บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลจากข้าวโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลอง ในบทนี้จะกล่าวถึงปัจจัยที่ใช้ในการผลิต อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง และวิธีการดำเนินการทดลอง สามารถแสดงได้ดังนี้

3.1 วิเคราะห์ปัจจัยในการผลิตเอทานอลจากข้าว

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิจัยถึงกระบวนการผลิตเอทานอลจากข้าว ซึ่งจากการศึกษาทางด้านวิศวกรรมอุตสาหการสามารถที่จะนำเทคนิคที่เกี่ยวข้องมาใช้ เพื่อกำหนดปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลจากข้าวเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากการศึกษาถึงปัจจัยในการผลิตเอทานอลจากข้าวเพื่อให้ได้จำนวนความเข้มข้นของเอทานอลมากที่สุดนั้น ต้องมีการกำหนดองค์ประกอบหรือปัจจัยในการทำงานและส่วนที่เกี่ยวข้อง ซึ่งสามารถกำหนดรายละเอียดได้ดังนี้ คือ

3.1.1 <u>คุณลักษณะของผลตอบ</u> (Response Characteristic) หมายถึงลักษณะของผลที่ได้รับจากการศึกษาหรือการทดลองในที่นี้คือ ระดับความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมัก(%) โดยกำหนดให้เป็นตัวแปรผลตอบ (Response Variable; Y)

3.1.2 <u>ปัจจัยควบคุม</u> (Control Factor) เป็นปัจจัยที่มีการกำหนด ระดับสูงและต่ำ เพื่อนำระดับต่างๆของปัจจัยเหล่านี้มาปรับใช้กับสภาวะการหมักเอทานอล ระดับของปัจจัยที่กำหนดนี้ได้มาจากการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งประกอบด้วย

- ชนิดของข้าวที่นำมาใช้ในการทดลอง (Type of rice) คือ ข้าวเหนียวสันป่าตอง (Sanpahtawng Glutinous Rice) และ ข้าวเหนียวดำหรือดอย (Black Glutinous Rice)
- วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Hydrolysis) คือ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*, เอนไซม์ *α-Amylase* และ *Amyloglucosidase*
- อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Temperature) อยู่ในช่วง 20-37°C
- เวลาที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Time) อยู่ระหว่าง 7-14 วัน

3.1.3 ปัจจัยคงที่ (Held-Constant Factor) เป็นปัจจัยที่กำหนดค่าให้เท่ากันทุกการทดลอง ในที่นี้จะหมายถึงปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการทดลองในครั้งนี้ แต่มีส่วนเกี่ยวข้องในขั้นตอนอื่น ซึ่งสามารถนำไปศึกษาครั้งต่อไป ปัจจัยดังกล่าวแสดงในตารางด้านล่าง

ตาราง 3.1 ปัจจัยคงที่

ปัจจัยคงที่	การควบคุมในการทดลอง
ปริมาณข้าว	3 กิโลกรัมต่อ 1 การทดลอง
ขนาดถังหมัก	ใช้ถังขนาดเดียวกันทุกการทดลอง
ผู้ดำเนินการทดลอง	คนเดียวกันตลอดการทดลอง

3.1.4 ปัจจัยที่ควบคุมไม่ได้ (Nuisance Factors) เป็นปัจจัยที่มีผลอาจจะไม่มาก แต่ก็ไม่สามารถขจัดออกได้ ซึ่งในการทดลองจะใช้วิธีการกำหนดช่วงเวลาที่จะเริ่มทำการทดลองและจัดสภาพแวดล้อมในแต่ละครั้งให้ใกล้เคียงกัน

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ประกอบด้วยเครื่องมือดังต่อไปนี้

1.) ข้าวเหนียวที่ใช้ในการทดลอง ใช้ตัวอย่างละ 3 กิโลกรัมต่อ 1 ตัวอย่าง

รูป 3.1 ข้าวเหนียวสันป่าตอง (Sanpahtawng Glutinous Rice)

รูป 3.2 ข้าวเหนียวดำหรือดอย (Black Glutinous Rice)

2.) หม้อต้มสแตนเลส 18 นิ้ว พร้อมเตาแก๊ส

รูป 3.3 หม้อสแตนเลส

3.) เครื่องบด (blender) เพื่อบดให้เม็ดข้าวมีขนาดเล็ก ใช้กับวิธีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลโดยเอนไซม์

รูป 3.4 เครื่องบด (blender)

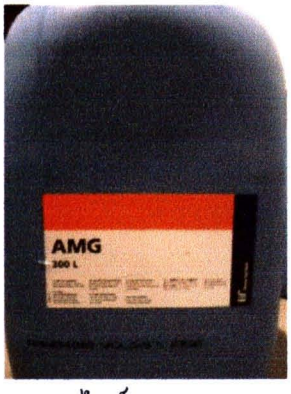
4.) เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake* ใช้ในการย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล

รูป 3.5 เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*

5.) เอนไซม์ *α-Amylase* ใช้ในการย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล

รูป 3.6 เอนไซม์ *α-Amylase*

6.) เอนไซม์ *Amyloglucosidase* มีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเล็กลงเพื่อให้ยีสต์สามารถทำงานได้ดีขึ้น



รูป 3.7 เอนไซม์ *Amyloglucosidase*

7.) ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

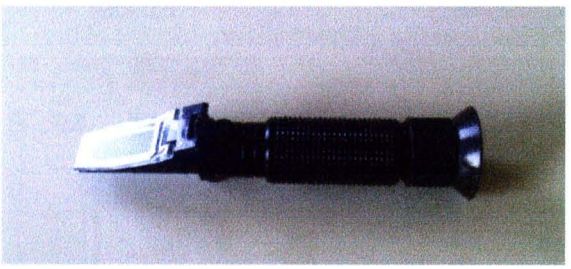
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รูป 3.8 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

8.) เครื่อง Ebulliometer วัดความเข้มข้นของเอทานอล

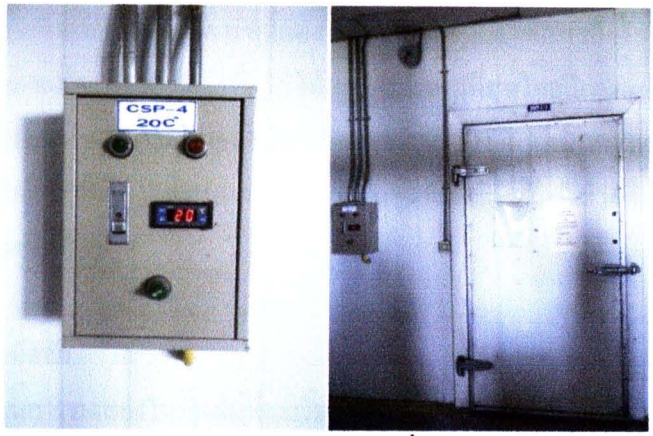
รูป 3.9 เครื่อง Ebuliometer

8.) Brix Refractometer เครื่องวัดความหวาน หน่วย °Brix



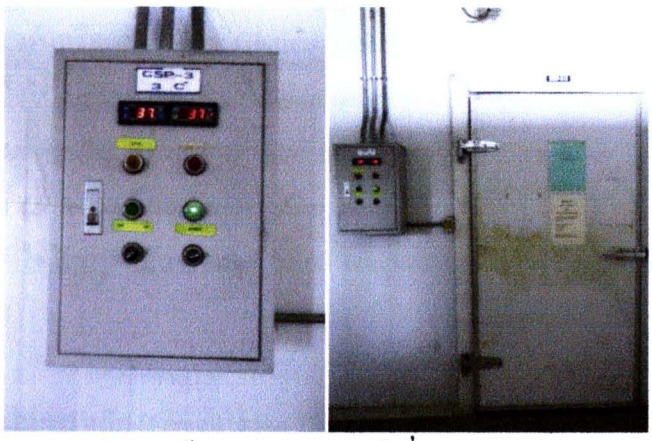
รูป 3.10 Brix Refractometer

9.) ห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่ 20 °C



รูป 3.11 ห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่ 20 °C

9.) ห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 °C



รูป 3.12 ห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 °C

10.) เครื่องกลั่น

รูป 3.13 เครื่องกลั่นเอทานอล

3.2.2 เครื่องมือทางสถิติที่ใช้ในการวิจัย

ในการวิจัยนี้ใช้หลักการออกแบบการทดลองชนิด 2^k Factorial เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการทดลองและหาจุดดีที่สุดของแต่ละปัจจัย เพื่อให้ได้ผลตอบที่มากที่สุดโดยมีการแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน คือ ช่วงแรก หาช่วงระดับของปัจจัยที่เหมาะสม ช่วงที่ 2 เป็นการทดลองเพื่อหาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลในการทดลองและสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัย ช่วงที่ 3 เป็นการวิเคราะห์ต้นทุนเอทานอลจากข้าว

3.3 การหาช่วงระดับของปัจจัย

เป็นขั้นตอนก่อนการทดลองในขั้นต้นที่จะเริ่ม จะเป็นการหาค่าของช่วงระดับของปัจจัยที่ควบคุมในการทดลองโดยศึกษาจากเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

3.3.1 ชนิดของข้าวที่นำมาใช้ในการทดลอง (Type of rice)

ปัจจัยระดับต่ำ : ข้าวเหนียวสันป่าตอง (Sanpahtawng Glutinous Rice)

ปัจจัยระดับสูง : ข้าวเหนียวดำหรือดอย (Black Glutinous Rice)

3.3.2 วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Hydrolysis)

ปัจจัยระดับต่ำ : เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*

ปัจจัยระดับสูง : เอนไซม์ *α-Amylase* และ *Amyloglucosidase*

3.3.3 อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Temperature)

ปัจจัยระดับต่ำ : 20 °C

ปัจจัยระดับสูง : 37 °C

3.3.4 เวลาที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Time)

ปัจจัยระดับต่ำ : 7 วัน

ปัจจัยระดับสูง : 14 วัน

ตาราง 3.2 สรุปค่าระดับปัจจัยนำเข้าขั้นต้น

ปัจจัยนำเข้าขั้นต้น	ระดับต่ำ (-1)	ระดับสูง (+1)
ชนิดของข้าว	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	ข้าวเหนียวดอยหรือดำ
วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล	เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*	เอนไซม์ *α-Amylase* และ *Amyloglucosidase*
อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก	20 °C	37 °C
เวลาที่ใช้ในการหมัก	7 วัน	14 วัน

3.4 การทดลองเพื่อหาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลในการทดลอง

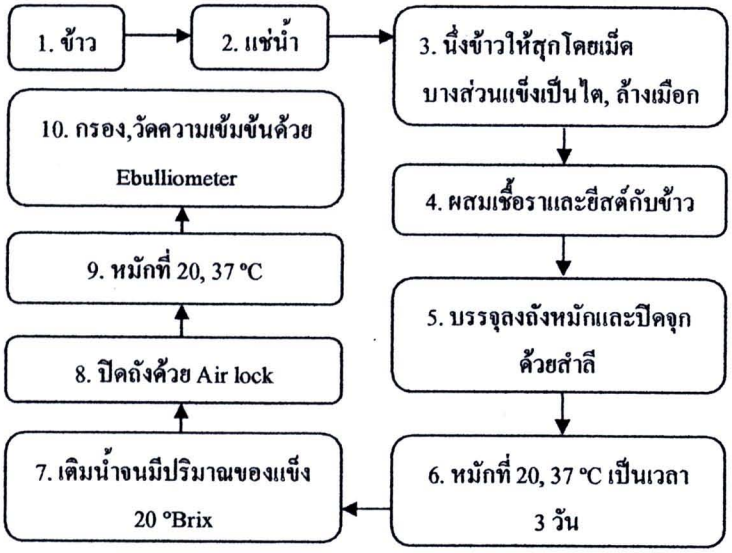
เมื่อได้รับข้อมูลจากปัจจัยนำเข้าขั้นต้นแล้ว ได้ทำการทดลองในขั้นต่อไปคือ การทดลองเพื่อหาอิทธิพลของปัจจัยจากแบบจำลอง โดยได้ดำเนินการตามลำดับขั้นตอนดังต่อไปนี้ คือ

1.) ออกแบบการทดลองโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลองแบบ 2^4 factorial design กำหนดค่าระดับปัจจัยที่กำหนด ที่ได้คือ ปัจจัยชนิดของข้าวที่นำมาใช้ในการทดลอง (Type of rice), ปัจจัยวิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Hydrolysis), ปัจจัยอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Temperature) และ ปัจจัยเวลาที่ใช้ในการหมัก (Fermentation Time) ทั้งในระดับสูงและต่ำ

2.) ดำเนินการทดลองหมักเอทานอลจากข้าว

<u>วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*</u>

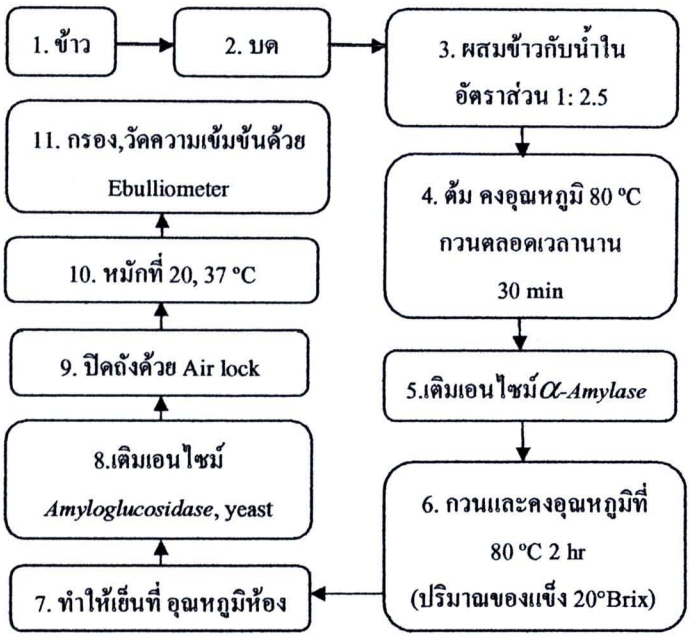
1. นำข้าวเหนียวสันป่าตองและข้าวเหนียวดำมาอย่างละ 3 กิโลกรัมต่อ 1 ตัวอย่าง
2. แช่น้ำ 12 ชั่วโมง
3. นึ่งข้าวให้สุกโดยที่เม็ดบางส่วนยังแข็งเป็นไต จากนั้นล้างเมือกให้หมด
4. นำเชื้อราและยีสต์ (1% ของน้ำหนักข้าว) ที่บดละเอียดผสมให้เข้ากันกับข้าวที่เตรียมไว้
5. บรรจุลงถังหมักโดยทำให้ตรงกลางเป็นรู (เพื่อให้ข้าวสัมผัสกับอากาศมากที่สุด) จากนั้นปิดถังหมักด้วยจุกสำลี
6. หมักที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน
7. เติมน้ำลงไปจนวัดปริมาณของแข็งที่ละลายอยู่ในช่วง 20 °Brix
8. ปิดถังด้วย Air lock
9. หมักต่อจนครบตามเวลาที่กำหนด ที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส
10. เมื่อครบเวลาที่กำหนด กรองแยกกากออกและวัดความเข้มข้นของเอทานอลด้วยเครื่อง Ebulliometer บันทึกผล



รูป 3.14 วิธีหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*

<u>วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลเอนไซม์ *α-Amylase* และ *Amyloglucosidase*</u>

1. นำข้าวเหนียวสันป่าตองและข้าวเหนียวดำมาอย่างละ 3 กิโลกรัมต่อ 1 ตัวอย่าง
2. บดด้วย blender ให้มีขนาดเล็ก
3. ผสมข้าวกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 2.5
4. นำไปต้มโดยคงอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กวนตลอดเวลาประมาณ 30 นาที
5. เติมเอนไซม์ *α-Amylase* 0.15% ของน้ำหนักข้าว
6. กวนตลอดเวลาโดยรักษาอุณหภูมิคงที่ที่ 80 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง (วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 20 °Brix)
7. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
8. เติม เอนไซม์ *Amyloglucosidase* 0.3% ของนนข้าว และ เติม yeast 0.2 % ลงในถังหมัก
9. ปิดถังด้วย Air lock
10. หมักต่อ 7-14 วัน ที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส
11. เมื่อครบเวลาที่กำหนด กรองแยกกากออกวัดความเข้มข้นของเอทานอลด้วยเครื่อง Ebulliometer บันทึกผล



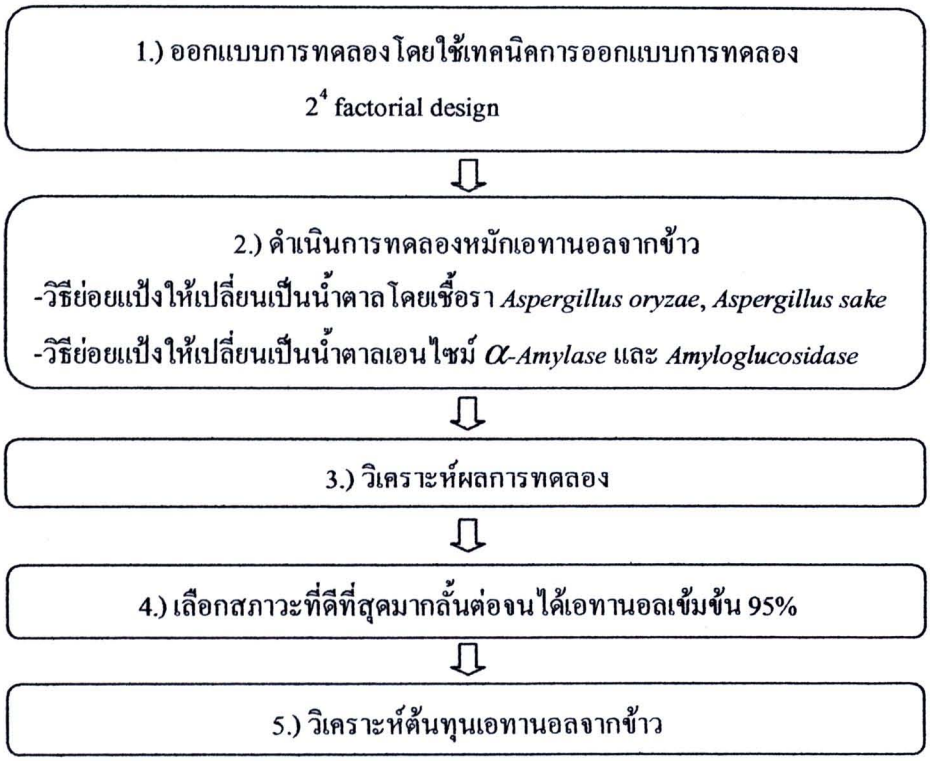
รูป 3.15 วิธีหมักเอทานอลโดยใช้เอนไซม์ *α-Amylase* และ *Amyloglucosidase*

3.) วิเคราะห์ผลการทดลอง

นำค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ในแต่ละระดับปัจจัยจากการทดลองหรือผลตอบจากการทดลองไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยป้อนข้อมูลเข้าในโปรแกรมเพื่อหาค่าต่างๆที่ต้องการ

4.) เลือกตัวอย่างที่มีสภาวะความเข้มข้นของเอทานอลมากที่สุด มากลั่นจนได้เอทานอลที่มีความเข้มข้น 95%

5) วิเคราะห์ต้นทุนของเอทานอลจากข้าว



รูป 3.16 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาอิทธิพลของปัจจัยที่มีผลในการทดลอง

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อได้รับข้อมูลจากการทดลองแล้ว ขั้นตอนต่อไป คือ การนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ โดยก่อนที่จะนำผลตอบที่ได้จากการทดลองไปกำหนดค่าอื่นใด ต้องมีการวิเคราะห์ผลจากการทดลองตามลำดับขั้นตอนคือ

3.5.1 <u>การตรวจสอบข้อมูลความถูกต้องของแบบจำลอง</u> (Model Adequacy Checking) เมื่อได้ข้อมูลที่ผ่านการวิเคราะห์แล้วนำข้อมูลที่ได้มาตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองโดยที่ในการออกแบบการทดลองส่วนใหญ่มักจะตั้งสมมติฐานในการวิเคราะห์จากการที่ y (ตัวแปร) มีการกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal Distribution) ดังนั้น ค่าตัวแปร y จะมีการกระจายแบบนี้ได้ต้องให้ความคลาดเคลื่อน(ε)มีการกระจายแบบปกติด้วยและเป็นการกระจายที่เป็นอิสระ $\varepsilon_{ij} \sim NID(0, \sigma^2)$

จากสมการ

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (3.1)$$

โดยที่ μ คือ ค่าเฉลี่ย

τ คือ อิทธิพลที่เกิดจากปัจจัย

ε คือ ความคลาดเคลื่อน

การตรวจสอบ ε_{ij} มี 3 ขั้นตอน คือ

1.) การตรวจสอบการกระจายเป็นแบบแจกแจงปกติ (Normal Distribution)

2.) การตรวจสอบความเป็นอิสระ (Independent) โดยใช้แผนภูมิการกระจาย (Scatter Plot) แล้วดูลักษณะการกระจายของจุด ที่แทนข้อมูลบนแผนภูมิ ว่ารูปเป็นอิสระหรือไม่

3.) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน (Varience Stability) โดยใช้แผนภูมิการกระจาย (Scatter Plot) ซึ่งเป็นแผนภูมิการกระจายความคลาดเคลื่อน (Residual) ในแต่ละระดับของปัจจัยถ้ารูปร่างการกระจายของข้อมูลที่ออกมาไม่เป็นลักษณะของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความแปรปรวน แสดงว่าข้อมูลในชุดนั้นมีความเสถียรของความแปรปรวน (Varience Stability)

3.5.2 <u>การทดสอบสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ</u> (R-Square)

เป็นการวิเคราะห์ว่าการออกแบบที่ได้ออกแบบขึ้นมาใช้ในการทดลอง จะมีความเหมาะสมเพียงใด ซึ่งในการทดลองทุกครั้ง จะต้องมีความผันแปรที่อธิบายไม่ได้ (Unexplained Variable) หรือความคาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ การออกแบบการทดลองที่ดีจะต้องทำให้เกิดความผันแปรที่อธิบายไม่ได้น้อยที่สุด ตามสมการด้านล่าง

$$R^2 = \left(\frac{SSmodel}{SStotal}\right) x\ 100 \quad (3.2)$$

ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจจะบอกให้ทราบถึงระดับที่ได้จากการทดลองโดย วัดเป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจต่ำ สามารถแก้ไขได้โดย

1.) เพิ่มจำนวนซ้ำในการทดลอง

2.) ตรวจสอบหาปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง แล้วออกแบบการทดลองใหม่

3.) ถ้าทำการเพิ่มปัจจัยอื่นแล้ว ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจยังต่ำอยู่แสดงว่าผลจากปัจจัยรบกวน (Noise Factor) มีมากต้องทำการบล็อก (Blocking) เพื่อลดปัจจัยรบกวน

3.5.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Varience)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้ทางสถิติจะใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ช่วยในการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลซึ่งตามปกติ ในการออกแบบการทดลองชนิด Factorial Design จะต้องมีการทำซ้ำการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำเพื่อที่จะหา Sum of squares เนื่องจากค่าผิดพลาด (Error) ถ้าอันตรกิริยาทั้งหมดรวมอยู่ในแบบจำลอง ถ้าปัจจัยทั้งหมด เป็นแบบค่าแน่นอน อาจจะคำนวนและทดสอบเกี่ยวกับผลหลัก และอันตรกิริยาได้ง่าย พิจารณาแบบจำลองของการวิเคราะห์ ANOVA กรณี 3 ปัจจัย คือ

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \qquad (3.3)$$

โปรแกรมจะคำนวณค่า P-Value มาให้ สำหรับเปรียบเทียบค่า α ที่กำหนด ดังนั้นเราจึงสามารถที่จะอ่านค่า P-Value ได้โดยตรง โดยที่ไม่จำเป็นต้องคำนวนค่า F ซึ่งในการทดลองนี้ ผู้วิจัยกำหนดค่า $\alpha = 0.05$ หมายความว่า

- ค่า P-value มีค่ามากกว่าค่า α สรุปว่า ความแตกต่างของความแปรปรวนไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
- ค่า P-Value มีค่าน้อยกว่าค่า α สรุปว่า ความแตกต่างของความแปรปรวนมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.5.4 การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการทดลอง

การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลในการทดลอง โดยดูจากการพล็อตความน่าจะเป็นแบบปกติของปัจจัยต่างๆพบว่าปัจจัยที่อยู่บนเส้นตรงจะถือว่าตัดทิ้งได้เนื่องจากมีอิทธิพลน้อยมากหรือไม่มีอิทธิพลเลย ในขณะที่ปัจจัยที่มีผลมากๆจะอยู่ห่างจากเส้นตรงนี้

ในโปรแกรม Minitab 15 มีฟังก์ชั่น Response Optimizer เพื่อใช้สำหรับหาจุดที่เหมาะสมของปัจจัยที่เป็นจุดที่ดีที่สุดของชุดการทดลองที่ศึกษานี้ โดยผู้ทดลองได้เลือกฟังก์ชั่นความพึงพอใจโดยรวม (Desirability Function) เพื่อหาค่าที่เหมาะสมของปัจจัย โดยกำหนดพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

Response Optimization

Parameter	Goal	Lower	Target	Weight	Import
Response	Maximum	5	14	0.1	1

การหาค่าที่เหมาะสม ตามปกติจะหาหลังจากได้ผ่านการทดลองตามปัจจัยที่กำหนดมาแล้ว วัตถุประสงค์เพื่อหาผลตอบที่ดีที่สุดจากกลุ่มเซ็ทของปัจจัยที่เรียกว่า Operating Condition หรือ ระดับของปัจจัย $x_1, x_2, \ldots, x_k$ ต่อผลตอบ $y_1, y_2, \ldots, y_k$

ขั้นตอนการหาความพึงพอใจรวมมีดังนี้

1) ทำการออกแบบ การทดลอง และฟิตแบบจำลองผลตอบสำหรับทุกคำตอบ

2) กำหนด Individual Desirability Function ของแต่ละผลตอบ

3) หาค่าสูงสุดของ Overall Desirability (D) ตามปัจจัยที่สามารถควบคุมได้

การคำนวณค่าที่เหมาะสมของ Overall Desirability (D) และเขียนเป็นกราฟ ซึ่งในกราฟที่ได้นั้นสามารถที่จะเลื่อนดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของปัจจัยนำเข้า (Input Variable) โดยก่อนที่จะใช้ฟังก์ชันนี้ต้องผ่านการวิเคราะห์ใน Factorial Design และได้ตาราง ANOVA มาก่อน การตั้งค่าหลังจากเข้าไปในฟังก์ชั่น Optimizer เลือก Maximize เพราะในงานวิจัยนี้ต้องการผลตอบสูงสุด คือ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมัก โดยเป้าหมายสูงสุดที่ต้องการคือ 14 ใน 1 หน่วยทดลอง จึงป้อนค่า 14 ลงในช่อง Target ส่วน Lower ป้อนค่า 5

หลักการ Optimization ของโปรแกรม Minitab คือ

1) หาค่า Individual Desirability ของแต่ละผลตอบ

2) รวม Individual Desirability เพื่อทำให้ได้ค่า Composite Desirability (D)

3) ได้ค่าสูงสุดของ D และประมวลผลตัวแปรนำเข้า หรือเซ็ทของปัจจัยที่ต้องการ โดยที่ค่าผลตอบมีค่าเดียวค่าของ D จะเท่ากับค่าของ d การกำหนด Weight ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.1-10 มีหลักการเลือกดังนี้

- ถ้าค่าน้อยกว่า 1 (ต่ำสุดคือ 0.1) หมายถึงเน้นเป้าหมายน้อย
- ถ้าเท่ากับ 1 หมายถึง ให้ความสำคัญกับเป้าหมายและขอบเขตเท่ากัน
- ถ้ามากกว่า 1 (มากสุดคือ 10) หมายถึงเน้นเป้าหมายมาก

ในงานวิจัยนี้เลือกค่า Weight = 0.1 เพราะเหตุว่าการหมักเอทานอลเป็นเพียงการทดลองขั้นต้นเท่านั้น ซึ่งในการปฏิบัติงานยังจำเป็นต้องมีการปรับปรุง อีกทั้งในการทดลองการหมักเอทานอลจากข้าวยังมีความแปรปรวนขององค์ประกอบอื่น เช่น สภาพบรรยากาศในการทดลอง เครื่องมือที่ใช้และอื่นๆอีกหลายประการ และค่าสุดท้าย คือค่า Importance ซึ่งในการทดลองครั้งนี้มีผลตอบเพียงค่าเดียว จึงกำหนดค่านี้เท่ากับ 1

3.5.5 สร้างสมการทำนาย

หลังจากตรวจสอบความพอเพียงของแบบจำลองแล้วนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์ไปเขียนสมการสำหรับทำนาย ตามสมการ 3.4

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i^{\,2} + \sum_{i<j} \sum \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \qquad (3.4)$$

3.6 การวิเคราะห์หาเวลาที่ใช้ในการหมักเมื่อกำหนดชนิดของข้าว, วิธีการย่อยแป้ง, อุณหภูมิในการหมักคงที่

จากผลการทดลองที่ผ่านมาสามารถเลือกปัจจัยที่ดีที่สุดมากำหนดการทดลองต่อไปเพื่อที่จะหาเวลาที่เหมาะสมของการหมักเอทานอล โดยปัจจัยที่เลือกมีดังนี้

1) ชนิดของข้าว คือ ข้าวเหนียวดำหรือดอย
2) วิธีย่อยแป้งให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล คือ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*
3) อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก 37 องศาเซลเซียส

ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นวิเคราะห์ปัจจัยเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักเอทานอลเพื่อให้ได้ความความเข้มข้นของเอทานอลมากที่สุด (จนความเข้มข้นของเอทานอลคงที่)

3.7 การวิเคราะห์ต้นทุน

การคำนวณต้นทุนรวมของการผลิตเอทานอลจากข้าว สามารถคำนวนได้ดังนี้

$$\mathbf{TC = TVC + TFC}$$

ต้นทุนรวม (Total Costs, TC) คือ ต้นทุนที่ประกอบด้วยต้นทุนคงที่รวม (Total Fixed Cost: TFC) และต้นทุนแปรผันรวม (Total Variable Cost: TVC)

ต้นทุนผันแปรรวม (Total Variable Costs, TVC)

ได้แก่ - ต้นทุนของข้าวที่ใช้ในการหมักเอทานอล
- ต้นทุนของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*
- ต้นทุนของเอนไซม์ *α-Amylase*
- ต้นทุนของเอนไซม์ *Amyloglucosidase*
- ต้นทุนของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ต้นทุนคงที่รวม (Total Fixed Costs, TFC)

ได้แก่ - ค่าจ้างผลิตตลอดกระบวนการ

3.7.1 คิดต้นทุนของข้าวที่ใช้ในการหมักเอทานอล

โดยคิดเทียบจากปริมาณเอทานอลเข้มข้น 95% จำนวน 10 ลิตร (ราคา ณ วันที่ 1 มีนาคม พ.ศ. 2554)

1.) ข้าวเหนียวสันป่าตอง ราคา 1300 บาทต่อ 45 กิโลกรัม

2.) ข้าวเหนียวดำ/ดอย ราคา 1500 บาทต่อ 45 กิโลกรัม

3.7.2 คิดต้นทุนของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake*

โดยคิดเทียบจากปริมาณเอทานอลเข้มข้น 95% จำนวน 10 ลิตร

- เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake* ราคา 5 บาทต่อ 10 กรัม
- เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sake* ใช้ปริมาณ 10 กรัม ต่อ ข้าว 1 กิโลกรัม

3.7.3 คิดต้นทุนของเอนไซม์ *α-Amylase*

โดยคิดเทียบจากปริมาณเอทานอลเข้มข้น 95% จำนวน 10 ลิตร

- เอนไซม์ *α-Amylase* (BAN 240L Novo Nordisk Made in Denmark) ราคา 12,000 บาท ต่อ 20 ลิตร
- เอนไซม์ *α-Amylase* ใช้ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร ต่อข้าว 1 กิโลกรัม

3.7.4 คิดต้นทุนของเอนไซม์ *Amyloglucosidase*

โดยคิดเทียบจากปริมาณเอทานอลเข้มข้น 95% จำนวน 10 ลิตร

- เอนไซม์ *Amyloglucosidase* (AMG 300L Novo Nordisk Made in Denmark) 16,000 บาท ต่อ 20 ลิตร
- เอนไซม์ *Amyloglucosidase* ใช้ปริมาณ 3 มิลลิลิตร ต่อข้าว 1 กิโลกรัม

3.7.5 คิดต้นทุนของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

โดยคิดเทียบจากปริมาณเอทานอลเข้มข้น 95% จำนวน 10 ลิตร

- ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ราคา 3500 บาท ต่อ 500 กรัม
- ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ใช้ปริมาณ 0.1 กรัม ต่อข้าว 1 กิโลกรัม

3.7.6 ค่าจ้างผลิตตลอดกระบวนการ

ค่าจ้างผลิตตลอดกระบวนการ คิดราคาตัวอย่างละ 150 บาท

ประมาณจาก ค่าไฟฟ้า, ค่าน้ำ, ค่าแก๊สหุงต้ม, ค่าเสื่อมราคาของอุปกรณ์ (หม้อนึ่ง, หม้อสแตนเลส, เครื่องบด blender, เครื่อง Ebulliometer, Brix Refractometer, ห้องควบคุมอุณหภูมิ, เครื่องกลั่น), ค่าแรงงานผลิต