บทที่ 3

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

<u>การเตรียมวัตถุดิบ</u>

บดกากมันสำปะหลังชนิดแห้ง (บริษัทไทยวาจำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ) ด้วยเครื่อง blender นำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 25 mesh เตรียมสารละลายกากมันสำปะหลังก่อนนำไปทดลองโดยต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที

<u>อุปกรณ์</u>

1. เครื่องอัลทราฟิลเทรชัน ประกอบขึ้นเอง (ภาคผนวก ก.)
2. แผ่นกรองขนาด Mw. Cut off 10 K ผลิตจาก Polyethersulfone ของ Filtron
3. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Controlled environmental incubator shaker) ของ Forma Scientific® รุ่น 2563
4. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของ Shimazu รุ่น UV-240
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Digital pH meter) ของ Hanna รุ่น 8417
6. เครื่องชั่ง ของ Sartorius รุ่น 1518

สารเคมี

- เอนไซม์

1. แอลฟาอะไมเลส (Tenase® L-340; Solvay Enzyme, Inc., Elkhart, Indiana) ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย Bacillus subtilis มีแอคติวิตี 340,000 Modified Wohlgemuth Unit (MWU)+ ต่อกรัม ความหนาแน่น 1.20 กรัมต่อมิลลิลิตร

2. กลูโคอะไมเลส (Diazyme® L-300; Solvay Enzyme, Inc., Elkhart, Indiana) ผลิตจากเชื้อรา Aspergillus niger มีแอคติวิตี 300-330 Diazyme Unit (DU)++ ต่อมิลลิลิตร ความหนาแน่น 1.20-1.25 กรัมต่อมิลลิลิตร

3. เซลลูเลส (Celluclast® 1.5 L; Novo-Nordisk Co., Bagsvaerd, Denmark) ผลิตจากเชื้อรา Trichoderma reesei มีแอคติวิตี 1500 Novo Celluclast Unit (NCU)+++ ต่อกรัม ความหนาแน่น 1.20 กรัมต่อมิลลิลิตร

+ 1 MWU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยแป้ง 1 มิลลิกรัม ในเวลา 30 นาที ตามวิธีมาตรฐานของ Modified Wohlgemuth Method ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 6.0 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

++ 1 DU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยแป้งให้ได้กลูโคส 1.0 กรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 4.2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

+++ 1 NCU คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อย CMC (Carboxy Methyl Cellulose) ไปเป็นรีดิวซ์คาร์โบไฮเดรต วัดในรูปน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้น 1 ไมโครโมลต่อนาที ที่ภาวะความเป็นกรดด่าง 4.8 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย 20 นาที

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง ตามวิธี AOAC (1990) ดังต่อไปนี้ ความชื้น โปรตีน เส้นใย ไขมัน และเถ้า

1.2 คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ) = 100 - (ผลรวมของปริมาณร้อยละขององค์ประกอบอื่น)

2. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์ (ดัดแปลงจาก ปาริชาติ วัฒนา, 2519)

- แอลฟาอะไมเลส (Tenase® L-340) 408,000 MWU/ml
- กลูโคอะไมเลส (Diazyme® L-300) 300 DU/ml
- เซลลูเลส (Celluclast® 1.5 L) 1,307 NCU/ml

ทำการทดลองดังรูปที่ 14

2.1 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์

2.1.1 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Tenase® L-340)

แปรค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายปฏิกิริยา 5 ระดับ คือ 3.0 ด้วยซิเตรตบัฟเฟอร์ 4.0 และ 5.0 ด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ 6.0 และ 7.0 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ 0.05 M ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 2.4 กรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 816 MWUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 3.5 มิลลิลิตร ทดลองในหลอดทดสอบขนาด 14 X 160 mm หยุดการทำงานของปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือด นาน 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที และนำส่วนใสไปวิเคราะห์

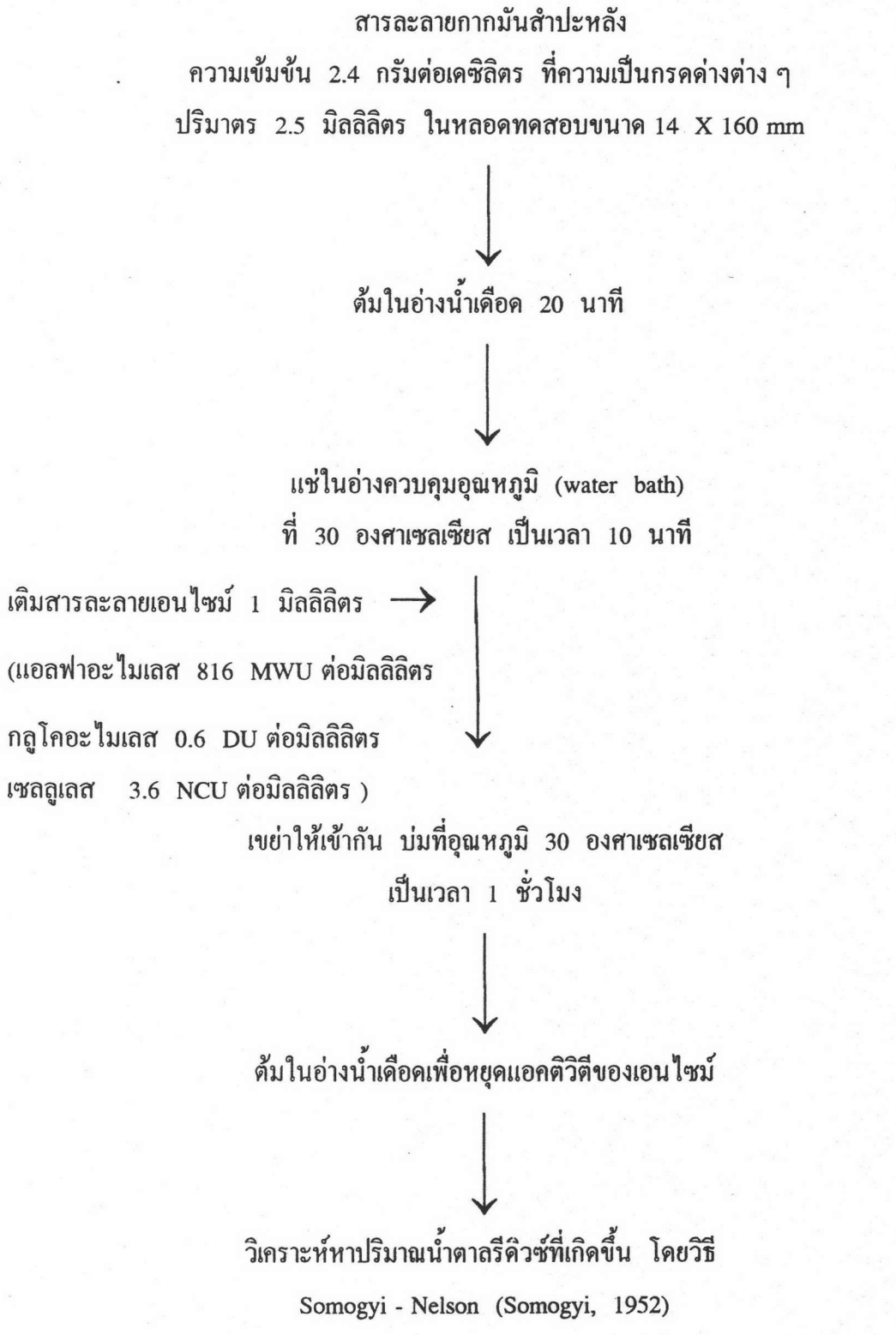
หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952) (ภาคผนวก ข.) หลอดแบลงค์(blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design และ Duncan's New multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

2.1.2 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Diazyme® L-300)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 โดยแปรค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายปฏิกิริยา 6 ระดับ คือ 3.0 ด้วยซิเตรตบัฟเฟอร์ 4.0, 4.5 และ 5.0 ด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ 6.0 และ 7.0 ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ 0.05 M ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 0.6 DUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

2.1.3 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์เซลลูเลส (Celluclast® 1.5 L)

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 3.6 NCUต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1



รูปที่ 14 ขั้นตอนการศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยเอนไซม์

2.2 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง

2.2.1 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 816 MWU ต่อมิลลิลิตร ในซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่าง 3.0 อะซิเตตบัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่าง 4.0 และ 5.0 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่าง 6.0 และ 7.0 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง นำมาย่อยกากมันสำปะหลังตามวิธีในข้อ 2.1.1 โดยใช้สารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.1 (pH 6.0) แบลงค์ (blank) ใช้บัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่างต่าง ๆ แทนสารละลายเอนไซม์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design และ Duncan's New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.2 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ความเข้มข้น 0.6 DU ต่อมิลลิลิตร ในบัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่างต่าง ๆ ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 โดยสารละลายกากมันสำปะหลังที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.2 (pH 4.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.2.3 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้น 3.6 NCU ต่อมิลลิลิตร ในบัฟเฟอร์ 0.05 M ที่ความเป็นกรดด่างต่าง ๆ ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 โดยใช้สารละลายกากมันสำปะหลังที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.3 (pH 5.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1

2.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์

2.3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 โดยใช้สารละลายกากมันสำปะหลังที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.1 (pH 6.0) แต่ทำการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส แบลงค์(blank) โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design และ Duncan's New multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 โดยใช้สารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.2 (pH 4.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 2.3.1

2.3.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์เซลลูเลส

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 โดยใช้สารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.3 (pH 5.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 2.3.1

2.4 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง

2.4.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 816 MWU ต่อมิลลิลิตร ในบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.1 (pH 6.0) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ

I 17377651

ต่าง ๆ ดังนี้ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง นำมาย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม (pH 6.0) ตามวิธีในข้อ 2.1.1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้บัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดด่างเดียวกันแทนสารละลายเอนไซม์เป็นแบลงค์ (blank) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design และ Duncan's New multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

2.4.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1 โดยใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 0.6 DU ต่อมิลลิลิตร และสารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.2 (pH 4.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

2.4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1 โดยใช้สารละลายเอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 3.6 NCU ต่อมิลลิลิตร และสารละลายกากมันสำปะหลังที่ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในข้อ 2.1.3 (pH 5.0) วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

3. <u>ศึกษากระบวนการย่อยกากมันสำปะหลัง</u>

3.1 การย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้กรด (AOAC, 1990)

ชั่งกากมันสำปะหลัง 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร และกรดไฮโดร คลอริก 20 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ (reflux) เป็นเวลา 2.5 ชั่งโมง ทำให้สารละลายเป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 N ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Somogyi - Nelson (Sommogyi, 1952) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 การย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์ผสม

3.2.1 อัตราส่วนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อกลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมในการย่อยกากมันสำปะหลัง

เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 8160 MWU ต่อมิลลิลิตร และสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 6 DU ต่อมิลลิลิตร ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 2 กรัมต่อเดซิลิตร ที่ความเป็นกรดด่าง 5.0 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาตรรวมกัน 1 มิลลิลิตร โดยแปรอัตราส่วนของเอนไซม์ทั้งสอง ดังนี้ คือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 1.0 : 0, 0.8 : 0.2, 0.6 : 0.4, 0.5 : 0.5, 0.4 : 0.6, 0.2 : 0.8 และ 0 : 1.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design และ Duncan's New multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2 อัตราส่วนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสต่อกากมันสำปะหลัง

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 1 ถึง 6 กรัมต่อเดซิลิตรด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ที่ความเป็นกรดด่าง 5.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson ที่เวลา 0 และ 15 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำประเมินผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นต่อนาที

3.2.3 การย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180 และ 240 นาที นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.4 การย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร และเซลลูเลสความเข้มข้น 77.4 NCU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บ ตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300 และ 360 นาที นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.5 ศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยแอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร และเซลลูเลสความเข้มข้น 77.4 NCU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 1.0 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็น

กรดด่าง 5.0 เติมน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ลงในสารละลาย ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240 และ 360 นาที นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. <u>ประกอบชุดอัลทราฟิลเทรชัน ซึ่งประกอบด้วย</u>

- ถังหมัก ขนาด 3 ลิตร
- ปั๊ม
- วาล์ว
- มาตรวัดความดัน
- หน่วยกรอง ทำจากพลาสติกอะคิริค (ภาคผนวก ก.)
- แผ่นกรอง ผลิตจาก Polyethersulfone Mw. Cut off 10 K ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0 เซนติเมตร

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นกรอง

4.1.1 การหาค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันของแผ่นกรองในการกักเอนไซม์

เตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส โดยใช้เอนไซม์ชนิดละ 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 3 ลิตร นำสารละลายเอนไซม์ไปผ่านเครื่องอัลทราฟิลเทรชัน โดยใช้แผ่นกรอง polyethersulfone ขนาด 10 K ควบคุมความดันเฉลี่ยในเครื่องให้คงที่ที่ 98 kPa กรองเป็นเวลา 20 นาที ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ก่อนกรองและในเพอมิเอท โดยวิธี Lowry และคณะ (1951) (ภาคผนวก ข.)

4.1.2 การหาค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันของแผ่นกรองในการกักน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อเดซิลิตร ปริมาตร 3 ลิตร ทำการทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 4.1.1 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายน้ำตาลกลูโคสก่อนกรองและในเพอมิเอท โดยวิธี Somogyi - Nelson

5. การทดลองใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลัง

5.1 การทดลองใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 30 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นด่าง 5.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 3,000 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างปริมาณ 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยาไปผ่านเครื่องอัลทรา-ฟิลเทรชัน โดยควบคุมความดันเฉลี่ยในเครื่องกรองให้คงที่ที่ 98 kPa ควบคุมอัตราการไหลผ่านผิวหน้าแผ่นกรองให้คงที่ที่ 130 มิลลิลิตรต่อวินาที และควบคุมอุณหภูมิในถังหมักให้ได้ 50 ± 0.5 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำหล่อเย็น เติมบัฟเฟอร์ความเป็นกรดด่าง 5.0 ลงในถังหมัก ด้วยอัตราเร็วเท่ากับปริมาตรส่วนที่กรองได้ เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้ที่เวลา 60, 90, 120, 180 และ 240 นาที บันทึกปริมาตรส่วนที่กรองได้ นำตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson

5.2 การทดลองใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส

ทำการย่อยสารละลายกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 5 กรัมต่อเดซิลิตร ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้น 1,428 MWU ต่อมิลลิลิตร ผสมกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 1.05 DU ต่อมิลลิลิตร และเซลลูเลสความเข้มข้น. 77.4 NCU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตรอย่างละ 30 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 ปริมาตรสุทธิของสารละลายปฏิกิริยาเท่ากับ 3,000 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างปริมาณ 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 และ 180 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยาไปผ่านเครื่องอัลทราฟิลเทรชัน โดยควบคุมความดันเฉลี่ยในเครื่องกรองให้คงที่ที่ 98 kPa ควบคุมอัตราการไหลผ่านผิวหน้าแผ่นกรองให้คงที่ที่ 130 มิลลิลิตรต่อวินาที และควบคุมอุณหภูมิในถังหมักให้ได้ 50 ± 0.5 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำหล่อเย็น เติมบัฟเฟอร์ความเป็นกรดด่าง 5.0 ลงในถังหมัก ด้วยอัตราเร็วเท่ากับปริมาตรส่วนที่

กรองได้ เก็บตัวอย่างในถังหมักและส่วนที่กรองได้ที่เวลา 210, 240, 300 และ 360 นาที บันทึกปริมาตรส่วนที่กรองได้ นำตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Somogyi - Nelson