# บทที่ 3

# วิธีการทดลอง

## 3.1 วัตถุดิบ

กากมันสำปะหลังชนิดแห้ง จากบริษัท สำปะหลังพัฒนา จำกัด นำมาบดด้วยเครื่องโม่หิน แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 mesh

## 3.2 อุปกรณ์

เครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน (ภาคผนวก ก.) ทำจากอะคิลิก ขนาดบรรจุ 0.5 ลิตร มีใบกวน 2 ใบที่ควบคุมความเร็วรอบได้ ด้านล่างของเครื่องปฏิกรณ์สามารถบรรจุเมมเบรนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 76 มิลลิเมตร มีพื้นที่กรอง $3.85 \times 10^{-3}$ ตารางเมตร และควบคุมความดันภายในระบบให้คงที่ได้

แผ่นกรองอัลทราฟิลเทรชันขนาด molecular weight cut off 10,000 ผลิตจาก polysulfone บริษัท Sartorius ประเทศเยอรมนี

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaker water bath) รุ่น CB6D-VS-01 บริษัท DT Hetotherm ประเทศเดนมาร์ก

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น SPECTRONIC 601 บริษัท MILTON ROY ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH-meter) รุ่น CG840 บริษัท SCHOTT ประเทศเยอรมนี

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น AB204 บริษัท METTLER TOLEDO ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) รุ่น DT-1 บริษัท HETO-LAB EQUIPMENTS ประเทศเดนมาร์ก

เครื่องปั๊มอากาศ รุ่น VX 821200 AJ บริษัท CAMPBELL HAUSFELD ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น EBA12 บริษัท Hettich ZENTRIFUGEN ประเทศเยอรมนี

3.3 เอนไซม์

แอลฟาอะไมเลส (BAN 480L) บริษัท NOVO NORDISK ประเทศเดนมาร์ก ผลิตจาก *Bacillus amyloliquefaciens* (มีมวลโมเลกุล 58,000) มีแอคติวิตี 480 Kilo Novo-α-anylase Unit (KNU)[1] ต่อกรัม

กลูโคสอะไมเลส (AMG 300L) บริษัท NOVO NORDISK ประเทศเดนมาร์ก ผลิตจาก *Aspergillus niger* (มีมวลโมเลกุล 99,000) มีแอคติวิตี 300 Novo Amyloglucosidase Unit (AGU)[2] ต่อมิลลิลิตร

เซลลูเลส (Celluclast 1.5L) บริษัท NOVO NORDISK ประเทศเดนมาร์ก ผลิตจาก *Trichoderma reesei* (มีมวลโมเลกุล 20,000) มีแอคติวิตี 1,500 Novo Cellulase Unit (NCU)[3] ต่อกรัม

เพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L) บริษัท NOVO NORDISK ประเทศเดนมาร์ก ผลิตจาก *Aspergillus niger* (มีมวลโมเลกุล 35,000) มีแอคติวิตี 26,000 PG[4] ต่อมิลลิลิตร

---

1. 1 KNU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยแป้ง 5.26 g. ในเวลา 1 ชั่วโมง ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 5.6 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
2. 1 AGU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยมอลโตส 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 4.3 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
3. 1 NCU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อย carboxy Methyl Cellulose ไปเป็นรีดิวซ์คาร์โบไฮเดรท โดยวัดในรูปน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้น 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 4.8 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
4. 1 PG คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ลดความหนืดของสารละลายกรดเพคติก ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 3.5 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

3.4 สารเคมี

| | | |
|---|---|---|
| กรดกาแลกทูโรนิก | บริษัท MERCK | ประเทศเยอรมนี |
| กรดไดไนโตรซาลิไซลิก | บริษัท FLUKA | ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ |
| กรดอะซิติก | บริษัท MERCK | ประเทศเยอรมณี |
| กลูโคส | บริษัท AJAX CHEMICALS | ประเทศออสเตรเลีย |
| โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรท | บริษัท AJAX CHEMICALS | ประเทศออสเตรเลีย |
| โซเดียมอะซิเตต | บริษัท APS Finechem | ประเทศออศเตรเลีย |

3.5 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น ไฟเบอร์ เถ้า และคาร์โบไฮเดรทของกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลอง ตามวิธีของ AOAC (1995) (ภาคผนวก ข.)

3.6 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

3.6.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกลูโคอะไมเลส (AMG 300L)

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้นเท่ากับ 50 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงย่อยด้วยกลูโคสอะไมเลส 48.6 AGU (สุนีย์ โชตินีรนาท, 2539) โดยย่อยที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส เขย่า 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการต้มในน้ำเดือด 10 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็นทันที หลังจากนั้นนำตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) ตามขั้นตอน ดังภาคผนวก ข.

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ

3.6.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส (BAN 480L)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยทำการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU (สุนีย์ โชตีนีรนาท, 2539) และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร

ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ของแอลฟาอะไมเลส แปรค่าอุณหภูมิในการย่อยที่ระดับต่าง ๆ ดังนี้ 40 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.6.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส (Celluclast 1.5L)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส 300 NCU

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.6.4 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส (Pectinex Ultra SP-L)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส 1,300 PG แล้ววิเคราะห์ปริมาณหมู่รีดิวซ์ที่เกิดขึ้น โดยวิธี DNS method

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.7 <u>ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์</u>

3.7.1 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกลูโคอะไมเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในข้อ 3.6 และแปรค่าความเป็นกรดด่างในการย่อยที่ระดับต่างๆ ดังนี้ ความเป็นกรดด่าง 4 5 และ 6

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ

3.7.2 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทำการย่อยที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในข้อ 3.6 และแปรค่าความเป็นกรดด่างในการย่อยที่ระดับต่าง ๆ ดังนี้ ความเป็นกรดด่าง 4 5 6 และ 7

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.7.1

3.7.3 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส 300 NCU ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในข้อ 3.6 และแปรค่าความเป็นกรดด่างในการย่อย เช่นเดียวกับข้อ 3.7.1

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.7.1

3.7.4 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส 1,300 PG ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในข้อ 3.6 และแปรค่าความเป็นกรดด่างในการย่อย เช่นเดียวกับข้อ 3.7.1

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.7.1

3.8 <u>ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม</u>

3.8.1 ศึกษาปริมาณเซลลูเลสในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลสร่วมกับแอลฟาอะไมเลสและเซลลูเลส

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้นเท่ากับ 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาทีแล้วจึงย่อยด้วยกลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วแปรค่าปริมาณของเซลลูเลส เป็น 5 ระดับ คือ 0 37.5 75 112.5 และ 150 NCU โดยย่อยที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 3.6 และ 3.7 ตามลำดับ เขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการต้มในน้ำเดือด 10 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็นทันที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 นาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ

3.8.2 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลสร่วมกับแอลฟาอะไมเลส เซลลูเลส และเพกทิเนส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.8.1 โดยใช้ปริมาณเซลลูเลสที่เหมาะสม ในข้อ 3.8.1 และแปรค่าปริมาณของเพกทิเนสเป็น 6 ระดับ คือ 0 65 130 195 260 และ 325 PG

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.8.1

3.9 ศึกษาอัตราส่วนของเอนไซม์ผสม (กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส เซลลูเลส และเพกทิเนส) ต่อกากมันสำปะหลัง

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้นระดับต่างๆ ดังนี้ 10 30 50 80 100 และ 120 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU เซลลูเลส 75 NCU และเพกทิเนส 130 PG และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่าและเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 3 6 10 20 30 40 และ 50 นาที นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ

3.10 ศึกษาเปรียบเทียบการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้นเท่ากับ 80 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วทำการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมแบบต่าง ๆ ดังนี้

ก. กลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU และเซลลูเลส 75 NCU

ข. กลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU และเพกทิเนส 130 PG

ค. กลูโคอะไมเลส 48.6 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU เซลลูเลส 75 NCU และเพกทิเนส 130 PG

โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นโดยวิธี High-Performance Liquid Chromatograghy (HPLC) ดังภาคผนวก ข. ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.11 ศึกษาอิทธิพลของความเร็วรอบของใบกวนต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน (ภาคผนวก ก.) กวนด้วยใบกวนโดยแปรค่าความเร็วรอบของใบกวนเป็น 3 ระดับ คือ 300 450 และ 600 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS method ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.12 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ batch

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยย่อยในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน กวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 5 10 20 30 40 50 60 70 80 และ 90 นาที นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.13 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed-batch

3.13.1 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed-batch

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่าและเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 5 10 20 40 50 60 80 90 100 120 130 140 และ 150 นาที โดยในระหว่างนั้นเติมกากมันสำปะหลังนึ่ง ซึ่งนึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ 21.52 14 และ 14 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ที่เวลา 40 80 และ 120

นาที ตามลำดับ แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น โดยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.13.2 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed-batch ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 75 กรัม/ลิตร

เตรียมเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU, เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG ในสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่เตรียมในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ให้มีความเข้มข้น 75 กรัม/ลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วนำไปย่อยกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร ปริมาตร 400 มิลลิลิตร โดยกากมันสำปะหลังดังกล่าวเตรียมในสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 75 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 เขย่าและเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 5 10 45 80 86 96 140 149 160 194 และ 230 นาที โดยระหว่างนั้นเติมกากมันสำปะหลังนึ่งปริมาณ 14 กรัม (น้ำหนักแห้ง) 2 ครั้ง ที่เวลา 80 และ 140 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.13.3 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed-batch ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 170 กรัม/ลิตร

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.13.2 โดยย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 170 กรัม/ลิตร เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 5 10 40 80 90 120 140 150 170 และ 210 นาที โดยในระหว่างนั้นเติมกากมันสำปะหลังนึ่งประมาณ 16 กรัม (น้ำหนักแห้ง) 2 ครั้ง ที่เวลา 80 และ 140 นาที นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.13.4 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed-batch ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 220 กรัม/ลิตร

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.13.2 โดยย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 220 กรัม/ลิตร เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 10 60 70 100 110 120 155 165 และ 180 นาที โดยในระหว่างนั้นเติมกากมันสำปะหลังนึ่งปริมาณ 16 กรัม (น้ำหนักแห้ง)

3 ครั้ง ที่เวลา 60 110 และ 155 นาที นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.14 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Semicontinuous

3.14.1 ศึกษาอิทธิพลของการกรองต่อประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Semicontinuous

เตรียมกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคสอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG และเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยย่อยในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันกวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 5 และ 10 นาที หลังจากนั้นจึงเริ่มกรองไปพร้อมกับการกวน โดยใช้ความดันในการกรอง 200 kPa ผ่านเมมเบรนที่มีขนาด molecular weight cut off 10,000 เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้ หลังจากนั้นจึงเติมกากมันสำปะหลังนึ่งปริมาณ 21.52 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อปริมาตรรวมของส่วนที่กรองได้เท่ากับปริมาตรของบัฟเฟอร์ที่ทำให้กากมันสำปะหลังมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นหลังจากการนึ่ง พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างในถังหมักหลังจากเติมกากมันสำปะหลังนึ่ง แล้วจึงเริ่มกรองพร้อมกับการกวนอีกครั้ง เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้เมื่อปริมาตรส่วนที่กรองได้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร แล้วเติมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ลงในถังหมักปริมาตร 10 มิลลิลิตรเช่นกัน ทำการเก็บตัวอย่างตามขั้นตอนดังกล่าวต่อไป โดยใช้เวลาในการย่อยประมาณ 60 นาทีหลังจากการเติมกากมันสำปะหลังนึ่ง นำตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.14.2 ศึกษาอิทธิพลของการกรองต่อประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Semicontinuous ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 75 กรัม/ลิตร

เตรียมเอนไซม์ผสมระหว่างกลูโคอะไมเลส 194.4 AGU ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส 2.4 KNU, เซลลูเลส 300 NCU และเพกทิเนส 520 PG ในสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่เตรียมในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ให้มีความเข้มข้น 75 กรัม/ลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 50 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที แล้วนำไปย่อยกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 80 กรัม/ลิตร

ปริมาตร 400 มิลลิลิตร โดยกากมันสำปะหลังดังกล่าวเตรียมในสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 75 กรัม/ลิตร ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5 โดยทำการย่อยในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน กวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 5 และ 10 นาที หลังจากนั้นจึงเริ่มกรองไปพร้อมกับการกวน โดยใช้ความดันในการกรอง 200 kPa ผ่านเมมเบรนที่มีขนาด molecular weight cut off 10,000 เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้ หลังจากนั้นจึงเติมกากมันสำปะหลังนึ่งปริมาณ 14 กรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อปริมาตรรวมของส่วนที่กรองได้เท่ากับปริมาตรของบัฟเฟอร์ที่ทำให้กากมันสำปะหลังมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นหลังจากการนึ่ง พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างในถังหมักหลังจากเติมกากมันสำปะหลังนึ่ง แล้วจึงเริ่มกรองพร้อมกับการกวนอีกครั้ง เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้เมื่อปริมาตรส่วนที่กรองได้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร แล้วเติมอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 5 ลงในถังหมักปริมาตร 10 มิลลิลิตรเช่นกัน ทำการเก็บตัวอย่างตามขั้นตอนดังกล่าวต่อไปโดยใช้เวลาในการย่อยประมาณ 90 นาทีหลังจากการเติมกากมันสำปะหลังนึ่ง นำตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.14.3 ศึกษาอิทธิพลของการกรองต่อประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Semicontinuous ที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 170 กรัม/ลิตร

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.14.2 โดยย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 170 กรัม/ลิตร และเติมกากมันสำปะหลังนึ่งปริมาณ 16 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ