติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อน

จากการย่อยแป้งมันเทศจะเห็นได้ว่า เมื่อใช้ระยะเวลาที่ย่อยนานขึ้นปริมาณกลูโคสจะเพิ่มขึ้นน้อยมาก และในบางการทดลองลดลงอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่ากลูโคสหายไป ซึ่งสันนิษฐานว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมีการเติบโต ซึ่งจากการตรวจวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการย่อยสารแขวนลอยมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 50 ด้วยเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองดังภาพ 14



ภาพ 14 การเติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในระหว่างการย่อยมันเทศที่อุณหภูมิต่าง ๆ 30 °C (▲), 35 °C (■), 40 °C (●)

พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในทุกอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยมันเทศ โดยพบว่าจุลินทรีย์ที่เจริญในทุกอุณหภูมิเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางหรือมีไซโฟล์ (mesophile) เจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 – 40 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) แต่อุณหภูมิที่มีการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากที่สุดคืออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาได้แก่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากทั้งสองอุณหภูมินี้เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ เมื่อเอนไซม์ให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกลูโคส กลูโคสนั้นจะถูกใช้โดยจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณน้ำตาลในหัวโม่สุดท้ายลดลง และปริมาณเชื้อจะแปรผันตามเวลา

อุณหภูมิจึงเป็นตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Charoenchai, et al., 1998, pp. 283-288)

จากการรายงานชนิดจุลินทรีย์ที่อยู่ในจำพวก (yield – increasing – bacteria, YIB) ของ Shen Dezhong (1997, pp. 237 – 245) ทำให้สันนิษฐานได้ว่าจุลินทรีย์ที่ไม่พึ่งประสงค์ที่เกิดการปนเปื้อนในการย่อยมันเทศในแต่ละอุณหภูมิที่ได้ทำการศึกษาเป็นจุลินทรีย์ในจีนัส *Bacillus* spp. เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบนิเวศของมันเทศ

ช่วงเวลาที่จุลินทรีย์มีการเจริญน้อยที่สุดในทุกๆอุณหภูมิคือ ในช่วงชั่วโมงที่ 0 – 4 เนื่องจากเป็นช่วงระยะเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์ (lag time) ดังนั้นจึงเลือกใช้ข้อมูลปริมาณน้ำตาลกลูโคสในชั่วโมงที่ 0 – 4 มาคำนวณค่าผลได้กลูโคสและค่าอัตราการผลิตกลูโคส เพื่อนำค่าที่ได้ไปทดสอบทางสถิติ เนื่องจากในชั่วโมงที่ 0 – 4 มีการเจริญของจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลที่ได้เป็นตัวแทนที่ดีของการนำมาคำนวณค่าต่าง ๆ ที่มีผลต่อการย่อยมันเทศในแต่ละอิทธิพลที่ทำการศึกษา

การแก้ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในปัจจุบันได้มีรายงานการใช้เทคโนโลยีที่ช่วยเพิ่มการผลิตเอทานอลที่ชื่อเทคโนโลยีแรงโน้มถ่วงสูงมากหรือ very high gravity (VHG) technology เป็นเทคโนโลยีเกี่ยวข้องกับการเตรียมและการหมักของส่วนผสมที่มีปริมาณของแข็งละลายอยู่สูงให้ผลได้เอทานอลสูง (Thomas, et al., 1993, pp. 211-226) ลดความเสี่ยงการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย (Thomas, Hynes and Ingledew, 1996, pp. 321-331) เทคโนโลยี VHG มีการดำเนินการอย่างมากในการผลิตเอทานอลจากธัญพืช อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ในรากและหัวมันมีรายงานน้อยมาก (Zhang, et al., 2010, pp. 1845-1850)

จากการศึกษาของ อารยา บุญศักดิ์ (2553) ที่ทำการย่อยมันเทศดิบสายพันธุ์โกฎิ ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ได้พบปัญหาการลดลงของน้ำตาลในชั่วโมงที่ 24 เช่นเดียวกัน แต่เมื่อนำสารละลายแบ่งมาปรับพีเอชเป็น 3.0 แล้วทิ้งไว้ให้ตกตะกอน จึงนำมาแยกแบ่งออกโดยการกรอง นำแบ่งที่ได้มาเตรียมสารแขวนลอยมันเทศย่อยด้วยเอนไซม์ STARGEN™ ที่พีเอช 4.5 พบว่าสารแขวนลอยมันเทศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดช่วยให้เอนไซม์ย่อยแบ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากขึ้น และไม่พบการลดลงของน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการย่อย

ถึงแม้ว่าการปรับสภาพแบ่งโดยการปรับพีเอชให้เป็น 3.0 และตกตะกอนแบ่งก่อนการใช้งานจะช่วยให้การย่อยของเอนไซม์ดีขึ้น และลดการสูญเสียกลูโคส แต่เมื่อนำแบ่งที่ได้มาย่อยและใช้เป็นซับสเตรตสำหรับการผลิตเอทานอลแบบ SLSF แล้วจะต้องคำนึงถึงปริมาณเกลือที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากการปรับพีเอชให้อยู่ในช่วงระหว่าง 4.5 – 7.0 ที่ยีสต์สามารถเติบโตได้ด้วย

3. ค่าผลได้กลูโคส

ผลได้ของกลูโคสจากการย่อยแป้งมันเทศดิบที่ความเข้มข้น อุณหภูมิ และปริมาณ เอนไซม์ต่าง ๆ กัน แสดงดังตาราง 10 ค่าผลได้นี้คำนวณจากปริมาณกลูโคสในช่วงเวลา 0 – 4 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นช่วงที่มีผลกระทบจากการเติบโตของจุลินทรีย์ปนเปื้อนน้อย

เมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model หรือ GLM) โดยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS พบว่าอิทธิพลที่มีผลต่อค่าผลได้ กลูโคสมีเพียงอิทธิพลเดียวคือ อุณหภูมิ โดยระดับอุณหภูมิที่ให้ค่าเฉลี่ยสูงและถูกจัดอยู่ในกลุ่ม เดียวกันตามวิธีของ Duncan's Test ได้แก่อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่ให้ ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การจัดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสตามวิธีของ Duncan's Test พบว่า อิทธิพลอุณหภูมิมีผลต่อการย่อยมันเทศโดยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ STARGEN™ อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่ออุณหภูมิยิ่งสูงทำให้ค่าผลได้กลูโคสยิ่งสูงขึ้นโดยอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ให้ค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสสูงสุด เท่ากับ 0.2956 กรัมต่อ 100 กรัม รองลงมา คือ การย่อยมันเทศที่ 35 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.2767 กรัมต่อ 100 กรัม และอุณหภูมิที่ให้ค่าเฉลี่ย น้อยที่สุดคือ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.1378 กรัมต่อ 100 กรัม (ตาราง 52)

ตาราง 10 ค่าผลได้กลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์

การ ทดลอง ที่	อิทธิพล			ผลได้ กลูโคส (g/100g)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นมันเทศ (%w/v)	ความเข้มข้นเอนไซม์ (%v/w)	
1	30	30	0.1	0.126
2	30	30	0.2	0.089
3	30	30	0.3	0.173
4	30	40	0.1	0.109
5	30	40	0.2	0.070
6	30	40	0.3	0.278
7	30	50	0.1	0.134
8	30	50	0.2	0.096
9	30	50	0.3	0.155
10	35	30	0.1	0.118
11	35	30	0.2	0.314
12	35	30	0.3	0.206

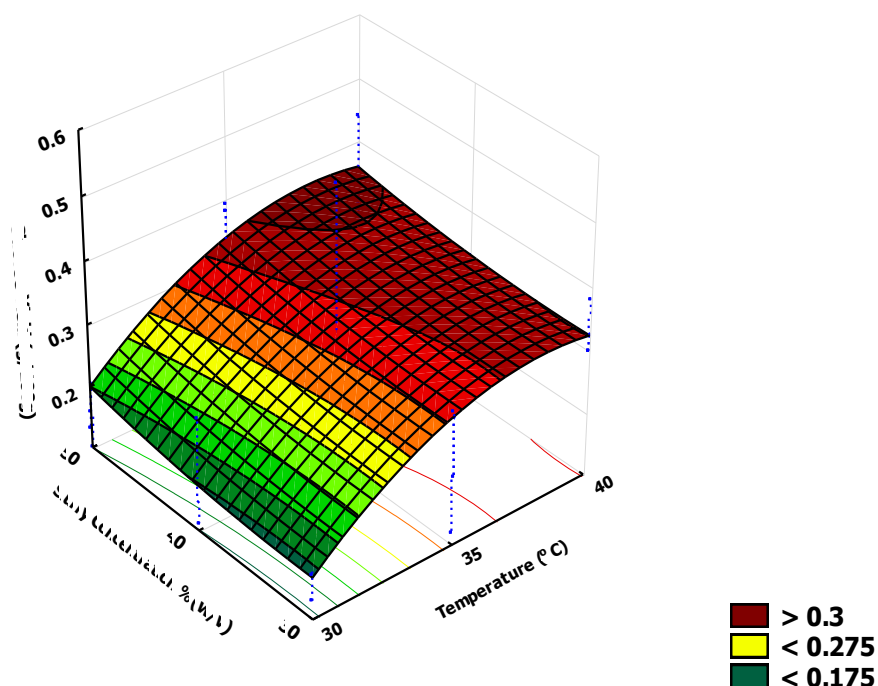
ตาราง 10 (ต่อ)

การ ทดลอง ที่	อิทธิพล			ผลได้ กลูโคส (g/100g)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นมันเทศ (%w/v)	ความเข้มข้นเอนไซม์ (%v/w)	
13	35	40	0.1	0.124
14	35	40	0.2	0.537
15	35	40	0.3	0.135
16	35	50	0.1	0.376
17	35	50	0.2	0.388
18	35	50	0.3	0.282
19	40	30	0.1	0.378
20	40	30	0.2	0.303
21	40	30	0.3	0.302
22	40	40	0.1	0.229
23	40	40	0.2	0.267
24	40	40	0.3	0.306
25	40	50	0.1	0.127
26	40	50	0.2	0.437
27	40	50	0.3	0.299

การให้ความร้อนแก่แป้งเป็นการทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเมอร์ เป็นเหตุให้เม็ดแป้งอ่อนตัวลง ทำให้เอนไซม์สามารถแพร่และย่อยแป้งได้ง่าย Shariffa, et al. (2009, pp.434-440; Juszczak, Fortuna, and Krok, 2003, pp. 1-7)

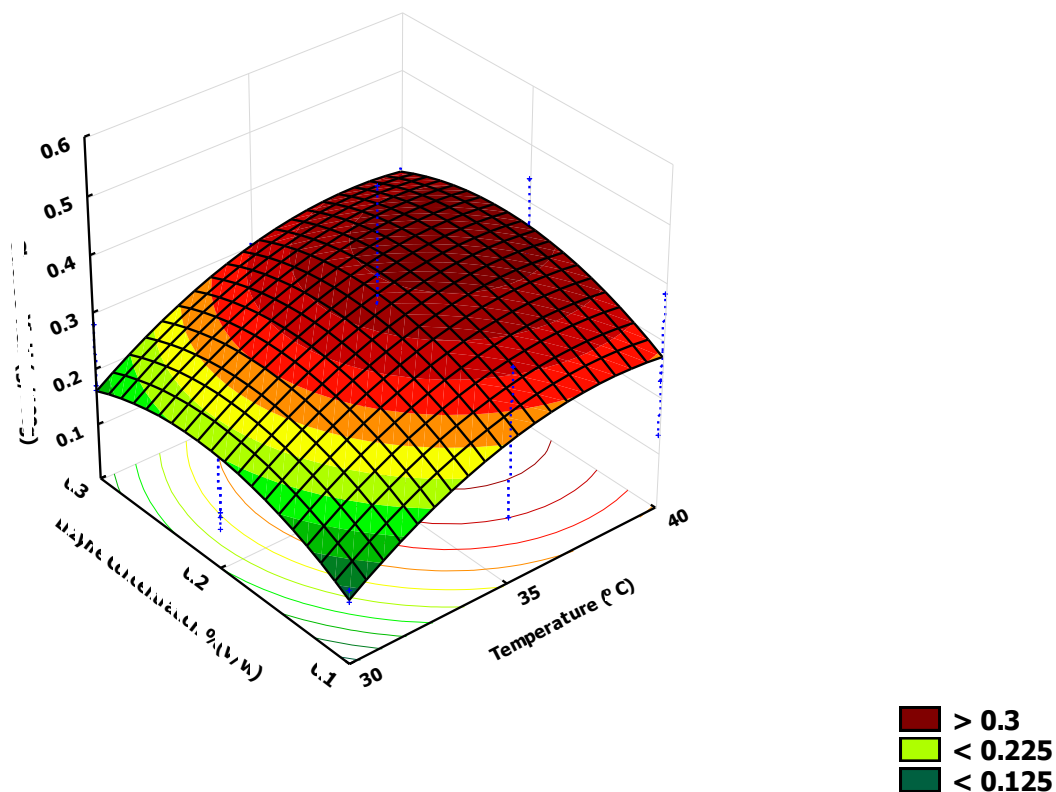
การจัดลำดับความแตกต่างที่ได้กล่าวมานี้ยังสามารถสรุปความสัมพันธ์ของทั้ง 3 อิทธิพลจากพื้นที่ผิวการตอบสนองของในแต่ละอิทธิพลต่อค่าผลได้กลูโคสเป็นภาพ 3 มิติ โดยโปรแกรม STATISTICA 10 Trial Version (Stat Soft, Inc., Tulsa, OK, USA) ได้ดังภาพ 15, 16 และ 17

จากภาพ 15 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิ และอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศ ซึ่งทำการกำหนดค่าอิทธิพลเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร พบว่าค่าผลได้กลูโคสจะแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ให้ค่าผลได้กลูโคสสูงขึ้นมากกว่า 0.3 กรัมต่อ 100 กรัม



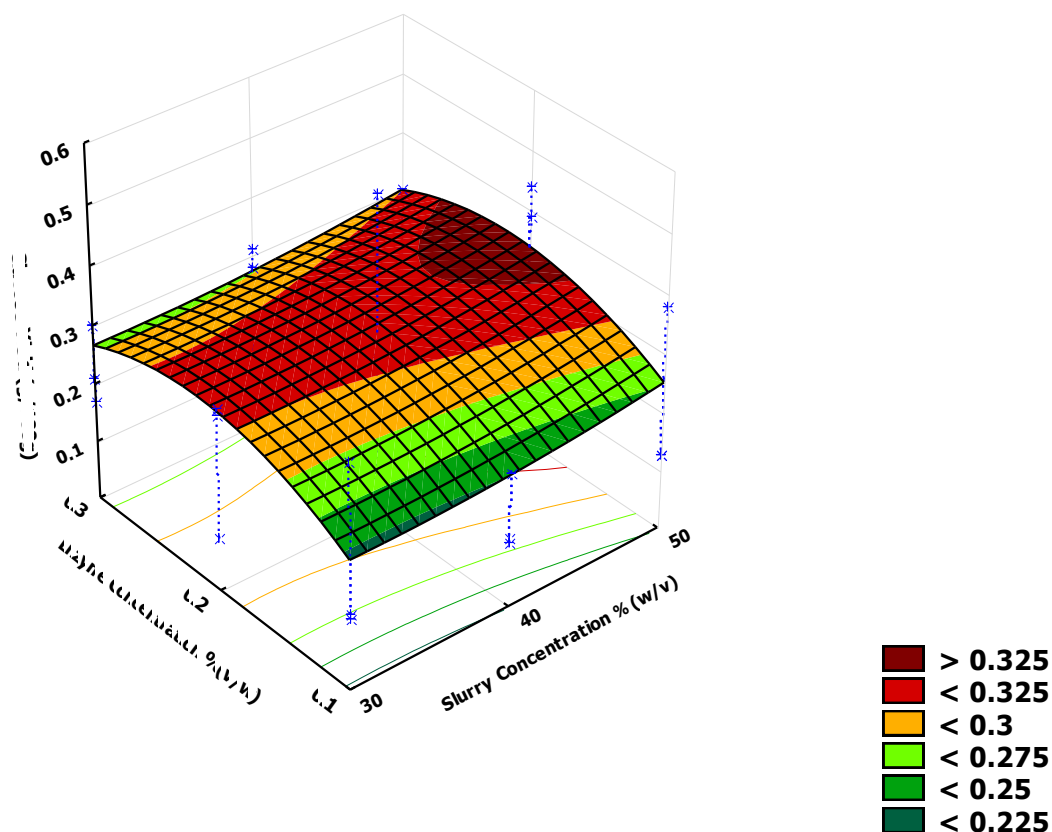
ภาพ 15 พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่เอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร)

จากภาพ 16 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิ และอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ ซึ่งทำการกำหนดค่าอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศที่ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักพบว่าค่าผลได้กลูโคสจะแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียสและความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ให้ค่าผลได้สูงมากกว่า 0.3 กรัมต่อ 100 กรัม



ภาพ 16 พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก)

จากภาพ 17 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ ซึ่งทำการกำหนดค่าอิทธิพลอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส พบว่าค่าผลได้กลูโคสจะแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นมันเทศที่ร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ให้ค่าผลได้กลูโคสสูงสุดมากกว่า 0.325 กรัมต่อ 100 กรัม



ภาพ 17 พื้นที่ผิวการตอบสนองของระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าผลได้กลูโคส (ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส)

จากภาพพื้นที่ผิวการตอบสนองของทั้ง 3 อิทธิพลสามารถสรุปได้ว่าการย่อยมันเทศที่สภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมและมีแนวโน้มการให้ค่าผลได้กลูโคสสูง ซึ่งดูได้จากภาพ 15 และ 16 เป็นสำคัญเนื่องจากปัจจัยอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการทดลอง

4. อัตราการผลิตกลูโคส

อัตราการผลิตกลูโคส แสดงให้เห็นถึงอัตราเร็วของปฏิกิริยาในการย่อยแป้งของเอนไซม์ จากการคำนวณอัตราการผลิตกลูโคสในช่วงระยะเวลา 0 – 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ ความเข้มข้นของมันเทศ และความเข้มข้นของเอนไซม์ต่าง ๆ กันได้ผลดังตาราง 11

เมื่อนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยแบบจำลองเชิงเส้นตรง (General linear model หรือ GLM) โดยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS พบว่าอิทธิพลที่มีผลต่อค่าที่คำนวณได้มีอิทธิพลเดียวคือ อิทธิพลอุณหภูมิ โดยระดับอุณหภูมิที่ให้ค่าเฉลี่ยสูงและถูกจัดอยู่ในกลุ่ม

เดียวกันตามวิธีของ Duncan's Test ได้แก่อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่ให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ส่วนการจัดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอัตราการผลิตกลูโคสตามวิธีของ Duncan's Test พบว่าอิทธิพลอุณหภูมิมีผลต่อการย่อยมันเทศโดยเอนไซม์ย่อยแป้งดิบ STARGEN™ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่ออุณหภูมิยิ่งสูงทำให้ค่าอัตราการผลิตกลูโคสยิ่งสูงขึ้น โดยอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ให้ค่าเฉลี่ยอัตราการผลิตกลูโคสสูงสุด เท่ากับ 1.6778 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาคือการย่อยมันเทศที่ 35 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1.3733 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอุณหภูมิที่ให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.6744 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตาราง 56)

ตาราง 11 ค่าอัตราการผลิตกลูโคสจากการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์

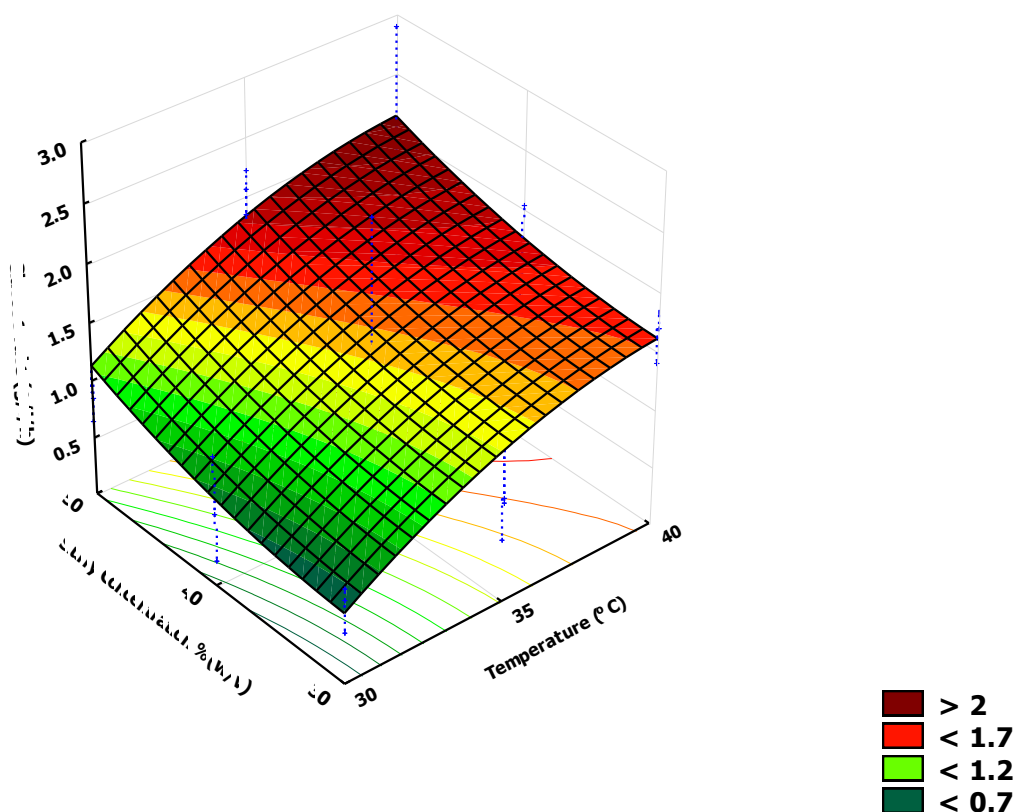
การทดลอง ที่	อิทธิพล			อัตราการผลิต
	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นมันเทศ (%w/v)	ความเข้มข้นเอนไซม์ (%v/w)	กลูโคส (g/l/h)
1	30	30	0.1	0.710
2	30	30	0.2	0.439
3	30	30	0.3	0.817
4	30	40	0.1	0.618
5	30	40	0.2	0.213
6	30	40	0.3	1.124
7	30	50	0.1	0.671
8	30	50	0.2	0.636
9	30	50	0.3	0.840
10	35	30	0.1	0.528
11	35	30	0.2	0.900
12	35	30	0.3	0.861
13	35	40	0.1	0.691
14	35	40	0.2	2.501
15	35	40	0.3	0.768
16	35	50	0.1	2.059

ตาราง 11 (ต่อ)

การทดลอง ที่	อิทธิพล			อัตราการผลิต กลูโคส (g/l/h)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเข้มข้นมันเทศ (%w/v)	ความเข้มข้นเอนไซม์ (%v/w)	
17	35	50	0.2	2.206
18	35	50	0.3	1.836
19	40	30	0.1	1.687
20	40	30	0.2	1.390
21	40	30	0.3	1.831
22	40	40	0.1	1.153
23	40	40	0.2	1.409
24	40	40	0.3	2.032
25	40	50	0.1	0.740
26	40	50	0.2	2.889
27	40	50	0.3	1.965

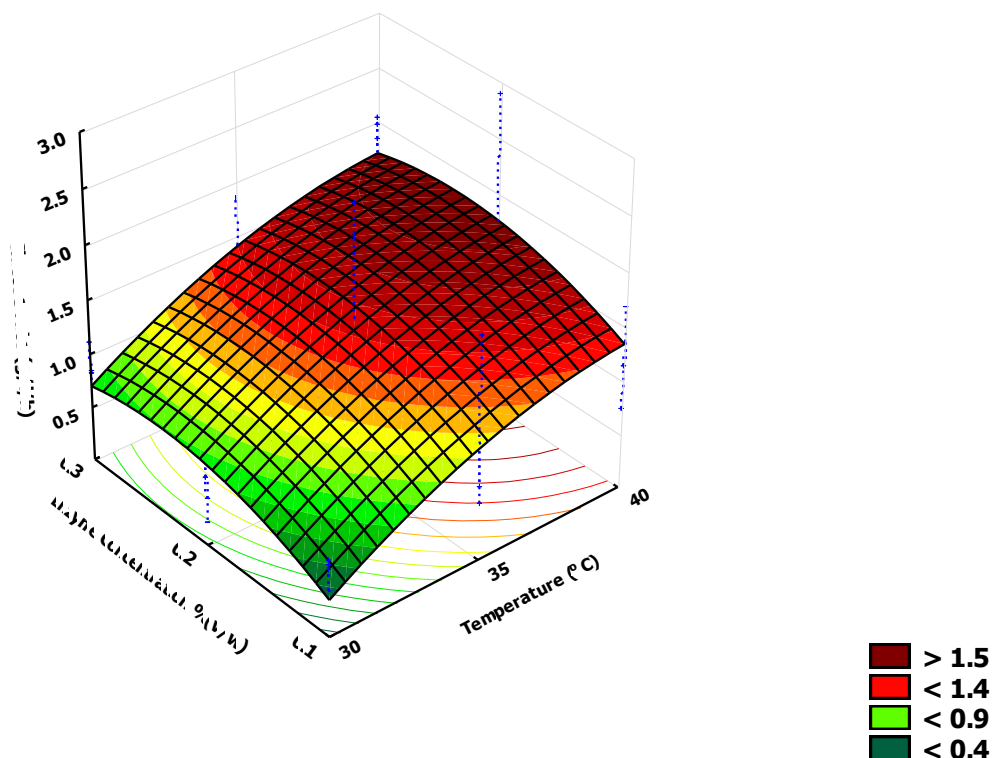
จากการจัดลำดับความแตกต่างที่ได้กล่าวมานี้ยังสามารถสรุปความสัมพันธ์ของทั้ง 3 อิทธิพลจากพื้นที่ผิวการตอบสนองของ 2 อิทธิพลต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคสที่ศึกษาเป็นภาพ 3 มิติ โดยโปรแกรม STATISTICA 10 Trial Version (Stat Soft, Inc., Tulsa, OK, USA) ได้ดังภาพ 18, 19 และ 20

จากภาพ 18 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิ และอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศ ซึ่งทำการกำหนดค่าอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร พบว่าค่าอัตราการผลิตกลูโคสแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอิทธิพลอุณหภูมิและความเข้มข้นมันเทศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นมันเศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก มีค่ามากกว่า 2 กรัม ต่อลิตรต่อชั่วโมง



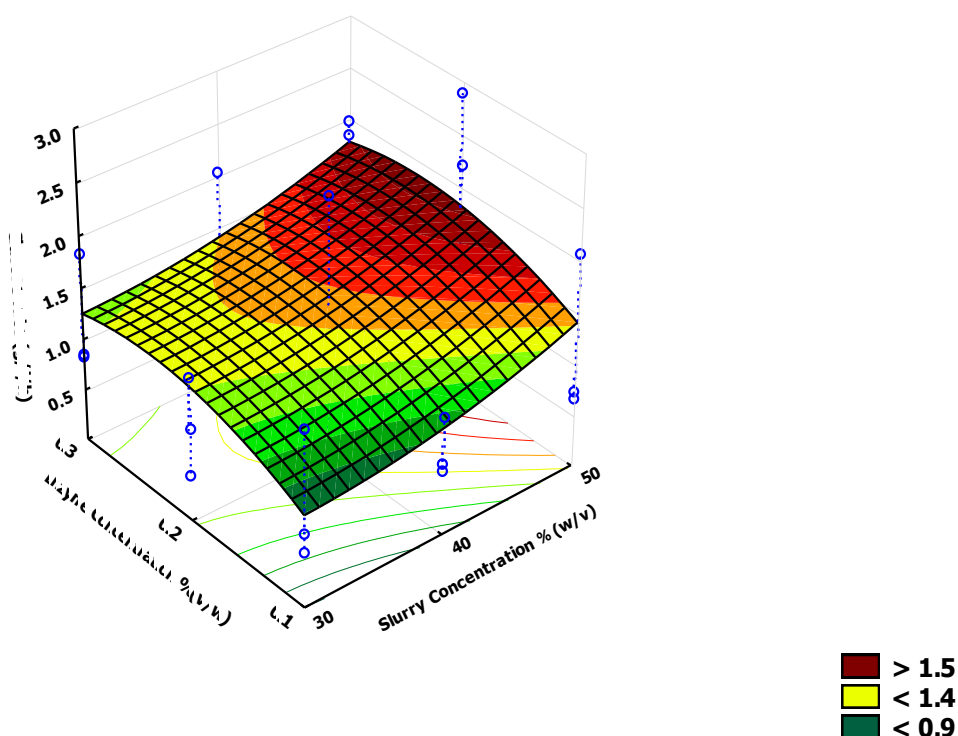
ภาพ 18 พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและความเข้มข้นมันเทศต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2)

จากภาพ 19 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิ และอิทธิพลความเข้มข้นเอนไซม์ ซึ่งจะต้องทำการกำหนดค่าอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก พบว่าค่าอัตราการผลิตกลูโคสแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอิทธิพลอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร มีค่ามากกว่า 1.5 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



ภาพ 19 พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลอุณหภูมิและความเข้มข้นเอโนไซม์ต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก)

จากภาพ 20 กราฟพื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและอิทธิพลความเข้มข้นเอโนไซม์ ซึ่งทำการกำหนดค่าอิทธิพลอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าค่าอัตราการผลิตกลูโคสแปรผันตามการเพิ่มขึ้นของอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นเอโนไซม์ที่ให้อัตราการผลิตกลูโคสสูง คือร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร มีค่ามากกว่า 1.5 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



ภาพ 20 พื้นที่ผิวการตอบสนองระหว่างอิทธิพลความเข้มข้นมันเทศและความเข้มข้นเอนไซม์ต่อค่าอัตราการผลิตกลูโคส (ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส)

จากภาพพื้นที่ผิวการตอบสนองพบว่า การย่อยมันเทศสดในช่วงอุณหภูมิ 35 – 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศช่วงร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ช่วงความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรเป็นสภาวะที่เหมาะสมและมีแนวโน้มให้ค่าอัตราการเกิดกลูโคสสูงสุดสอดคล้องกับสภาวะที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าผลได้กลูโคส

ค่าอัตราการเกิดกลูโคสนี้จะเป็นตัวบ่งบอกความเร็วในการผลิตกลูโคสต่อเวลา ซึ่งการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกันหรือ SLSF เป็นการพัฒนาการผลิตเอทานอลจากแป้งและหมักในขั้นตอนเดียว โดยใช้แป้งดิบที่ไม่ต้องผ่านการทำให้สุก และทำการย่อยในสภาวะการหมักของยีสต์ (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549, หน้า 149) กระบวนการดังกล่าวนี้มีการเติมเอนไซม์และการเติมยีสต์ลงไปพร้อมกัน ทำให้ค่าอัตราการเกิดกลูโคสมีความสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งถ้าอัตราการเกิดกลูโคสต่ำกว่าอัตราการใช้กลูโคสของยีสต์ทำให้ยีสต์ขาดแหล่งอาหารคาร์บอนสำหรับการเติบโตและผลิตเอทานอล ดังนั้นอัตราการเกิดกลูโคสจะเป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถของสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตเอทานอลได้ด้วย

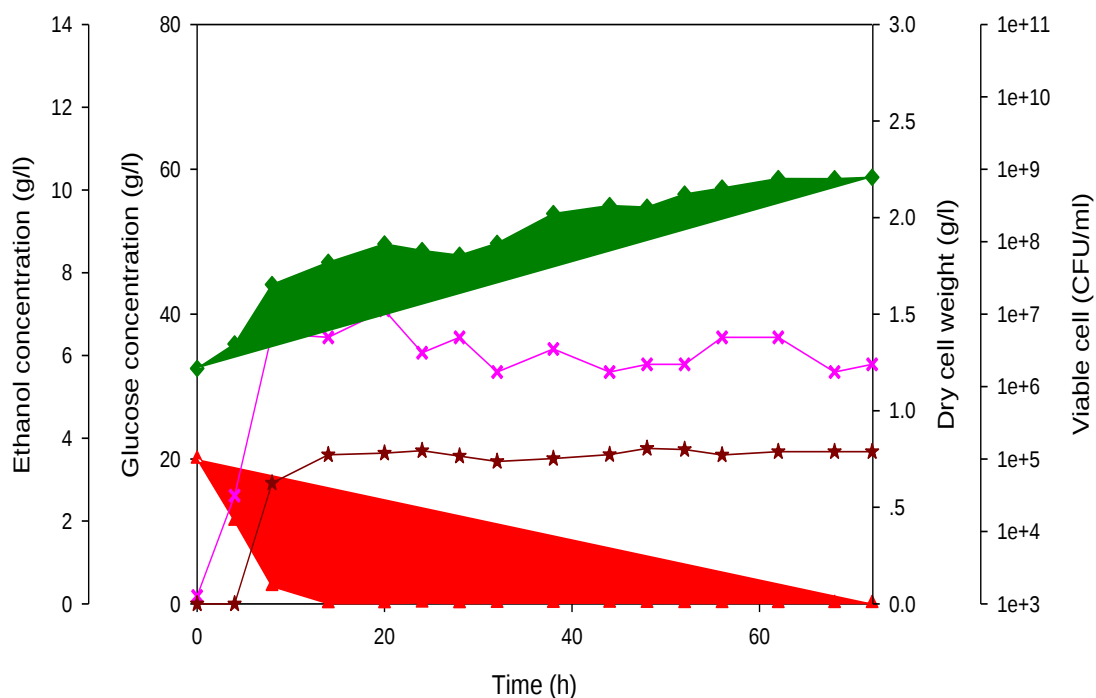
การผลิตเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BCC 15353

กระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SLSF เป็นกระบวนการที่อาศัยคุณสมบัติของเอนไซม์ย่อยแป้งดิบที่ทำงานในสภาวะอุณหภูมิปกติได้ โดยผลผลิตหลักของเอนไซม์ย่อยแป้งดิบคือกลูโคส ดังนั้นเมื่อทำการควบคุมกระบวนการหมักเข้าในขั้นตอนการย่อยแป้งดิบจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของกลูโคสในกระบวนการหมักนั้น ๆ และศึกษาสภาวะอุณหภูมิที่มีผลต่อยีสต์ เพื่อให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับความต้องการสารอาหาร และสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมัก

1. อิทธิพลของความเข้มข้นกลูโคส

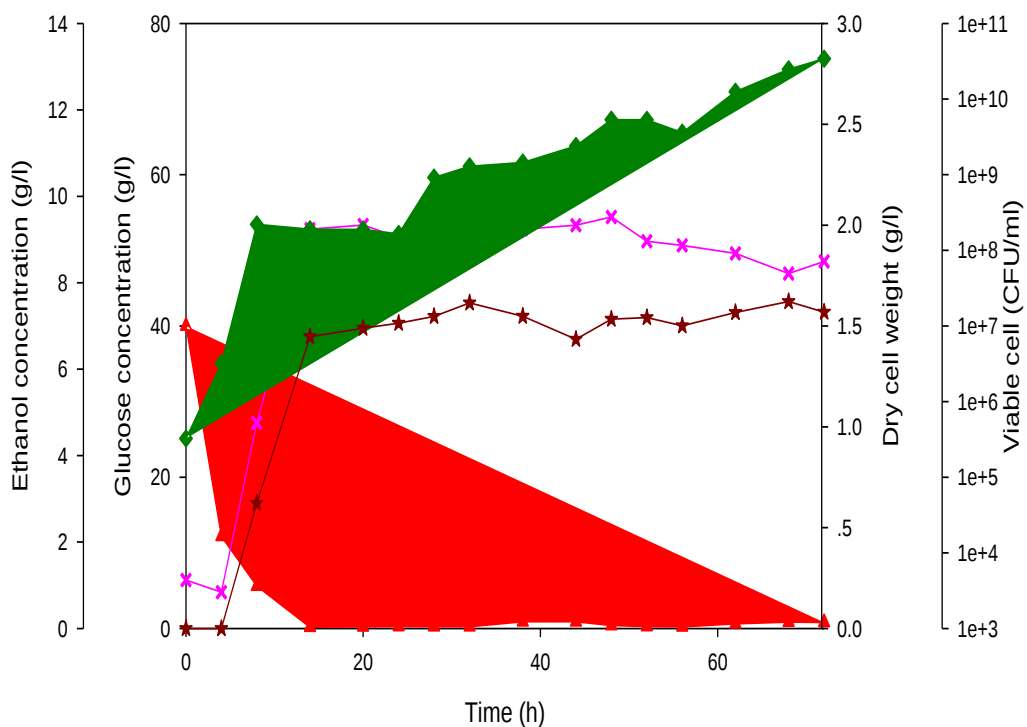
ในการทดลองเพาะเลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* BCC 15353 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ที่มีแหล่งอาหารคาร์บอนเป็นกลูโคสที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ กัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาการเติบโต การใช้กลูโคส และการผลิตเอทานอล ได้ผลการทดลองดังภาพ 21, 22 และ 23

จากภาพ 21 ใช้กลูโคสเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์สามารถเจริญได้ในทันทีที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงโดยเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในช่วงโมเมนต์ 0 – 8 เห็นได้จากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต และค่าการลดลงอย่างรวดเร็วของกลูโคส ส่วนการผลิตเอทานอลจะเกิดขึ้นในช่วงโมเมนต์ 4 หลังจากเชื้อเจริญได้สักระยะเชื้อที่เจริญก็จะเริ่มทำการผลิตเอทานอลจากกลูโคสเช่นกัน เมื่อกลูโคสเหลืออยู่น้อยการเติบโตและการผลิตเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ซึ่งปริมาณเซลล์เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงให้น้ำหนักเซลล์แห้งสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 1.28 กรัมต่อลิตร และเอทานอลคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากที่กลูโคสหมดเท่ากับ 3.63 กรัมต่อลิตร



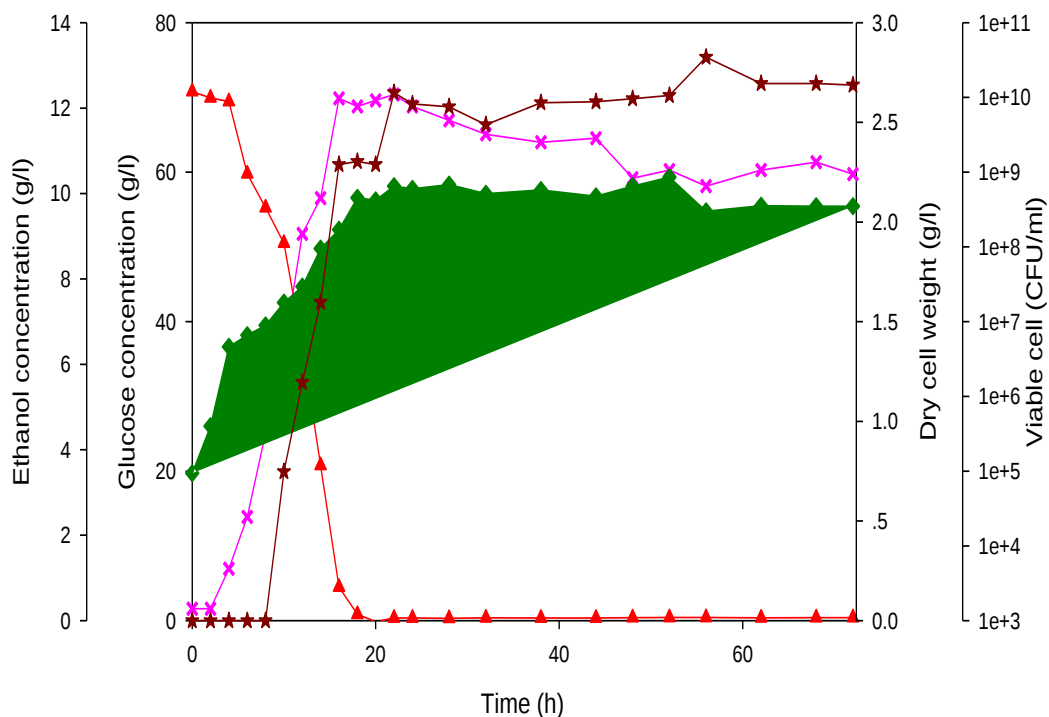
ภาพ 21 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

จากภาพ 22 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นจาก 20 กรัมต่อลิตรเป็น 40 กรัมต่อลิตร การเจริญของยีสต์จะเกิดช่วงการปรับตัว (Lag phase) ขึ้นมาในช่วงเวลาที่ 0 – 4 ชั่วโมงที่เห็นได้ชัดเจนจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต ส่วนการผลิตเอทานอลจะเกิดในช่วงเวลาที่ 4 เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงที่มีค่าปริมาณกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามการใช้ปริมาณกลูโคสที่มากขึ้น 1 เท่าทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น 1 เท่าตัวเช่นกัน โดยมีการผลิตเอทานอลสูงในช่วงเวลาที่ 8 – 14 ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณกลูโคสที่เหลือในช่วงเวลาที่ 8 ทำให้ยีสต์มีน้ำตาลเพียงพอจนถึงชั่วโมงที่ 14 จากนั้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะเริ่มคงที่ โดยได้ความเข้มข้นของเซลล์ และเอทานอลสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 1.92 กรัมต่อลิตร และ 7.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพ 22 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

ภาพ 23 เป็นการเพาะเลี้ยงโดยใช้กลูโคสเริ่มต้น 70 กรัมต่อลิตร (ตามที่วัดได้จริง) ยีสต์ใช้ระยะเวลาในการปรับตัวในชั่วโมงที่ 0 – 4 ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้กลูโคสปริมาณ 40 กรัม สิ่งที่แตกต่างกันคือระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอล โดยยีสต์จะเริ่มทำการผลิตเอทานอลในชั่วโมงที่ 10 และเจริญควบคู่กัน จนกระทั่งกลูโคสเริ่มหมดลงในชั่วโมงที่ 18 การเจริญของยีสต์ก็จะเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) คือไม่มีการเพิ่มจำนวนอีกและไม่เกิดการผลิตเอทานอลอีกต่อไป ซึ่งให้ค่าเอทานอลสูงสุดที่ 12.36 กรัมต่อลิตรที่ 22 ชั่วโมง



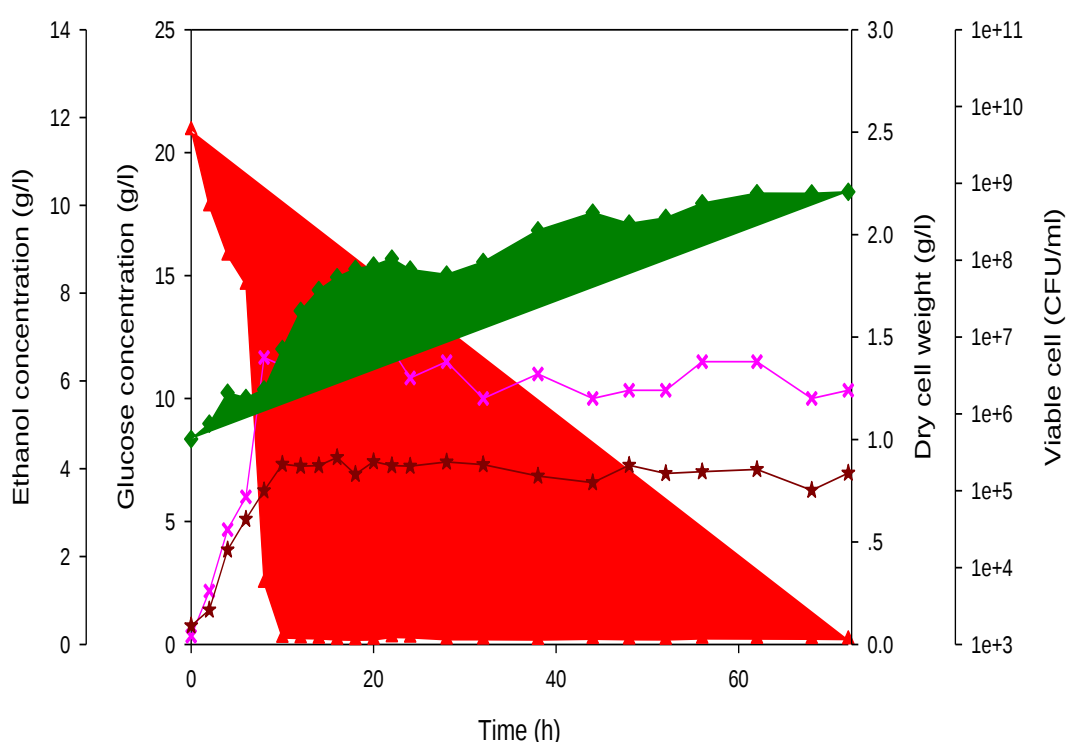
ภาพ 23 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ด้วยกลูโคสเริ่มต้น 70 กรัมต่อลิตร กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้อาหารที่มีกลูโคสเริ่มต้นสูงขึ้น ยีสต์จะมีระยะเวลาในการปรับตัวสูงขึ้น และเมื่อยีสต์ปรับตัวได้แล้วจะมีการเติบโตและผลิตเอทานอล ในขณะที่กลูโคสถูกใช้นั้นยีสต์มีการเติบโตและผลิตเอทานอลพร้อมกัน เมื่อกลูโคสถูกใช้หมด ยีสต์จึงหยุดการเติบโตเช่นเดียวกับการผลิตเอทานอลก็หยุดลง เนื่องจากเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับการเติบโต (growth – associated product) ดังนั้นปริมาณกลูโคสจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดปริมาณเอทานอล ซึ่งถ้าปริมาณเอทานอลคงที่ในกระบวนการหมักนั้นหมายถึงปริมาณกลูโคสที่มีในกระบวนการหมักลดลง

2. อิทธิพลอุณหภูมิ

จากการศึกษาสภาวะอุณหภูมิที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของ *S. cerevisiae* BCC 15353 ที่ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงดังภาพ 24, 25 และ 26

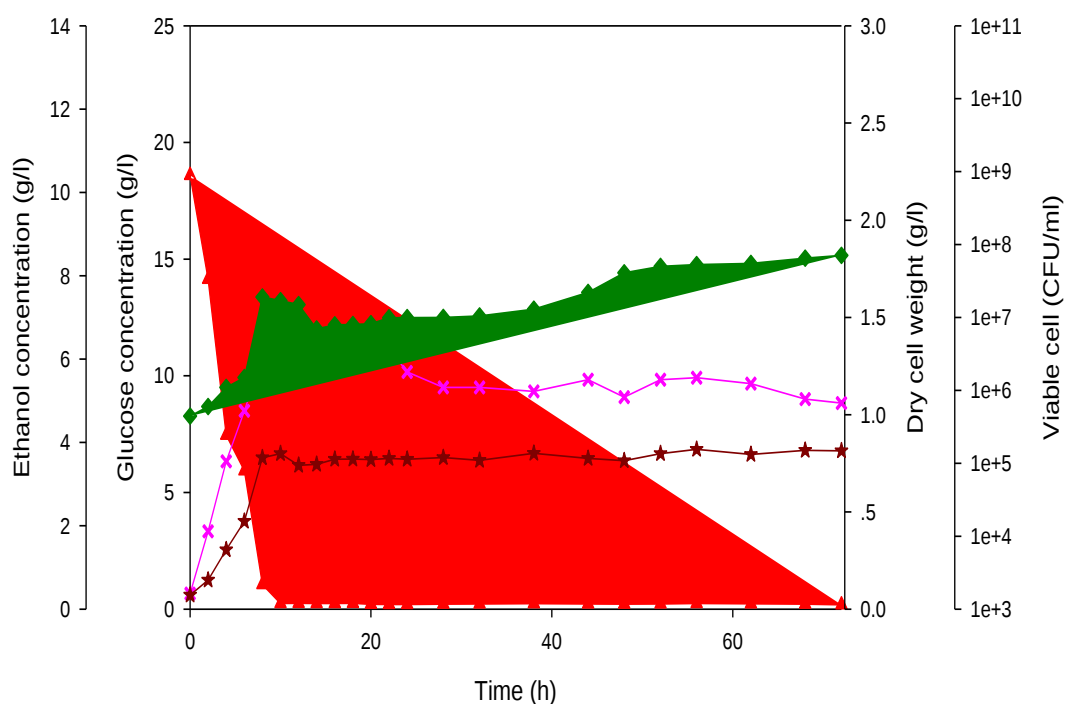
จากภาพ 24 เป็นการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 10 จากนั้นจะเข้าสู่สภาวะคงที่ แต่จากค่าปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตพบว่าหลังจากชั่วโมงที่ 10 ยีสต์ยังคงมีการเจริญอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เนื่องมาจากอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญยีสต์จึงยังคงมีชีวิตอยู่ได้ และอาจใช้ผลิตภัณฑ์อื่นที่ยีสต์ผลิตขึ้นมาเป็นแหล่งอาหาร โดยได้ความเข้มข้นของเซลล์แห้งและเอทานอลสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 1.32 กรัมต่อลิตร และ 3.94 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพ 24 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

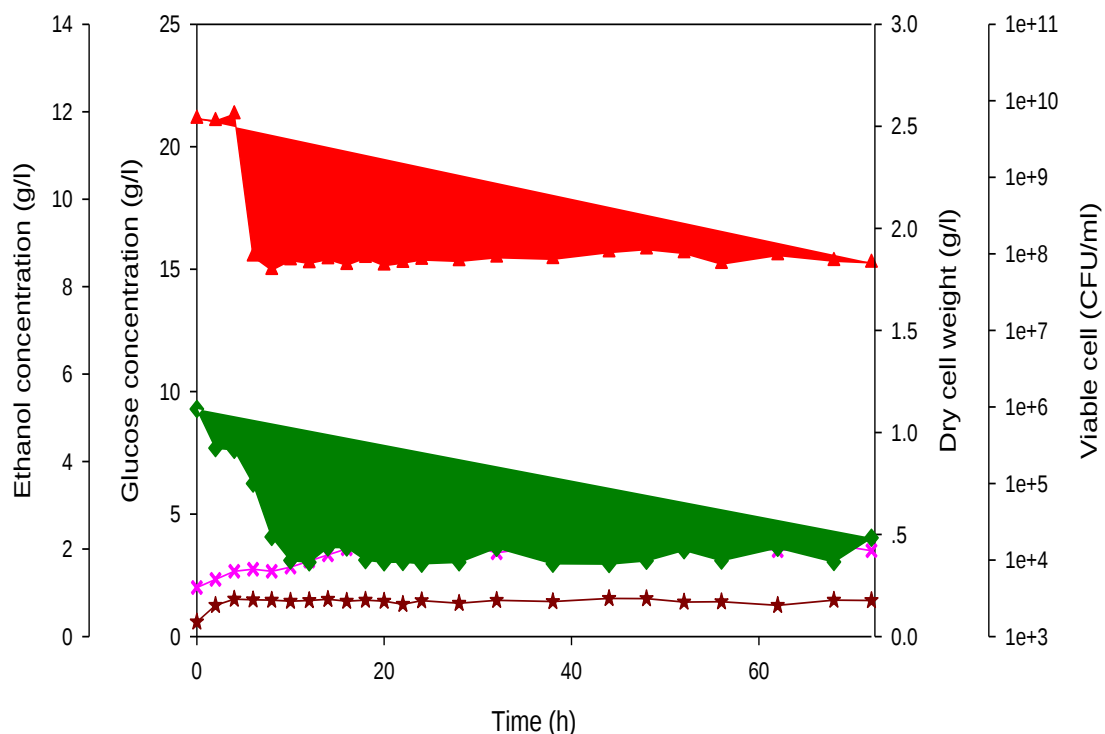
จากภาพ 25 เป็นการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ยีสต์มีการเจริญและการผลิตเอทานอลไปพร้อม ๆ กันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ถึงชั่วโมงที่ 8 จากนั้นการเจริญและการผลิตเอทานอลจะค่อย ๆ คงที่ เช่นเดียวกับการเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แตกต่างกันที่สภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสไม่พบการเพิ่มขึ้นของค่าปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอย่างต่อเนื่อง แสดงว่าอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ยีสต์สามารถเจริญและผลิตเอทานอล

ได้ โดยได้ความเข้มข้นของเซลล์แห้ง และเอทานอลสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 1.17 กรัมต่อลิตร และ 3.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพ 25 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

จากภาพ 26 เป็นการเพาะเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่ายีสต์มีความไวต่ออุณหภูมิสูงอย่างมาก เนื่องจากไม่สามารถเจริญและผลิตเอทานอลได้ เห็นได้จากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าปริมาณเอทานอลที่แทบจะไม่มีเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังเกิดการตายของยีสต์จากค่าปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตที่ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิสูงจะไปยับยั้งการเมแทบอลิซึมของยีสต์ทำให้ยีสต์ไม่สามารถนำกลูโคสเข้าสู่เซลล์ได้ เป็นผลให้มีปริมาณกลูโคสคงเหลือที่ 15 กรัมต่อลิตร โดยได้ความเข้มข้นของเซลล์แห้ง และเอทานอลสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ 0.43 กรัมต่อลิตร และ 0.80 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพ 26 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ในสภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กลูโคส (▲), น้ำหนักเซลล์แห้ง (×), ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (◆), เอทานอล (★)

การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ในความเข้มข้นของกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าอุณหภูมิเป็นอิทธิพลที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลและการเจริญของยีสต์ โดยอุณหภูมิที่ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถเติบโต และผลิตเอทานอลได้ดี ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ยีสต์จะหยุดการเจริญและการผลิตเอทานอลเนื่องจาก *S. cerevisiae* BCC15353 จัดอยู่ในจำพวกยีสต์ชอบอุณหภูมิปานกลางหรือ mesophilic yeast จึงไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงทำให้ขาดคุณสมบัติในการหมักเอทานอลที่อุณหภูมิสูงด้วย

3. ค่าทางจลนพลศาสตร์และผลได้

นำผลการทดลองจากการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC15353 ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นและอุณหภูมิต่างๆ มาคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์และค่าผลได้คือ ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ค่าสัมประสิทธิ์ผลได้ชีวมวล ($Y_{x/s}$) และค่าสัมประสิทธิ์ผลได้เอทานอล ($Y_{p/s}$) และค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (Q_p) แสดงดังตาราง 12 และ 13

ตาราง 12 อิทธิพลของความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นต่อค่าจลนพลศาสตร์และผลได้

พารามิเตอร์	ความเข้มข้นกลูโคส (g/l)		
	20	40	70
$\mu_{\max}$ (ต่อชั่วโมง)	0.27	0.30	0.44
$Y_{x/s}$ (กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส)	0.06	0.04	0.03
$Y_{p/s}$ (กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส)	0.17	0.17	0.18
Q_p (กรัมเอทานอลต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.23	0.43	0.88

การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะของยีสต์ (μ) และค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (Q_p) มีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น นั่นคือปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ยีสต์เติบโตและผลิตเอทานอลมากขึ้น แสดงว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่สูงขึ้น 70 กรัมต่อลิตร ยังไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของยีสต์สายพันธุ์นี้ ในทางตรงกันข้ามผลได้ของเซลล์จากกลูโคสลดลง ส่วนผลได้ของเอทานอลนั้นคงที่ ผลได้ทางทฤษฎีของการผลิตเอทานอลจากกลูโคส กรณีที่ไม่คิดปริมาณเซลล์เท่ากับ 0.51 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส จากการทดลองนี้ผลได้เฉลี่ยประมาณ 0.17 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส คิดเป็น 33 เปอร์เซ็นต์ของผลได้ทางทฤษฎี โดยความเข้มข้นที่มีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์จะอยู่ในช่วง 200 – 300 กรัมต่อลิตร (Charoenchai, Fleet and Henschke, et al., 1998, pp. 283-288; D'Amato, et al., 2006, pp. 1152-1157)

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส (50% กลูโคส และ 50% ฟรุคโตส) ของ Noé Arroyo-López, et al. (2009, pp.120-127) จากค่าพารามิเตอร์การเจริญเติบโตของยีสต์ *S. cerevisiae* T73 พบว่าค่า $\mu_{\max}$ ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจนถึง 220 กรัมต่อลิตร ส่วนค่า $\mu_{\max}$ ของ *S. kudriavzevii* IFO 1802T จะไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลขึ้นเรื่อยๆ และสายพันธุ์ลูกผสม *S. cerevisiae* W27 $\times$ *S. kudriavzevii* พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลขึ้น ค่า $\mu_{\max}$ ของยีสต์ชนิดนี้จะลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการทนต่อแรงดันออสโมซิสขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์แต่ละชนิด

ตาราง 13 อิทธิพลของอุณหภูมิต่อค่าจลนพลศาสตร์และผลได้

พารามิเตอร์	อุณหภูมิ (°C)		
	30	35	40
$\mu_{\max}$ (ต่อชั่วโมง)	0.27	0.17	0
$Y_{x/s}$ (กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส)	0.06	0.07	0.01
$Y_{p/s}$ (กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส)	0.17	0.19	0.01
Qp (กรัมเอทานอลต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.23	0.34	0.10

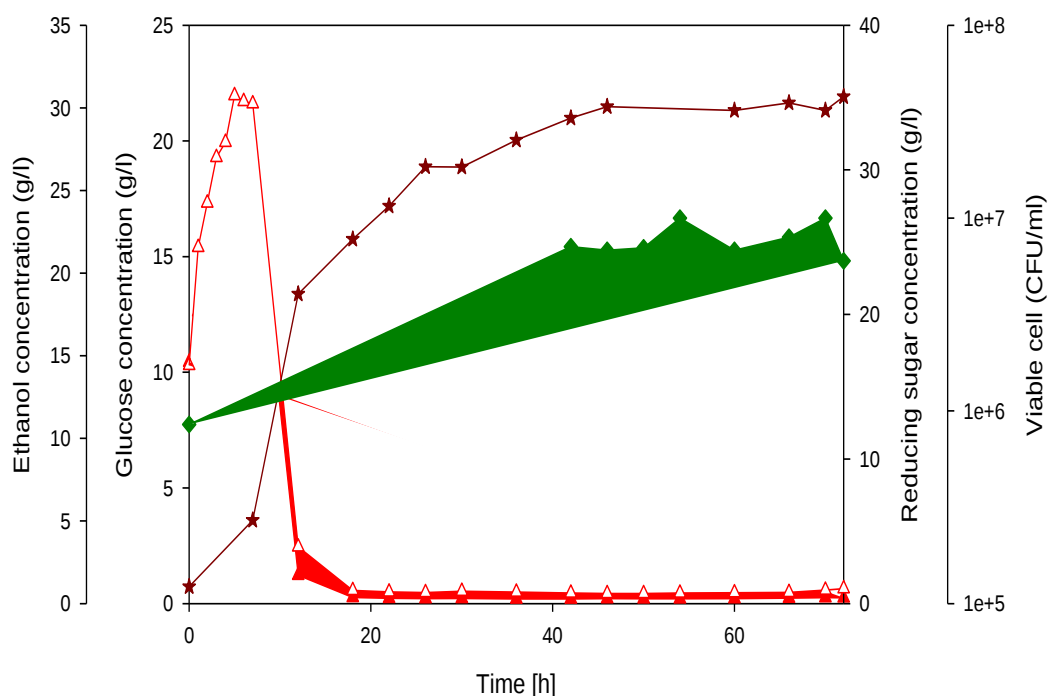
การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์ พบว่ายีสต์มีอัตราการเติบโตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสูงกว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในขณะที่ผลได้ของเซลล์ไม่แตกต่างกัน และผลได้ของเอทานอลก็ใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตามค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (Qp) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* BCC 15353 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นั้นจุลินทรีย์ไม่สามารถเติบโตได้ จึงไม่สามารถผลิตเอทานอลได้ ส่วนเอทานอลที่ตรวจพบนั้นคาดว่าน่าจะมาจากกล้ำเชื้อจากการทดลองนี้แสดงว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส ให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน

Torija, et al. (2003, pp. 47-53) ศึกษาผลของอุณหภูมิ (15-35 องศาเซลเซียส) ต่อการเจริญเติบโตของสายพันธุ์ที่แตกต่างกันของ *S. cerevisiae* ใน white must พบว่าการหมักเกิดขึ้นได้เร็วที่อุณหภูมิสูง 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส เท่ากับ 63.23 และ 69.69 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ โดยการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตถึงจุดสูงสุดและอัตราการหมักจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้น หลังจากวันที่ 8 ของการหมัก ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตจะลดลงอย่างมาก ส่วนการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของยีสต์จะไม่มีช่วงระยะพัก (Lag phase) แต่จะมีช่วงการเจริญคงที่ (exponential phase) และปริมาณยีสต์ที่จุดสูงสุดเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักจะดำเนินไปในช่วงสั้นมากของการเจริญคงที่ (exponential phase) จากนั้นระยะการตาย (decline phase) จะเกิดขึ้นในวันที่ 6 ของการหมัก ซึ่งปริมาณของเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตที่วันสุดท้ายของการหมักจะเหลือเพียง 10^2 CFU/ml เพราะฉะนั้นเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตจะลดลงตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ

Noé Arroyo-López, et al. (2009, pp.120-127) รายงานผลของอุณหภูมิต่อยีสต์ที่เขาได้ทำการศึกษาได้แก่ *S. cerevisiae* T73, *S. kudriavzevii* IFO 1802T และสายพันธุ์ผสมระหว่าง *S. cerevisiae* × *S. kudriavzevii* W27 พบว่าอุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดสำหรับยีสต์สามชนิด โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ 13.9 – 34.1 องศาเซลเซียสแปรผันตรงกับค่า μ_{max} ภายในการทดลองผลของอุณหภูมิไม่สัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นน้ำตาล แต่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับพีเอช (ปฏิกิริยาสัมพันธ์ของอุณหภูมิ*พีเอช) เฉพาะในกรณีของยีสต์ 1802 ซึ่งบ่งบอกว่าปฏิกิริยาสัมพันธ์นี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์

การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการ SLSF

จากการทดลองการย่อยมันเทศด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตกลูโคสนั้น การใช้สารแขวนลอยมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ให้อัตราการผลิตกลูโคสอยู่ในกลุ่มสูง และเมื่อต้องทำการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการทำให้เหลว ทำให้หวานและการหมักพร้อมกันนั้น สภาวะที่ใช้ทั้งการย่อยแป้งและการเติบโตของยีสต์จะต้องเป็นสภาวะเดียวกัน แต่ในการทดลองที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของยีสต์ และการผลิตเอทานอลนั้นพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตและการผลิตเอทานอล คือ 30 องศาเซลเซียส และ 35 องศาเซลเซียส ดังนั้นเพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดี และยีสต์สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ จึงทำการหมักเอทานอลจากมันเทศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังภาพ 27



ภาพ 27 การผลิตเอทานอลแบบรวมกระบวนการทำให้เหลว การทำให้หวาน และการหมักพร้อมกัน (SLSF) กลูโคส ($\blacktriangle$), น้ำตาลรีดิซ ($\triangle$), เอทานอล ($\star$), เซลล์ที่มีชีวิต ($\blacklozenge$)

จากภาพ 27 จะเห็นได้ว่าการหมักด้วยสารละลายมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนักนั้น มีน้ำตาลรีดิซ และกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 16.47 และ 10.44 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเอนไซม์เริ่มทำงานความเข้มข้นน้ำตาลรีดิซและกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิซและน้ำตาลกลูโคสในถังปฏิกรณ์ชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 34.57 และ 19.38 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลนี้อยู่ในระดับต่ำที่ไม่ก่อให้เกิดการยับยั้งการเติบโตของยีสต์ การเพิ่มขึ้นของน้ำตาลในช่วงแรกนั้น แสดงให้เห็นว่าอัตราการผลิตกลูโคสโดยเอนไซมนั้นสูงกว่าอัตราการใช้กลูโคสโดยยีสต์ ทั้งนี้เนื่องจากช่วง 0 – 7 ชั่วโมง ยีสต์มีการเติบโตน้อยและอยู่ในช่วงของการปรับตัว เมื่อยีสต์ปรับตัวได้และเติบโตอย่างเต็มที่แล้ว จะพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพลดลงอย่างรวดเร็ว ความเข้มข้นของกลูโคสเฉลี่ยตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 เป็นต้นไปอยู่ที่ประมาณ 0.22 กรัมต่อลิตร

สำหรับการผลิตเอทานอลนั้นเกิดขึ้นทันทีหลังจากเริ่มต้นกระบวนการหมัก และความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 12 ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์มีการเติบโตสูง ประกอบกับปริมาณกลูโคสในน้ำหมักที่สูง หลังจากชั่วโมงที่ 12 เป็นต้นไป อัตราการผลิตเอทานอล

จะต่ำลงเนื่องจากปริมาณกลูโคสในน้ำหมักมีน้อย จนกระทั่งความเข้มข้นของเอทานอลคงที่อยู่ที่ประมาณ 30.02 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นอัตราการผลิตเอทานอล 0.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้เอทานอลจากแป้ง 0.21 กรัมเอทานอลต่อกรัมแป้ง (โดยน้ำหนักเปียก) และผลได้เอทานอลจากหัวมันเทศสดเท่ากับ 60 กรัมเอทานอลต่อกิโลกรัมหัวมันเทศสด ภายในระยะเวลา 46 ชั่วโมง

ถึงแม้ว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 - 42 จะมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพน้อย แต่ก็ยังคงมีการเติบโตของยีสต์ และการผลิตเอทานอลอยู่อย่างต่อเนื่อง แสดงว่าอัตราการผลิตกลูโคสยังเพียงพอต่อการใช้ของยีสต์อยู่ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 42 เป็นต้นไป อัตราการผลิตกลูโคสไม่ทันกับการเติบโตของยีสต์ที่มีปริมาณมากขึ้น ส่งผลให้ยีสต์ขาดแหล่งอาหารคาร์บอนสำหรับการเติบโตและการผลิตเอทานอล

ผนังเซลล์ของมันเทศเป็นพืชในกลุ่ม dicotyledonous plants ประกอบด้วยลิกโนเซลลูโลส ซึ่งกักเก็บน้ำภายในชั้นผนังเซลล์ของรากและหัวเป็นผลให้น้ำแป้งมีความหนืดสูง ความหนืดที่สูงของน้ำแป้งมันเทศสดเป็นสาเหตุของการขัดขวางการแยกส่วนระหว่างของเหลวและของแข็ง เอนไซม์อะไมเลสและกลูโคอะไมเลสเข้าไปย่อยยาก ซึ่งการพรีทรีตเมนต์ด้วยความร้อนก่อนจะช่วยให้อาหารย่อยง่ายขึ้น หรืออาจเติมเอนไซม์ไซแลนเนสลงไปเพื่อช่วยย่อย ด้วยเหตุนี้จึงทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสความเข้มข้น 1.56 AGU/g, 87.6 นาที, และ 44.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ให้ความหนืดสุดท้ายเท่ากับ 498.1 cp ผลได้เอทานอล 135.1 กรัมต่อกิโลกรัม หรือเท่ากับ 90.7% ของผลได้ทางทฤษฎี ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และกลูโคสสูงสุดเท่ากับ 300 และ 205 กรัมต่อกิโลกรัม (Zhang, et al., 2010, pp. 1845-1850)

ล่าสุดรายงานกระบวนการ SSF การลดค่าความหนืดของแป้งมันเทศดิบ ของ Zhang, et al. (2011, pp. 4573 - 4579) พบว่าให้ค่าปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 128.51 กรัมต่อลิตร มีค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (Qp) เท่ากับ 4.76 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยทำการย่อยมันเทศดิบความเข้มข้น 60 - 80 % (w/v) ด้วยแอลฟาอะไมเลส (85 องศาเซลเซียส, 20 นาที) เติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (30 องศาเซลเซียส) และการเติมเอนไซม์ไซแลนเนส (Xylanase) ลงไป ซึ่งไปช่วยลดแรงหนืดของมันเทศดิบจากประมาณ 30,000 cp ลดลงเหลือ 500 cp ใน 90 นาทีแรกของกระบวนการ SSF ซึ่งความหนืดสูงเป็นสาเหตุของความยากลำบากหลายอย่างในกระบวนการ และอาจจะนำไปสู่การย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์ (Wang, et al., 2008, pp. 313-220; Ingledew, et al., 1999, pp. 59-464)

กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ (2549) ใช้กระบวนการ SLSF ในการผลิตเอทานอลจาก มันเส้น (มันสำปะหลัง) ที่มีปริมาณแป้งร้อยละ 85 โดยน้ำหนักแห้ง เข้มข้นร้อยละ 25 โดยน้ำหนักแห้งจำนวน 2.5 ลิตร หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยใช้เอนไซม์ย่อยแป้งดิบเข้มข้น ร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักแห้ง แบบ SLSF ให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 107.3 กรัมต่อลิตร ภายใน เวลา 72 ชั่วโมง จากการทดลองดังกล่าวพบว่าให้ปริมาณเอทานอลที่มากกว่าการใช้มันเทศ เนื่องจากปริมาณแป้งเริ่มต้นในมันเทศมีน้อยกว่ามันเส้น โดยมันเส้นมีปริมาณแป้งอยู่ถึงร้อยละ 85 โดยน้ำหนักแห้งแต่ปริมาณแป้งในมันเทศที่นำมาวิจัยครั้งนี้มีปริมาณแป้งเพียงร้อยละ 14 โดยน้ำหนักเปียก (วัดจากชุดตรวจปริมาณแป้งทั้งหมด © Megazyme) ถ้านำผลการทดลองที่ได้มา ทำการหาค่าผลได้เอทานอลต่อปริมาณแป้งแล้ว การผลิตเอทานอลจากมันเทศ และมันเส้นให้ค่า ผลได้เอทานอลเท่ากับ 0.21 และ 0.20 กรัมเอทานอลต่อกรัมแป้ง ตามลำดับ จากค่าที่ได้จะเห็นว่า ค่าทั้งสองมีความแตกต่างกันน้อยมาก ถ้าใช้ปริมาณแป้งที่เท่ากัน Johnson, Padmaja, and Moorthy (2009, pp. 616-620) ได้กล่าวว่าผลได้ของกลูโคสและผลได้ของฟรุคโตสที่ได้จากหัวมัน สำปะหลังมีค่ามากกว่าหัวมันเทศ ทั้งนี้เนื่องจากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งเริ่มต้นที่สูงกว่า

Nadir, et al. (2009, pp. 3068-3073) รายงานผลการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอล ของข้าวฟ่างหวานและมันสำปะหลัง ซึ่งมีปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 32 โดยน้ำหนักเปียก โดยวิธีการ ย่อยแป้งพื้นฐานด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด (Two – step enzymatic hydrolysis) ได้แก่แอลฟา-อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และ กลูโคอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยทำการกรองของแข็งออก ปรับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และพีเอช 5.0 ตามลำดับ จากนั้นทำการเติมยูเรียร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก และ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก จึงทำการเติมยีสต์ ผลการทดลองพบว่าข้าวฟ่างหวานให้กลูโคสหลัง การย่อยได้ดีกว่ามันสำปะหลังที่ 50.07 และ 40.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ผลผลิตเอทานอลที่ 40.11 และ 34.07 กรัมต่อลิตรตามลำดับอีกด้วย

จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงข้อดีของการหมักแบบ SLSF ซึ่งช่วยลดกระบวนการใน การย่อยแป้งจาก 3 ขั้นตอนให้รวมอยู่ในขั้นตอนเดียว เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จาก การใช้มันเทศและมันสำปะหลัง พบว่าปริมาณผลผลิตที่ได้ใกล้เคียงกัน (เทียบในหน่วยผลได้เอทานอล ต่อกรัมแป้ง) ดังนั้นมันเทศสายพันธุ์ใดวันจึงสามารถเป็นวัตถุดิบทางเลือกในการนำมาผลิต เอทานอลแบบ SLSF ได้ บนข้อดีของระยะเวลาการเก็บเกี่ยวผลผลิตที่สั้น ผลผลิตต่อไร่สูง และมี ธรรมชาติเก็บเกี่ยวสูงในฤดูแล้ง อีกทั้งกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SLSF เป็นกระบวนการ แบบขั้นตอนเดียวที่ไม่ใช้ความร้อน (Single step uncooked process) โดยให้เอนไซม์และยีสต์

สามารถทำกิจกรรมด้วยกัน ภายใต้สภาวะเดียวกัน จึงช่วยประหยัดทั้งเวลาและกระบวนการในการผลิต แต่ต้องมีการเพิ่มขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ผนังเซลล์ของมันเทศลงไปเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยมันเทศของเอนไซม์

บทที่ 5

บทสรุป

มันเทศสายพันธุ์ไต้หวันสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตเอทานอลแบบรวมการย่อยแป้งและการหมักเข้าไว้ในขั้นตอนเดียว หรือ SLSF ได้ เนื่องจากมีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ผลผลิตต่อไร่สูง และมีธรรมชาติเก็บเกี่ยวสูงในฤดูแล้ง แต่ต้องมีการปรับแต่งกระบวนการเพื่อเพิ่มผลผลิตเอทานอลให้มากขึ้น

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน โดยส่วนแรกทำการศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการผลิตกลูโคสด้วยเอนไซม์ STARGEN™ 001 ใช้แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล พบว่าอิทธิพลของอุณหภูมิเท่านั้นที่มีผลต่อการย่อยมันเทศ โดยสภาวะการย่อยที่อุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียส ให้ค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสและอัตราการผลิตกลูโคสสูงสุดใกล้เคียงกันจึงถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันตามวิธี Duncan's test ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสถูกจัดให้อยู่อีกกลุ่ม ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยผลได้กลูโคสและอัตราการผลิตกลูโคสต่ำที่สุด

เมื่อวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้ง พบว่าสภาวะการย่อยมันเทศสดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นมันเทศร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ช่วงความเข้มข้นเอนไซม์ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตร เป็นสภาวะเหมาะสมและมีแนวโน้มให้ค่าผลได้กลูโคสและอัตราการผลิตกลูโคสสูง

จากการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการผลิตเอทานอลของ *S. cerevisiae* BCC 15353 โดยพิจารณาการเติบโต ผลได้ และอัตราการผลิตเอทานอล พบว่าปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นตามปริมาณกลูโคสเริ่มต้นที่ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีค่าอัตราการเติบโต ผลได้ของเซลล์ ผลได้เอทานอล และอัตราการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.17 ต่อชั่วโมง, 0.07 กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส, 0.19 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส และ 0.34 กรัมเอทานอลต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ยีสต์ไม่สามารถเติบโตและผลิตเอทานอลได้ในอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ทำให้ต้องเลือกสภาวะการย่อยมันเทศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เนื่องจากการผลิตเอทานอลแบบ SLSF นี้เอนไซม์และยีสต์จำเป็นต้องทำกิจกรรมร่วมกันได้ โดยพิจารณาจากอัตราการเกิดกลูโคสที่สูงสุดในอุณหภูมิการย่อย 35 องศาเซลเซียส สภาวะที่ได้คัดเลือกนี้คือ ความเข้มข้นมันเทศเริ่มต้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ความเข้มข้นเอนไซม์ STARGEN™ ร้อยละ 0.2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักมันเทศ

เมื่อนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลแบบ SLSF พบว่าให้ผลผลิตเอทานอลความเข้มข้น 30.02 กรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ภายในระยะเวลา 46 ชั่วโมง และผลได้เอทานอลต่อมันเทศเท่ากับ 0.21 กรัมเอทานอลต่อกรัมแป้ง (น้ำหนักเปียก) และผลได้เอทานอลจากหัวมันเทศสดเท่ากับ 60 กรัมเอทานอลต่อกิโลกรัมหัวมันเทศสด

บรรณานุกรม

- กระทรวงพลังงาน. (2551). **คำแถลงนโยบายของรัฐบาล นายอภิสิทธิ์ เวชชาชีวะ**
นายกรัฐมนตรี (ส่วนของนโยบายพลังงาน). สืบค้นเมื่อ 25 พฤศจิกายน 2552, จาก
<http://www.energy.go.th/moen/Index.aspx?MenuID=11>
- กล้าณรงค์ ศรีรอด, เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, ปฐมา จาตุกานนท์ และ
สิทธิโชค วัลลภาทิพย์. (2549). การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง
โดยการปรับปรุงการย่อยแป้งดิบด้วยเอนไซม์. ใน **รายงานวิจัยเสนอสำนักงาน**
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (หน้า 149). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. (2550). **เทคโนโลยีของแป้ง** (พิมพ์ครั้งที่ 4).
กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2547). **จุลชีววิทยาทั่วไป** (พิมพ์ครั้งที่ 4).
กรุงเทพฯ: เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น.
- นรินทร์ พูนพิม. (2550). การคัดเลือกพันธุ์มันเทศเพื่อผลิตเอทานอล. ใน **รายงานวิจัย**
กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- นักวิจัย มข. รุกต่อยอดวิจัยแก่นตะวัน มุ่งผลิตเอทานอลรองรับการผลิต E85. (2551). สืบค้นเมื่อ 7
ธันวาคม 2552, จาก [http://www.boydream.com/manager-news-](http://www.boydream.com/manager-news-content.php?newid=73589)
[content.php?newid=73589](http://www.boydream.com/manager-news-content.php?newid=73589).
- สรุปการประชุม คณะอนุกรรมการศึกษาและติดตามแก้ไขปัญหาด้านข้าวชาก ใน
คณะกรรมการการเศรษฐกิจ การพาณิชย์และอุตสาหกรรม วุฒิสภา ครั้งที่ 1/2552.
(2552). สืบค้นเมื่อ 29 พฤศจิกายน 2552, จาก [http://www.senate.go.th/](http://www.senate.go.th/committee2551/committee/files/committee21/F1.pdf)
[committee2551/committee/files/committee21/F1.pdf](http://www.senate.go.th/committee2551/committee/files/committee21/F1.pdf)
- วิลาวัณย์ แก้วเพิ่ม. (2553). **จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ STARGEN™ ในการย่อยมัน**
สำปะหลังดิบ. การศึกษาค้นคว้าด้วยตัวเอง วท.บ., มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล, วรสิทธิ์ ไทจำปา และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. (2544). **วิศวกรรมเคมี**
ชีวภาพพื้นฐาน 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สาวิตรี ลิ้มทอง. (2549). **ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ.** กรุงเทพฯ:
สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- สิทธิโชค วัลลภาทิตย์ และกล้าณรงค์ ศรีรอด. (2552). เอทานอลจากมันสำปะหลัง. **วารสารพลังงานทางเลือก**, 4(15), 24-26.
- สุรพงษ์ เจริญรัต. (2550). งานวิจัยและการผลิตมันสำปะหลังของจีน. **วารสารผลิใบ**, 9(12), 6-7.
- อนุชิต ทองกล้า, นเรศ สอนหลักทรัพย์, ชานู ถิรพร และโสภณ สินธุประมา. (2520). ผลของระยะเวลาการเก็บเกี่ยวหลังจากการตัดต้นที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพมันสำปะหลัง. ใน **รายงานผลการทดลองมันสำปะหลัง พ.ศ. 2520** (หน้า 99 – 102). กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- อารยา บุญศักดิ์. (2553). **จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ STARGEN™ ในการย่อยแป้งมันเทศดิบ**. การศึกษาค้นคว้าด้วยตัวเอง วท.บ., มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.
- Aggarwal, P. and Dollimore, D.A., (1998), Thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, 319, 17–25.
- Apar, D.K., and Özbek, B. (2004). α -amylase inactivation during corn starch hydrolysis process. **Process Biochemistry**, 39, 1877-1892.
- Apar, D.K. and Özbek, B. (2005). α -Amylase inactivation during rice starch hydrolysis. **Process Biochemistry**, 40, 1367-1379.
- Atlas, R.M. (2004). **Handbook of Microbiological Media**. London: CRC Press.
- Balat, M. and Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. **Applied Energy**, 86, 2273-2282.
- Brandam, C., Meyer, X.M., Proth, J., Strehaiano, P. and Pingaud, H. (2003). An original kinetic model for the enzymatic hydrolysis of starch during mashing. **Biochemical Engineering Journal**, 13, 43-52.
- Charoenchai, C., Fleet, G. and Henschke, P.A., (1998). Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth rates and cell biomass of wine yeasts. **American Journal of Enology and Viticulture**, 49, 283–288.
- D'Amato, D., Corbo, M.R., Del Nobile, M.A. and Sinigaglia, M. (2006). Effects of temperature, ammonium and glucose concentrations on yeast growth in a model wine system. **International Journal of Food Science & Technology**, 41, 1152–1157.

- Fleet, G.H. and Heard, G.M. (1993). **Yeasts-growth during fermentation**. In: Fleet, G.H. (Ed.), **Wine Microbiology and Biotechnology** (pp.42-43). Switzerland: Harwood Academic Publishers, Chur.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., Bule´ on, A. and Pe´ rez, S. (1992). Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, 46, S3–S6.
- Gallant, D.J., Bewa, H., Buy, Q.H., Bouchet, B., Szylit, O. and Sealy, L. (1982). On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. **Starch - Stärke**, 34, 255–262.
- Halasz, A. and Lasztity, R. (1991). **Use of yeast biomass in food production**. Florida: CRC Press,
- Hultman, E. (1959). Rapid specific method for determination of aldosesaccharides in body fluids. **Nature**. 183, 108.
- Ingledew, W.M., Thomas, K.C., Hynes, S.H. and Mcleod, J.G. (1999). Viscosity concerns with rye mashes used for ethanol production. **Cereal Chemistry**, 764, 59-464.
- Johnson, R., Padmaja, G. and Moorthy, S.N. (2009). Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 10, 616-620.
- Juszczak, L., Fortuna, T. and Krok, F. (2003). Non-contact atomic force microscopy of starch granules surface: Part I. Potato and tapioca starches. **Starch – Stärke**, 55, 1–7.
- Kim, C.H. and Rhee, S.K. (1993). Process development for simultaneous starch saccharification and ethanol fermentation by *Zymomonas mobilis*. **Process Biochemistry**, 28, 331-339.
- Lee, G.M., Kim, C.H., Lee, K.J., Yusof, Z.A.M., Han, M.H. and Rhee, S.K. (1986). Simultaneous saccharification and ethanol fermentation of sago starch using immobilized *Zymomonas mobilis*. **Journal of Fermentation Technology**, 64, 293-297.

- Li, Shi-Zhong and Chan-Halbrendt, Catherine. (2009). Ethanol production in China: Potential and technologies. **Applied Energy**, 86, S162-S169.
- Linko, Y.Y. and Javanainen, P. (1996). Simultaneous liquefaction, saccharification, and lactic acid fermentation on barley starch. **Enzyme and Microbial Technology**, 19, 118-123.
- Megazyme: Total starch assay procedure (Amyloglucosidase/ α -amylase method).** (2009). [Brochure]. Ireland: © Megazyme International.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, 31, 426-428.
- Morales, S., Álvarez, H. and Sánchez, C. (2008). Dynamic models for the production of glucose syrups from cassava starch. **Food and Bioproducts Processing**, 86, 25-30.
- Nadir, N., Mel, M., Karim, M.I.A. and Yunus, R.M. (2009). Comparison of sweet sorghum and cassava for ethanol production by using *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Applied Sciences**. 9(17), 3068-3073.
- Noé Arroyo-López, F., Sandi Orli, Amparo Querol and Eladio Barrio. (2009). Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. **International Journal of Food Microbiology**, 131, 120-127.
- O'Brien, S. and Wang, Y.J. (2008). Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. **Carbohydrate Polymers**, 72, 597-607.
- Pretorius, I.S., (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. **Yeast**, 16, 675-729.
- Querol, A. and Fleet, G. (2006). Yeasts in Food and Beverages. **Springer-Verlag**, Berlin, Germany: N.P.
- Rattanachomsri, U., Tanapongpipat, S., Eurwilaichitr, L. and Champreda, V. (2009). Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by *Candida tropicalis*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 107, 488 - 493.

- Robertson, G.H., Wong, D.W.S., Lee, C.C., Wagschal, K., Smith, M.R. and Orts, W.J. (2006). Native or raw starch digestion: a key step in energy efficient biorefining of grain. **Journal of agricultural and food chemistry**, 54, 353-365.
- Sarikaya, E., Higasa, T., Adachi, M. and Mikami, B. (2000). Comparison of degradation abilities of alpha- and β -amylases on raw starch granules. **Process Biochemistry**, 35, 711–715.
- Schwartz, L. (2008). **China fuels ethanol industry with yams, sweet potatoes and cassava**. Retrieved November 25, 2009, from <http://www.renewableenergyworld.com/rea/news/article/2008/05/china-fuels-ethanol-industry-with-yams-sweet-potatoes-and-cassava-52450>
- Shariffa, Y.N., Karim, A.A., Fazilah, A. and Zaidul, I.S.M. (2009). Enzymatic hydrolysis of granular native and mildly heat-treated tapioca and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature. **Food Hydrocolloids**, 23, 434-440.
- Shen, D. (1997). Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes in China. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 62, 237 – 245.
- Shuler, M.L. and F. Kargi, (1992). **Bioprocess Engineering: Basic Concepts**. New Jersey: Prentice Hall,
- Srichuwong, S., Fujiwara, M., Wang, X., Seyama, T., Shiroma, R., Arakane, M., et al. (2009). Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash for the production of ethanol. **Biomass and Bioenergy**, 33, 890-898.
- Srikanta, S., Jaleel, S.A., Ghildyal, N.P. and Lonsane, B.K. (2006). Techno-economic feasibility of ethanol production from fresh cassava tubers in comparison to dry cassava chips. **Food**, 31, 253-258.
- Suresh, K., Kiran sree, N. and Rao, L.V. (1999). Utilization of damaged sorghum and rice grains for ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. **Bioresource Technology**, 68, 301-304.

- Tester, R.F. and Morrison, W.R., (1990), Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. **Cereal Chemistry**, 67, 551–557.
- Thomas, K.C., Hynes, S.H., Jones, A.M. and Ingledew, W.M., (1993). Production of fuel alcohol from wheat by VGH technology: effect of sugar concentration and fermentation temperature. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 43, 211-226.
- Torija, M.J., Rozès, N., Poblet, M., Guillamón, J.M. and Mas, A. (2003). Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, 80, 47–53.
- Transforming the Ethanol Industry : New STARGEN™ enzyme technology from Genencore removes the need for a cook step; leads to energy savings, higher yields, and enhanced plant productivity. (2005). [Brochure]. Genencor International®: danisco.
- Uthumporn, U., Zaidul, I.S.M. and Karim A.A. (2010). Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes. **Food and Bioproducts Processing**, 88, 47 – 54.
- Valetudie, J. C., Colonna, P., Bouchet, B. and Gallant, D. N. (1993). Hydrolysis of tropical tuber starches by bacterial and pancreatic α -amylase. **Starch – Stärke**, 45, 270–276.
- Wang, D., Bean, S., McLaren, J., Seib, P., Madl, R., Tuinstra, M. et al. (2008). Grain sorghum is a viable feedstock for ethanol production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 35, 313-220.
- Yu, B., Zhang, F., Zheng, Y. and Wang, P. (1996). Alcohol fermentation from the mash of dried sweet potato with its dregs using immobilised yeast. **Process Biochemistry**, 31, 1-6.
- Zaidul, I.S.M., Nik Norulaini, N.A., Omar, A.K. Mohd., Yamauchi, H. and Noda, T. (2007). RAV analysis of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, yam, and cassava starches. **Carbohydrate Polymer**, 69, 784-791.

- Zhang Liang, Chen Qian, Jin Yanlin, Xue Huilin, Guan Jiafa, Wang Zhongyan, et al. (2010). Energy-saving direct ethanol production from viscosity reduction mash of sweet potato at very high gravity (VGH). **Fuel Processing Technology**, 91, 1845-1850.
- Zhang, L., Zhao, H., Gan, M., Jin, Y., Gao, X., Chen, Q., et al. (2011). Application of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from viscosity reducing of raw sweet potato for bioethanol production at laboratory, pilot and industrial scales. **Bioresource Technology**, 102, 4573 – 4579.
- Zhang, T. and Oates, C. G. (1999). Relationship between α -amylase degradation and physico-chemical properties of sweet potato starches. **Food Chemistry**, 65, 157–163.
- Zhang, Z., Wheatley, C.C. and Corke, H. (2002). Biochemical changes during storage of sweet potato roots differing in dry matter content. **Postharvest Biology and Technology**, 24, 317-325.
- Ziska, L.H., Runion, G.B., Tomecek, M., Prior, S.A., Torbet and H.A., Sicher, R. (2009). An evaluation of cassava, sweet potato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. **Biomass and Bioenergy**, 33, 1503–1508.