บทที่ 4

การทดลอง

4.1 เครื่องมือ

4.1.1 เครื่องตัดต้นข้าวโพด

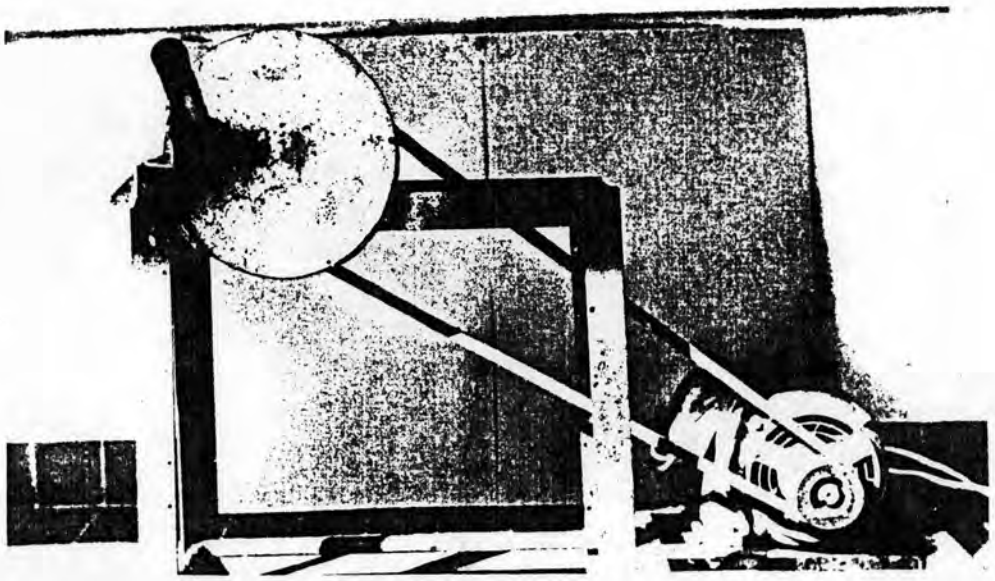
ลักษณะ เครื่องตัดต้นข้าวโพด เป็นจานกลมที่หมุนรอบแกน เหล็กอีกด้านหนึ่งของแกนใส่รอกไว้มีสายพาน เชื่อมต่อกับมอเตอร์ บนจานกลมมีใบมีดเดี่ยวติดอยู่ 3 อัน ดังนั้น เมื่อมอเตอร์หมุนจะไปขับให้จานใบมีดหมุนไปพร้อม ๆ กัน ดังแสดงในรูป 4-1-ก. และ 4-1-ข เมื่อใส่ต้นข้าวโพดตามท่อเหล็ก (ในรูป 4-1-ก.) แล้ว ปลายต้นข้าวโพดจะโผล่พ้นบริเวณท่อเหล็กเข้ามาอยู่ในช่องว่างภายในเครื่องในระยะรัศมีการหมุนของใบมีดจะไปถึง ต้นข้าวโพดจะถูกตัดออกเป็นแว่นอย่างหยาบ ๆ โดยใบมีดที่กำลังหมุนต้นข้าวโพดที่ถูกตัดแล้วจะหล่นมาทางด้านล่างของเครื่อง

4.1.2 เครื่องบด (Grinder)

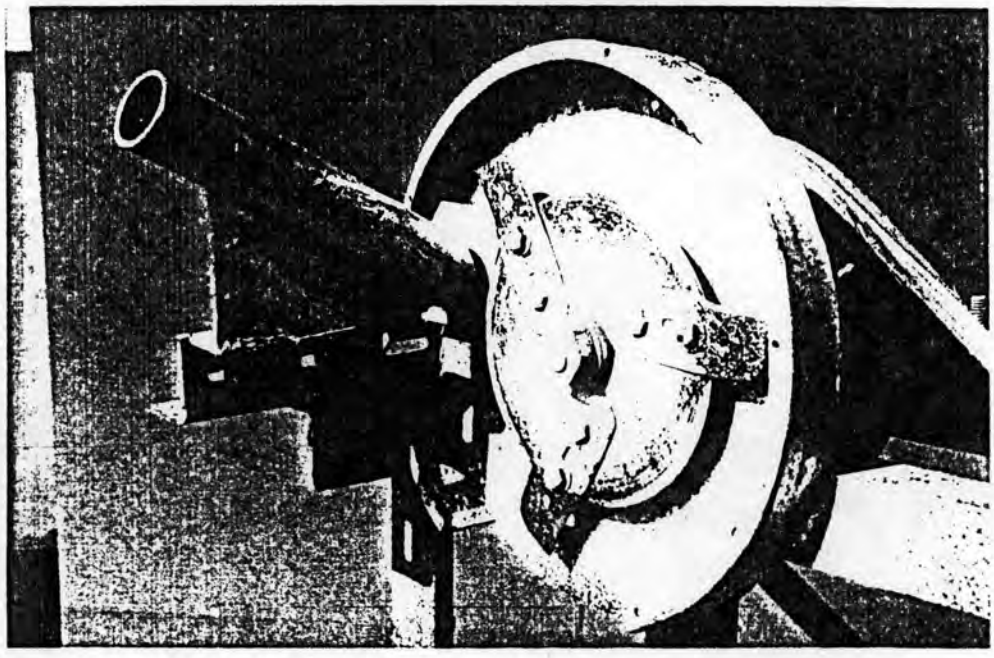
ลักษณะภายในเครื่องจะ เป็นมีดสี่แฉกซึ่งติดอยู่กับแกนที่หมุนได้รอบโดยมอเตอร์ ดังแสดงในรูป 4-2-ก. เมื่อป้อนชิ้นต้นข้าวโพดลงมาตามกรวยซึ่งอยู่เหนือช่องว่างภายในเครื่องรูป 4-2-ข. ก็จะตกลงมาในช่องว่างภายในเครื่อง ซึ่งมีลักษณะ เป็นห้องผนังโค้งเป็นวงกลมรอบใบมีด และถูกเฉือน (shear) ให้มีขนาดเล็กลงภายใต้ช่องว่างในเครื่องจะมีลิ้นสำหรับสอดตะแกรงเข้าไป เป็นส่วนหนึ่งของผนังโค้ง ตะแกรงนี้สามารถถอดออกจากเครื่องได้ รูป 4-2-ค. ต้นข้าวโพดที่ถูกเฉือนจะตกลงบนตะแกรงหากมีขนาดไม่ใหญ่เกินขนาดรูบนตะแกรงแล้วก็จะลอดตะแกรง ตกลงมาใส่ลิ้นชักใต้ตะแกรง หากมีขนาดใหญ่ก็จะค้างอยู่บนตะแกรง และถูกแรงเหวี่ยงของแท่งมีดพัดให้วนอยู่ภายในห้องจนกว่าจะถูกเฉือนให้มีขนาดเล็กลงจนสามารถลอดผ่านตะแกรงได้

4.1.3 อ่างน้ำมัน

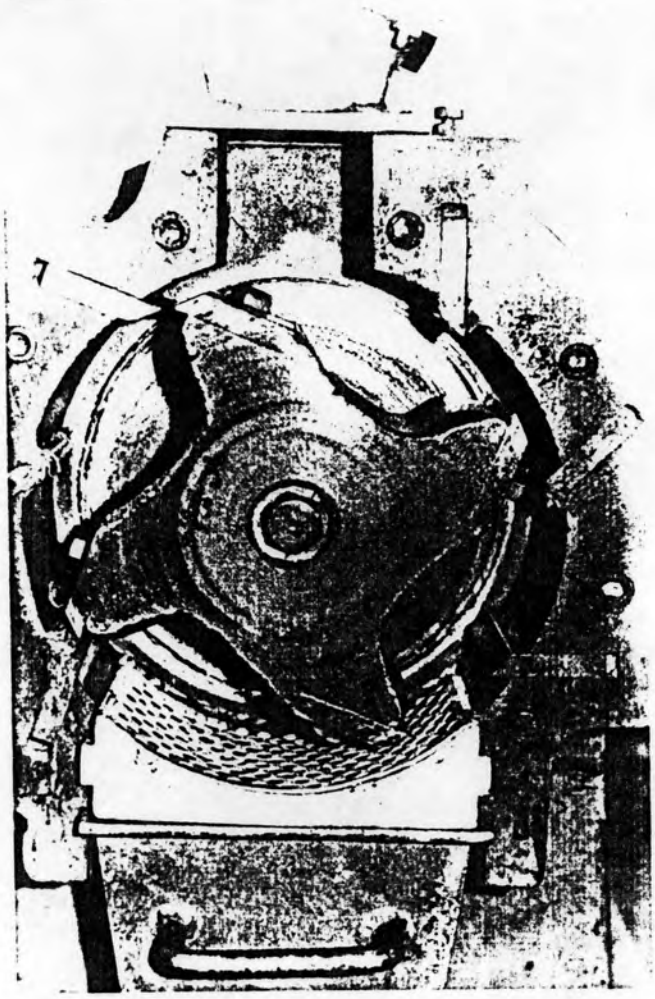
เป็นเครื่องมือที่ใช้ในขั้นก่อนไฮโดรไลซิส(pre-hydrolysis) และขั้นไฮโดรไลซิส มีส่วนประกอบดังแสดงในรูป 4-3 คือ



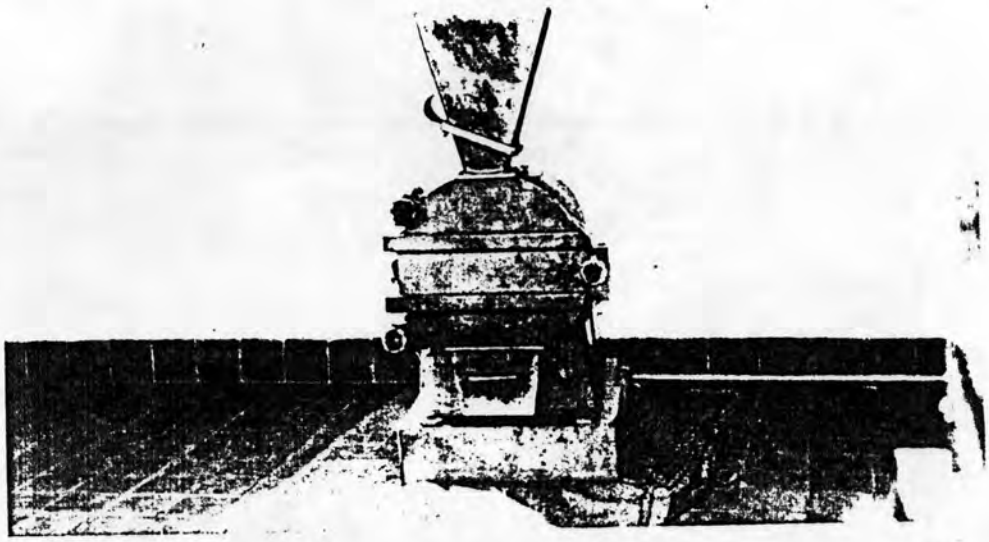
รูปที่ 4-1-ก. เครื่องคัดต้นข้าวโพด แสดงลักษณะภายนอกเครื่อง



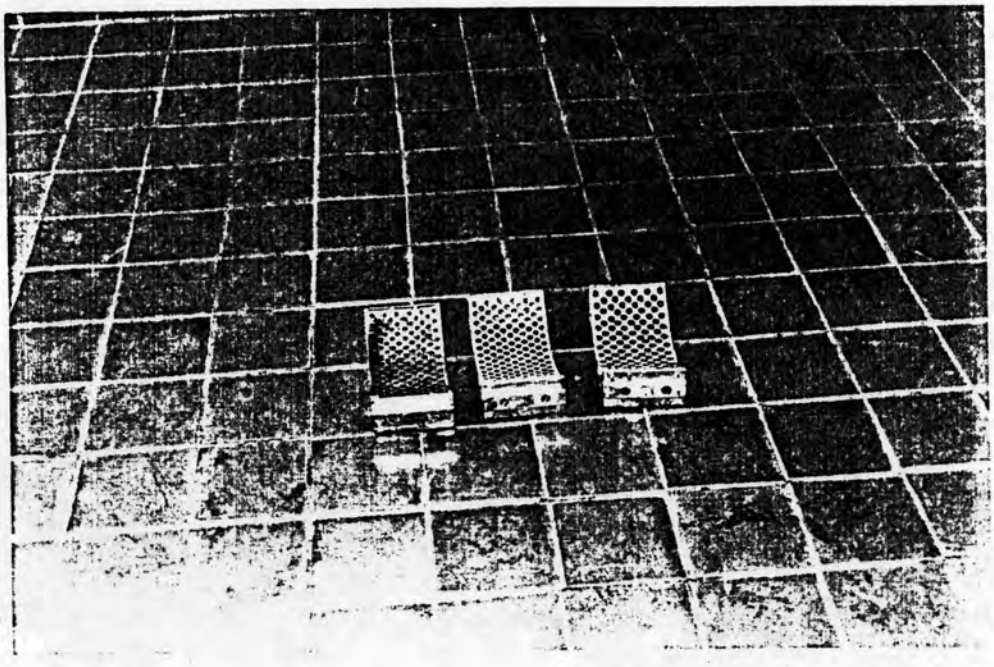
รูปที่ 4-1-ข. เครื่องคัดต้นข้าวโพด แสดงลักษณะภายในเครื่อง



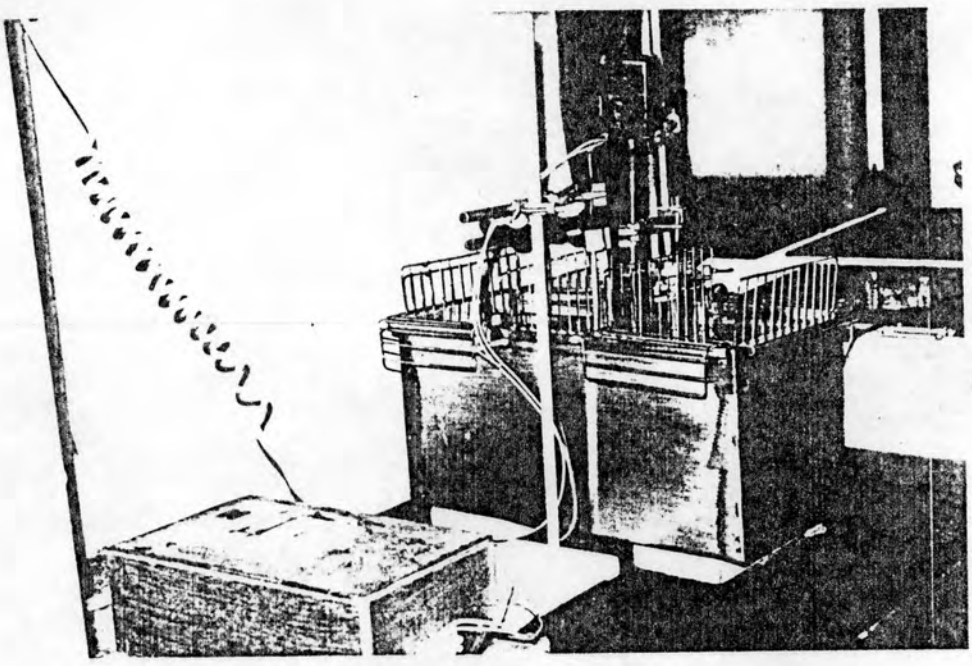
รูปที่ 4-2-ก. เครื่องบด แสดงลักษณะภายในเครื่อง



รูปที่ 4-2-ข. เครื่องบดต้นข้าวโพด แสดงลักษณะภายนอกเครื่อง



รูปที่ 4-2-ค. ตะแกรงของเครื่องบด ซึ่งสามารถถอดออกได้



รูปที่ 4-3 อ่างน้ำมันใช้ในพรี-ไฮโดรไลซิส และไฮโดรไลซิส

4.1.3.1 ถังสเตนเลสรูปสี่เหลี่ยมขนาด 30 × 60 × 31.5 เซนติเมตร ภายในบรรจุน้ำมันแร่ (mineral oil)

4.1.3.2 ขวดลวดให้ความร้อน 4,000 วัตต์ 1 อัน

4.1.3.3 กล่องควบคุมอุณหภูมิ (thermostat) พร้อมตัววัดอุณหภูมิ (Thermocouple)

4.1.3.4 ใบพัด ซึ่งปรับความเร็วได้พร้อมมอเตอร์

4.1.3.5 ตะกร้าซึ่งทำด้วยตะแกรงสเตนเลส สำหรับวางภาชนะทดลอง แต่หากภาชนะไม่หนักพอต้องใช้ตัวหนีบ (clamp) จับอีกทีหนึ่ง

4.1.4 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

รูปร่างทรงกระบอกวางในแนวตั้ง วัดมีประมาณ 30 เซนติเมตร สูง 45 เซนติเมตร หม้อนี้ทำงานได้ภายใต้ความดัน 2 บรรยากาศ ใช้ในการไฮโดรไลซิสและการหมัก ดังแสดงในรูป 4-4

4.1.5 เครื่องอบแห้งแบบถาด (tray drier) (Ken Seng Lee Machanery กรุงเทพฯ) ดังแสดงในรูป 4-5

4.1.6 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สภาพสูญญากาศ (rotary vacuum evaporator) (บริษัท Tokyo Rikakikai) สำหรับทำให้ของเหลวไฮโดรไลซิส (hydrolyzate) เข้มข้นขึ้น ดังแสดงในรูป 4-6

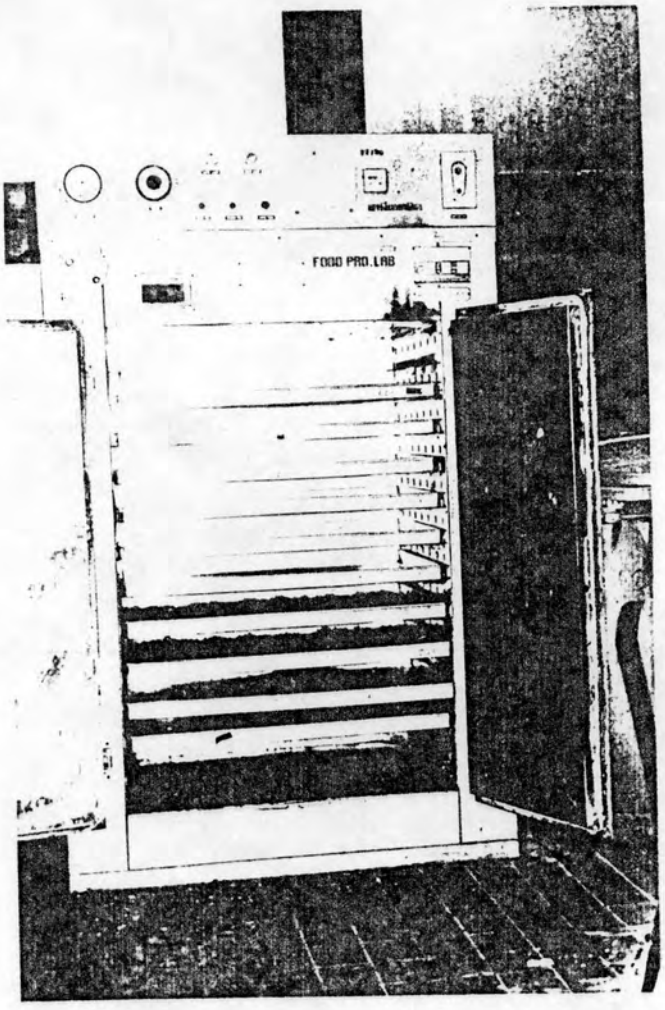
4.1.7 ขวดหมัก

เป็นขวดแก้วก้นแบน ขนาดจุ 1 ลิตร ปิดด้วยจุกยางสีดำซึ่งเจาะรูตรงกลาง พร้อมกับเสียบกรวยฝักบัวแก้ว

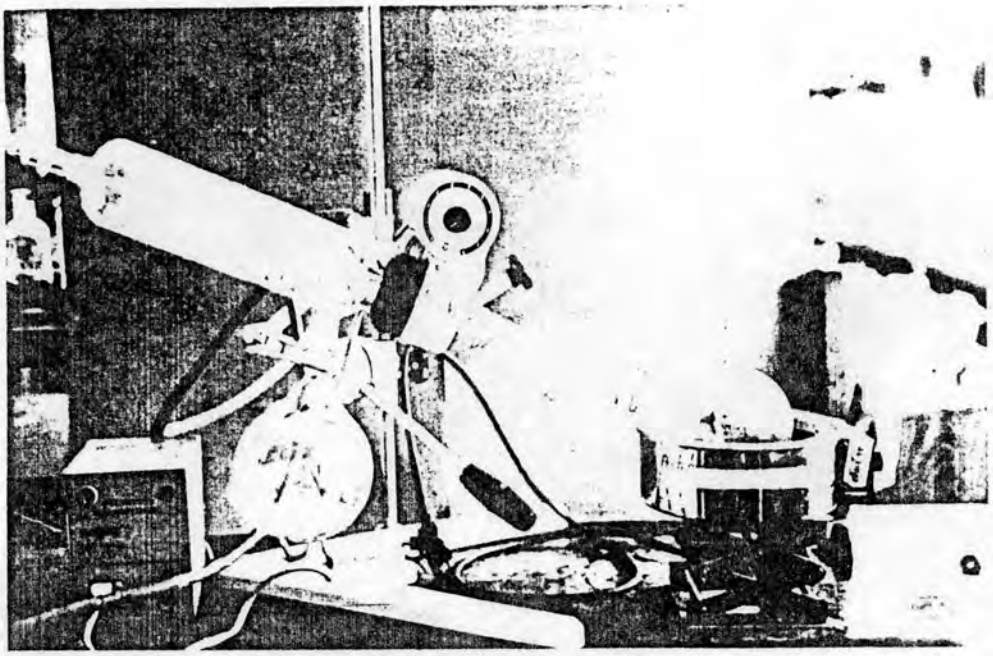
4.1.8 เครื่องเขย่า (shaker)

มีความเร็ว 240 รอบ/นาที

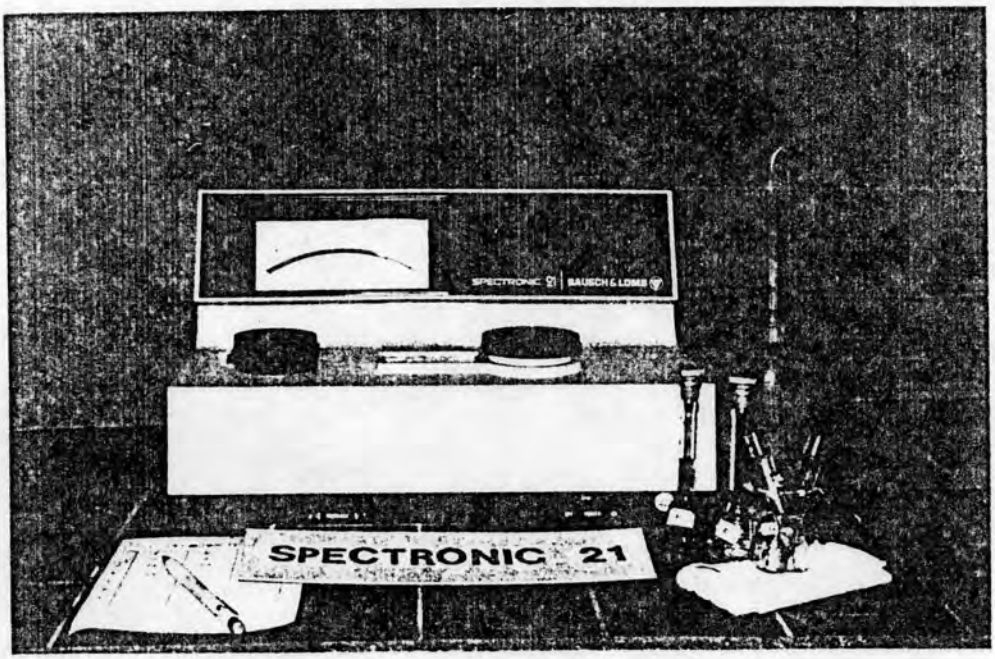
รูปที่ 4-4 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)



รูปที่ 4-5 เตาอบต้นข้าวโพดแบบถาด



รูปที่ 4-6 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน ภายใต้สภาพสูญญากาศ



รูปที่ 4-7 เครื่องวัดสภาพการดูดกลืนแสง

4.1.9 เครื่องวัดสภาพการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (บริษัท Bausch and Lomb)

ใช้วัดค่าดูดกลืนแสงของเซลยีสต์ (optical density) แสดงในรูป 4-7

4.1.10 เครื่องวัดความชื้นด้วยแสงอินฟราเรด (infra-red drying unit) (บริษัท Sartorius) ดังแสดงในรูป 4.8

4.1.11 กล้องจุลทรรศน์ (บริษัท Olympus)

4.2 สารเคมีและอุปกรณ์

4.2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (รูป 4-9)

4.2.1.1 สารละลายเฟลลิ่ง เอ (Felhing's soiution A, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

4.2.1.2 สารละลายเฟลลิ่ง บี (Felhing's solution B, $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$ + NaOH)

4.2.1.3 สารละลายกลูโคสมาตราฐาน (0.3 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร)

4.2.1.4 สารละลายเมทธิลลินบลู 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.2.1.5 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.2.1.6 บิวเรต (buret) 50 มิลลิลิตร 2 อัน

4.2.1.7 ปิเปต (pipette) 2 อัน

4.2.1.8 ลูกยางดูดสาร 1 อัน

4.2.1.9 คีมคีบ 1 อัน

4.2.1.10 ขวดแก้ววอลลูเมตริก (volumetric flask) 100 มิลลิลิตร 1 อัน

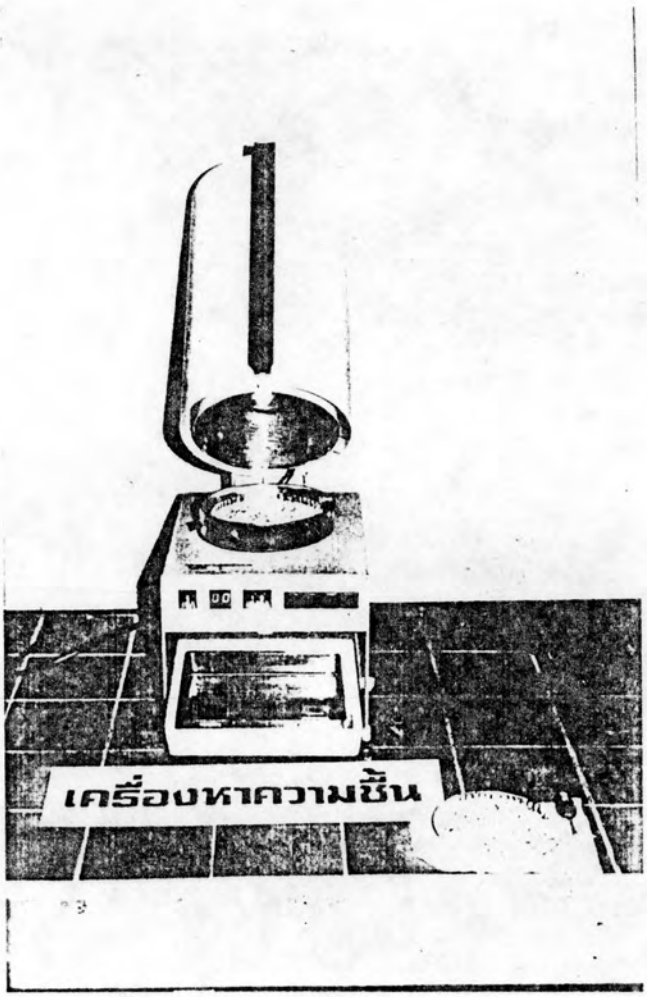
4.2.1.11 เตา (hot plate) 1 ตัว

4.2.1.12 ขวดก้นแบน (conical flask) 250 มิลลิลิตร

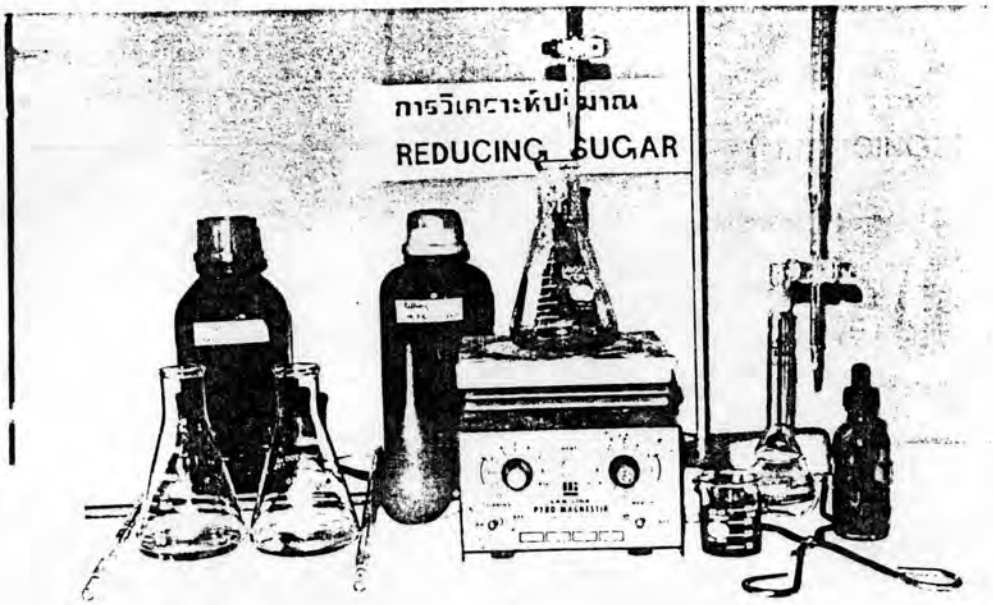
4.2.1.13 บีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร

4.2.1.14 กระดาษวัดค่าความเป็น pH

4.2.1.15 ขาตั้งเหล็กและที่หนีบบิวเรต 1 ชุด



รูปที่ 4-8 เครื่องวัดความชื้นโดยแสงอินฟราเรด



รูปที่ 4-9 แสดงอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

รูปที่ 4-10 แสดงอุปกรณ์ในการวิเคราะห์อนุมูลซัลเฟต

4.2.2 สารเคมีและอุปกรณ์ ในการวิเคราะห์ปริมาณอนุมูลซัลเฟต ($SO_4^{=}$) (รูป 4-10)

4.2.2.1 สารละลายแบเรียมคลอไรด์ ($BaCl_2.H_2O$) 1 โมลาร์

4.2.2.2 สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 5 %

4.2.2.3 บิวเรต 50 มิลลิลิตร 1 อัน

4.2.2.4 ขาตั้งและที่หนีบบิวเรต 1 ชุด

4.2.2.5 กระจกนาฬิกา

4.2.2.6 ขวดแก้วก้นแบน 250 มิลลิลิตร

4.2.2.7 บีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร

4.2.2.8 คีมคีบ 1 อัน

4.2.2.9 กรวยแก้ว

4.2.2.10 แท่งแก้วกวน

4.2.2.11 กระดาษกรอง เบอร์ 42

4.2.2.12 ถ้วยกระเบื้องพร้อมฝา (crucible) 25 มิลลิลิตร

4.2.2.13 ถังแก้วรักษาความชื้นพร้อมฝา (descicator) พร้อมสารดูดความชื้น

4.2.2.14 เตาพร้อมเครื่องกวนแม่เหล็ก (hot plate and magnetic stirrer) 1 อัน

4.2.2.15 แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar) 1 อัน

4.2.2.16 เตาเผา (furnace) 1 เครื่อง

4.2.3 สารเคมีและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ปริมาณกรด

4.2.3.1 สารละลายอิ่มตัวโปตัสเซียมไฮโดรเจนพาทาเรต(Potasium hydrogenphthalate)

4.2.3.2 สารละลายมาตรฐาน NaOH 1 โมลาร์

4.2.3.3 สารละลายฟีนอฟทาลีน 1 %

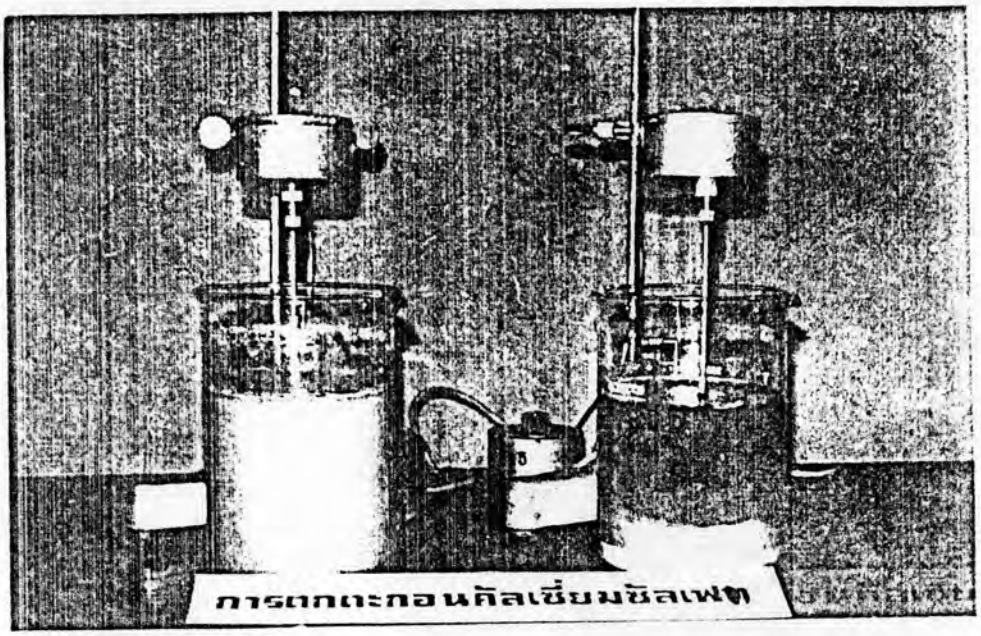
4.2.3.4 บิวเรต 50 มิลลิลิตร 1 อัน

4.2.3.5 แท่งแก้วคน 1 แท่ง

4.2.3.6 บีกเกอร์ 50 มิลลิลิตร

4.2.3.7 ขาตั้งและที่หนีบบิวเรต 1 ชุด

4.2.4 อุปกรณ์ในการตกตะกอน ด้วยเซียมซัลเฟต (รูป 4-11)



รูปที่ 4-11 แสดงอุปกรณ์ในการตกตะกอนซัลเฟต

4.2.4.1 บีกเกอร์ 2,000 มิลลิลิตร 1 ใบ

4.2.4.2 ใบพัดแก้ว 1 อัน

4.2.4.3 มอเตอร์พร้อมเครื่องปรับความเร็ว 1 ชุด

4.2.4.4 ขาตั้งและที่หนีบ

4.3 <u>วิธีการวิเคราะห์</u>

4.3.1 ปริมาณน้ำตาลในของเหลวไฮโดรไลซิสและน้ำหนัก ใช้วิธีของ Lane-Ennon (Pearson. 1970) (ดูวิธีในภาคผนวก ก.)

4.3.2 ปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ (total soluble solid) ตรวจหาปริมาณโดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์ขนาดเล็ก (hand refractometer) อ่านค่าเป็นองศาบริกซ์

4.3.3 ปริมาณอนุมูลซัลเฟต โดยวิธีการาวิเมตริก

4.3.4 ปริมาณกรดในของเหลวไฮโดรไลซิส ใช้วิธีตาม A.O.A.C.

4.3.5 ความเป็น pH ตรวจวัดโดยใช้ พี-เอช มิเตอร์ (pH Meter)

4.3.6 ความเข้มข้นของเชลยีสต์ ตรวจโดย

4.3.6.1 วัดค่าสภาพการดูดกลืนแสง (absorbance) ใช้วิธีของ Vananuvat and Kinsedla, 1975 (ดูวิธีในภาคผนวก ก.)

4.3.6.2 จำนวนเชื้อยีสต์ที่นับได้ ใช้วิธีตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง (ดูวิธีในภาคผนวก ก.)

4.3.6 ปริมาณอัลกอฮอล์ ในน้ำหนัก ใช้วิธีตาม A.O.A.C. (ดูวิธีในภาคผนวก ก.)

4.4 <u>การเตรียมการก่อนทดลอง</u>

4.4.1 <u>วิธีเตรียมต้นข้าวโพดก่อนไฮโดรไลซิส</u>

นำต้นข้าวโพดที่ตัดมาจากไร่ มาตัดเป็นท่อน ๆ ริดใบ กิ่ง ก้าน และกาบที่แห้งออก แล้วนำไปเข้าเครื่องตัดต้นข้าวโพด ดังแสดงในรูป 4-1-ก. และ 4-1-ข. จะได้ต้นข้าวโพดที่มีลักษณะเป็นแว่น จากนั้นนำไปเข้าเครื่องบด ดังแสดงในรูป 4-2-ก. 4-2-ข. และ 4-2-ค. จะได้ต้นข้าวโพดที่มีลักษณะเป็นเกล็ด แล้วนำไปอบด้วยเครื่องอบแบบถาด ดังแสดงในรูป 4-5 ใช้อุณหภูมิในการอบ 80 องศาเซลเซียส ให้ได้ความชื้นในต้นข้าวโพด 10-12%

(16) โดยวัดความชื้นด้วยเครื่องวัดด้วยอินฟราเรด (ดังแสดงในรูป 4-9) นำต้นข้าวโพดที่บดผ่านตะแกรงขนาดเดียวกันผสมเข้าด้วยกัน แล้วนำไปเก็บในถุงพลาสติกที่รัดปากถุงปิดไว้ จากนั้นจึงนำไปใส่ในถังพลาสติกปิดฝาให้แน่นด้วยเทปกาว (16,24,26) ดังแสดงขั้นตอนไว้ในรูปที่ 4-12

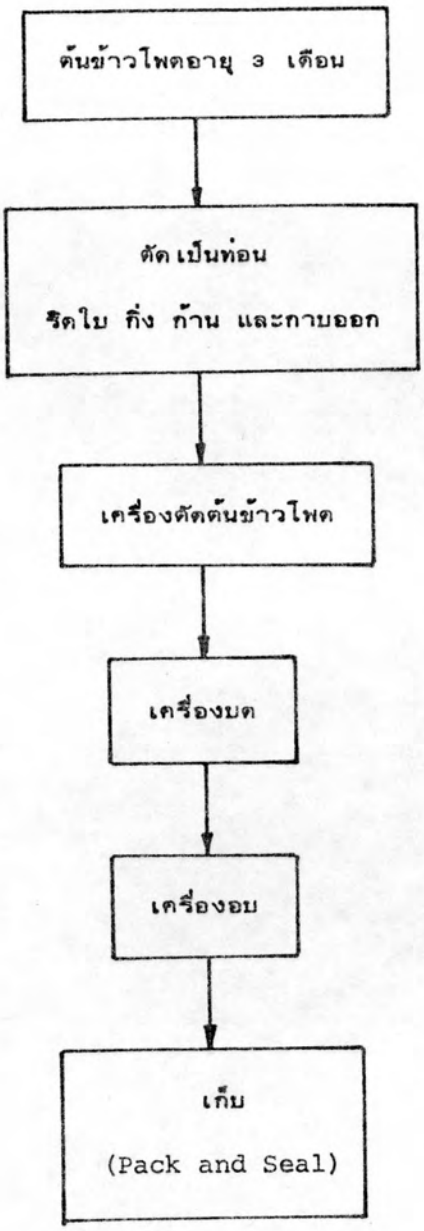
4.4.2 <u>วิธีเตรียมการหมัก</u>

4.4.2.1 ยีสต์

ในการศึกษานี้ ได้ใช้ยีสต์ <u>Saccharomyces eerevisiae var. ellipsoideus</u> (27) ในรูปยีสต์บริสุทธิ์ นำมาถ่ายเชื้อเก็บไว้ใน โปเตโต้ เดกโตรสเอก้า (potato dextrose agar) และเก็บไว้ในตู้เย็น 12 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ (27,28,29,30)

4.4.2.2 สารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพด

สารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่ได้จากขั้นตอนพรี-ไฮโดรไลซิส และไฮโดรไลซิสนำมารวมกัน ปรับความเป็น pH ให้ได้ 4.5 ด้วย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แล้วทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สภาพสูญญากาศ นำสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่ได้มาใช้เป็นสารอาหารสำหรับเชื้อยีสต์ในการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์ (24)



รูปที่ 4-12 แผนภาพแสดงการเตรียมวัตถุดิบก่อนทดลอง

4.4.2.3 เชื้อหมักเริ่มต้น

ได้ใช้เชื้อหมักเริ่มต้น 5-10% ของปริมาตรน้ำหมักทั้งหมด (17,27,28,30) ในการเตรียมใช้สารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดตามหัวข้อ 4.4.2.2 บรรจุลงในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารอาหารเสริม แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.13% แมกเนเซียมซัลเฟต-เฮกซะไฮเดรท 0.01% และยีสต์สกัด 0.85% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (25) แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงถ่ายเชื้อลงไปในขวดแก้ว (เชื้อที่เก็บไว้ในตู้เย็นแต่ละครั้งนำมาถ่ายเก็บไว้ในไปเตโต้เดกโตรสเอก้า แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อน) (29) หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้กับการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์ในขวดหมักต่อไป

4.4.2.4 ขวดหมักและอื่น ๆ

ขวดหมักขนาดจุ 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อโดยแช่ด้วยน้ำยาล้างแก้วเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปผ่านการต้มให้เดือด ทำการฆ่าเชื้อด้วยการอบที่ความร้อน 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (28) และเติมเชื้อยีสต์ในตอนเริ่มต้นสูง และปรับสภาพของน้ำหมักให้มีความเป็น pH 4.5 เพื่อเป็นสภาพที่เหมาะสมสำหรับยีสต์

4.5 วิธีการทดลอง

แบ่งวิธีการทดลองออกเป็น 5 ขั้นตอน

1. พรี-ไฮโดรไลซิส ต้นข้าวโพดที่บดแล้วด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค
2. ไฮโดรไลซิสกากต้นข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค
3. การปรับสภาพความเป็น pH และขจัดอนุมูลซัลเฟตในสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่ได้จากพรี-ไฮโดรไลซิส และไฮโดรไลซิส
4. การทำให้สารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดเข้มข้นขึ้น
5. การทดลองศึกษาการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์จากสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพด

4.5.1 วิธีพรี-ไฮโดรไลส์ ต้นข้าวโพดที่บดแล้วด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค

หลังจากผ่านขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ นำต้นข้าวโพดที่บดแล้วมาชั่งให้ได้

น้ำหนักตามต้องการ ใส่ในขวดแก้วก้นแบนขนาดปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นหนึ่งลงไปด้วยปริมาตรตามอัตราส่วนต่อน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดที่กำหนดไว้ คนให้เข้ากันแล้วเปิดจุกยางให้แน่น นำไปใส่อ่างน้ำมันที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที (โดยเริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิ ของเหลวในขวดมีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) แยกสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดออกจากส่วนที่เป็นกากโดยนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง เพื่อแยกกากต้นข้าวโพดไปในการทดลองในขั้นไฮโดรไลซิสต่อไป (ดังแสดงในรูป 4-13) (24,25, 26) วิเคราะห์สารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดโดย วัดปริมาตรสารละลายที่กรองได้ วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ เป็นค่าองศาบริกซ์ และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพด (12, 24)

4.5.2 <u>วิธีไฮโดรไลส์ กากต้นข้าวโพดด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค</u>

4.5.2.1 วิธีอบกากต้นข้าวโพดก่อนการไฮโดรไลส์

นำกากชื้นต้นข้าวโพดที่ได้จากขั้นพรี-ไฮโดรไลซิส อบในเครื่องอบแบบถาดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกากมีความชื้นประมาณ 40% โดยน้ำหนัก (24) ต้องรู้ค่าความชื้นที่แน่นอน

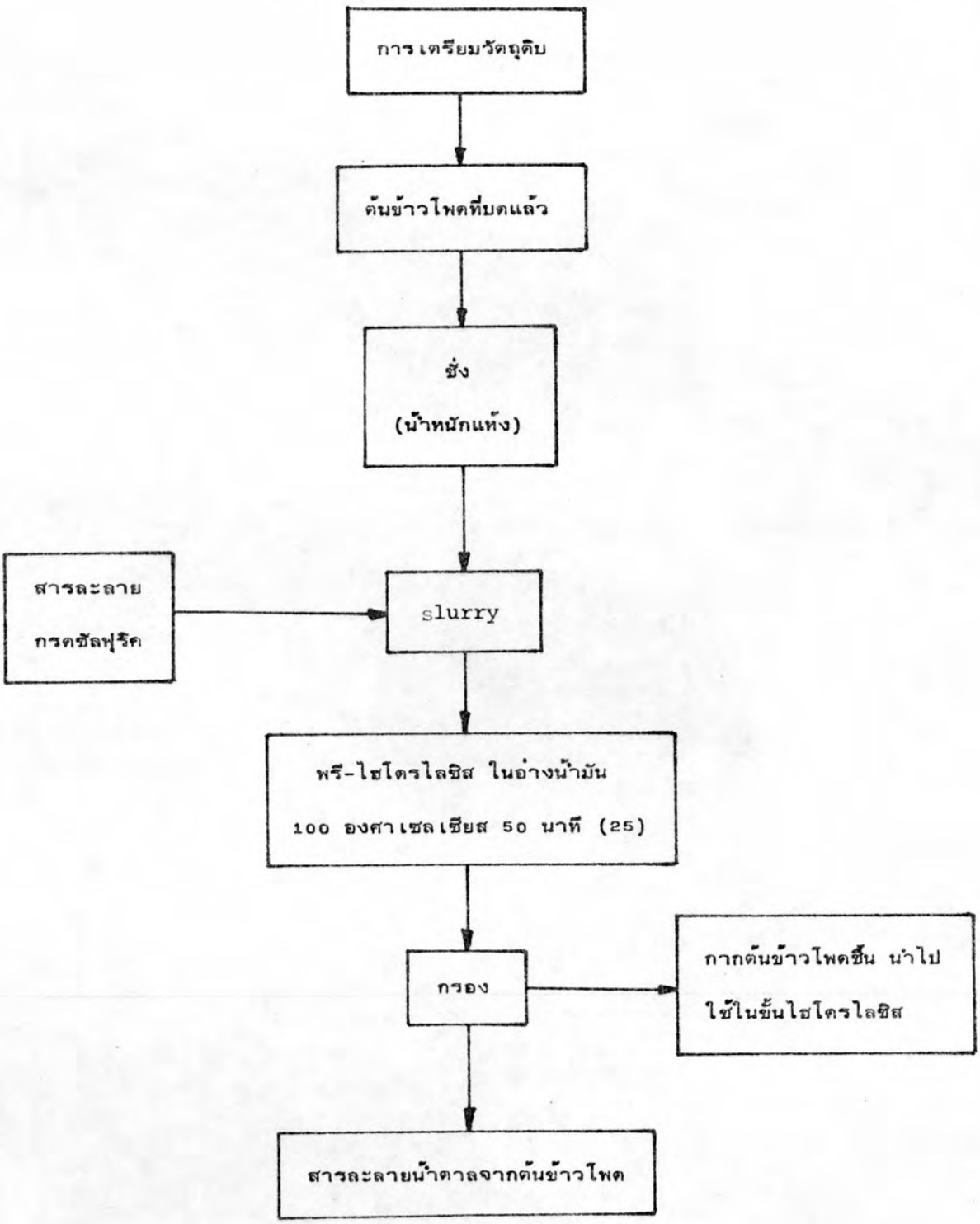
4.5.2.2 วิธีไฮโดรไลส์

หลังจากที่นำกากชื้นไปอบจนได้ค่าความชื้นที่รู้ค่าแน่นอนแล้ว นำกากมาชั่งให้ได้น้ำหนักตามต้องการใส่ในขวดแก้วปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้นลงไปในปริมาณที่เป็นอัตราส่วนต่อน้ำหนักแห้งของกากที่กำหนดไว้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องระยะเวลาหนึ่ง หลังจากนั้นจึงเติมน้ำลงไป เพื่อเจือจางลงให้สารละลายมีความเข้มข้นลดลงเป็น 8% (16,24,25,26) นำไปไฮโดรไลส์ต่อในข้อ ก. หรือ ข. อย่างใดอย่างหนึ่ง

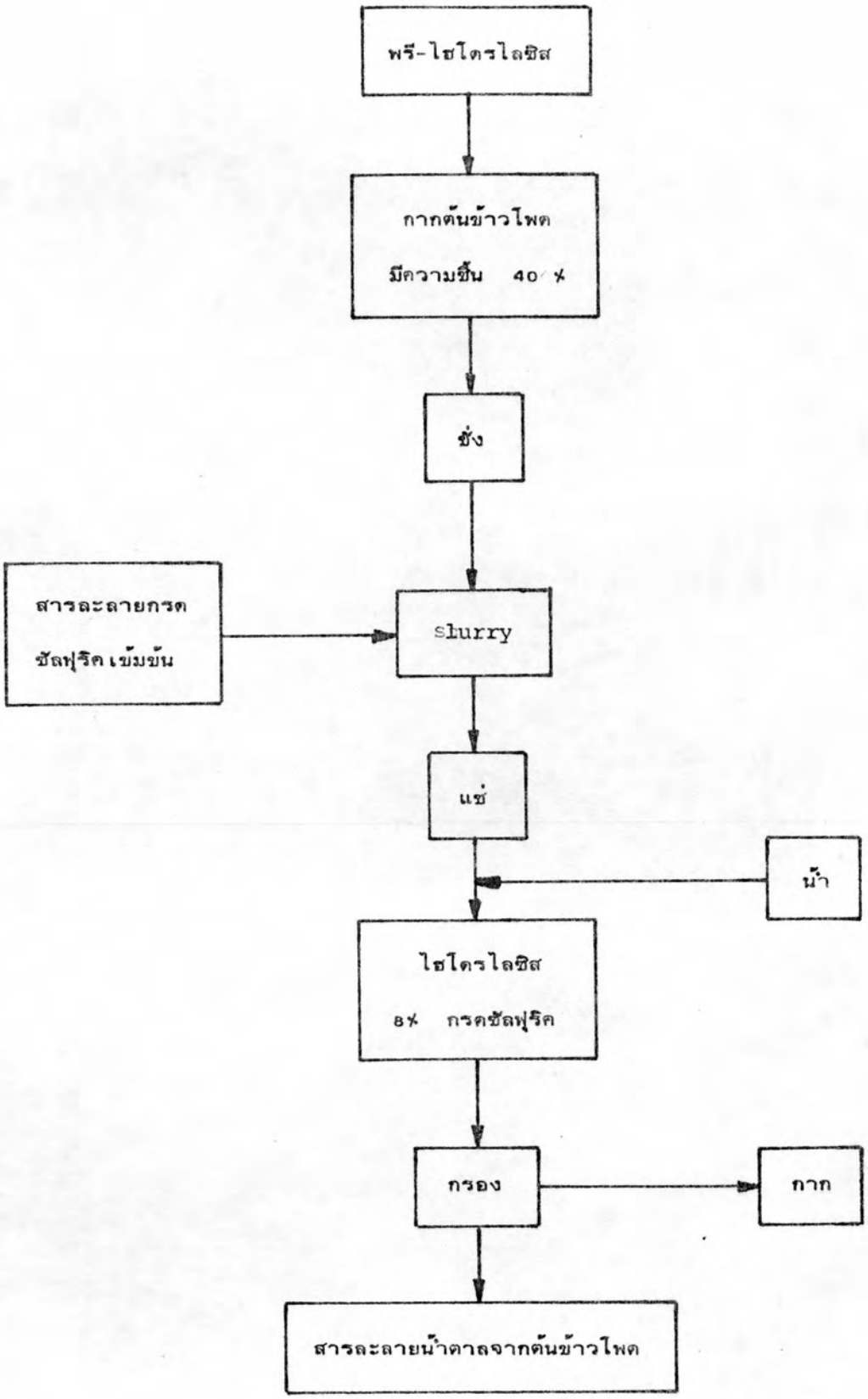
ก. ในอ่างน้ำมันที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ข. ในหม้ออบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (24)

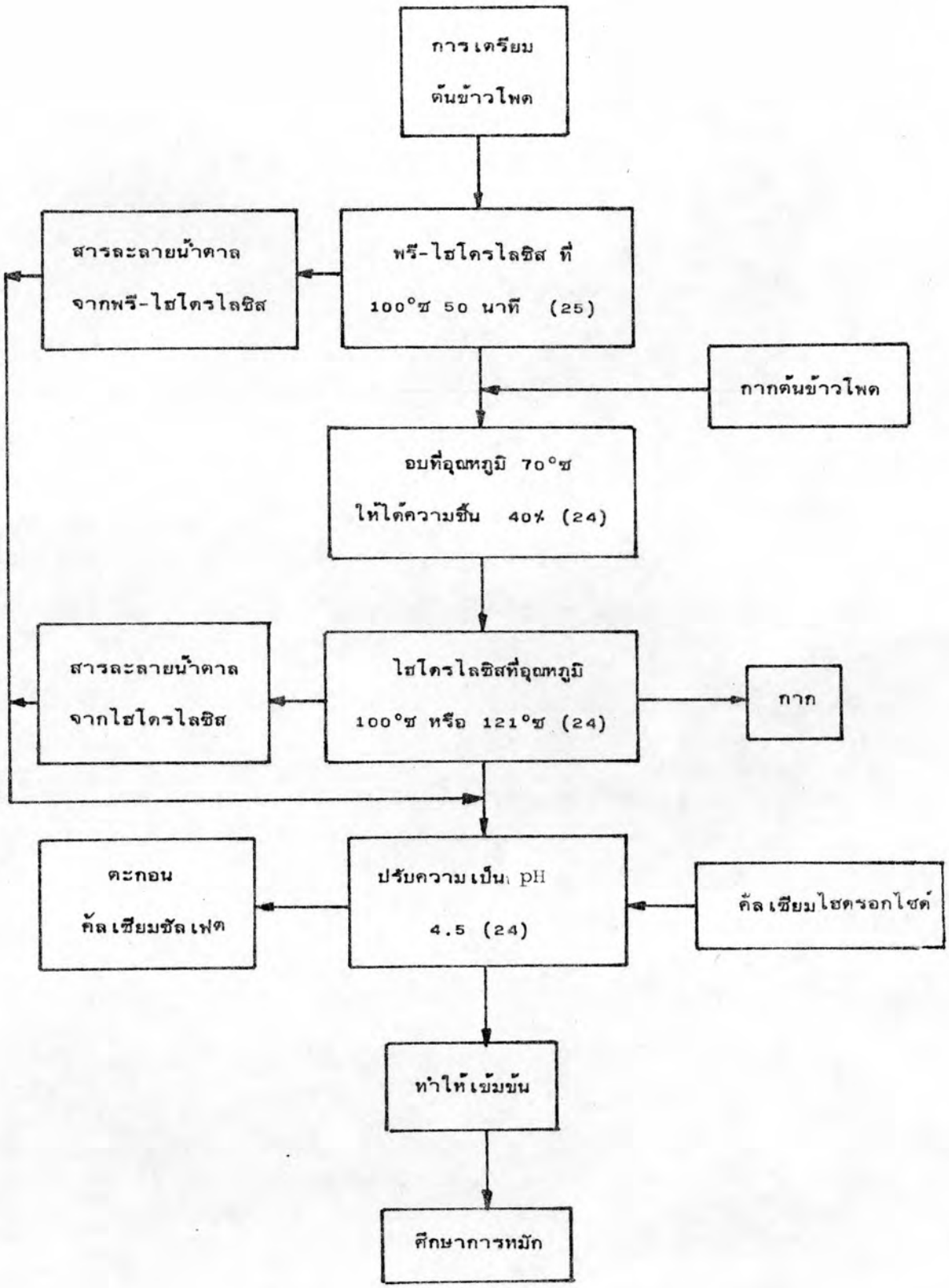
เมื่อเวลาครบกำหนดแล้ว จึงนำไปกรองเพื่อแยกส่วนที่เป็นสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดออกมา ดังแสดงในรูปที่ 4-14 นำสารละลายส่วนนี้ไปปรับสภาพความเป็น pH และขจัดอนุมูลซัลเฟต วิเคราะห์สารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดโดยวัดปริมาตรสารละลายที่กรองได้ วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้เป็นค่าองศาบริกซ์ วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลาย



รูปที่ 4-13 แสดงขั้นตอนพรี-ไฮโดรไลซิส



รูปที่ 4-14 แสดงขั้นตอนไฮโดรไลซิส



รูปที่ 4-15 แสดงขั้นตอนทั้งหมดในการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์ด้วยสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่ได้จากการไฮโดรไลส์

4.5.3 วิธีปรับสภาพความเป็น pH และลดปริมาณอนุมูลซัลเฟตในสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่ได้จากพรี-ไฮโดรไลซิสและไฮโดรไลซิส

นำสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่ได้จากพรี-ไฮโดรไลซิส และไฮโดรไลซิส มารวมกันปรับสภาพความเป็น pH ในสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดประมาณ 4.5 ด้วย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์นี้ยังสามารถลดปริมาณอนุมูลซัลเฟตที่ค้างอยู่ในสารละลายโดยการตกตะกอนเป็น แคลเซียมซัลเฟต ทิ้งให้ตะกอนตกนอนก้น แล้วจึงแยกส่วนที่เป็นของเหลวออกโดยการกรองผ่านผ้าขาวบางหลายชั้น จากนั้นนำของเหลวที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 อีกครั้ง จะได้สารละลายน้ำตาลมีลักษณะใส (32,33,34,35,36,37, 38)

4.5.4 วิธีการทำให้สารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดเข้มข้นขึ้น

หลังจากผ่านการปรับสภาพความเป็น pH ในสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพด ประมาณ 4.5 แล้ว นำสารละลายที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (วัดเป็นค่าของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมด) ด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน ภายใต้สภาพสูญญากาศ (24, 26)

4.5.5 วิธีการทดลองผลิตเอทิลอัลกอฮอล์จากสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพด

4.5.5.1 วิธีการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ S. cerevisiae ในสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

หลังจากเตรียมสารละลายน้ำตาลตามหัวข้อ 4.4.2.2 ได้สารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่เข้มข้นขึ้นแล้ว บรรจุสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดปริมาตร 350 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วเขย่า 500 มิลลิลิตร ปรับความเป็น pH ให้ได้ 4.5 ด้วยสารละลายกรดซิตริก 80% ปิดจุกขวดด้วยสำลี และหุ้มรอบนอกด้วยแผ่นอลูมิเนียมบางอีกชั้นหนึ่ง นำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องเติมสารละลายอาหารเสริม ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.13% แมกเนเซียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรท 0.01% และยีสต์สกัด 0.85% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (25) ถ่ายเชื้อยีสต์จากหลอดเลี้ยงเชื้อที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงไปในขวดแก้วเขย่าโดยให้ค่าสภาพการดูดกลืนแสงเริ่มต้นเท่า ๆ กัน ในทุกตัวอย่างและในการทดลองซ้ำแต่ละครั้ง ทั้งการเติมสารอาหารเสริมและการถ่ายเชื้อต้องทำ

ด้วยเทคนิคที่ปราศจากเชื้อ (27,28,29,30) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เริ่มจับเวลาพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ในทุก 6 ชั่วโมง ในช่วงเวลา 36 ชั่วโมง (30) โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลาย วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมด วัดความเป็น pH สำหรับจำนวนเซลยีสต์ที่เปลี่ยนแปลงตรวจโดยนับจำนวนเซลล์ทั้งหมดจากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง และวัดสภาพการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร โดยเทียบค่าเป็นศูนย์กับสารอาหารเหลวที่ปราศจากเชื้อ

4.5.5.2 วิธีการศึกษาการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์จากสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวไพด โดยเชื้อ S. cerevisiae

หลังจากเตรียมสารละลายน้ำตาลตามหัวข้อ 4.4.2.2 แล้ว นำสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวไพดที่เข้มข้นขึ้นแล้ว ปรับความเป็น pH ให้ได้ 4.5 ด้วยสารละลายกรดซิตริก 80% และเติมสารอาหารเสริม ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.13% แมกเนเซียมซัลเฟต-เฮกสะไฮเดรท 0.01% และยีสต์สกัด 0.85% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (25) จะได้สารอาหารเหลวของสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวไพด ซึ่งอยู่ในขวดแก้วหมักขนาดจุ 1,000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคแล้ว ในขณะเดียวกัน ทำการถ่ายเชื้อหมักเริ่มต้นที่เตรียมตามหัวข้อ 4.4.2.3 จนได้ปริมาตรครบ 700 มิลลิลิตร การถ่ายเชื้อหมักเริ่มต้นลงในสารอาหารเหลวให้ได้ค่าสภาพการดูดกลืนแสงเริ่มต้นเท่าๆ กันทุกตัวอย่าง และในทุกการทดลองซ้ำแต่ละครั้ง หลังจากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 240 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเพิ่มปริมาณของเซล ยีสต์ในช่วงแรกของการทดลอง (27,28,30) เป็นระยะเวลาหนึ่งจึงหยุดเขย่าพร้อมกับเปลี่ยนจุกสำลีมาเป็นจุกยางที่เสียบกรวยฝักบัวติดอยู่ เริ่มจับเวลาพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ทุก 6 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลาย วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายไว้ทั้งหมด วัดความเป็น pH สำหรับจำนวนเซล ยีสต์ที่เปลี่ยนแปลงตรวจนับจำนวนเซล ทั้งหมดจากกล้องจุลทรรศน์โดยตรง และวัดสภาพการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร โดยเทียบศูนย์กับสารอาหารเหลวที่ปราศจากเชื้อ

4.6 การทดลอง

ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

4.6.1 พรี-ไฮโดรไลซิส

4.6.2 ไฮโดรไลซิส

4.6.3 การหมัก

4.6.1 ศึกษาตัวแปรในพรี-ไฮโดรไลซิส

4.6.1.1 ศึกษาขนาดชิ้นมวลต้นข้าวโพดที่บดผ่านตะแกรงที่มีรูขนาดต่าง ๆ กัน (24) วิธีการตามหัวข้อ 4.5.1 โดยใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 50 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริคมีความเข้มข้น 4.4% (25) อัตราส่วนสารละลายกรด(มิลลิลิตร):น้ำหนักชิ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม) 11:1 ปริมาณต้นข้าวโพด 10 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง โดยแปรขนาดชิ้นมวลต้นข้าวโพดเป็น 3, 4 และ 10 เมช

ติดตามผลโดยการวัดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่กรองได้ วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมด และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพด

4.6.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟุริคพร้อมทั้งอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด(มิลลิลิตร):น้ำหนักชิ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม)

นำชิ้นมวลต้นข้าวโพดที่ลอดตะแกรงขนาด 10 เมช มาทำพรี-ไฮโดรไลซิสดังข้อ 4.5.1 โดยใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 50 นาที (25) ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริคที่แปรค่าความเข้มข้น 4%, 4.4% และ 5% อัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด (มิลลิลิตร):น้ำหนักชิ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม) ซึ่งแปรค่าตั้งแต่ 11:1 ถึง 17:1 ปริมาณชิ้นมวลต้นข้าวโพด 10 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง

การติดตามผลด้วยวิธีเดียวกับหัวข้อ 4.6.1.1

4.6.1.3 ศึกษาอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด (มิลลิลิตร):น้ำหนักชิ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม) ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริคมีความเข้มข้น 4.4%

วิธีการเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.5.1 โดยใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 50 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟุริค 4.4% (25) อัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด (มิลลิลิตร):น้ำหนักชิ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม) แปรค่าตั้งแต่ 7:1 ถึง 17:1 โดยใช้ปริมาณชิ้นมวลต้นข้าวโพดที่บดแล้ว 10 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง

การติดตามผลใช้วิธีเดียวกับข้อ 4.6.1.1

4.6.1.4 ศึกษาการทำพรี-ไฮโดรไลซิสซ้ำด้วยสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพด

นำสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่ได้จากพรี-ไฮโดรไลซิสครั้งแรกมาใช้ในการพรี-ไฮโดรไลซิสต้นข้าวโพดที่บดแล้วเป็นครั้งต่อไป วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 4.5.1 โดยใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 50 นาที ด้วยสารละลายที่เป็นกรด

อัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด (มิลลิลิตร) :ขึ้นมวลต้นข้าวโพด (กรัม) 10:1 สำหรับสารละลายที่เป็นกรดในพรี-ไฮโดรไลซิสครั้งแรกใช้สารละลายกรดซัลฟุริค 4.4% ส่วนพรี-ไฮโดรไลซิสครั้งที่สอง ใช้สารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่ได้จากพรี-ไฮโดรไลซิสครั้งแรก ซึ่งยังคงมีสภาพความเป็นกรดทดลองทำพรี-ไฮโดรไลซิส เช่นนี้ สามครั้ง

การติดตามผลใช้วิธีเดียวกับข้อ 4.6.1.1

4.6.2 <u>การศึกษาตัวแปรในไฮโดรไลซิส</u>

4.6.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้น พร้อมกับอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) :น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) ในการพรี-ไฮโดรไลส์ที่ 100 องศาเซลเซียส

เมื่อบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิสจนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้วนำมาไฮโดรไลส์ในอ่างน้ำมัน ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.5.2-ก. โดยเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 75%, 80% และ 85% ในปริมาตรที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรดซัลฟุริค 8% (มิลลิลิตร) : น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) ตั้งแต่ 5:1 - 14:1 โดยใช้กากต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมในแต่ละขวดการทดลอง หลังจากแช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้ว จึงเติมน้ำลงไปเพื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% ในปริมาตรที่เป็นอัตราส่วนกับน้ำหนักแห้งของกากต้นข้าวโพด จากนั้นนำไปให้ความร้อนอ่างน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ติดตามผลโดยวัดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดที่กรองได้ วัดปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมดเป็นองศาบริกซ์ และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ของสารละลายไฮโดรไลซิส

4.6.2.2 ศึกษาเวลาแช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้นในการไฮโดรไลส์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เมื่อบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิสจนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้ว นำมาไฮโดรไลส์ในอ่างน้ำมัน ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.5.2-ก. โดยเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 80% ในปริมาตรที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรดซัลฟุริค 8% (มิลลิลิตร) :น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) 8:1 โดยใช้ขึ้นมวลของต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมในแต่ละขวดการทดลอง

แช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้นเป็นเวลาตั้งแต่ 1 ถึง 4 ชั่วโมง เติมน้ำลงไปเพื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% ในปริมาตรที่เป็นอัตราส่วนกับน้ำหนักแห้งของกากต้นข้าวโพด จากนั้นนำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำมันที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4.6.2.3 การศึกษาเวลาไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เมื่อออบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิส จนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้วนำมาไฮโดรไลส์ในอ่างน้ำมัน โดยวิธีการเดียวกับ 4.5.2-ก. โดยเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 80% ในปริมาตรที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) :น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) 8:1 กากต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง แช่ต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้น 80% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำลงไปเมื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 30, 40 นาที

ติดตามผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.6.2.1.

4.6.2.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้น พร้อมทั้งอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) :น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) ในไฮโดรไลส์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เมื่อออบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิส จนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้ว นำมาไฮโดรไลส์ในหม้อฆ่าเชื้อโรคด้วยไอน้ำ โดยวิธีการเดียวกับหัวข้อ 4.5.2-ข. โดยเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 75%, 80% และ 85% ในปริมาณที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) :น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) 4:1, 6:1 และ 9:1

โดยใช้กากต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง หลังจากแช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้ว จึงเติมน้ำลงไปเพื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% ในปริมาตรที่เป็นอัตราส่วนกับน้ำหนักแห้งของกากต้นข้าวโพด จากนั้นนำไปให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (24)

การติดตามผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.6.2.1

4.6.2.5 ศึกษาการแช่กากต้นข้าวโพดในสาระลายกรดซัลฟุริค เข้มข้นในการไฮโดรไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เมื่ออบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิสจนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้ว นำมาไฮโดรไลส์ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ โดยวิธีการเดียวกับหัวข้อ 4.5.2-ข. โดยเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 80% ในปริมาณที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) : น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) 6:1 โดยใช้กากต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง แช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริค เข้มข้นเป็นเวลาตั้งแต่ 1 ถึง 4 ชั่วโมง แล้วจึงเติมน้ำลงไปเพื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% ในปริมาตรที่เป็นอัตราส่วนกับน้ำหนักแห้งของกากต้นข้าวโพด จากนั้นนำไปให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (24)

การติดตามผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.6.2.1

4.6.2.6 การศึกษาเวลาไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เมื่ออบกากต้นข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการพรี-ไฮโดรไลซิส จนมีความชื้นประมาณ 40% โดยรู้ค่าความชื้นที่แน่นอนแล้วนำมาไฮโดรไลส์ในหม้อฆ่าเชื้อโรคด้วยไอน้ำ โดยวิธีการเดียวกับข้อ 4.5.2-ข. โดยการเติมสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 80% ในปริมาตรที่มีอัตราส่วนของปริมาตรสารละลายกรด 8% (มิลลิลิตร) : น้ำหนักกากต้นข้าวโพด (กรัม) 6:1 โดยใช้ต้นข้าวโพดในปริมาณ 20 กรัมน้ำหนักแห้งในแต่ละขวดการทดลอง แช่กากต้นข้าวโพดในสารละลายกรดซัลฟุริค เข้มข้นนี้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำลงไปเพื่อเจือจางให้เป็นสารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 8% นำไปให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3,5,7 และ 10 นาที

การติดตามผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.6.2.1

4.6.3 <u>การทดลองผลิตเอทิลอัลกอฮอล์ด้วยสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพด</u>

4.6.3.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ <u>S. cerevisiae</u> ในสารละลายน้ำตาลจากต้นข้าวโพดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ในการเตรียมสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวโพดในหัวข้อ 4.4.2.2 เมื่อปรับความเป็น pH ด้วย แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในสารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้นวัดเป็น

ปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมด 4 องศาบริกซ์ นำสารละลายนี้ไปทำให้มีความเข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องกลั่นภายใต้สภาพสูญญากาศ ให้มีปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 8 และ 12 องศาบริกซ์ ปรับสภาพความเป็น pH ในสารละลายน้ำตาลทั้งสามเป็น 4.5 ด้วยสารละลายกรดซิตริก 80% และเติมสารอาหารเสริม ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.13% แมกเนเซียมซัลเฟตเฮกสะไฮเดรท 0.01% และยีสต์สกัด 0.85% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำตามวิธีในหัวข้อ 4.5.5.1 การถ่ายเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อลงในสารอาหารในขวดแล้วเขย่าที่เวลาเริ่มต้นให้ได้ค่าสภาพการดูดกลืนแสงประมาณ 0.1 ที่ความยาวคลื่นแสง 580 นาโนเมตร โดยเทียบค่าเป็นศูนย์กับสารอาหารเหลวที่ปราศจากเชื้อ วัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์หรือให้ได้จำนวนเซล ที่นับได้ประมาณ 130 ล้านตัวในหนึ่งมิลลิลิตรของสารอาหารเหลวในขวดแก้วเขย่า

การติดตามผลทำทุก 6 ชั่วโมง ในช่วงเวลา 36 ชั่วโมง ดังวิธีการในหัวข้อ 4.5.5.1

4.6.3.2 การศึกษาการผลิตเอทิลอัลกอฮอล์จากสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวไพดโดยเชื้อ S. cerevisiae

ศึกษาสารละลายน้ำตาลของต้นข้าวไพดที่มีความเข้มข้นวัดเป็นปริมาณของแข็งรวมที่ละลายได้ทั้งหมด 4 และ 8 องศาบริกซ์ วิธีการเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.5.5.2 โดยการเติมสารอาหารเสริม ได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.13% แมกเนเซียมเฮกสะไฮเดรท 0.01% และยีสต์สกัด 0.85% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร การถ่ายเชื้อหมักเริ่มต้นลงในสารอาหารเหลวในขวดหมักให้ได้ค่าสภาพการดูดกลืนแสงประมาณ 0.1 ที่ความยาวคลื่นแสง 580 นาโนเมตร โดยเทียบค่าเป็นศูนย์กับสารอาหารเหลวที่ปราศจากเชื้อ วัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ เมื่อให้ได้จำนวนเซล ที่นับได้ประมาณ 130 ล้านตัวในหนึ่งมิลลิลิตรของสารอาหารเหลวในขวดหมักทำการเขย่าเพื่อเพิ่มปริมาณเซล ยีสต์ในช่วงแรกของการทดลองเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงหยุดเขย่า เริ่มจับเวลาพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ทุก 12 ชั่วโมง ดังวิธีการในข้อ 4.5.5.2