



รายงานการวิจัย

คุณสมบัติทางเคมีและกระบวนการหมักเอทานอล
จากมันพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp.

Chemical Properties and Ethanol Fermentation
from *Dioscorea* sp.

ศศิกันต์ ปานปรางณีเจริญ และคณะ
สาขาวิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

คุณสมบัติทางเคมีและกระบวนการหมักเอทานอล
จากมันพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp.

Chemical Properties and Ethanol Fermentation
from *Dioscorea* sp.

ศศิกันต์ ปานปรางณีเจริญ

นุชจรี ทัดเศษ

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

ทุนอุดหนุนโดย มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน
ที่พิจารณาจากโดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2560

ชื่องานวิจัย คุณสมบัติทางเคมีและกระบวนการหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุล
Dioscorea sp.
 Chemical Properties and Ethanol Fermentation from *Dioscorea* sp.

ผู้วิจัย ดร. ศศิกานต์ ปานปราณีเจริญ

ผู้ร่วมวิจัย ดร. นุชจรี ทัดเศษ

สาขาวิชา เคมี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จวิจัย 2561

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) จากการทดลองพบว่า คุณสมบัติทางเคมีของมันจาวพร้าวมีปริมาณไขมันสูงสุด มันมือเสือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและพลังงานสูงสุด ในขณะที่กลอยมีปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้นสูงสุด สำหรับการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) พบว่า กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกันแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) แบบไม่เติมอากาศ ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ของพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp. ทั้ง 3 ชนิด ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลส (α - amylase) ที่ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus oryzae* ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) สูงสุดเท่ากับ 65.95 ± 12.44 64.17 ± 14.64 และ 59.19 ± 16.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ผ่านกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 พบว่า สารละลายส่วนใสที่แยกได้จากกระบวนการหมักเอทานอลของมันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : มันพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp. กระบวนการหมักเอทานอล กากมัน

Research Title Chemical Properties and Ethanol Fermentation from *Dioscorea* sp.
 Researcher Dr. Sasikarn Panpraneecharoen
 Co-researcher Dr. Nootjaree Tudsas
 Department Chemistry
 Phetchabun Rajabhat University Year 2018

Abstract

This research aimed to study the chemical properties and production of ethanol from 3 species of *Dioscorea* sp. compose of *D. alata* L., *D. esculenta* L., and *D. hispida*. The results shown that *D. alata* L. gave the highest fat content, *D. esculenta* L. gave the highest carbohydrate and energy. While, *D. hispida* gave the highest of ash, protein content, and moisture content. The production of ethanol from Yam (*Dioscorea* sp.) that digestion process into sugar and fermented with a SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) and anaerobic condition was tested. Phase 1: To study digestion of starch into reducing sugar of *Dioscorea* sp. with 0.1 percent by weight of α -amylase produced from *Aspergillus oryzae*. Reducing sugar of *D. alata* L., *D. esculenta* L. and *D. hispida* was 64.17 ± 14.64 and 12.44 ± 59.19 65.95 ± 16.49 mg/mL, respectively. Phase 2: To study the production of ethanol from *Dioscorea* sp. with the SSF in laboratory using *S. cerevisiae* strains TISTR 5339 was found pH, Total Soluble Solid (TSS), glucose and ethanol that the difference was statistically significant ($p < 0.05$).

Keywords: *Dioscorea* sp., Ethanol fermentation, Yam pulp

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี งบประมาณ 2560 ประเภทสร้าง สะสมองค์ความรู้ที่มีศักยภาพ (PCRU_2560_N001) ที่ได้ให้โอกาสในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณคำแนะนำต่างๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านเป็นอย่างสูง ที่ให้ความกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำให้แก่ผู้วิจัย คุณค่าทั้งหลายที่ได้รับจากรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์นี้ ผู้วิจัยขอขอบเป็น กตัญญูทุกทีแต่บิดา มารดา และบูรพาจารย์ที่เคยอบรมสั่งสอน ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจต่อไป

ศศิกันต์ ปานปราณีเจริญ และคณะ

มีนาคม 2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 มันทึ้นเมืองสกุลแย้ม (<i>Dioscorea</i> sp.).....	5
2.2 เอทานอล.....	10
2.3 กระบวนการผลิตเอทานอล.....	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	22
3.1 วัสดุ อุปกรณ์.....	22
3.2 วิธีการทดลอง.....	23
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	25
3.4 สถานที่ดำเนินงาน.....	26
3.5 ระยะเวลาดำเนินงาน.....	26
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	27
4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันทึ้นเมืองสกุล แย้ม.....	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมัน พื้นเมืองสกุลแย้ม (<i>Dioscorea</i> sp.).....	28
4.3 การทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแย้มด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ <i>S. cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5339.....	29
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	31
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	31
5.2 อภิปรายผล.....	31
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	33
บรรณานุกรม.....	34
ภาคผนวก.....	37
ภาคผนวก ก.....	38
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	41

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 องค์ประกอบทางเคมีมันพื้นเมืองสกุลแย้ม.....	27
4.2 ผลของบัพเฟอ์ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ (Reducing Sugar) ของมัน พื้นเมืองสกุล แย้ม (<i>Dioscorea</i> sp.).....	28
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแย้มที่ผ่านการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ.....	30

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะ (ก) กลอย (ข) มันจาวพร้าว และ (ค) มันมือเสือ.....	9
2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง.....	19
3.1 สารละลายเชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5339.....	25
4.1 กระบวนการหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับ ห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ <i>S. cerevisiae</i> สายพันธุ์ TISTR 5339.....	30
ภาคผนวก ก1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิธี DNS.....	39

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การวิจัยด้านการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนภายในประเทศไทยเกิดขึ้นเนื่องจากวิกฤตการณ์ขาดแคลนน้ำมัน จึงส่งผลให้ประเทศต้องนำเข้าน้ำมันปิโตรเลียมจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก รวมถึงราคาผลผลิตทางการเกษตรตกต่ำ ดังนั้นการหาแหล่งพลังงานมาหมุนเวียน (renewable energy) ทดแทนการนำเข้าน้ำมันจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย ปัจจุบันจึงได้มีความสนใจนำวัตถุดิบและผลผลิตทางการเกษตรมาสกัดเป็นแป้งเพื่อใช้ในการอุตสาหกรรมและใช้สำหรับการผลิตเอทานอล เช่น มันสำปะหลัง แขนงตะวัน มันฝรั่ง มันเทศ ข้าวฟ่างหวาน ข้าว และข้าวโพด โดยผ่านกระบวนการ 2 กระบวนการ คือ กระบวนการที่ 1 การย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโดยใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (alpha-amylase) และกลุ่มกลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการหมัก โดยการนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเชื้อยีส ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้ว น้ำสาที่ได้จะมีเอทานอลประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก เมื่อนำน้ำสาที่ได้ผ่านเข้าสู่กระบวนการกลั่นและแยกน้ำ เพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์สูงและสามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซิน เพื่อผลิตเป็นแก๊สโซฮอล์ต่อไป ต่อมาได้มีการประยุกต์เทคโนโลยีที่เรียกว่า Simultaneous saccharification and Fermentation (SSF) มาใช้กับมันเส้น ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาและประหยัดพลังงานของกระบวนการผลิตได้ สำหรับพืชชนิดอื่นๆ ในประเทศไทยที่สามารถนำมาสกัดเป็นแป้งและสามารถผลิตเอทานอลได้ คือ มันแกว (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 คุณสมบัติทางเคมีของมันแกว ประกอบด้วย น้ำ 90.07 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.09 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 0.72 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 4.9 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 8.82 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล 1.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามันแกวสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอลได้ (Soontornchaiboon et al., 2012) เช่นเดียวกับการทดลองของ Osuji et al. (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันสกุลแยม (*Dioscorea rotundata*) และเผือก (cocoyam) โดยวิธี enzymatic hydrolysis (bacterial alpha amylase, dextrinase, fungal alpha amylase) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 องศาเซลเซียส (pH 6.3) จากผลการทดลองพบว่า แป้งที่สกัดได้จากเผือกมีศักยภาพในการผลิตเอทานอลได้มากกว่ามันสกุลแยม ในขณะที่งานวิจัยของ Akponah and

Akpomie (2011) ได้ศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการย่อยสลายโมเลกุลแป้งของมันสกุลง่ายมันฝรั่ง และมันสำปะหลัง 2 วิธี คือ enzymatic hydrolysis (alpha amylase) และ acid hydrolysis (0.6 M H₂SO₄) และการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* จากผลการทดลองพบว่า การย่อยแป้งด้วยกระบวนการ acid hydrolysis (0.6 M H₂SO₄) มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ดีกว่ากระบวนการย่อยแป้งด้วยวิธี enzymatic hydrolysis แต่ต้นทุนกระบวนการย่อยแป้งด้วยวิธี acid hydrolysis นั้นมีค่าใช้จ่ายที่สูง

พืชจำพวกหัวใต้ดิน ได้แก่ มันสำปะหลัง มันเทศ มันฝรั่งและเผือก ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งทางตรงและทางอ้อม คือ ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ สัตว์และใช้ในทางอุตสาหกรรม ซึ่งพืชที่กล่าวมาข้างต้นจัดเป็นพืชเศรษฐกิจได้ จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมากในปัจจุบัน สำหรับมันสกุลง่าย (*Dioscorea* sp.) จัดอยู่ในวงศ์ Dioscoraceae พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วโลกในแถบทวีปแอฟริกา ตอนกลางและตอนใต้ของทวีปอเมริกาและทวีปเอเชียประมาณ 600 ชนิด สำหรับประเทศไทยพบเพียงประมาณ 62 ชนิด แต่กลับพบว่าการใช้ประโยชน์ยังคงอยู่ในด้านใช้เป็นอาหารและใช้ในทางการแพทย์บางชนิดเท่านั้น จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีในแป้งกลอย (*D. hispida* Dennst.) และแป้งมันมือเสือ (*D. esculenta* (Lour.) Burkill) พบว่าแป้งกลอยมีโปรตีน ไขมัน และเถ้า 2.39% 0.11% และ 0.18% ตามลำดับ ส่วนมันมือเสือมีโปรตีน ไขมัน และเถ้า 0.14% 0.03% และ 0.16% ตามลำดับ (สันตติย์และคณะ, 2557) เมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของแป้งในมันสกุลง่ายสายพันธุ์ *D. alata* อื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ได้แก่ *D. alata* มีโปรตีน 0.16% ไขมัน 0.5% เถ้า 0.13% (Karam et al, 2006) *D. cayensis-rotundutu* มีโปรตีน 0.22% ไขมัน 0.11% เถ้า 0.24% (Wickramasinghe et al., 2009) *D. alata* มีโปรตีน 0.01-0.03% ไขมัน 0.1-0.03% และเถ้า 0.17-0.32% ซึ่งปริมาณโปรตีนที่พบมีผลต่อสมบัติด้านความหนืดของเจลแป้ง เป็นต้น

จากการนำมันสกุลง่ายไปใช้ในอุตสาหกรรมบางประเภทอาจมีข้อจำกัดทางคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพดังนั้นจึงมีการค้นหาแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากพืชเพื่อให้ได้แหล่งที่มีคุณสมบัติแตกต่างออกไปให้ตรงกับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมแต่ละประเภทต่างๆ และในปัจจุบันจึงมีความสนใจนำแป้งที่สกัดได้จากมันสกุลง่ายมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมเอทานอล (Wagner, 2005; Jeon et al, 2006; Osuji, 2010; Akponah and Akpomie, 2011; Soontornchaiboon et al, 2012; Thatoi et al, 2014) และมีรายงานว่าแป้งมันสกุลง่ายสามารถนำไปใช้ในทางการแพทย์ (Undie et al, 1986; Riley et al., 2006) และเป็นสาร

ความหนืดและสารทำให้เกิดเจล (Brunnschweiler et al., 2005) รวมถึงใช้ผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ (Mali et al., 2002) เป็นต้น

สำหรับจังหวัดเพชรบูรณ์เป็นจังหวัดที่มีความอุดมสมบูรณ์ด้านทรัพยากรธรรมชาติจึงได้มีการสำรวจชนิดของมันสกุลแยมสกุลพบว่ามี 6 ชนิด เช่น มันจาวพั่วว กลอย มันมือเสือ มันนก มันเห็บ มันข้าวกร่ำ เป็นต้น ซึ่งเรียกชื่อแตกต่างกันตามท้องถิ่นแม้ว่าที่ผ่านมามีรายงานเกี่ยวกับแป้งแยม (Farhat et al., 1999; Amani et al., 2004; Brunnschweiler et al., 2005; Jayakody et al., 2007) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยซึ่งมีการศึกษาทางด้านนี้น้อยมาก เนื่องจากไม่ใช้พืชเศรษฐกิจ ดังนั้นเพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากมันสกุลแยมในท้องถิ่นเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม ซึ่งงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ในแง่วิชาการช่วยให้มีความรู้ในความเข้าใจในคุณสมบัติของแป้งจากพืชสกุลแยมมากขึ้นและทำให้สามารถประเมินศักยภาพของมันพื้นเมืองสกุลแยมเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม ได้แก่ มันจาวพั่วว มันมือเสือ และกลอย

1.2.2 การผลิตเอทานอลด้วยเทคนิค SSF

1.2.3 เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษามันพื้นเมืองต่อไป

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม ได้แก่ มันจาวพั่วว มันมือเสือ และกลอย และศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเทคนิค SSF

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

กลอย ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dioscorea hispida* L. มันที่ปลูกตามบ้านหรือขึ้นเองในป่า

มันจาวพั่วว ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dioscorea alata* L. เป็นมันพื้นบ้านในวงศ์ Dioscoreaceae มันพื้นบ้านหรือมันป่าของไทย

มันมือเสือ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dioscorea esculenta* L. เป็นมันพื้นบ้านหรือมันป่าของไทย

คุณสมบัติทางเคมี หมายถึง เป็นสมบัติของสารที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบภายในของสาร

กระบวนการหมัก หมายถึง กระบวนการแปลงสภาพทางชีวเคมี เพื่อให้วัตถุดิบเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์

เอทานอล หมายถึง เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มันทึบเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกลอย

ชื่อวิทยาศาสตร์: *D. hispida*

ชื่อสามัญ: intoxicating yam

ชื่อท้องถิ่น: กลอย

ชื่ออื่นๆ: มันทึบกลอย กลอยข้าวเหนียว กลอยหัวเหนียว (นครราชสีมา) กลอยนก (เหนือ) และกลอยไข่ (ตะวันออกเฉียงเหนือ)

ชื่อวงศ์: Dioscoreaceae

กลอยเป็นไม้เถาเลื้อย ไม่มีมือเกาะ มีหัวใต้ดิน ลึกประมาณ 10-15 เซนติเมตร ลำต้นกลมมีหนามเล็กๆ กระจายทั่วไป และมีขนนุ่มๆ สีขาวปกคลุม มีรากเจริญเป็นหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน หัวใต้ดินส่วนมากกลมรี บางที่เป็นพู มีรากเล็กๆ กระจายทั่วทั้งหัว มี 3-5 หัวต่อดัน เปลือกหัวบางสีน้ำตาลออกเหลือง เนื้อในหัวมี 2 ชนิดคือ สีขาว (กลอยหัวเหนียว) และสีครีม (กลอยไข่หรือ กลอยเหลือง) ใบประกอบ เรียงตัวแบบเกลียว ผิวใบสากมือ มีขนปกคลุม มีใบย่อย 3 ใบ ใบกลางแผ่นใบรูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 6-15 เซนติเมตร ยาว 8-25 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนแหลม ขอบใบเรียบ เส้นใบขนาน มีใบย่อย 2 ใบ แผ่นใบรูปไข่ รูปไข่กลับ ขนาดสั้นกว่าใบกลาง แต่กว้างกว่า ปลายแหลม โคนกลม เส้นใบออกจากจุดเดียวกัน ก้านใบยาว 10-15 เซนติเมตร ดอกช่อแบบแยกแขนง แยกเพศอยู่คนละต้น ดอกย่อยมีขนาดเล็ก จำนวน 30-50 ดอกสีเขียวย ออกตามซอกใบ ห้อยลง ดอกเพศผู้ออกเป็นช่อแยกแขนง 2-3 ชั้น ดอกตั้งขึ้น ยาวได้ถึง 40 เซนติเมตร เกสรเพศผู้จำนวน 6 อัน ดอกเพศเมียออกเป็นช่อชั้นเดียว ดอกชี้ลงดิน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกอย่างละ 6 กลีบ เรียงเป็น 2 วง ผลแก่แตกได้ มีสีน้ำตาล มีครีบ 3 ครีบ กว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ยาว 5.5 เซนติเมตร แต่ละครีบบมี 1 เมล็ด ผิวเกลี้ยง เมล็ดกลมแบน มีปีกบางใสรอบเมล็ด (รูปที่ 2.1ก) พบตามที่ลุ่มต่ำ ที่รกร้างทั่วไป ป่าเต็งรัง ป่าผสม และป่าดงดิบ การออกดอกจะอยู่ในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน (รูปที่ 2.1) หัวกลอยให้แป้งมากแต่มีสารไดออกสคอร์อิน (dioscorine) ซึ่งมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางซึ่งอาจทำให้ถึงตายได้ ทำให้เมา คั่นคอ อาเจียน เหงื่อออก ตาพร่า ใจสั่น วิงเวียน ต้องนำมาทำให้หมดพิษ โดยปอกเปลือกทิ้ง แล้วหั่นเป็นแผ่นบางๆ ใส่ชะลอมหรือ

ตะกร้าแล้วนำไปแช่ทิ้งไว้ให้น้ำไหลผ่าน เช่น น้ำทะเล น้ำตก น้ำห้วย สัก 2-3 วัน ล้างให้สะอาด จึงจะรับประทานได้ (ฐานข้อมูลสมุนไพร, 2553)

ประโยชน์จากกลอย

กลอยบางชนิดมีแคลเซียมออกซาเลต ทำให้ระคายเคือง บางชนิดมีซาโปนิน มีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือด มีสารไดออกสโครีน (Dioscorine) ทำลายระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เป็นอัมพาต ละลายน้ำได้ดี รสเปรี้ยว จึงต้องล้างสารนี้ออกจากกลอยก่อนนำไปบริโภค นิยมนำไปแช่ไว้ในถารน้ำไหลเป็นเวลา 1 คืน หรือนานกว่านี้

ชาวซาไกใช้น้ำแช่หัวกลอยผสมกับยางของยางนองใช้เป็นยาทาถูกรู ในอินเดียใช้หัวกลอยเป็นยาฆ่าเหา และเปื้อปลา ใช้น้ำแช่หัวกลอยมาฉีดฆ่าแมลงจำพวกหนอน กลอยดิบตำให้ป่นใช้พอกแผลวัวควายเพื่อฆ่าหนอนในแผล หัวกลอยที่ล้างพิษหมดแล้ว ปรงเป็นยาแก้เถาตานในท้อง นำหัวกลอยมาปรงเป็นน้ำมันใส่แผลฝีหนอง สารสกัดจากกลอยที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* ซึ่งพบตามผิวหนังซึ่งเป็นผลต่อการเกิดสิว (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2557)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันจาวพร้าว

ชื่อวิทยาศาสตร์: *D. alata* L.

ชื่อสามัญ: Winged Yam , Water Yam

ชื่อท้องถิ่น: มันจาวพร้าว

ชื่ออื่นๆ: ไคว้ของ (ลัวะ), หน้วยมี (กะเหรี่ยงเชียงใหม่), กวาย/มันป่า (ขมุ), เบล่หม่าตัง (ปะหล่อง) – มันงู มันจาวมะพร้าว มันมือหมี มันเลือดไก่ (กลาง) มันเขาวัว มันแข้งช้าง มันตีนช้าง และมันเลี่ยม (เหนือ)

ชื่อวงศ์: Dioscoreaceae

มันจาวพร้าวเป็นไม้เถา มีหัวใต้ดิน หัวมีรูปร่างต่างๆกัน เช่น รูปทรงกระบอก กลม รูปชมพู เป็นพูหรือแฉก รูปนิ้วมือ เป็นต้น ผิวสีน้ำตาลหรือดำ ขาว สีงาหรือม่วง ไม่มีพิษ มีขน ลักษณะลำต้นสีเขียว ไม่มีหนาม ตามเหลี่ยมเป็นครีบริบบริเวณครีบลักษณะเป็นคลื่น มีหัวเกิดตามง่ามใบ (รูปที่ 2.1ข)

ใบ เป็นใบเดี่ยว ใบที่อยู่โคนต้นเรียงสลับกัน ใบที่อยู่เหนือขึ้นไปเรียงเป็นคู่ตรงข้ามกับรูปไข่แกมสามเหลี่ยมหรือแกมหัวใจ รูปขอบขนานแกมสามเหลี่ยม หรือขอบขนานแกมรูปไข่ โคนใบเว้าเป็นรูปหัวใจ เป็นติ่งหูหรือโคนตัด ขอบใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม มีเส้นใบ 5 เส้น ฐานเห็นชัดทั้งด้านบนและด้านล่าง แผ่นใบและก้านใบสีเขียวอ่อน ก้านใบยาวใกล้เคียงกับแผ่นใบ มีครีบริบ ปิด โคนก้านใหญ่

ดอก ออกตามง่ามใบ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่ต่างต้นกัน ดอกเพศผู้ ออกเป็นช่อ ก้านช่อสีเขียวไม่มีขน มีครีบ กลีบดอกมี 6 กลีบ เรียงเป็น 2 ชั้น เกสรผู้ 6 อัน ดอกเพศเมีย ออกเป็นช่อ ดอกไม่มีก้าน แต่ละช่อมี 8 – 14 ดอก กลีบดอกมีลักษณะเหมือนดอกเพศผู้ รังไข่มี 3 ช่อง ปลายท่อรังไข่มี 3 แฉก ผล มีปีกโค้งเป็นรูปครึ่งวงกลม 3 ปีก ปลายผลเว้าเล็กน้อย โคน กลมเป็นติ่งแหลม สั้นๆ เมล็ดมีปีก

ประโยชน์ของมันจาวพร้าว

1. หัวใต้ดิน หั่นเป็นชิ้นๆ แล้วนำไปนึ่งรวมกับข้าวเหนียว สามารถนำมารับประทาน (กะเหรี่ยงเชียงใหม่)
2. ผล นำมาทานรักษาไข้ (ปะหล่อง)
3. หัวใต้ดินมีเนื้อในสีม่วงเป็นสารแอนโทไซยานิน นิยมใช้แต่งสีขนมหวาน เช่น เผือก กวน แต่งสีไอศกรีม เป็นต้น
4. หัวใต้ดิน เมื่อทำให้สุกกินได้ และใช้ทำแยมได้ดีเพราะเหนียวมาก มีสรรพคุณเป็น ยาขับพยาธิ แก้โรคเรื้อน และริดสีดวงทวาร ใช้กินหลังจากพื้นไข้ด้วยอาการไอเป็นเลือด และโรค ไต หรือม้ามอักเสบ

2.1.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันมือเสือ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *D. esculenta* (L.)

ชื่อสามัญ : Lesser Yam

วงศ์ : DIOSCOREACEAE

ชื่อท้องถิ่น : มันมือเสือ มันมือหมี

มันมือเสือสายพันธุ์ป่าตามปกติมีใบที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีขนาดใหญ่กว่าใบใน พันธุ์ปลูก ใหลใต้ดินยาวกว่า หัวมีเส้นใยมากและรากมีหนามมากกว่าในพันธุ์ปลูก มีการจำแนก เป็น 2 สายพันธุ์ ลักษณะทั่วไปเป็นพืชล้มลุก มีลักษณะเป็นไม้เลื้อย ไม่มีเนื้อไม้ มีขนและหนาม ปกคลุม ระบบรากฝอย รากในสายพันธุ์ป่ามีลักษณะแข็ง เป็นหนาม ในพันธุ์ปลูกมักจะไม่มีความ หัว 4-20 หัวต่อต้น พุ่งตรงลงด้านล่างจากส่วนลำต้นใต้ดินที่มีลักษณะเป็นหัว (corm) หรือบนไหล ยาว 5-50 เซนติเมตร หัวแกมีลักษณะรูปทรงกระบอกสั้นบางครั้งมีลักษณะเป็นพู ขนาด 8-20 เซนติเมตร x 2.5 เซนติเมตร เปลือกหัวสีน้ำตาลหรือน้ำตาลแกมเทา เปลือกบาง มักจะมีลักษณะ หยาบ และมีส่วนโคนของรากติดอยู่โดยรอบ เนื้อหัวสี ขาว ลำต้นตัดขวางมีลักษณะกลม เลื้อยพัน ไปทางซ้าย มีหนามมากในส่วนโคนต้น และลดลง ด้านบนไม่มีหัวย่อยตามซอกใบ ใบเดี่ยว เรียง สลับ รูปหัวใจ ขนาด 10-15 เซนติเมตร x 10-17 เซนติเมตร ปลายใบแหลม มีเส้นใบหลัก 9-13 เส้น เส้นใบรองมีลักษณะเหมือนกันทั้งสองด้าน มีลักษณะเป็นชั้นบันไดไม่ชัดเจน ก้านใบยาว 1 -

1.5 เท่าของใบ มักจะมีหนามแหลม 1 คู่ ตรงโคนก้าน ดอกแยกเพศ ดอกเพศผู้เป็นช่อเดี่ยวออกตามซอกใบ (รูปที่ 2.1ค)

การเจริญเติบโตและการพัฒนาการ

หัวมีการพักตัวในช่วงสั้นและพร้อมที่จะงอกหลังปลูก มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของราก หลังจากนั้นมีการเจริญเติบโตของเถาอย่างรวดเร็ว หลังปลูก 2-4 เดือน มีการพัฒนาของไหลใต้ดิน ส่วนปลายของไหลพัฒนาเป็นหัวในระยะต่อมา เชื้อราไมคอร์ไรซาในดินมีส่วนช่วยในการดึงดูดธาตุอาหารในดินมาใช้ประโยชน์ ออกดอกน้อยมากแต่ในป่าบริเวณนี้ตามปกติมีดอกตัวผู้ส่วนลำต้นเหนือดินเหี่ยวและแห้งตายหลังปลูก 6-10 เดือน (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2554)

การขยายพันธุ์และการปลูก

ใช้หัวขนาดเล็กเป็นวัสดุปลูก หัวมีการพักตัวในช่วงสั้นๆ ปลูกบนเนินดินเล็กๆ บนสันร่องหรือบน พื้นราบ มีการปลูกร่วมกับพืชอาหารชนิดอื่นๆ โดยใช้ระยะปลูกมันมือเสือต่างๆ กัน การปลูกเป็นพืชเดี่ยวใช้ ระยะปลูก 100 เซนติเมตร x 50 เซนติเมตร (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2554)

ประโยชน์ของมันมือเสือ

มันมือเสือนำมาต้มหรือเผารับประทาน หัวมีรสหวานอร่อย สามารถบดละเอียดเป็นแป้งหรือสกัดแป้งจากหัว เม็ดแป้งมีขนาดเล็ก ย่อยง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับมันชนิดอื่นๆ เหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารสำหรับผู้มีปัญหาเกี่ยวกับอาหาร สรรพคุณทางยา หัวสดเป็นฝอยละเอียดใช้พอกรักษาอาการบวมโดยเฉพาะบริเวณลำคอ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)

การบำรุงดูแลรักษา

มีการทำค้างหลังงอก ในบางครั้งควรทำการกำจัดวัชพืชโดยใช้แรงงานคน 2-3 ครั้งในช่วงปลูก ในบางพื้นที่ทำการกำจัดวัชพืชโดยใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชทราซีนและพาราควอท การใส่ปุ๋ยรองก้นหลุมด้วยปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 ร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือน (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)

โรคและแมลงศัตรูพืช

เชื้อรา *Cercospora* spp. และ *Glomerella* spp. ทำให้เกิดโรคใบจุดและใบแห้งตายทำความเสียหายกับส่วนหัว ควบคุมโดยใช้สารกำจัดแมลงที่มีลักษณะเป็นฝุ่นหรือปลูกล่าและพลีแ่่ง ทำความเสียหายกับส่วนหัวโดยเฉพาะในช่วงการเก็บรักษาได้เดือนฝอยโดยเฉพาะได้เดือนฝอยรากปม และได้เดือนฝอยเข้าทำลายในระยะเจริญเติบโต ทำให้หัวมีลักษณะเป็นปุ่มปม

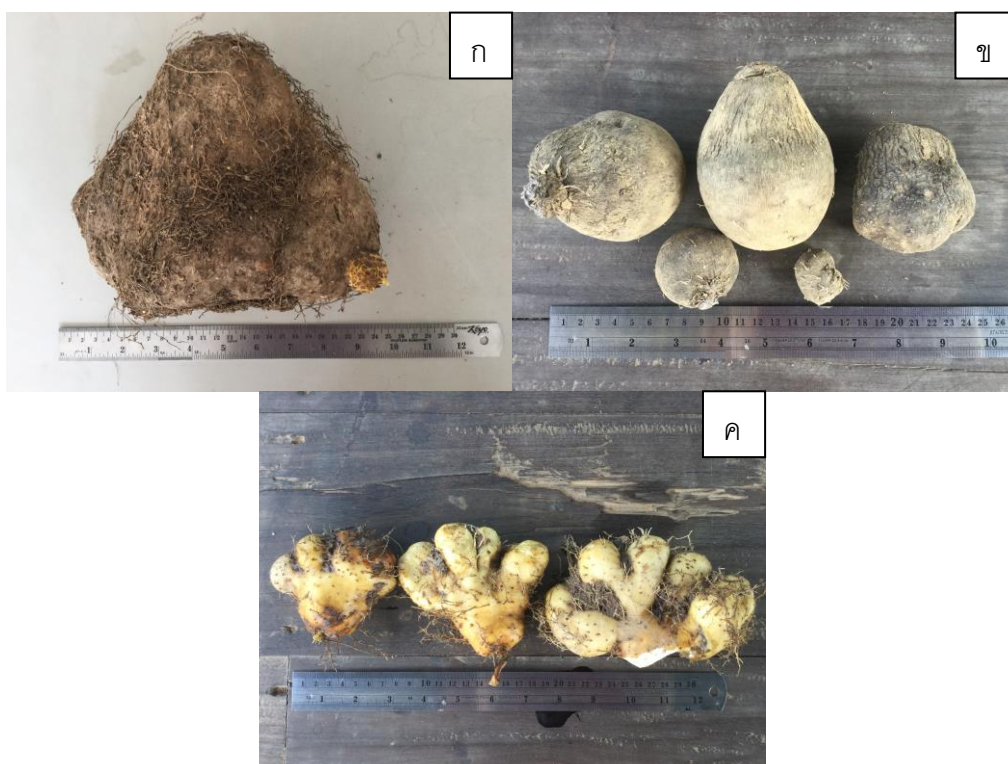
ผิดปกติ ในบางพื้นที่มีปัญหาศัตรูป่าจำพวกหนูป่าและสัตว์ฟันแทะทำความเสียหายกับแปลงปลูก (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)

การเก็บเกี่ยว

หัวแก่พร้อมเก็บเกี่ยว 6-10 เดือนหลังปลูก โดยสังเกตจากการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองของต้น เริ่มแห้งตาย ไม่ควรปล่อยให้ทิ้งไว้ในดินเพราะหัวมีการพักตัวในช่วงสั้นและเริ่มงอกในระยะต่อมา หัวมันมือเสืออยู่ในระดับต้นๆ จึงสะดวกในการขุดโดยใช้แรงงานและเครื่องมือที่มีใช้อยู่ทั่วไป (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)

การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

ในการปลูกเป็นการค้า ทำการคัดเกรดในแปลงปลูกก่อนที่จะส่งไปจำหน่ายโดยบรรจุในลังที่มีการถ่ายเทอากาศได้ดี ไม่นิยมบรรจุในกระสอบเพราะหัวถลอกและเน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากหัวมันมือเสือมีเปลือกบาง เสียหายได้ง่ายทำให้ยากในการเก็บรักษา (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2544)



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะ (ก) กลอย (ข) มันจาวพร้าว และ (ค) มันมือเสือ

2.2 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือเรียกว่า เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ สูตรทางเคมี $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ เกิดจากการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วย hydroxyl group (OH) เนื่องจากเอทานอลมีออกซิเจนประกอบอยู่ในโมเลกุล ออกซิเจนจะจับตัวอยู่ในรูปของอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl, $-\text{OH}$) ทำให้โมเลกุลของเอทานอลมีคุณสมบัติเป็นขั้ว (Polar) เอทานอลมีน้ำหนักโมเลกุล 46.07 กรัมต่อโมล เป็นของเหลวใส ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงิน และไม่มีควัน สามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี และกระบวนการหมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง และน้ำตาลด้วยจุลินทรีย์ นิยมนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตสารเคมีอื่นๆ หรือนำมาใช้ประโยชน์โดยตรง เช่น ใช้เป็นตัวทำละลาย เครื่องดื่ม และเชื้อเพลิง เป็นต้น

เอทานอลเป็นพลังงานหมุนเวียน (Renewable Energy) ผลิตได้จากวัตถุดิบทางการเกษตรซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท

1. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย น้ำตาลจากบีท และกากน้ำตาลซึ่งยีสต์สามารถย่อยสลายวัตถุดิบประเภทนี้ได้เลยทันทีโดยไม่ต้องผ่านการย่อยเพื่อเป็นน้ำตาล (Pretreatment)
2. วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ มันสำปะหลัง ธัญพืชและมันฝรั่งในการผลิตจะต้องย่อยแป้งในวัตถุดิบให้เป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเสียก่อนยีสต์จึงจะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้
3. วัตถุดิบประเภทที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร เช่น กากอ้อย ฟางข้าว ชังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรม เยื่อกระดาษ ฯลฯ

ปัจจุบันสถานะเศรษฐกิจและวิกฤตการณ์ทางด้านพลังงานมีความลดลงอย่างต่อเนื่องของแหล่งพลังงานโลกและการใช้พลังงานเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ราคาน้ำมันสูงขึ้น และมีแนวโน้มว่าปริมาณน้ำมันดิบจะหมดลงในอนาคต การแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นเหล่านี้ขึ้นอยู่กับการพัฒนาเทคโนโลยีและการผลิตพลังงานทดแทนจากแหล่งพลังงานทางเลือก ซึ่งหนึ่งในทางเลือกสำหรับการแก้ไขปัญหาการขาดแคลน คือ การใช้ประโยชน์จากพลังงานในรูปของพลังงานชีวมวล ซึ่งจัดเป็นพลังงานที่ได้จากพืช เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความจำเป็นในการพัฒนาเพื่อใช้ทดแทนการนำเข้าของน้ำมันดิบ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่าเอทานอลเป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ที่ผลิตได้จากพืช เช่น มันสำปะหลังและอ้อย เป็นพลังงานทางเลือกที่สามารถทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิงได้อย่างดี และใช้ได้อย่างยั่งยืน เพราะสามารถผลิตได้จากพืชซึ่งสามารถปลูกหมุนเวียนได้ไม่มีวันจบสิ้น และการผลิตเอทานอลนั้นได้มีผู้ให้ความสนใจเกี่ยวกับเชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือก

ใหม่ทดแทนการใช้มันสำปะหลังและอ้อยซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการผลิตแก๊สโซฮอลล์ อนาคตของอุตสาหกรรมเอทานอลจึงมีความสำคัญต่อเกษตรกร ถ้าหน่วยงานราชการ สถานศึกษาและชุมชนมีส่วนร่วมในการพัฒนาศักยภาพพืชท้องถิ่นให้มีการใช้ประโยชน์ด้านงาน อุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้นนั้น ส่งผลให้มูลค่าทางเศรษฐกิจของผลผลิตนั้นย่อมเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้น เกษตรกรต้องได้รับการส่งเสริมและพัฒนาองค์ความรู้ด้านปัจจัยการผลิต เพื่อเพิ่มผลผลิต และ เทคโนโลยีที่สามารถพัฒนาศักยภาพพืชท้องถิ่นให้มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น อาทิเช่น การใช้พันธุ์ดี การ ดูแลรักษา และการใช้ประโยชน์ ซึ่งนั่นก็หมายถึงรายได้ที่เพิ่มขึ้นและการประกอบอาชีพที่มั่นคง และยังมีความภาคภูมิใจในการสร้างความมั่นคงด้านพลังงานของประเทศต่อไป จากปัญหา สภาวะเศรษฐกิจและวิกฤตการณ์ทางด้านพลังงานมีความลดลงอย่างต่อเนื่องความพยายามใน การหาแหล่งพลังงานทดแทนจึงมีความจำเป็นเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นพลังงานหมุนเวียนที่ไม่มีวันจบ สิ้น เชื้อเพลิงชีวภาพเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ทดแทนเพื่อผลิตเอทานอลเพื่อทดแทน การนำเข้าน้ำมันดิบ

ประโยชน์ของเอทานอล

1. ใช้เป็นสารตั้งต้นหรือตัวทำละลาย เช่น การผลิตเครื่องสำอาง ยา น้ำหอม เป็นต้น
2. ใช้ผสมในเชื้อเพลิงเพื่อเพิ่มค่าออกเทน และลดปริมาณเชื้อเพลิงบางชนิด เช่น น้ำมัน แก๊สโซฮอลล์ E10 (แอลกอฮอล์ 1 ส่วน น้ำมันเบนซิน 9 ส่วน) E20 (แอลกอฮอล์ 2 ส่วน น้ำมัน เบนซิน 8 ส่วน)
3. เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่างๆ
4. ใช้สำหรับการฆ่าเชื้อหรือล้างแผล เช่น แอลกอฮอล์ 75%
5. ใช้สำหรับการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อในส่วนผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อ

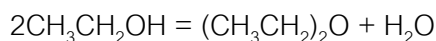
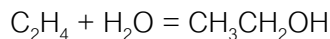
2.3 กระบวนการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งได้ 2 วิธี ดังนี้

2.3.1. กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี ได้จากกระบวนการแคตตาไลติกไฮเดรชัน (Catalytic Hydration) โดยใช้เอทิลีน (ethylene) ที่เป็นผลพลอยได้จากปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบ ได้เอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์ เอทานอลที่ได้นี้เรียกว่า เอทานอลสังเคราะห์ (synthetic ethanol) การสังเคราะห์เอทานอลสามารถสังเคราะห์ได้จากเอทิลีน (C_2H_4) ด้วย 2 วิธี คือ

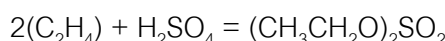
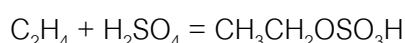
2.3.1.1 ไคโรไฮเดรชันเอทิลีน ด้วยการทำปฏิกิริยาของเอทิลีนกับไอน้ำที่ความเข้มข้นเท่ากัน ที่ความดัน 5-8 เมกกะพาสกาล อุณหภูมิ 250-300 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวเร่ง

ปฏิกิริยา คือ กรดฟอสฟอริก-ซิลิกาเจล และทังสเตนออกไซด์-ซิลิกาเจล ทำให้ได้แอลกอฮอล์เข้มข้น 10-25 เปอร์เซ็นต์ ดังสมการ

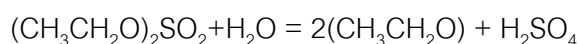
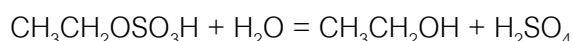


2.3.1.2 อินโดเรค ไฮโดรชันเอธิลีน

ขั้นแรก ใช้เอทิลีนความบริสุทธิ์ 35-95 เปอร์เซ็นต์ ทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถันเพื่อให้ได้เอทานอลความเข้มข้นไม่เกิน 35 เปอร์เซ็นต์ ดังสมการ



ขั้นที่ 2 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเอทิลซัลเฟตใน 2 แบบ จนได้เอทานอล



การสังเคราะห์วิธีนี้สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้ 50-60 เปอร์เซ็นต์ ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ทั้งนี้ วิธีการผลิตเอทานอลด้วยการสังเคราะห์นี้ปัจจุบันไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีต้นทุนสูง และไม่คุ้มค่ากับการลงทุน

2.3.2 กระบวนการทางชีวเคมี

การผลิตเอทานอลประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมและการปรับสภาพวัตถุดิบ การย่อย และการหมัก โดยมีรายละเอียดแต่ละขั้นตอนดังนี้

2.3.2.1 การเตรียมและการปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

การเตรียมวัตถุดิบก่อนหมักเป็นขั้นตอนแรกในการผลิตเอทานอล มีอยู่หลายรูปแบบขึ้นกับชนิดวัตถุดิบที่นำมาใช้ ได้แก่

(1) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล วัตถุดิบประเภทกากน้ำตาล เพียงเจือจางด้วยน้ำเพื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสม สามารถนำไปหมักได้เลย

(2) วัตถุดิบประเภทแป้ง เช่น หัวมันสำปะหลัง จะมีวิธีการจัดเตรียมค่อนข้างซับซ้อน จะต้องผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ เพื่อให้ทำให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมก่อนจะทำการหมักต่อไป

(3) วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตรเนื่องจากกระบวนการหมักใช้เฉพาะเซลลูโลส จึงต้องแยกลิกนิน (lignin) และเฮมิ

เซลลูโลส (hemicellulose) ออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบก่อน เพราะองค์ประกอบทั้งสองทำให้กระบวนการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ลดลงและเป็นอุปสรรคต่อการหมักอีกด้วย นอกจากนี้การปรับสภาพยังช่วยให้เซลลูโลสมีลักษณะอ่อนนุ่ม และเป็นการปรับสภาพของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม คือ ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความเป็นรพูนของวัตถุดิบ ส่งผลให้เอนไซม์เข้าถึงและทำปฏิกิริยาได้ดี เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำตาล ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต หลีกเลี่ยงการเกิดตัวยับยั้งในขั้นตอนการไฮโดรไลซิส และการหมัก

2.3.2.2 กระบวนการย่อยวัตถุดิบประเภทแป้ง

วัตถุดิบประเภทแป้ง การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนด้วยวิธีการทางเคมี ฟิสิกส์ หรือวิธีทางชีวภาพ เพื่อเปลี่ยนแป้งให้มีโครงสร้างโมเลกุลอยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลกลูโคส) กระบวนการที่นิยมใช้มี 2 วิธี

1.1) การใช้กรด (Acid hydrolysis) การใช้กรดย่อยแป้งให้กลายเป็นกลูโคส นิยมใช้กรดเกลือ (HCl) กรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) กรดไนตริก (HNO_3) กรดกำมะถัน (H_2SO_4) และกรดไนตริก ปัจจุบันการใช้กรดในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากการย่อยแป้งด้วยกรดต้องทำปฏิกิริยาร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรด ชนิดของกรด เวลาและอุณหภูมิ อีกทั้งยังก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ เช่น สารฟอร์ฟูรอล

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

เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง ประกอบด้วย 3 ชนิด ได้แก่

(1) เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase)

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถผลิตขึ้นได้เองภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลังจากนั้นขับออกนอกเซลล์ หรือเรียกอีกอย่างว่า Extracellular enzyme มักพบในสัตว์ ฟิช และจุลินทรีย์ ทำหน้าที่ย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะ α -1,4 Glycosidic linkages อย่างรวดเร็ว ทำให้แป้งมีขนาดเล็กลง ซึ่งมีขนาดแตกต่างกันตามความยาวของสายโซ่ เอนไซม์ชนิดนี้มีความสามารถในการย่อยอะไมโลส (Amylose) ได้เป็น

อย่างดี และจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลมอลโตส (Maltose) และมอลโตไตรออส (Maltotriose) ในขั้นสุดท้ายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะทำการย่อยมอลโตไตรออสเป็นมอลโตส และกลูโคสอย่างช้าๆ แต่ไม่สามารถย่อยพันธะ α -1,6 Glycosidic linkages ที่ตำแหน่งกิ่งก้านของแป้งได้

(2) เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β -Amylase)

เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β -Amylase) พบมากในข้าวสาลี มันฝรั่งหวานและถั่วเหลือง ทำหน้าที่ย่อยพันธะ α -1,4 Glycosidic ของแป้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากการย่อย คือ เบต้ามอลโตส (β -maltose)

(3) เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase)

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

การย่อยสลายแป้งโดยเอนไซม์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ Liquefaction และ Saccharification (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549)

1. Liquefaction เมื่อใส่น้ำเย็นลงไปผสมกับน้ำแป้ง เม็ดแป้งจะดูดน้ำได้ปริมาณหนึ่ง ทำให้เม็ดแป้งมีความชื้นเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่สามารถพองตัวได้ เนื่องจากแป้งประกอบด้วยพันธะ α -1,4 และ α -1,6 ที่ยึดจับกันอย่างหนาแน่น เมื่อได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 40-70 องศาเซลเซียส ทำให้การจับตัวระหว่างโมเลกุลของแป้งคลายตัวลง เกิดปฏิกิริยารับน้ำและเกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง ทำให้สารละลายแป้งมีความหนืดและใส เรียกว่า Gelatinization เมื่อให้ความร้อนต่อไปจนอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะทำการย่อยแป้งที่พันธะ α -1,4 แบบสุ่มทำให้ความหนืดลดลง ได้ผลผลิตเป็นมอลโตสเดกซ์ทรินและโอลิโกแซคคาไรด์ ขั้นตอนนี้เรียกว่า Liquefaction

2. Saccharification หลังจากทำขั้นตอน Liquefaction จนได้มอลโตสเดกซ์ทรินและโอลิโกแซคคาไรด์แล้ว เติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพื่อย่อยสลายพันธะ α -1,4 และ α -1,6 ของโมเลกุลของมอลโตสเดกซ์ทรินและโอลิโกแซคคาไรด์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนได้กลูโคสออกมาขั้นตอนนี้เรียกว่า Saccharification

ดังนั้นกระบวนการผลิตเอทานอลจากผลผลิตที่มีแป้งสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในการหมักเป็นเอทานอลโดยมีขั้นตอน ดังนี้

1. การย่อยแป้งเป็นน้ำตาล เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้ได้น้ำตาลด้วยเอนไซม์ สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในขั้นตอนการหมักต่อไป โดยทั่วไปการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์จะประกอบด้วยการย่อย 2 ครั้ง ได้แก่

การย่อยครั้งแรก หรือการทำให้เหลว ขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์ กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ที่มีกิจกรรมการย่อยแป้งที่อุณหภูมิสูงประมาณ 90 – 100 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลง

การย่อยครั้งสุดท้ายหรือการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) ย่อยเติกซ์ทรินให้ได้น้ำตาลที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งโดยทั่วไปเอนไซม์ในกลุ่มนี้จะมียุณหภูมิสูงปานกลาง คือ ประมาณ 55 – 65 องศาเซลเซียส

2.3.3 การหมัก (Fermentation) มีรากศัพท์มาจากคำกริยาภาษาละตินที่เรียกว่า ฟิเอร์ (fervere) แปลว่า การเดือด (to boiling) โดยเกิดเป็นฟองปุดขึ้นมาในน้ำสกัดผลไม้หรือเมล็ดข้าวมอลท์ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน เกิดเป็นฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ฟุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือดในทางชีวเคมี การหมักหมายถึง กระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน

2.3.3 การหมักแอลกอฮอล์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

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

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

(3) การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous Fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารเข้าไปในถังหมักและแยกเอาผลิตภัณฑ์ออกมาตลอดเวลา ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูงสุดในระยะเวลาเท่ากันเมื่อเทียบกับการหมักทั้ง 2 ชนิด

การหมักทำหลังจากเตรียมวัตถุดิบเรียบร้อยแล้ว นำมาเทลงในถังหมัก (Fermentor) หรืออาจนำมาผ่านหรือไม่ผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของการหมัก และวัตถุดิบที่ใช้ โดยทั่วไปจะใช้เวลาหมักของน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ได้ประมาณร้อยละ 14-18 สารอาหารที่ต้องเตรียมเพิ่มเติม คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ประมาณ 400-700 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจน เติมกรดซัลฟิวริกเพื่อปรับความเป็นกรดต่างให้เหมาะสมกับการเจริญของ ยีสต์ประมาณ 4.5-5.0 จากนั้นเติมยีสต์ประมาณร้อยละ 5-8 โดยมวล การหมักจะใช้เวลา ประมาณ 2-3 วัน ในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส จะได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร

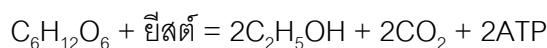
การหมักของจุลินทรีย์ เป็นวิธีการดั้งเดิม และนิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในปัจจุบัน เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ กระบวนการไม่ยุ่งยากซับซ้อน และสามารถหาวัตถุดิบในการผลิตได้ง่าย วัตถุดิบเหล่านี้ที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด และกากน้ำตาล

การหมัก ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการหมักน้ำตาลที่ได้จาก การย่อยแป้งด้วยเชื้อยีสต์ เพื่อผลิตเอทานอล ซึ่งโดยทั่วไปการหมักจะเกิดที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้ว น้ำสาที่ได้จะมีเอทานอลประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก และน้ำสาที่ได้นี้จะผ่านเข้าสู่กระบวนการกลั่นและแยกน้ำ เพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์สูงและสามารถนำไปใช้ผสมกับน้ำมันเบนซิน เพื่อผลิตแก๊สโซฮอล์ต่อไป จากประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง จึงได้มีการประยุกต์เทคโนโลยีที่เรียกว่าย่อๆ ว่า SSF หรือ Simultaneous Scarification and Fermentation มาใช้กับมันเส้น ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ผลิตเอทานอลจากข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา โดยในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นแบบ SSF นี้ จะเริ่มจากการไม่มันเส้นและผสมน้ำ แล้วทำการย่อยแป้งครั้งแรก หรือทำให้เหลว ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลส จากนั้นจะทำการย่อยครั้งสุดท้าย เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วย เอนไซม์กลูโคอะมิเลส พร้อมกับหมักด้วยเชื้อยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลา และประหยัดพลังงานของกระบวนการผลิตได้

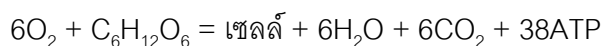
การผลิตเอทานอลจากมันเส้นแบบ SSF นี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับวัตถุดิบชนิดอื่นที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบได้ เช่น กากมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นของเหลือที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ยังมีแป้งเป็นองค์ประกอบอยู่ถึงร้อยละ 50 โดยน้ำหนักแห้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพของหัวมันและกระบวนการผลิตแป้ง)

ตามทฤษฎีการหมักเอทานอลโดยใช้น้ำตาลกลูโคส ถ้าใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นร้อยละ 100 ยีสต์ จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ร้อยละ 51.11 โดยมวลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 48.89 โดยมวล

การผลิตเอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการหมักโดยใช้ยีสต์ที่ผลิตแอลกอฮอล์หมักวัตถุดิบจำพวกแป้ง น้ำตาล และเซลลูโลส ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 10-15 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้ภาวะไร้อากาศ และผ่านกระบวนการกลั่นเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์



จากสมการจะใช้กลูโคส 1 กรัม สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 0.511 กรัม คาร์บอนไดออกไซด์ 0.489 กรัม ทั้งนี้ ในสภาวะความเป็นจริงน้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้นที่จะเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นจึงจะเกิดแอลกอฮอล์น้อยกว่า 0.511 กรัม เนื่องจากยีสต์จะนำน้ำตาลบางส่วนมาใช้ในการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นสารอื่นๆ เช่น กลีเซอรอล และซัคคิเนต เป็นต้น แต่หากมีออกซิเจน ยีสต์จะใช้น้ำตาลสำหรับการสังเคราะห์เซลล์ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ



ยีสต์สำหรับการหมัก การใช้ยีสต์สำหรับการหมักวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จะขึ้นกับชนิดของคาร์โบไฮเดรตหรือวัตถุดิบที่ใช้ สำหรับการหมักวัตถุดิบประเภทแป้ง และน้ำตาลทั่วไปจะใช้ยีสต์จำพวก *Saccharomyces* sp. มีลักษณะเป็นรูปไข่ รูปทรงกลม หรือทรงกระบอก เช่น *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. uvarum* เป็นต้น โดยทั่วไปนิยมใช้ *S. cerevisiae* เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี ทนต่อความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงได้

ลักษณะของยีสต์ที่ดี

- สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้สูง เหลือน้ำตาลน้อย
- ทนต่อฤทธิ์ของแอลกอฮอล์ได้ดี
- ทนต่อสภาวะ pH ต่ำ และเป็นกรดได้ดี

- สามารถรวมตัวกัน และตกตะกอนได้ดี
- ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย และทนต่อสภาวะต่างๆ ในการหมักได้ดี

2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของยีสต์ในระหว่างกระบวนการหมัก

เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการหมักสูงสุด และได้ปริมาณเอทานอลสูง จำเป็นต้องมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมในการหมักทุกขั้นตอน เพื่อให้เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ในกระบวนการหมักเอทานอล ดังนี้

(1) อุณหภูมิ อุณหภูมิมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์เนื่องจากในกระบวนการหมักเอทานอลจะมีความร้อนเกิดขึ้นในระบบ ซึ่งเกิดจากการทำงานของยีสต์ โดยการหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคสจะเกิดความร้อนประมาณ 140.2 แคลลอรี่ต่อกรัมกลูโคส ซึ่งการถ่ายเทความร้อนลงในน้ำหมัก ทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาพที่อาหารอุดมสมบูรณ์ ยีสต์จะทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี และจะหยุดเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 0 และเกินกว่า 40 องศาเซลเซียส โดยพบว่าเซลล์ยีสต์ในระยะการเจริญเติบโตเกิดการตายได้ ถ้านำไปไว้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 50-60 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

(2) ค่าพีเอช (pH) ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ค่า pH ในช่วงที่เป็นกรดคือในช่วง pH 3.0-6.5 แต่ pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 4.5-5.0 ซึ่งสภาพกรดอ่อนนี้สามารถช่วยควบคุมการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียได้ดี ซึ่งการหมักเอทานอลจากซูโครสมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลง pH มากกว่าการใช้กลูโคส สำหรับอาหารที่มีบัฟเฟอร์ต่ำ pH เริ่มต้นสำหรับการหมักที่เหมาะสมควรมีค่าประมาณ 5.5 แต่อาหารที่มีบัฟเฟอร์สูง pH ที่ควรใช้อยู่ในช่วง 4.5-4.7

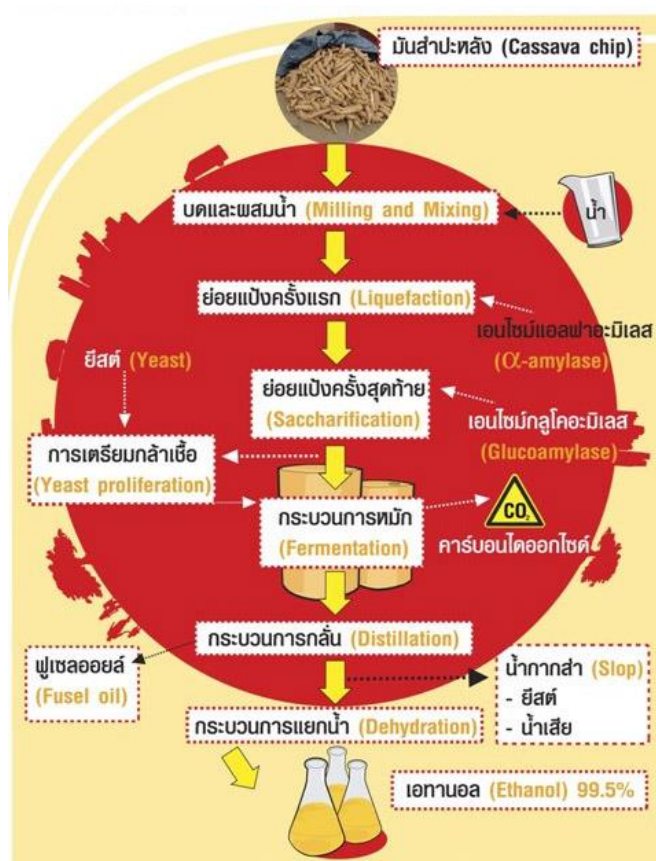
(3) ความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ คือ การที่กลูโคสหรือแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสูงทำให้ความสามารถในการหายใจเสียไปหรือที่เรียกว่า Crabtree หรือ Glucose effect ซึ่งเป็นการกดดันเมตาบอลิซึมที่เกิดขึ้นเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีคาร์โบไฮเดรตความเข้มข้นระดับหนึ่ง คือ มีกลูโคสหรือซูโครสความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 0.02-0.1โดยมวล ทำให้การหายใจถูกยับยั้งอย่างรุนแรง

(4) ความเข้มข้นของเอทานอล ในสภาพที่มีเอทานอลสูงการเจริญและการหมักเอทานอลด้วยยีสต์จะถูกยับยั้ง เพราะเอทานอลมีผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซลล์ยีสต์

เมื่อเอทานอลมีความเข้มข้นร้อยละ 4.7-7.8 โดยมวล ยีสต์จะหยุดการเจริญเติบโต การที่ยีสต์ไม่เจริญเติบโตจะส่งผลต่ออัตราการหมักลดลง

(5) ปริมาณออกซิเจน เนื่องจากยีสต์มีการเจริญเติบโตสูงในสภาวะที่มีออกซิเจนแต่จะมีผลให้การหมักลดลง ยีสต์จะใช้ออกซิเจนในการหายใจเพื่อการเจริญเติบโตและแตกหน่อ (Budding) โดยจะไม่ให้เอทานอลออกมาแต่จะมีเพียงคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดขึ้นเท่านั้น ดังนั้นการหมักอย่างต่อเนื่องควรมีอากาศบ้างในระหว่างการหมักเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ตายลงและยังพบว่าทำให้อากาศเพียงเล็กน้อย จะทำให้มีการใช้กลูโคสได้มากขึ้น และช่วยให้ยีสต์มีความทนทานต่อเอทานอลได้ดี

(6) ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ที่ความดันบรรยากาศปกติ หากมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญและการหมักอย่างรุนแรง



รูปที่ 2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้ง (สมาคมการค้าผู้ผลิตเอทานอลไทย, 2560)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สกานต์ เหลืองเกรียงไกร และคณะ (2556) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเส้นสดด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) แบบย่อยน้ำตาลก่อนหมัก (Pre- Saccharification) ด้วยเอนไซม์ GC147 และเติมอากาศระหว่างการหมักด้วยปริมาณอากาศในอัตรา 5 ลิตรต่อนาที และที่ระยะเวลาในการเติมอากาศที่แตกต่างกัน 3 แบบ ได้แก่ แบบไม่เติมอากาศ (การหมักแบบปกติ) แบบเติมอากาศตลอดการหมัก (0-72 ชั่วโมง) และ แบบเติมอากาศในช่วงแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) โดยใช้ถังหมักขนาด 60 ลิตร และความเข้มข้นของมันเส้นสด 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก พบว่าสภาวะการผลิตเอทานอลที่เหมาะสมที่สุด คือ การหมักแบบเติมอากาศในช่วงแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) เพราะสามารถลดระยะเวลาในการหมักลง 6 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับหมักแบบปกติ โดยให้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการเติมอากาศในปริมาณที่เหมาะสมและถูกเวลาจะช่วยลดระยะเวลาในการผลิตเอทานอลจากมันเส้นสดด้วยกระบวนการ SSF และให้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับการหมักแบบปกติ

สันทณีย์ ปัญจอนันท์ และคณะ (2557) ศึกษาสมบัติและโครงสร้างโมเลกุลของแป้งที่สกัดจากพืชตระกูล *Dioscorea* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ แป้งกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) และแป้งมันมือเสือ (*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill) พบว่า องค์ประกอบของแป้งกลอยและแป้งมันมือเสือ พบว่า แป้งกลอยมีโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.39 0.11 0.18 เปอร์เซ็นต์ และ 52.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนแป้งมันมือเสือมีโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.14 0.03 0.16 เปอร์เซ็นต์ และ 77.56 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยแป้งกลอยพบว่ามีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง ซึ่งปริมาณโปรตีนที่พบจะมีผลต่อสมบัติด้านความหนืดของเจลแป้ง ส่วนปริมาณไขมันและเถ้าที่พบในแป้งทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณต่ำ ส่วนปริมาณอะไมโลสของแป้งทั้ง 2 ชนิดอยู่ในช่วง 19-20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโครงสร้างโมเลกุลของแป้ง พบว่าโครงสร้างของสายโซ่อะไมโลแพคตินแป้งทั้ง 2 ชนิดมีขนาดและลักษณะของเม็ดแป้งคล้ายคลึงกัน ขนาด 1-6 ไมโครเมตร พื้นผิวเรียบ รูปร่างเหลี่ยม

กำไร เลหาพัฒนาเลิศ และคณะ (2559) ศึกษาการปรับสภาพจากกากมันสำปะหลังด้วยกรดและด่างต่อผลได้น้ำตาลรีดิวซ์และความสามารถในการลดความหนืด ด้วยกรดซัลฟูริก ไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถลดความหนืดระหว่างการปรับสภาพลงอย่างชัดเจน และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.23 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง ที่เวลา 180 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักแบบรวมการย่อยและการ

หมักในขั้นตอนเดียว ด้วยการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.01 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และเชื้อยีสต์ผงสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.5 บ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 90.9 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง ที่เวลา 180 นาที จากนั้นตรวจวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยรีแฟรกโตมิเตอร์ พบว่า ปริมาณลดลงแปรผันตรงกับเวลาที่ใช้หมักโดยค่าคงที่ที่เท่ากับ 2 °Brix และได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.35 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ที่เวลา 36 ชั่วโมงเป็นต้นไป จะเห็นได้ว่ากากมันสำปะหลังสดเป็นวัตถุดิบทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเอทานอล ซึ่งเมื่อผ่านการปรับสภาพก่อนนำไปเข้ากระบวนการหมักแบบ SSF พบว่า มีประสิทธิภาพการหมักเท่ากับ 90.62 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับทฤษฎี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

มันพื้นเมือง ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และ กลอย (*D. hispida*)

3.1.2 เอนไซม์และจุลินทรีย์

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

3.1.2.2 เอนไซม์กลูโคไซด์อะไมเลส (α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) ผลิตโดย Sigma-Aldrich

3.1.2.3 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 ผลิตโดย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.1.3 สารเคมีเพื่อการวิเคราะห์

3.1.3.1 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

3.1.3.2 Sodium hydroxide

3.1.3.3 Sodium sulfite

3.1.3.4 Sodium potassium tartrate

3.1.3.5 Phenol

3.1.3.6 Glucose

3.1.3.7 เอทานอล ความบริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1.1 เครื่องบดพืชสมุนไพร ใช้สำหรับบดตัวอย่าง ได้รับความอนุเคราะห์จาก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิต คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

3.2.1.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ใช้สำหรับการปรับสภาพตัวอย่าง

3.2.1.2 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับการชั่งตัวอย่างและสารเคมี

3.2.1.3 เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) ใช้สำหรับแยกของเหลวในตัวอย่าง

3.2.1.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)

3.2.1.5 เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ใช้สำหรับวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของ Reducing sugar และ Total sugar

3.2 วิธีการทดลอง

ในการศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแย้ม โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแต่ละสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษามี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กลอย มันจาวพร้าว และมันมือเสือ

1. เก็บตัวอย่างมันพื้นเมืองสกุลแย้ม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ในพื้นที่ป่าชุมชนตำบลบ่อไทย อำเภอหนองไผ่ และตำบลตากลอย อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ ตามลำดับ

2. นำมันพื้นเมืองสกุลแย้ม จำนวน 3 ชนิด นำไปล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วตัดเป็นแผ่นบางๆ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมันพื้นเมืองสกุลแย้มบดให้มีขนาดเล็กกลงด้วยเครื่องบดพืชสมุนไพร ได้รับความอนุเคราะห์จาก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิต คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ นำผงแป้งตัวอย่างร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 ไมโครเมตร และทำการอบแห้งตัวอย่างมันพื้นเมืองอีกครั้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เก็บรักษาไว้ในเดซิเคเตอร์ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปวิเคราะห์และทำการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแย้ม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*)

ทำการสุ่มตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแย้ม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ ปริมาณเถ้า โดยวิธี AOAC คาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Calculation ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahi Method ปริมาณไขมัน โดยวิธี Extraction วิเคราะห์พลังงาน โดยวิธี AOAC และ ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC

การทดลองที่ 2 การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแย้ม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ

(*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) โดยการเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) โดยการทำงานของเอนไซม์ ทำการเตรียมตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยซังของมันพื้นเมืองสกุลแยมแห้ง บด 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วใส่สารละลายบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน 3 สภาวะ ได้แก่ น้ำ Tris HCl และ MES buffer (pH 5.0) ให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) 3 สายพันธุ์ปรับสภาพด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งในแต่ละการทดลองจะมีขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์ดังนี้

1. เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เอนไซม์กลูโคสอะไมเลส (α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Miller et al. (1956) (ภาคผนวก ก) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

การศึกษากการหมักเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 (รูปที่ 3.1) ทำการเตรียมตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยซังน้ำหนักของมันพื้นเมืองสกุลแยมแห้งบด 60 กรัม ใส่ในขวด Duran ขนาด

2,000 มิลลิลิตร แล้วใส่น้ำให้มีปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) 3 สายพันธุ์ปรับสภาพด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้ได้น้ำตาลด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อมาทำการย่อยครั้งสุดท้ายหรือการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -Glucosidase) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำการลดอุณหภูมิลงอีกครั้งจนเหลือ 30 องศาเซลเซียส จึงเติมสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 ปริมาตร 0.1 เปอร์เซ็นต์ และบ่มที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีการกวน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่าง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) โดย Hand Refractometer ปริมาณกลูโคสโดยวิธี HPLC และปริมาณเอทานอลโดยวิธี HPLC วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.1 สารละลายเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนสถิติ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.4 สถานที่ดำเนินงาน

1. โรงเรือนพลาสติก ณ แปลงทดลองทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
2. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาคารปฏิบัติการทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

3.5 ระยะเวลาดำเนินงาน

ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 ถึง มกราคม 2561

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันพืชเมืองสกุลแยม

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันพืชเมืองสกุลแยม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำมันจาวพร้าว น้ำมันเมล็ด และกลอย พบว่า กลอยมีปริมาณกรดไขมันสูงสุด เท่ากับ 3.04 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันจาวพร้าวและน้ำมันเมล็ด มีปริมาณกรดไขมัน เท่ากับ 3.04 และ 2.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตของน้ำมันเมล็ดพบว่า มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุด เท่ากับ 83.36 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ น้ำมันจาวพร้าวและกลอย มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 77.64 และ 68.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า กลอยมีปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 12.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันจาวพร้าวและน้ำมันเมล็ด มีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 6.38 และ 4.18 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน พบว่า น้ำมันจาวพร้าวมีปริมาณไขมันสูงสุด เท่ากับ 0.34 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กลอยและน้ำมันเมล็ด พบปริมาณไขมันเท่ากับ 0.06 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การวิเคราะห์พลังงาน พบว่า น้ำมันเมล็ดมีปริมาณพลังงานสูงสุด เท่ากับ 350.52 Kcal/100g รองลงมา คือ น้ำมันจาวพร้าวและกลอยมีปริมาณพลังงานเท่ากับ 339.14 และ 324.90 Kcal/100g ในขณะที่การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น พบว่า กลอยมีปริมาณความชื้นสูงสุด เท่ากับ 15.56 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันจาวพร้าวและน้ำมันเมล็ด มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 12.60 และ 10.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีน้ำมันพืชเมืองสกุลแยม

องค์ประกอบทางเคมี	น้ำมันจาวพร้าว	น้ำมันเมล็ด	กลอย
ปริมาณกรดไขมัน โดยวิธี AOAC, %	3.04	2.05	3.29
คาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Calculation, %	77.64	83.36	68.56
ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahi Method, %	6.38	4.18	12.58
ปริมาณไขมัน โดยวิธี Extraction, %	0.34	0.04	0.06
พลังงาน โดยวิธี AOAC, (Kcal/100g)	339.14	350.52	324.90
ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC, %	12.60	10.37	15.56

การทดลองที่ 2 การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุล แยม (*Dioscorea* sp.)

จากการทดลองสารละลายบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน 3 สภาวะ ได้แก่ น้ำ Tris HCl และ MES buffer (pH 5.0) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการย่อยด้วย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ เอนไซม์กลูโคไซด์ (α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่า น้ำส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ Tris HCl และ MES buffer โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันจาวพร้าว กลอย และมันมือเสือสูงสุดเท่ากับ 65.95 ± 12.44 64.17 ± 14.64 และ 59.19 ± 16.49 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลของบัฟเฟอร์ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุล
แยม (*Dioscorea* sp.)

สายพันธุ์มันพื้นเมือง	บัฟเฟอร์	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)
มันจาวพร้าว	น้ำ	65.95 ± 12.44^a
	Tris HCl	20.23 ± 2.78^b
	MES buffer	23.22 ± 3.60^b
มันมือเสือ	น้ำ	59.19 ± 16.49^a
	Tris HCl	15.99 ± 1.60^b
	MES buffer	23.03 ± 1.94^b
กลอย	น้ำ	64.17 ± 14.64^a
	Tris HCl	15.93 ± 2.97^b
	MES buffer	17.24 ± 1.70^b
F-test		*

หมายเหตุ * = ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

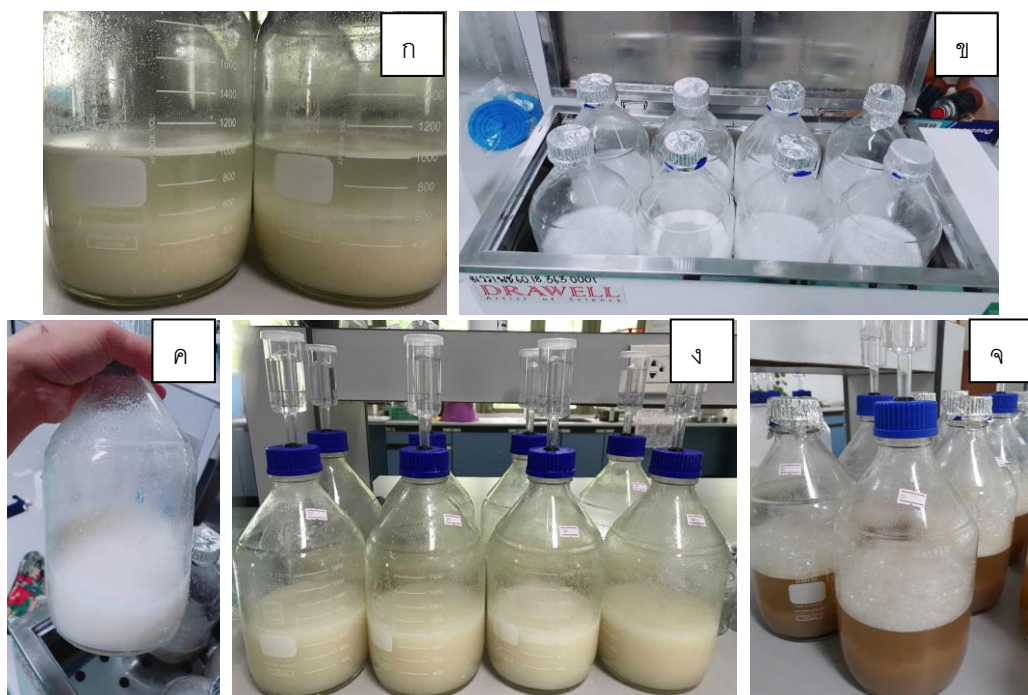
การทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

การหมักเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผ่านการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 พบว่า ภายหลังจากการนำแป้งของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใส่ในขวด Duran ขนาด 2,000 มิลลิลิตร แล้วใส่น้ำให้มีปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ทั้ง 3 สายพันธุ์ ปรับสภาพด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ส่งผลให้แป้งของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ มีลักษณะเป็นเจล (Gelatin) จากนั้นเข้าสู่กระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้น้ำตาลด้วยเอนไซม์แอลฟาอะมิเลส (α -amylase) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก (รูปที่ 4.1ก) จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (รูปที่ 4.1ข) ส่งผลให้แป้งของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ มีลักษณะเหลว ต่อมาทำการย่อยครั้งสุดท้ายหรือการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -Glucosidase) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (รูปที่ 4.1ค) ทำการลดอุณหภูมิลงอีกครั้งจนเหลือ 30 องศาเซลเซียส จึงเติมสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 ปริมาตร 0.1 เปอร์เซ็นต์ และบ่มที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีการกวน และไม่เติมอากาศ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง (รูปที่ 4.1ง) ส่งผลให้มันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ภายหลังจากกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF เกิดฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (รูปที่ 4.1จ) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เมื่อนำสารละลายส่วนใสที่แยกได้จากกระบวนการหมักเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยมส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และ ปริมาณเอทานอลของน้ำมันเมืองสกุลแยมที่ผ่านการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ

น้ำมันเมืองสกุลแยม	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	ปริมาณกลูโคส (g/100g)	ปริมาณเอทานอล (%, v/v)
มันจาวพร้าว (<i>D. alata</i> L.)	2.94±0.06 ^b	2.67±0.12 ^c	Not detected	0.98±0.01 ^c
มันมือเสือ (<i>D. esculenta</i> L.)	4.20±0.09 ^a	3.07±0.12 ^b	Not detected	1.97±0.01 ^a
กลอย (<i>D. hispida</i>)	4.13±0.04 ^a	3.53±0.31 ^a	1.30±0.01	1.54±0.00 ^b
F-test	*	*		*

หมายเหตุ * = ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4.1 กระบวนการหมักเอทานอลจากน้ำมันเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 คุณสมบัติทางเคมีของมันจาวพร้าว พบว่า ปริมาณไขมันสูงสุด มันมือเสือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและพลังงานสูงสุด ในขณะที่กลอยมีปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน

5.1.2 การผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) พบว่า การผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ผ่านกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 พบว่า สารละลายส่วนใสที่แยกได้จากกระบวนการหมักเอทานอลของมันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

5.2 อภิปรายผล

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของแป้งมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย พบว่า ปริมาณเถ้า คาร์โบไฮเดรต ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน พลังงาน และปริมาณความชื้น มีความแตกต่างกัน จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า หัวมันพื้นเมืองสกุลแยมมีแป้งในปริมาณสูงประมาณ 50-85 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีน 3-5 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 2-5 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.7 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 2-7 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณอะไมโลส 10-40 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (Riley et al., 2004; Wang et al., 2006)

จากผลของการย่อยแป้งของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida*) ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน 3 สภาวะ ได้แก่ น้ำ Tris HCl และ MES buffer (pH 5.0) ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) พบว่า น้ำส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ Tris HCl และ MES buffer โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันจาวพร้าว กลอย และมันมือเสือสูงสุด โดยปกติกระบวนการย่อยวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนด้วยวิธีการทางเคมี

ฟิสิกส์ หรือวิธีทางชีวภาพ เพื่อเปลี่ยนแปลงให้มีโครงสร้างโมเลกุลอยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลกลูโคส) ซึ่งการใช้เอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) เป็นวิธีการใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง การใช้เอนไซม์ย่อยแป้งจะเป็นที่นิยม เนื่องจากเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดต้นทุนการผลิต ให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูง การย่อยสลายแป้งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ 2 กลุ่ม คือ เอนไซม์ที่ใช้ในการตัดพันธะ α -1,4 ที่เชื่อมระหว่างกลูโคสแต่ละหน่วยและเอนไซม์ที่ตัดพันธะ α -1,6 ที่เป็นสาขาเชื่อมอะไมโลแพกติน การย่อยสลายแป้งโดยเอนไซม์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ Liquefaction และ Saccharification (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549) ดังนั้น กระบวนการผลิตเอทานอลจากผลผลิตที่มีแป้งสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในการหมัก เป็นเอทานอล จากหลักการทำงานของเอนไซม์ จำเป็นต้องอาศัยประสิทธิภาพและความเสถียรของเอนไซม์ในการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับสารละลายบัฟเฟอร์และระดับ pH ซึ่งการเปลี่ยนแปลงบัฟเฟอร์และ pH มีผลทำให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ (Fan, et al., 1987) ทั้งนี้การใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Tris HCl และ MES buffer (pH 5.0) ส่งผลให้ ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ในมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) น้อยลงอาจเนื่องมาจากสารละลายบัฟเฟอร์ทั้ง 2 ชนิด ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (α -Glucosidase) เพื่อย่อยโมเลกุลของแป้งจึงส่งผลทำให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลงได้

กัลยา อยู่นาน (2546) รายงานว่า เชื้อยีสต์ใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากกระบวนการย่อยในกระบวนการผลิตเอทานอลได้อย่างรวดเร็ว และหลังจากช่วงเวลาที่ 24 ของการหมัก ปริมาณเอทานอลค่อนข้างคงที่ ซึ่งเป็นเพราะน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปที่ยีสต์สามารถย่อยเพื่อให้อาหารในการเจริญเติบโตและใช้ในการผลิตเอทานอลได้มีปริมาณน้อยลง สารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ประกอบด้วยน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเพนโตส ซึ่งเชื้อยีสต์แต่ละชนิดจะสามารถใช้น้ำตาลแตกต่างกัน (Hernandez-Salas et al., 2009) โดยน้ำตาลที่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถใช้ได้ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส ฟรุคโตส มอลโตส (Scragg, 2009) กระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล อาจมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจากกระบวนการใช้น้ำตาลของยีสต์ ถ้าไม่มีการระบายอากาศออกจากระบบทำให้ความดันในการหมักสูงขึ้น ทำให้อัตราการหมักลดลง นอกจากนี้กระบวนการหมักเป็นกระบวนการคายความร้อน ซึ่งถ้ามากเกินไปทำให้อุณหภูมิในการหมักสูงขึ้น และทำให้การทำงานของยีสต์ในการใช้น้ำตาลลดลง ส่งผลให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลง

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นน้ำตาลของมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยเอนไซม์ เช่น ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) และเอนไซม์กลูโคไซด์ (α -Glucosidase) การศึกษาผลของ pH ที่มีผลต่อการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล การศึกษาปริมาณแป้งที่เหมาะสมต่อการย่อยแป้ง เป็นต้น

5.3.2 ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นน้ำตาลของมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยเอนไซม์จากเชื้อราที่แยกได้จากธรรมชาติ เช่น กลุ่ม *Aspergillus* sp.

5.3.3 ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยมโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 เช่น การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล การศึกษาปริมาณความเข้มข้นของยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการหมักเอทานอล และการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล เป็นต้น

บรรณานุกรม

- กัลยา อยู่นาน. (2546). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต fermentable sugar จากเปลือกและมันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพมหานคร.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์ ปฐมา จาตุกานนท์ และสิทธิโชค วัลลภาทิพย์. (2549). การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยปรับปรุงการย่อยแป้งดิบด้วยเอนไซม์. รายงานการวิจัย, สำนักคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.
- กำไร เลหาพัฒนาเลิศ กฤษติธิ แจ่มจำรูญ และลักขณา โกบปุเลา. (2559). การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยใช้กรดหรือด่างในกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการหมักร่วมกับการย่อยในขั้นตอนเดียว. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต, 29 เมษายน 2559.
- สันทนีย์ ปัญจอนนท์ วิทวัส จิรนนทกุล และดุษฎี อุตภาพ. (2557). สมบัติทางเคมีและโครงสร้างโมเลกุลของแป้งกลอย (*Dioscorea hispida* Dennst.) และแป้งมันมือเสือ (*Dioscorea esculenta* (Lour.) Bukill). วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 37(2): 185-198.
- สกันต์ เหลืองเกรียงไกร เซาว์ อินทร์ประสิทธิ์ และพรทิพย์ ศิริสุนทรลักษณ์. (2556). การผลิตเอทานอลจากมันเส้นบดด้วยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกันแบบย่อยน้ำตาลก่อนการหมักและเติมอากาศระหว่างการหมัก. ใน การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทยระดับชาติ ครั้งที่ 14 และระดับนานาชาติ ครั้งที่ 6.
- สมาคมการค้าผู้ผลิตเอทานอลไทย. (2560). กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง <http://www.thai-ethanol.com/>, 6 เมษายน 2560.
- Akponah, E. and Akpomie, O.O. (2011). Analysis of the Suitability of Yam, Potato and Cassava Root Peels for Bioethanol Production using *Saccharomyces cerevisiae*. International Research Journal of Microbiology. 2(10): 393-398.
- Amani, N.G.G, Buléon, A. Kamenan, A. and Colonna, P. (2007). Variability in Starch Physiocochemical and Functional Properties of Yam (*Dioscorea* sp.) Cultivated in Ivory Coast. Journal of the Science of Food and Agriculture. 84(15): 2085-2096.

- Brunnschweiler, J., Luehi, D. Handschin, S., Farah, Z. Escher, F. and Conde-Petit, B. (2005). Isolation, Physicochemical Characterization and Application of Yam (*Dioscorea* spp) Starch as Thickening and Gelling Agent. *Starch*. 57(3-4) 107-117.
- Fan, L. T., Gharpuray, M. M. and Lee, Y. H. (1987). *Cellulose hydrolysis*. Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Farhat, I.A. Oguntola, T. and Neal, R.J. (1999). Characterisation of Starches from West African Yams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(15): 2105-2112.
- Hernández-Salas, J.M., Villa-Ramírez, M.S., Veloz-Rendón, J.S., Rivera-Hernández, K.N., González-César, R.A., Plascencia-Espinosa, M.A., and Trejo-Estrada, S.R. (2009). Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. *Bioresour Technol*. 100(3):1238-1245.
- Jayakody, L. Hoover, R., Liu, Q. and Donner, E. (2007). Studies on Tuber Starched. II. Molecular Structure, Composition and Physicochemical Properties of Yam (*Dioscorea* sp.) Starches Grown in Sri Lanka. *Carbohydrate Polymers*. 69(1): 148-163.
- Jeon, J.R., Lee, J.S., Lee, C.H., Kim, S.D. and Nam, D.M. (2006). Effect of Ethanol Extract of Dried Chinese Yam (*Dioscorea batatas*) flour Containing Dioscin on Gastrointestinal Function in Rat Model. *Arch Pharm Res*. 29(5): 348-353.
- Karam, L.B. Ferrero, C. Martino, M.N. Zaritzky, N.E. and Grossmann, M.V.E. (2006). Thermal Microstructural and textural Characterisation of Gelatinised Corn, Cassava and Yam Starch Blends". *International of Food Science and Technology*. 41(7): 805-812.
- Mali, S. Grossmann, M.V.E. Garcia, M.A., Martino, M.N. and Zaritzky. (2002). Microstructural Characterization of Yam Starch Films. *Carbohydrate Polymers*. 50(4): 379-386.
- Miller, C.O., Skoog, F., Okomura, F.S., von Saltza, M.H., and Strong, F.M. (1956) Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division.

- J Am Chem Soc 78: 1345–1350.
- Osuji, C.M., Nwanekezi, E.C., Amadi, E.M., and Osuji, C.A. (2010). Yield of Ethanol from Enzyme-Hydrolyzed yam (*Dioscorea rotundata*) and cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) Flours. Nigerian Food Journal. 28(2): 1-5.
- Riley, C.K. Adebayo, S.A., Wheatley, A.O. and Asemota, H.N. (2006). Fundamental and Derived Properties of Yam *Dioscorea* spp.) Starch Powders and Implications in Tablet and Capsule Formulation. Starch. 58(8) 418-424.
- Riley, C.K., Wheatley, A.O. Hassan, I., Ahmad, M.H. Morrison, E.Y.S.A. and Asemota, H.N. (2004). In vitro Digestibility of Raw Starch Extracted from Five Yam (*Dioscorea* spp.) Species Grown in Jamaica. Starch. 56(2) 69-73.
- Scragg, A.H. (2009). Biofuels: Production, Application and Development. Printed and bound in the UK by Cambridge University Press, Cambridge.
- Soontornchaiboon, W., Chunhachart, O., and Pawongrat, R. (2012). Ethanol production from yam bean using yease *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339. 1st Mae Fah Luang University International Conference.
- Thatoi, H., Dash, P.K., Mohapata, S., and Swain, M.R. (2014). Ethanol Production from Tuber Crops Using Fermentation Technology: A Review. Indian Institute of Technology Madras. 1-26.
- Wagner, W. (2005). Biodiesel and Ethanol from Soybeans and Sugar Beets. BioCycle. 46(6):10.
- Wang, W.-M., Lai, V.M.F., Chang, K.-F., Lu, S. and Ho, H.-H. (2006). Effect of Amylopectin Structure on the Gelatinization and Pasting Properties of Selected Yam (*Dioscorea* spp.). Starch. 58(11) 572-579.
- Wickramasinghe, H.A.M., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C. Yamauchi, H. and Noda, T. (2009). Comparative Analysis of Starch Properties of Different Root and Tuber Crops of Sri Lanka. Food Chemistry. 112(4):547-560.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมสารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar as glucose, DNS method) ตามวิธีของ Miller et al. (1956)

1.1 การเตรียมสารเคมี

เตรียมสารละลาย DNS โดยชั่ง 3,5-dinitrosalicylic acid จำนวน 10 กรัม ฟีนอล จำนวน 2 กรัม โซเดียมซัลเฟต 0.5 กรัม และ โปแตสเซียมคาร์บอเนต จำนวน 200 กรัม ละลายใน สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เก็บสารละลายในขวดสีชา

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 100 เท่า ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด ทดลอง เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.2.2 นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที พร้อมวางลูกแก้วปิดปากหลอด เพื่อ ป้องกันการระเหยของน้ำ แล้วหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่น้ำแข็งทันที เป็นเวลา 5 นาที

1.2.3 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความ ยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

1.2.4 เตรียม blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ดำเนินการเหมือนการทดลอง

1.2.5 นำค่า OD ที่ได้เทียบหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) กับ กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

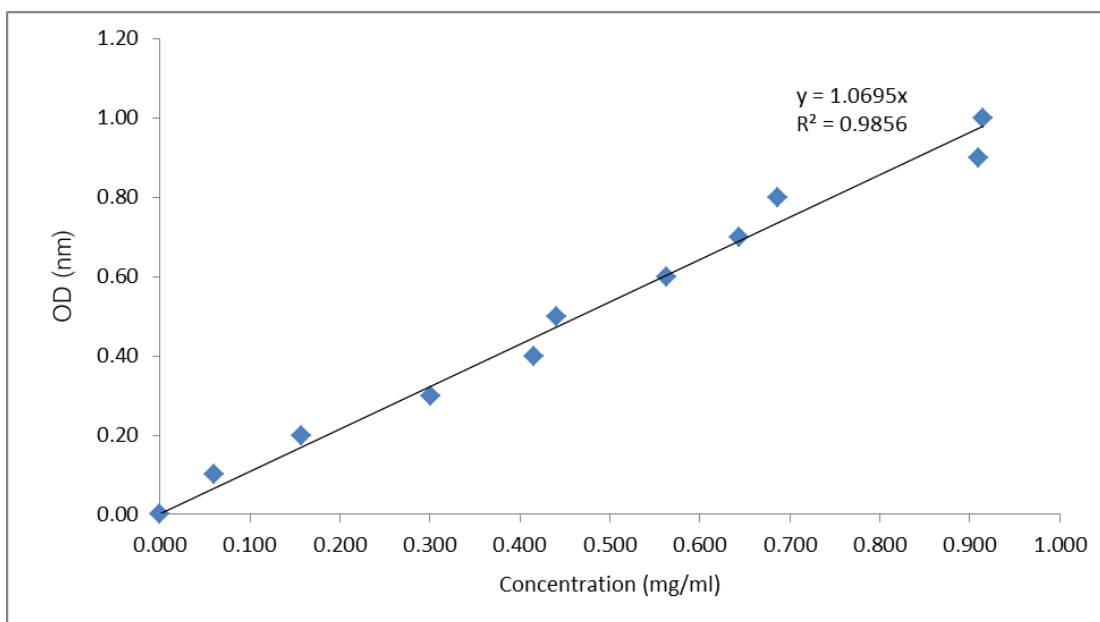
1.3 การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

1.3.1 เจือจางสารละลายกลูโคสให้มีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0 0.10 0.20 0.30 0.40 0.50 0.60 0.70 0.80 0.90 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายที่เจือ จางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้ เข้ากัน

1.3.2 นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที พร้อมวางลูกแก้วปิดปากหลอด เพื่อ ป้องกันการระเหยของน้ำ แล้วหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่น้ำแข็งทันที เป็นเวลา 5 นาที

1.3.3 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความ ยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

1.3.4 นำค่า OD ที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐาน



รูปภาคผนวก ก1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสสำหรับวิธี DNS

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Yeast Malt medium (YM)

ประกอบด้วย

Yeast extract	3	กรัม
Malt extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	10	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 5.5 แบ่งใส่ฟลาสก์ๆ ละ 100 มิลลิลิตร
 นิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
 เป็นเวลา 15 นาที กรณีอาหารแข็ง เติมน้ำ 20 กรัมต่อลิตร

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวศศิกันต์ ปานปราณีเจริญ
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sasikarn Panpraneecharoen
- เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1 6699 00003 16 3
- ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
- หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 83 หมู่ 11 ถนนสระบุรี-หล่มสัก ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 08-5877-1829

E-mail: preaw_pam@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ปี พ.ศ.	ชื่อสถานศึกษา
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เคมี)	2559	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	2552	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี)	2549	มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

เคมีอุตสาหกรรม เคมีสีและสิ่งทอ การผลิตไบโอดีเซลและการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่และแหล่งทุน

- Synthesis of p-aminobenzenesulphonic acid and cyanamide triazinyl reactive dyes and their applications on cotton
- The synthesis of a novel reactive dye and its applications on cotton

3. การพัฒนาแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนจากคอมพิวเตอร์ช่วยสอนในวิชาเคมีเบื้องต้น

การเผยแพร่ โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผู้ให้ทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

4. การศึกษาสภาวะการย่อยสลายไขมันบนด้ายฝ้าย

ปีที่ตีพิมพ์ 2555 การเผยแพร่โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผู้ให้ทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

5. ความพึงพอใจในแบบทดสอบท้ายบทเรียนวิชาเคมีสิ่งทอของนักศึกษา

การเผยแพร่ โดยสถาบันวิจัยและพัฒนา

ผู้ให้ทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

7.2 ประสพการณ์อื่น ๆ และการเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้อง

7.2.1 ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสาร

1. Panpraneecharoen S., C. Khamchum, P. Vaithanomsat, M. Thanasombat and V. Punsuvon. 2014. Variability of Oil Content, Fatty Acid Composition and Karanjin Content in *Pongamia pinnata* and Its Relationship with Biodiesel Quality. **Annual Research & Review in Biology**. 4(14): 2283-2294.
2. Panpraneecharoen S. and V. Punsuvon. 2014. Transesterification of *Pongamia pinnata* Oil into Biodiesel Using Quick Lime Based Calcium Methoxide as Catalyst. **Applied Mechanics and Materials**. 625: 324-327.
3. Panpraneecharoen S., V. Punsuvon and C. Puemchalad. 2015. Comparison of Homogeneous and Heterogeneous Catalysts in Biodiesel Production from *Pongamia pinnata* Oil. **Asian Journal of Chemistry**. 27(3): 1023-1027.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวนุชจรี ทัดเศษ
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Nootjaree Tudsas
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-4207-00010-96-4
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ e-mail

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 83 หมู่ 11 ตำบลสะเดียง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 056-717-151 ต่อ 1444 โทรสาร 056-717-151 โทรศัพท์มือถือ 081-3494274 E-mail : nootjaree_tudses@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ปี พ.ศ.	ชื่อสถานศึกษา
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การเกษตร)	2559	มหาวิทยาลัยนเรศวร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)	2552	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 1	2548	มหาวิทยาลัยนเรศวร

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เทคโนโลยีโพรโตพลาสติก การถ่ายยีน

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

Article

นุชจรี ทัดเศษ และชุตินา หงษ์ศรี. (2560). ปริมาณมูลไส้เดือนดินสายพันธุ์ แอฟริกันไนท์ คลอเลอร์ (*Eudrilus eugeniae*) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของคะน้า (*Brassica alboglabra*) ในสภาพโรงเรือน. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ “พะเยาวิจัย” ครั้งที่ 6 ระหว่างวันที่ 26-27 มกราคม 2560. 1490-1494 น.

นุชจรี ทัดเศษ และ อนุกุล คมแก้ว. 2559. ปริมาณปุ๋ยมูลไส้เดือนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของแตงกวาในสภาพโรงเรือน. ใน รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ (Proceedings) “วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 8” ในระหว่างวันที่ 30-31 พฤษภาคม 2559 ณ หอประชุมพญาจำเมือง มหาวิทยาลัยพะเยา.

นุชจรี ทัดเศษ จันทรจิรา โต๊ะขวัญแก้ว พิพัฒน์ ชนาเทพาพรและมนตรี สิงห์พันธ์. 2559.

ประสิทธิภาพปุ๋ยมูลไส้เดือนต่อการผลิตพริกจินดาในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง. ใน การประชุมสัมมนาวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัย

ลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 16 และ การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏ
เพชรบูรณ์ ครั้งที่ 3 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”. 1597-1605.

Tudses, N. 2016. Isolation and Mycelial Growth of Mushrooms on Different Yam-
based Culture Media. Journal of Applied Biology and Biotechnology. 4(5): 033-
036.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2015. Establishment of Method for Protoplast
Fusion with PEG-mediated between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis*
L. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research.
4(1): 50-56.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2014. Optimal Conditions for High-Yield Protoplast
Isolations of *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. American-Eurasian J.
Agric. & Environ. Sci. 14(3): 221-230.

Oral presentations

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2015. Establishment of Method for Protoplast
Fusion with PEG-mediated between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis*
L. International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research.
4(1): 50-56.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2013. Efficient method for protoplast isolation of
Jatropha curcas L. The 4th Regional AFOB Symposium 2013 ‘bioenergy,
biorefinery
and beyond’. Pramjet, D., Tudses, N., Pramjet, S. 2012. Isolation of protoplasts
of *Jatropha curcas* L. The International Symposium on Human Development and
Sustainable Utilization of Natural Resources in Asian Countries and The 6th
Korea-Thailand-Indonesia Joint Symposium on Biomass Utilization and
Renewable Energy.

Poster presentation

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2013. Effects of Applying Plant Growth Regulators
onto Stigma on Fruit Set and Seed Set in Intergeneric Hybrids between *Jatropha*
curcas L. and *Ricinus communis* L. The 7th Korea-Thailand-Indonesia Joint
Symposium on Biomass Utilization and Renewable Energy Integration of

Agriculture and Biotechnology'.

Tudses, N., Pramjet, D., Pramjet, S. 2014. Protoplast isolation, culture, and fusion between *Jatropha curcas* L. and *Ricinus communis* L. The 8th Korea-ASEAN Joint Symposium on Biomass Utilization and Renewable Energy Integration of Agriculture and Biotechnology'.