



การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดและการทำผงอะมิโนไนโตรเจนแบบพ่นฝอยจากไขมันสำปะหลัง



โดย

นางสาวศิรดา ทรัพย์เจริญดี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ แผนก ก แบบ ก 2

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดและการทำผงอะมิโนไนโตรเจนแบบฟอยจากไขมัน
สำหรับ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ แผน ก แบบ ก 2

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

OPTIMIZATION OF EXTRACTING AND SPRAY DRYING AMINO NITROGEN
POWDER FROM CASSAVA LEAVES.



By
Miss Sirada SUBJALEARNDEE

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science BIOTECHNOLOGY
Department of BIOTECHNOLOGY
Academic Year 2025
Copyright of Silpakorn University

650920058 : เทคโนโลยีชีวภาพ แผน ก แบบ ก 2

นางสาว ศิรดา ทรัพย์เจริญดี: การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดและการทำผงอะมิโนไนโตรเจนแบบพ่นฝอยจากไขมันสำปะหลัง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นาฏระพี แซนเซซ

ไขมันสำปะหลังถือเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ได้รับการยอมรับในการหมักยีสต์ เพราะว่ามีโปรตีนมากถึง 30% และการสกัดไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลังจะต้องใช้วิธีทางเคมีกายภาพ ซึ่งถ้าหากการสกัดนั้นมีความรุนแรงมากก็อาจส่งผลต่อการสกัดได้ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันสำปะหลังให้ได้ความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนมากที่สุด และเพื่อผลิตผงจากของเหลวสกัดไขมันสำปะหลัง (CELP) ผ่านกระบวนการพ่นฝอย จากนั้นจะนำ CELP ไปเปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนทั่วไป (YM) ในการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5196 โดยใช้การออกแบบการทดลอง Placket-Burman Design (PBD) และ Face Central Composite Design (FCCD) ร่วมกับ Response Surface Methodology (RSM) พบว่าสภาวะในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลังที่ดีที่สุดนั้นคือเวลาในการสกัด 20 นาที, ปริมาณของแข็ง 40%, ปริมาณของการสกัด 150 mL โดยที่ใช้ขนาดอนุภาค 212 μm และอุณหภูมิ 120°C ซึ่งภายใต้เงื่อนไข ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการทำนายโดยโปรแกรม Design expert คือ 209 mg of N และเมื่อเทียบกับผลการทดลองอยู่ที่ 221 mg of N ต่างกันอยู่ 6% และเมื่อนำน้ำสารสกัดไปผลิตเป็นผง CELP โดยใช้สภาวะที่ดีที่สุดในการทำแห้งคือ อุณหภูมิอากาศเข้า 140°C, อัตราการไหล 3 mL/min และความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินที่ 12.5% พบว่า ได้ผง CELP จากการทำนายที่ 19.2 mg of N/g of powder ในขณะที่เมื่อทดลองจริงได้ 20.88 mg of N/g of powder ซึ่งแตกต่างกันที่ 8% จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอุณหภูมิอากาศเข้าและอัตราการไหลของฟีดมีอิทธิพลเชิงบวกต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในผง ในขณะที่ความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินมีผลกระทบเชิงลบ นอกจากนี้ยังพบว่า ผง CELP มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม โดยมีค่ากิจกรรมของน้ำอยู่ที่ 0.295 ความสามารถในการละลาย 99.3% เมื่อนำไปหมักเพื่อให้ได้เอทานอลหลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง พบว่า สภาวะที่มี CELP ได้เอทานอลมากกว่าสภาวะ YM ถึง 6.25% ภายใต้ความเข้มข้นของกลูโคสและไนโตรเจนที่เท่ากัน งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าการหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดและการทำแห้งแบบพ่นฝอยนี้ ทำให้สามารถนำสิ่งเหลือทิ้งจากการเกษตร มาใช้ประโยชน์มากที่สุด ทำการเพิ่มคุณค่า โดยนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีคุณภาพสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเทคโนโลยีชีวภาพต่อไปได้



650920058 : Major BIOTECHNOLOGY

Miss Sirada SUBJALEARNDEE : Optimization of Extracting and Spray drying Amino Nitrogen Powder from Cassava leaves. Thesis advisor : Assistant Professor Nardrapee Sanchez, Ph.D.

Cassava leaves, containing up to 30% protein by weight, are effective nitrogen sources for yeast fermentation. However, extracting nitrogen components from cassava leaves requires physiochemical methods, where extraction severity can impact nitrogen release. This study aims to optimize the extraction conditions for cassava leaves to maximize total amino nitrogen yield and subsequently produce Cassava Leaf Extraction Liquid Powder (CELP) via spray drying. The CELP was then compared with general nitrogen sources in yeast malt (YM) media for ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5196. Using Plackett-Burman Design (PBD) and Face Central Composite Design (FCCD), along with Response Surface Methodology (RSM), the optimized extraction condition was determined. This condition included a 20-minute extraction time, 40% solid loading, and 150 mL extraction volume. While a particle size of 212 μm and a temperature of 120 $^{\circ}\text{C}$ were fixed. Under this condition, the predicted nitrogen yield was 209 mg of N, while the actual yield was 221 mg of N, resulting in a 6% difference. The optimized CELP production condition was subsequently obtained, with spray drying parameters set to an inlet air temperature of 140 $^{\circ}\text{C}$, a feed flow rate of 3 mL/min, and a maltodextrin concentration of 12.5%. This resulted in a nitrogen yield of 19.2 mg of N/g of powder, which is 8% lower than the actual yield of 20.88 mg of N/g of powder. Statistical analysis revealed that inlet air temperature and feed flow rate positively influenced nitrogen concentration in the powder, while maltodextrin concentration had a negative impact. The CELP exhibited favorable physiochemical properties, including a water activity of 0.295 and a solubility of 99.3%. In ethanol fermentation, the CELP media yielded 6.25% more ethanol than the YM media under equivalent glucose and nitrogen concentrations after 24 h. This study demonstrated that optimizing extraction and spray drying conditions led to the effective maximization of agricultural waste utilization as a valuable nitrogen source for biotechnology applications.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาระดับปริญญาโทมหาบัณฑิตในหัวข้อการหาสถานะที่ดีที่สุดในการสกัดและการทำผงอะมีโนไนโตรเจนแบบพ่นฝอยจากไบมันสำปะหลัง

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นาฏระพี แซนเซช อาจารย์ที่ปรึกษา งานวิจัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ความเข้าใจในระหว่างการทำงานวิจัย แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น ระหว่างการทดลอง พร้อมทั้งเสนอแนะแนวทางในการทำงานวิจัย ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ ถูกต้องและสมบูรณ์ และให้กำลังใจในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วง รวมถึงการร่วมฝึกซ้อมการ นำเสนอวิทยานิพนธ์ เพื่อให้สามารถนำเสนองานวิจัยนี้ได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ เป็นอย่างสูง

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พิมพ์ชนก จตุรพิริย์ และ อาจารย์ ดร.ชลเทพ อุสาคุ ที่ ให้คำแนะนำ และกรุณาเสียสละเวลามาเป็นกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้เป็นอย่างสูง

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เที้ยงธรรม จาก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ไบมันสำปะหลัง

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาววรรณ ถิ่นทองโอบ นื่องผู้ร่วมงานวิจัยที่คอยช่วยเหลือและร่วม แก้ปัญหาในการทำงานวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.อดิกร ปัญญา หัวหน้านักวิจัยของทางสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ เครื่อง Spray drying ตลอดจนขอขอบคุณ คุณสมภพ บุญพวง และ คุณดนัย เจริญสุข ผู้ช่วยสอนใช้งานเครื่องมือ จนสามารถทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

และสุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณบิดา-มารดาและ ดร. นครินทร์ ทรัพย์เจริญดี พี่ชายของผู้วิจัย ที่คอยเป็นกำลังใจ ทั้งยังช่วยสนับสนุนการทดสอบ SEM อีกด้วย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในพระคุณของทุกท่านอย่างมาก

ศิรดา ทรัพย์เจริญดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ฌ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	2
ขอบเขตการศึกษา.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ใบมันสำปะหลัง (Cassava leaves).....	4
ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose).....	4
โปรตีนในเซลล์พืช.....	5
การสกัด (Extraction).....	5
การออกแบบการทดลอง (Design Of Experiment: DOE).....	5
1. การออกแบบ Plackett Burman Design (PBD).....	5
2. การออกแบบ Central Composite Design (CCD).....	7
3. Response Surface Methodology (RSM).....	7
การทำแห้งด้วยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying).....	9

บทที่ 3 วิธีกรดำเนินงานวิจัย	13
ส่วนที่ 1 การเตรียมและหองค์ประกอบของไขมันสำปะหลัง	13
1. การเตรียมไขมันสำปะหลัง	13
2. การหาส่วนประกอบโครงสร้างของไขมันสำปะหลัง	14
2.1 การสกัดด้วยน้ำ (Extractive in water).....	14
2.2 การสกัดด้วยเอทานอล (Extractive in ethanol).....	15
2.3 การหาลิกนินและน้ำตาลโครงสร้างในไขมันสำปะหลัง	15
2.4 การหาเถ้าในไขมันสำปะหลัง.....	16
ส่วนที่ 2 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันสำปะหลัง.....	17
1. การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment: DOE).....	17
1.1 การออกแบบ Plackett Burman Design (PBD).....	17
1.2 การออกแบบ Face Central Composite Design (FCCD).....	19
2. การทำการสกัดด้วยน้ำร้อน (Liquid Hot Water Extraction: LHW).....	20
3. การวัดปริมาณ Amino nitrogen	21
4. การหาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากไขมันสำปะหลัง	21
4.1 การหาปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (Total amino acids).....	21
4.2 การหาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในน้ำสกัด (Free amino acids)	22
ส่วนที่ 3 การผลิตผงอะมิโนไนโตรเจนโดยการพ่นฝอย	22
1. การทำแห้งด้วยเครื่อง Spray dryer.....	22
2. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติของผงแห้งที่ได้	24
3. ตรวจสอบคุณสมบัติของผงอะมิโนไนโตรเจน (Cassava leaf Extraction Liquid Powder	25
(CELP)) ที่ได้ในการเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอทานอลจาก	
ยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5196	25

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง.....	27
ส่วนที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบในไขมันสำปะหลัง.....	27
1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในไขมันสำปะหลัง.....	27
ส่วนที่ 2 หาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันสำปะหลัง.....	28
1. ผลการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลัง ด้วยแผนการทดลองแบบ Plackett–Burman (PBD)	28
2. ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่คัดเลือกได้ ด้วยวิธีพื้นผิว ตอบสนอง (Response surface methodology; RSM).....	29
2.1 ผลการวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสม	30
2.2 ผลการพิจารณาความถูกต้องของแบบจำลอง (Model)	31
2.3 ผลค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination).....	32
2.4 ผลการสร้างสมการทำนายค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน.....	33
2.5 ผลการสร้างพื้นผิวตอบสนองของค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน.....	34
2.6 ผลการวิเคราะห์การหาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากไขมันสำปะหลัง	34
ส่วนที่ 3 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการทำแห้งแบบพ่นฝอยจากสารสกัดไขมันสำปะหลัง	36
1. ผลการศึกษาปัจจัยต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จาก CLEP ด้วยวิธีพื้นผิว ตอบสนอง (Response surface methodology; RSM).....	36
1.1 ผลการวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสม	37
1.2 ผลการพิจารณาความถูกต้องของแบบจำลอง (Model)	38
1.3 ผลค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination).....	39
1.4 ผลการสร้างสมการทำนายค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน	40
1.5 การสร้างพื้นผิวตอบสนองของค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน.....	41
2. ผลการศึกษาคูณสมบัติของผงที่ได้จากทำ Spray drying	43
3. ผลการศึกษาการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5196 ใน	44

อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 6 สภาวะ 44

4. ผลการศึกษาการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ glucose (mg/mL) และความเข้มข้น
ของ ethanol (mg/mL) ในการหมักทั้งหมด 6 สภาวะ 45

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 47

รายการอ้างอิง 2

ประวัติผู้เขียน 8



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แผนมาตรฐานสำหรับเมตริกแถวแรกในการทดลองที่คัดเลือก N-1 ปัจจัยในการทดลอง N ครั้ง	6
ตารางที่ 2 ตารางการทดลองแบบ Plackett-Burman ที่มีจำนวน 7 ปัจจัยและสิ่งทดลองทั้งหมด 8 การทดลอง	6
ตารางที่ 3 ตารางแสดงตัวแปรที่สนใจในการออกแบบ Plackett Burman design	18
ตารางที่ 4 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman design โดยแสดง Actual (Code) ของตัวแปร	18
ตารางที่ 5 ตารางแสดงตัวแปรที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อความเข้มข้นของกรดอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการออกแบบ Plackett Burman	19
ตารางที่ 6 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design โดยแสดง Space type, Actual และ Code ของตัวแปร	19
ตารางที่ 7 ตารางแสดงตัวแปรที่ใช้ในการออกแบบ Central Composite Design	22
ตารางที่ 8 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design โดยแสดง Space type, Actual และ Code ของตัวแปร	23
ตารางที่ 9 ผลขององค์ประกอบของไขมันสำหรับ.....	27
ตารางที่ 10 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Plackett-Burman จำนวน 12 แผนการทดลอง	28
ตารางที่ 11 แสดงค่า Model, factors, regression coefficient, P-values และ Confidence level ของความเข้มข้นของไนโตรเจนจากแผนการทดลองแบบ Plackett-Burman.....	29
ตารางที่ 12 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Face Centered Central Composite ด้วย 3 ปัจจัย	29
ตารางที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ Fit Summary ในแต่ละแบบจำลอง	30
ตารางที่ 14 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนอง.....	32

ตารางที่ 15 ความคลาดเคลื่อนของค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficients) ในรูปของ code factors สำหรับ แสดงสมการถดถอยแบบเส้นตรง (Linear Model).....	33
ตารางที่ 16 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากไขมันสำปะหลัง	35
ตารางที่ 17 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Face-Central Composite ด้วย 3 ปัจจัย....	36
ตารางที่ 18 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนอง.....	39
ตารางที่ 19 ความคลาดเคลื่อนของค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficients) ในรูปของ Code factors สำหรับ แสดงสมการถดถอยแบบกำลัง (Quadratic model).....	41



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 89.....	4
ภาพที่ 2 Model ในการออกแบบ Central Composite Design.....	7
ภาพที่ 3 กราฟพื้นผิวตอบสนอง (Response surface).....	8
ภาพที่ 4 ขั้นตอนในการทำการวิจัยโดยภาพรวม.....	13
ภาพที่ 5 สวนมันสำปะหลัง ณ มหาวิทยาลัยเกษตร วิทยาเขตกำแพงแสน.....	14
ภาพที่ 6 ใบมันสำปะหลังตากแดด.....	14
ภาพที่ 7 static Parr reactor 300-mL.....	20
ภาพที่ 8 กรองสุญญากาศใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ในกรวย Buchner.....	21
ภาพที่ 9 เครื่อง Spray dryer รุ่น Buchi B190 Mini Spray Dryer.....	24
ภาพที่ 10 กราฟกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals).....	31
ภาพที่ 11 กราฟระหว่างค่าทำนายกับค่าการทดลองจริง (Predicted vs. Actual).....	31
ภาพที่ 12 กราฟ 3D จากพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่างแต่ละปัจจัยกับ Y: ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (mg of N) โดย a) X1 : Solid loading (%) กับ X2 : Extraction volume (mL) b) X2 : Extraction volume กับ X3 : Duration time (min) และ c) X1 : Solid loading (%) กับ X3 : Duration time (min).....	34
ภาพที่ 13 ตัวอย่างผงที่ได้จากการ Spray drying ตามการออกแบบการทดลอง Central Composite Design.....	37
ภาพที่ 14 กราฟกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals).....	38
ภาพที่ 15 กราฟระหว่างค่าทำนายกับค่าการทดลองจริง (Predicted vs. Actual).....	39
ภาพที่ 16 กราฟพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่าง Inlet air temperature กับ Maltodextrin ต่อค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน.....	42

ภาพที่ 17 กราฟพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่าง Feed flow rate กับ Maltodextrin ต่อค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน..... 42

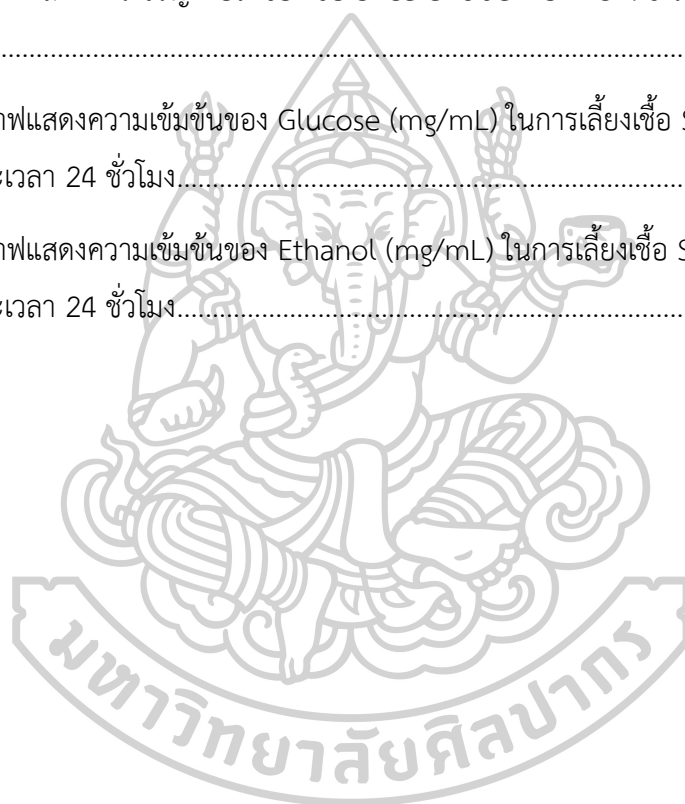
ภาพที่ 18 ภาพถ่าย SEM ของผงสารสกัดไขมันสำปะหลังจากการอบแห้งแบบพ่นฝอย กำลังขยาย 200x..... 43

ภาพที่ 19 ภาพถ่าย SEM ของผงสารสกัดไขมันสำปะหลังจากการอบแห้งแบบพ่นฝอย กำลังขยาย 1000x..... 43

ภาพที่ 20 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง 44

ภาพที่ 21 กราฟแสดงความเข้มข้นของ Glucose (mg/mL) ในการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 45

ภาพที่ 22 กราฟแสดงความเข้มข้นของ Ethanol (mg/mL) ในการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 46



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ไขมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบของมันสำปะหลังที่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย จากข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร พบว่า เกษตรกรปลูกมันสำปะหลังเพิ่มจากปี 2563 ที่ปลูก 58 แสนครัวเรือน เป็น 76 แสนครัวเรือนในปี 2564 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) มันสำปะหลังใช้เวลาประมาณ 9-12 เดือนหลังจากการเพาะปลูก (มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2552) และเมื่อถึงฤดูเก็บเกี่ยว ไขมันสำปะหลังจะเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากอย่างน่าเสียดาย เนื่องจากไขมันสำปะหลังอุดมไปด้วยโปรตีนประมาณ 20-30% (Boundy-Mills et al., 2019) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น อาหารสัตว์เพื่อเสริมสร้างสุขภาพสัตว์ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนั้นยังไม่มีวิธีที่จะนำไปใช้ให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นว่าการใช้วิธีการสกัดเพื่อนำอะมิโนไนโตรเจนที่อยู่ในไขมันสำปะหลังออกมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมัก Yeast แทนการใช้อาหาร YM เป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรไปใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด (Karuna et al., 2022)

ภายในไขมันสำปะหลังนั้นมีองค์ประกอบหลากหลาย เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำหน้าที่ช่วยสร้างความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ (Subramaniam et al., 2023) ซึ่งเป็นส่วนที่ขัดขวางการสกัดเพื่อนำโปรตีนในใบออกมาใช้ การสกัดจึงเป็นวิธีสำคัญมากเพื่อกำจัดองค์ประกอบเหล่านั้นออกไป โดยวิธีการในการสกัดที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย เช่น การสกัดด้วยน้ำร้อน การใช้ด่างอะคาไลน์ และใช้กรด จากงานวิจัยที่ผ่านมา ที่ได้ใช้ไขมันสำปะหลังเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมักเพื่อให้ได้เอทานอล ได้ทดสอบการสกัดด้วยวิธีต่างๆ เช่น ใช้น้ำร้อน, ใช้น้ำด่างอะคาไลน์, และใช้กรด (Karuna et al., 2022) ผลการวิจัยพบว่าการใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Liquid hot water) สามารถดึงโปรตีนในไขมันสำปะหลังออกมาได้มากที่สุด และเมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักยีสต์ เพื่อสามารถผลิตเอทานอล พบว่า สารสกัดจากไขมันสำปะหลังกระตุ้นให้ยีสต์ผลิตเอทานอลได้มากกว่าชุดคอนโทรลที่เลี้ยงในสูตรอาหาร Yeast malt (YM) ซึ่งมีแหล่งไนโตรเจนหลักจากสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ถึง 5 เท่า

อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดอะมิโนไนโตรเจนออกมาจากไขมันสำปะหลังต้องมีความเหมาะสมเนื่องจากหากใช้สภาวะที่รุนแรงมากเกินไปอาจไปทำลายโครงสร้างและคุณสมบัติของโปรตีนและอะมิโนไนโตรเจนที่ได้ แต่หากอ่อนเกินไปก็จะทำให้ได้อะมิโนไนโตรเจนออกมาน้อย ไม่คุ้มค่า ผู้วิจัยจึงสนใจในการหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนออกจากไขมันสำปะหลัง ด้วยวิธีการ

ออกแบบการทดลองทางสถิติ โดยใช้วิธีการออกแบบของ Plackett-Burman Design เพื่อคัดกรองตัวแปรที่มีผลต่อการสกัด จากนั้นใช้ Central Composite Design เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนออกมาให้ได้มากที่สุด

หลังจากสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากใบมันสำปะหลังออกมาได้แล้วในสภาพของเหลว และต้องการที่จะนำสารสกัดที่ได้ไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในกระบวนการหมักให้มีความสะดวกมากขึ้นนั้นทางผู้วิจัยจึงสนใจที่จะแปรสภาพจากน้ำสกัดให้เป็นผงแห้ง (powder) ด้วยกระบวนการพ่นฝอย เนื่องจากเป็นกระบวนการที่สามารถทำได้รวดเร็ว นำไปใช้ได้สะดวกและเก็บรักษาได้นาน และยังสามารถพัฒนาไปถึงขั้นเชิงพาณิชย์ได้ต่อไปได้ การที่จะให้ได้ผงคุณภาพที่ดีนั้นควรมี Water activity ต่ำ ($a_w < 0.6$) เพื่อให้เหมาะสำหรับการเก็บรักษา ส่วนคุณสมบัติทางกายภาพของผงที่ผลิตจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารทำให้แห้ง (Maltodextrin), อุณหภูมิอากาศขาเข้า และอัตราการไหลขาเข้า (feed rate) (Aragüez-Fortes et al., 2019) ดังนั้นปัจจัยเหล่านี้จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องศึกษาเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพสูงมากที่สุด

วัตถุประสงค์

จุดประสงค์หลักของงานวิจัยนี้ คือเพื่อหาวิธีสกัดอะมิโนไนโตรเจนที่อยู่ในใบมันสำปะหลังออกมาให้ได้มากที่สุด เพื่อนำไปผลิตเป็นผงแห้งที่สะดวกต่อการใช้งานและเก็บรักษา ดังนั้นจึงสามารถแบ่งจุดประสงค์ย่อยออกได้เป็นดังนี้

1. เพื่อหาปัจจัยที่สำคัญในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากใบมันสำปะหลังให้ได้มากที่สุด โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman Design คัดเลือกปัจจัยที่สนใจทั้งหมด 5 ปัจจัย ให้เหลือ 3 ปัจจัย
2. เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถสกัดอะมิโนไนโตรเจนออกมาจากใบมันสำปะหลังได้มากที่สุด โดยนำปัจจัยที่ได้จากข้อ 1 ไปออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design
3. เพื่อผลิตอะมิโนไนโตรเจนจากใบมันสำปะหลังจากสภาวะที่ได้ในข้อ 2
4. เพื่อผลิตผงใบมันสำปะหลัง (Cassava Leaf Extraction Liquid Powder (CELP)) จากน้ำสกัดจากใบมันสำปะหลังด้วยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying) โดยการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design
5. เพื่อตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติของผง CELP ที่ได้
6. เพื่อตรวจสอบความสามารถของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการนำไนโตรเจนจากผง CELP ที่ได้ไปเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับเลี้ยงเชื้อเทียบกับอาหาร Yeast malt (YM)

ขอบเขตการศึกษา

1. การออกแบบการทดลองเพื่อคัดกรองปัจจัยที่ส่งผลต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนในไขมันสำปะหลัง ด้วยวิธี Plackett-Burman Design โดยปัจจัยที่สนใจทั้งหมด 5 ปัจจัย ได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (Duration), ปริมาณของแข็งเริ่มต้น (Solid loading), อุณหภูมิ (Temperature), ปริมาตรของการสกัด (Extraction volume) และขนาด (Particle Size)

2. เลือกปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดอะมิโนไนโตรเจนในไขมันสำปะหลังจากวิธี Plackett Burman นำมาหาสภาวะในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลังที่ดีที่สุด (Optimization) โดยใช้วิธี Respond Surface Methodology (RSM) หลังจากออกแบบการทดลองด้วย Central Composite Design

3. หาสภาวะที่ดีที่สุดในการทำแห้งด้วยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying) ด้วยวิธี RSM หลังจากออกแบบการทดลองด้วย Central Composite Design โดยมีปัจจัยที่เลือกศึกษา 3 ชนิด คือ ความเข้มข้นของ Maltodextrin ซึ่งเป็นสารช่วยให้แห้ง, อุณหภูมิอากาศขาเข้า, และอัตราการไหลขาเข้า (feed rate) (Aragüez-Fortes et al., 2019)

4. ผลิตผง CELP โดยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying) ด้วยสภาวะที่ดีที่สุด แล้วนำการตรวจสอบคุณสมบัติของผงและคุณภาพของอะมิโนไนโตรเจน

5. ทดสอบประสิทธิภาพของ CELP ในการเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลังได้มากที่สุด
2. ได้สภาวะที่ดีที่สุดในการทำแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย
3. ได้ผง CELP ที่มีคุณภาพและสามารถเก็บรักษาได้ในระยะเวลาอันยาวนานเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับเลี้ยงยีสต์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ใบมันสำปะหลัง (Cassava leaves)

เป็นส่วนหนึ่งของต้นมันสำปะหลัง โดยมีลักษณะของใบเป็นแบบใบเดี่ยว (simple leaf) การเกิดของใบจะหมุนเวียนรอบลำต้นมีการจัดเรียงตัวค่อนข้างคงที่ ก้านใบอาจมีสีเขียวหรือสีแดง ตัวใบหรือแผ่นใบจะเว้าเป็นหยักลึกเป็นแฉก จำนวนหยักมีตั้งแต่ 3-9 หยักที่โคนก้านใบติดกับลำต้นมีหูใบ ดังภาพที่ 1

โดยพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 89 เป็นพันธุ์ที่สามารถต้านทานโรคใบจุดปานกลาง ยอดอ่อนสีม่วงอ่อน ก้านใบสีเขียวอมม่วง ลำต้นสีเขียวเงิน (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2558) มันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ทั้งบริโภคเป็นอาหารโดยตรง สำหรับใบมันสำปะหลังสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ ในรูปใบสดตากแห้ง ปั่นผสมกับอาหารเลี้ยงสัตว์และเป็นอาหารผสมได้ เนื่องจากเป็นวัตถุดิบเกษตรที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 20-30% (Boundy-Mills et al., 2019)



ภาพที่ 1 ใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 89

ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose)

ใบมันสำปะหลังคือลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้างของผนังเซลล์ ในอัตราส่วนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุ ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic materials) โดยทั่วไปพบเซลลูโลสร้อยละ 40-60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 15-30 (Karuna et al., 2022; Lee et al., 2008; Mota et al., 2021)

โปรตีนในเซลล์พืช

ภายในของ plasma membrane ของเซลล์พืชนั้นจะมีโปรตีนอยู่สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ Integral protein ที่เป็นโปรตีนที่ไม่มีประจุ แทรกอยู่บริเวณ lipid bilayer ได้ ทำให้เกิดรูที่น้ำและไอออนสามารถผ่านเข้าออกได้ โปรตีนอีกประเภท คือ Peripheral protein เป็นโปรตีนที่มีประจุและชอบน้ำ ดังนั้นจึงอยู่ชั้นนอกของชั้นไขมัน ซึ่งหน้าที่ของโปรตีนบนเยื่อหุ้มเซลล์นั้น คือ เป็นโปรตีนสำหรับขนส่ง (Transport protein), โปรตีนรับสัญญาณ (Receptor protein) และโปรตีนรูปของเอนไซม์ (Enzymatic protein) (Josic & Clifton, 2007)

การสกัด (Extraction)

การสกัดด้วยน้ำร้อน (Liquid hot water : LHW) เป็นกระบวนการสกัดด้วยความร้อน ไม่ต้องการสารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่อาศัยความดันเพื่อควบคุมสถานะของน้ำในสถานะของเหลว อุณหภูมิที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 160-240°C โดยจะส่งผลต่อเอมิเซลลูโลส สารที่ได้หลังจากการสกัดจะอยู่ในสภาพแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (slurry) ส่วนที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลส ส่วนของเหลวส่วนใหญ่เป็นเอมิเซลลูโลส และเกิดน้ำตาลบางส่วน ทั้งนี้ควรมีการปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 4-7 เนื่องจากว่าในช่วงดังกล่าวทำให้เอมิเซลลูโลสยังคงอยู่ในสภาพของโอลิโกเมอร์ (oligomeric form) ช่วยลดปัญหาการเกิดรวมตัวเกิดเป็นพอลิเมอร์ใหม่อีกครั้ง (Pawongrat, 2015) ซึ่งข้อดีของการสกัดด้วยวิธีนี้คือ ไม่เกิดการสลายตัวของสารคาร์โบไฮเดรต และไม่เกิดการกัดกร่อนอุปกรณ์ แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือต้องใช้น้ำเป็นจำนวนมาก ซึ่งทำได้ยากในระดับอุตสาหกรรม (Maurya et al., 2015) มีรายงานการวิจัยของ (Karuna et al., 2022) ได้ทำการสกัดไขมันสำปะหลังด้วยน้ำร้อนเพื่อหากลุ่มอะมิโนไนโตรเจนของกรดอะมิโนอิสระที่เป็นของเหลว ซึ่งสามารถดึงกรดอะมิโนไนโตรเจนออกจากมันสำปะหลังได้มากที่สุด (271 ± 25 mg of N/L) เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยต่างและกรด

การออกแบบการทดลอง (Design Of Experiment: DOE)

งานวิจัยนี้เริ่มต้นวางแผนโดยใช้ Plackett Burman Design (PBD) เพื่อคัดกรองหาปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน ตามด้วย Central Composite Designs (CCD) เพื่อหาสถานะที่ดีที่สุดต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การออกแบบ Plackett Burman Design (PBD)

(Plackett & Burman, 1946) ได้เสนอการออกแบบการทดลอง เป็นการวิเคราะห์เพื่อคัดกรองหาปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อค่าตอบสนองที่ต้องการจากปัจจัยจำนวนมาก (Abd El-Hamid et al., 2022; Bagewadi et al., 2017; Plackett & Burman, 1946) โดยการออกแบบการ

ทดลอง Plackett-Burman ในการทดลองจะใช้ 2^k factorial arrangement เป็นพื้นฐานโดยมีแบบแผนมาตรฐาน โดยจะใช้สัญลักษณ์ (+) คือระดับสูง และ (-) คือระดับต่ำ ดังตารางที่ 1 และในการกำหนดสิ่งทดลองแรกนั้นจะใช้แบบแผนมาตรฐาน โดยหากมีทั้งหมด 7 ปัจจัย (k) จะเริ่มต้นเมทริกซ์ด้วยจำนวนการทดลอง (N) เท่ากับ 8 จากนั้นสิ่งทดลองต่อไปจะกำหนดในลักษณะโครงสร้างวน (cyclic construction) นั่นคือ การนำสัญลักษณ์สุดท้ายของ Initial block ขึ้นมาลำดับหน้าสุด และวนไปจนครบ N-1 รอบ ส่วนสิ่งทดลองสุดท้ายจะใช้ระดับต่ำสุดทุกปัจจัย (Plackett R L, 1946) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แผนมาตรฐานสำหรับเมตริกแถวแรกในการทดลองที่คัดเลือก N-1 ปัจจัยในการทดลอง N ครั้ง

N	ปัจจัยที่ต้องกลั่นกรอง, k=N-1						
8	+	+	+	-	+	-	-
12	+	+	-	+	+	+	-
16	+	+	+	+	-	+	-
24	+	+	+	+	+	-	+

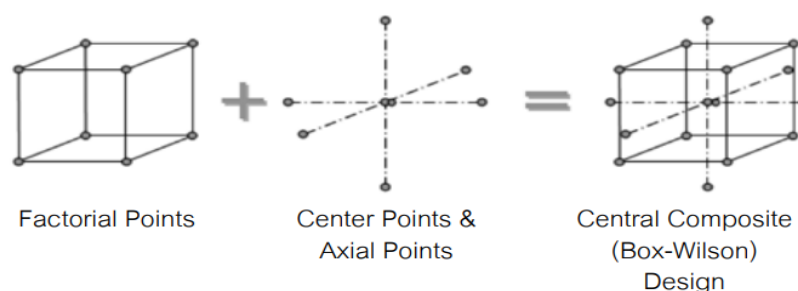
ตารางที่ 2 ตารางการทดลองแบบ Plackett-Burman ที่มีจำนวน 7 ปัจจัยและสิ่งทดลองทั้งหมด 8 การทดลอง

สิ่งทดลอง (treatment)	ปัจจัยที่ต้องกลั่นกรอง (factor)						
	A	B	C	D	E	F	G
1	+	-	-	+	-	+	+
2	+	+	-	-	+	-	+
3	+	+	+	-	-	+	-
4	-	+	+	+	-	-	+
5	+	-	+	+	+	-	-
6	-	+	-	+	+	+	-
7	-	-	+	-	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-

2. การออกแบบ Central Composite Design (CCD)

การออกแบบการทดลองด้วยวิธี Central Composite Design (หรือ box-wilson design) เป็นการทดลองที่มีปัจจัยที่ต้องการศึกษาปัจจัยละ 3 ระดับ (แทนด้วยสัญลักษณ์ $-1, 0, +1$) แต่แทนที่จะปรับปัจจัยแบบ Full Factorial กลับเลือกบาง Runs หรือบางสภาวะการทดลองที่จำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลเพียงพอต่อการสร้างแบบจำลองทางสถิติ โดย Model ที่ใช้ในการออกแบบการทดลองประกอบไปด้วย 3 ส่วน (Bezerra et al., 2008; Nassiri Mahallati, 2020) ดังนี้

1. Factorial points (2^k) เป็นการนำแผนการทดลองแฟกทอเรียลจำนวน k ปัจจัย ซึ่งแต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ คือ ที่ระดับ $+1$ และ -1 มาเป็นส่วนหนึ่งของการทดลอง
 2. Axial points ($2k$) กำหนดค่าปัจจัยปัจจัยตัวใดตัวหนึ่งขณะที่ให้ค่าปัจจัยอื่นอยู่ที่ค่ากลาง
 3. Center points (C_p) กำหนดค่าของปัจจัยปัจจัยทุกตัวที่ค่ากลาง (หรือค่า 0)
- จำนวนจุดในการออกแบบ CCD ทั้งหมด (C_p) จะเกิดจากการรวมกันของ Factorial points, Axial points และ Center points นั่นคือ $N = 2^k + 2k + C_p$ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 Model ในการออกแบบ Central Composite Design

3. Response Surface Methodology (RSM)

วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองเป็นเทคนิคทางด้านคณิตศาสตร์และสถิติสำหรับการสร้างแบบจำลองเชิงประจักษ์และใช้ประโยชน์จากแบบจำลองด้วยการออกแบบและการวิเคราะห์การทดลองที่เหมาะสม ซึ่งจะต้องอธิบายข้อมูลของปัจจัย มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างการคาดการณ์ทางสถิติสามารถนำไปใช้ได้ดีเมื่อค่าตอบสนองที่สนใจได้รับอิทธิพลจากตัวแปรหลายตัว และเพื่อทำนายหาสภาวะที่ดีที่สุดที่จะสกัดได้ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมากที่สุด โดยวิเคราะห์จากความแปรปรวน (ANOVA) โดยพิจารณาจากค่า p -value ของปัจจัยต่างๆ ที่วิเคราะห์ความแปรปรวนได้เปรียบเทียบกับค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด, การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square: R-Sq) เพื่อวิเคราะห์ความเหมาะสมของการทดลองที่ได้จากออกแบบไว้ และวิเคราะห์กราฟ Normal plot เพื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ โดยเทียบระหว่างค่าทำนายที่ได้จากสมการ กับค่าที่ได้จากการทดลองจริง

การหาสถานะที่เหมาะสมของแต่ละตัวแปรจากสมการถดถอย (Regression Model) สำหรับการสร้างสมการทำนายหรือสมการถดถอยปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากปัจจัยที่ใช้ในการสกัด เพื่อทราบค่าการทำนายจากโปรแกรมเมื่อเทียบกับผลการทดลองจริง โดยนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (Actual Code) มาเขียนในสมการที่ 1 พร้อมกับกราฟพื้นผิวตอบสนอง (Response surface) ภาพที่ 3 ที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองกับปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าตอบสนอง

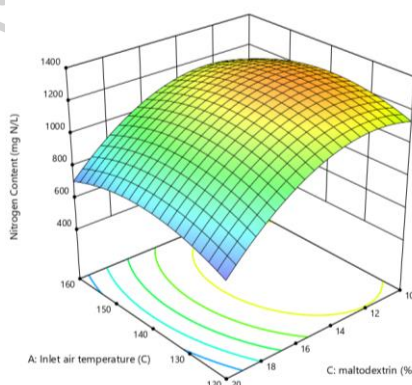
$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j} b_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (1)$$

โดย y คือปัจจัยที่ต้องการ; ค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficient): β_0 คือค่า Intercept หรือค่าคงที่ ซึ่งจะเป็นค่าที่ส่งผลต่อปัจจัย y เมื่อปัจจัย x เป็น 0; b_i คือค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยอิสระ โดยจะเป็นค่าที่จะทำให้ปัจจัย y เปลี่ยนแปลง; x คือปัจจัยอิสระ ซึ่งจะเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปัจจัยที่ต้องการ

ในการหาค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficient) ทำได้โดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยกระบวนการทางคณิตศาสตร์ เพื่อให้ได้ค่าในการสร้างแบบจำลอง สามารถหาได้จากสมการที่ 2 และ 3

$$\beta_0 = \bar{y} - b_i \bar{x} \quad (2)$$

$$b_i = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \quad (3)$$



ภาพที่ 3 กราฟพื้นผิวตอบสนอง (Response surface)

การทำแห้งด้วยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying)

วิธีการทำแห้งด้วยการพ่นฝอย (Spray drying) เป็นวิธีทำแห้งที่ได้รับความนิยม โดยการใช้วิธีนี้เป็นครั้งแรกนั้นใช้กับอุตสาหกรรมนมผงและผงซักฟอก ในศตวรรษที่ 20 ใช้กันอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม, โปรตีนที่สกัดจากพืชและกาแฟ (Wang et al., 2019) ซึ่งข้อดีของการทำแห้งด้วยการพ่นฝอยนั้นคือผงมีประสิทธิภาพ สามารถรักษาคุณสมบัติทางโภชนาการได้ดีและที่สำคัญเป็นกระบวนการที่สามารถทำได้รวดเร็ว โดยใส่สารละลายลงในเครื่องที่มีการให้กระแสร้อนจนทำให้สารละลายที่ถูกพ่นเป็นละอองฝอย จากนั้นระเหยกลายเป็นละอองที่ละเอียดมากและได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในลักษณะผง ซึ่งทำให้ประหยัดพื้นที่จัดเก็บและง่ายต่อการขนส่ง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด (Extraction)

Karuna et al (2022) ได้ศึกษาการใช้ไบโอมันสำปะหลังเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับ *S. cerevisiae* ในการหมักเอทานอล พร้อมเปรียบเทียบกับแหล่งไนโตรเจนทั่วไปในอาหาร Yeast malts (YM) โดยใช้ในการสกัด 3 วิธี คือการสกัดด้วยน้ำร้อน ด่าง และกรดเจือจาง เพื่อสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไบโอมันสำปะหลังด้วยวิธีน้ำร้อน (CLWP) แสดงให้เห็นปริมาณอะมิโนไนโตรเจนสูงสุดที่ 271 ± 25 มิลลิกรัมของไนโตรเจนต่อลิตร และกรดอะมิโนอิสระส่วนใหญ่ใน CLWP คือกรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติก หลังจากหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CLWP จะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ YM มากถึง 5 เท่า เมื่อเทียบกับสถานะที่ไม่มี CLWP ในสถานะที่มีความเข้มข้นของกลูโคสและไนโตรเจนที่เท่ากัน (Karuna et al., 2022)

Suriyachai et al (2020) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดด้วยน้ำร้อน (LHW) ที่เร่งปฏิกิริยาด้วยกรดต่อฟางข้าวโพด เพื่อการไฮโดรไลซิสและผลิตเป็นเอทานอล โดยใช้วิธีการพื้นผิวตอบสนอง ปัจจัยที่ใช้ในการสกัดได้แก่อุณหภูมิ ($120-200^{\circ}\text{C}$) ความเข้มข้นของกรด ($0-1\% \text{ v/v}$) และระยะเวลา ($15-45$ นาที) ต่อผลผลิตกลูโคส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ 162.4°C เป็นเวลา 29.5 นาทีด้วยกรดซัลฟิวริก $0.45\% \text{ v/v}$ ส่งผลให้ผลผลิตกลูโคสสูงสุด 91.05% จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ของเซลลูโลส และในการผลิตเอทานอลโดยแซคคาริฟิเคชันและการหมักพร้อมกัน ส่งผลให้ผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 93.91% (Suriyachai et al., 2020)

Olawunu et al (2014) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดผลิตภัณฑ์โนเซลลูโลสจากชังข้าวโพดที่เป็นของเหลือทิ้งทางแอฟริกาใต้ โดยใช้กระบวนการสกัดด้วยน้ำร้อน (LHW) และการสกัดด้วยด่าง ด้วยการออกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ Central Composite Design (CCD) และ Response Surface Methodology (RSM) ปัจจัยที่ใช้ได้แก่อุณหภูมิ ($150-200^{\circ}\text{C}$) ระยะเวลา

(10–60 นาที) และปริมาณของแข็ง (3–10% w/w) พบว่าได้ผลผลิตผลิตภัณฑ์นาโนเซลลูโลสที่เหมาะสมที่สุดที่ 55.5% ที่อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 60 นาที และ 10% w/w ในการวิเคราะห์สัณฐานวิทยา แสดงให้เห็นว่าพื้นผิวมีรูพรุนและหยาบ การศึกษานี้เผยให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่หลุดออกมาจากนาโนเซลลูโลสสามารถสกัดได้จากซังข้าวโพดโดยใช้การสกัดด้วยน้ำร้อนและต่าง (Olawuni et al., 2024)

Gong *et al* (2023) ได้ศึกษาการสกัดแบบ mild pretreatment สำหรับก้านยาสูบ โดยใช้กรดเจือจางและด่างเจือจางร่วมกัน โดยการหาสภาวะที่ดีที่สุดเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดักชันสูงที่สุด อุณหภูมิการสกัด <math>< 100^{\circ}\text{C}</math> เพื่อผลิตไบโอเอทานอล สำหรับสภาวะที่เหมาะสมอยู่ที่ปริมาณของแข็งในปริมาณสูงถึง 30% หลังการหมักพบว่าสามารถผลิตไบโอเอทานอลได้ 86.88 g/L ผลลัพธ์นี้ให้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับผลกระทบของการสกัดด้วยกรด/ด่างสองขั้นตอนต่อการย่อยสลายเอนไซม์ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ากระบวนการสกัดแบบเสริมฤทธิ์ที่เหมาะสมที่สุดนั้นมีประสิทธิภาพสำหรับการหมักไบโอเอทานอล (Gong et al., 2023)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำแห้งด้วยกระบวนการพ่นฝอย (Spray drying)

Aragüez-Fortes *et al* (2019) ได้ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมของเนื้อฝรั่งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้วิธีการตอบสนองพื้นผิว ปัจจัยที่ใช้ ได้แก่ อุณหภูมิอากาศขาเข้า (130–170°C) และปริมาณมอลโตเดกซ์ทริน (60–75% wb) พบว่าอุณหภูมิอากาศขาเข้าส่งผลต่อผลผลิตผงและกรดแอสคอร์บิก ในขณะที่ปริมาณความชื้น การคั้นน้ำ และการดูดความชื้นได้รับผลกระทบเชิงลบจากปริมาณมอลโตเดกซ์ทริน สภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการอบแห้งเนื้อฝรั่งคือ อุณหภูมิอากาศขาเข้า 148°C และปริมาณมอลโตเดกซ์ทรินอยู่ที่ 75% wb ของเนื้อเยื่อ พารามิเตอร์เหล่านี้ทำให้ได้ผลผลิตผง 67.9% ปริมาณความชื้น wb 4.2% กรดแอสคอร์บิก 90% เวลาการคั้นน้ำ 60 วินาที ความสามารถในการดูดความชื้น 21.7 g ของน้ำ/100 g ของสสารแห้ง และเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาค 9.2 ไมโครเมตร (Aragüez-Fortes et al., 2019)

Arebo *et al* (2023) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตผงมันเทศเนื้อสีส้ม (OFSP) ที่อุดมไปด้วยแหล่งเบต้าแคโรทีนด้วยสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิก โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย และใช้วิธีการออกแบบ Central Composite Design (CCD) ปัจจัยที่ใช้ ได้แก่ อุณหภูมิอากาศขาเข้า (150–190°C) อัตราการไหล (10–20 mL/min) และความเข้มข้นของมอลโตเดกซ์ทริน (5–15%) พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของมอลโตเดกซ์ทรินส่งผลให้ผลผลิตผง ความสามารถในการละลาย และปริมาณเบต้าแคโรทีนของผง OFSP จะเพิ่มขึ้น แต่ค่าความชื้นจะลดลง สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ อุณหภูมิทางเข้า 172.71°C อัตราการไหลของอากาศ 20 mL/min และมอลโตเดกซ์ทริน ความ

เข้มข้น 1% ทำให้ได้ผลผลิตผง OFSP คือ 48.46% โดยมีความสามารถในการละลาย 26.839% เบต้าแคโรทีน 25.823 mg/100 g และความชื้นสัมพัทธ์ 13.862% และมีลักษณะพื้นผิวของอนุภาคผง OFSP เป็นรูปร่างหกเหลี่ยมและมีการจัดเรียงไม่สม่ำเสมอ สรุปได้ว่าผง OFSP ที่สภาวะเหมาะสมที่สุดซึ่งมีเบต้าแคโรทีนสูงสุดและคุณสมบัติทางกายภาพและสามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์สูตรอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Arebo et al., 2023)

Wang et al (2019) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการหาสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตผงจาก Soy Skim ที่ได้จากการบวนการสกัดด้วยน้ำด้วยเอนไซม์ (EAEP) เพื่อผลิตผงแห้งแบบพ่นฝอยที่มีโพลีเปปไทด์สูง ปัจจัยที่ใช้ ได้แก่ อุณหภูมิอากาศขาเข้า (140°C , 160°C , 180°C และ 200°C) อัตราการไหล (3, 6, 9 และ 12 mL/min) และความเข้มข้นของของแข็ง (25%, 30%, 35% และ 40%) ต่อกิจกรรมของน้ำ (aw), ลักษณะสี, ความหนาแน่นรวม, ดัชนีคาร์ล (CI), ดัชนีการละลายน้ำ (WSI), จุดภาคสัญญาณ, การกระจายของเปปไทด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้รับผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญจากพารามิเตอร์การอบแห้งแบบพ่นฝอยที่แตกต่างกัน พบว่าสภาวะการพ่นแห้งส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผงที่มีโพลีเปปไทด์ในปริมาณมาก สภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถผลิตได้โดยการทำให้แห้งด้วยการพ่นแห้งที่อุณหภูมิทางเข้า 160°C อัตราการไหลของอาหาร 6 mL/min และความเข้มข้นของของแข็ง 35% (Wang et al., 2019)

Ma et al (2020) ได้ศึกษาในการซื้อแลคโตบาซิลลัส เบรวิส TCCC 13007 มาผลิตกรดแกมมา-อะมิโนบิวทริก โดยน้ำหมักจะถูกแยกเชื้อ กำจัดสีและกำจัดไออนก่อนการอบแห้งแบบพ่นฝอย และหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมและทำการทดลองปัจจัยเดียว (Single factor) เพื่อเลือกปัจจัยที่มีผลกระทบมากที่สุดจาก 7 ปัจจัยต่อการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่ามอลโตเดกซ์ทรินเป็นตัวช่วยในการอบแห้งที่ดีที่สุดซึ่งช่วยปรับปรุงกระบวนการอบแห้งได้อย่างมีนัยสำคัญ วิธีการตอบสนองพื้นผิวถูกใช้เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดของปัจจัยอุณหภูมิอากาศขาเข้า แรงดันของการพ่น และปริมาณของมอลโตเดกซ์ทริน เพื่อปรับพารามิเตอร์ของกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของสารละลายที่มีแกมมา-อะมิโนบิวทริกให้เหมาะสมที่สุด พบว่า มอลโตเดกซ์ทริน 30% อุณหภูมิอากาศขาเข้า 130°C และแรงดันของการพ่น 0.35 MPa เป็นพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดของการทำให้แห้ง อัตราการเก็บรวบรวมผงจะสูงถึง 62.74% คะแนนรวมอยู่ที่ 85 และปริมาณกรดแกมมา-อะมิโนบิวทริกอยู่ที่ 67.5% และอัตราการฟื้นฟู GABA อยู่ที่ 60.7% ผลลัพธ์เหล่านี้วางรากฐานสำหรับการขยายขนาดการผลิตกรดแกมมา-อะมิโนบิวทริกจากน้ำหมักในระดับอุตสาหกรรมต่อไป (Ma et al., 2020)

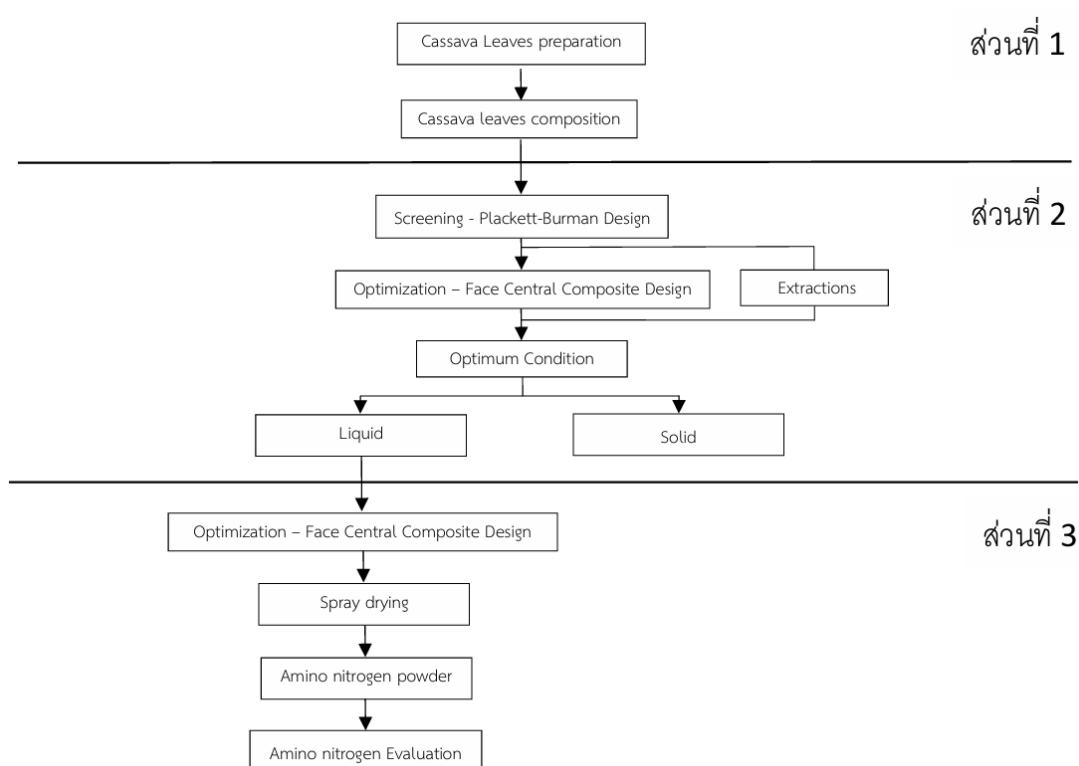
Kemsawasd (2018) ได้ศึกษาสภาวะที่แปรรูปผงสารสกัดไขมันปะหลังด้วยเครื่องทำแห้งแบบฝอย เพื่อให้ได้ผงสารสกัดไขมันสำปะหลังที่ได้คุณลักษณะที่ดีในการใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารทั้งคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เช่น สี ความชื้น การละลายน้ำ รวมถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) สภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งที่อุณหภูมิอากาศขาเข้า คือ 150°C อุณหภูมิขาออก 50°C อัตราการไหล 0.5 mL/min โดยผลิตภัณฑ์ผงสารสกัดไขมันสำปะหลังที่ได้มีค่าร้อยละผลผลิต ค่าสี ค่าปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (A_w) อยู่ในเกณฑ์ที่ดี นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณสูงได้แก่ Quercetin, Luteolin, Kaempferol, Apigenin และ Isorhamnetin ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาเขียวผสมสารสกัดจากไขมันสำปะหลังพร้อมขงชนิด 3 in 1 ได้ทำการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์หลังที่ผ่านการคั้นรูป และการยอมรับทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ผลการศึกษาของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ในทุกๆ ด้านรวมถึงชาเขียวเป็นแหล่งของ Caffeic acid และ Epicatechin ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Kemsawasd, 2018)

Eroglu *et al* (2018) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดและการทำแห้งแบบพ่นฝอยในการผลิตผงชาโรสฮิปจากส่วนผสมของผลโรสฮิปและชบาให้เหมาะสมที่สุด โดยใช้ระเบียบวิธีพื้นผิวดตอบสนอง ผลของตัวแปรที่ต้องการคือปริมาณกรดแอสคอร์บิก (AA) และแอนโทไซยานินโมโนเมอร์ทั้งหมด (TMA) ของผลิตภัณฑ์ พบว่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับกระบวนการสกัดคือ อุณหภูมิอากาศขาเข้า 130°C อุณหภูมิอากาศออก 85°C และอัตราส่วนมอลโตเดกซ์ทริน 18.4% ถือเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด ผงที่ได้จะถูกเก็บเพื่อทดสอบความเสถียรภาพของ AA และ TMA ที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิแวดล้อมเป็นเวลา 90 วัน พบว่าอัตราการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิแวดล้อมสำหรับ AA อยู่ที่ 41.4 และ 48.2% และสำหรับ TMA อยู่ที่ 23.3 และ 37% ตามลำดับ (Eroglu *et al.*, 2018)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังภาพที่ 4 คือ ส่วนที่ 1 เป็นการเริ่มต้น ใบมันสำปะหลังจะถูกทำแห้งและบดให้ได้ตามขนาด และทำการศึกษาส่วนประกอบของใบมันสำปะหลัง จากนั้นเริ่มการทดลองในส่วนที่ 2 คือหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดใบมันสำปะหลัง เพื่อให้ได้ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมากที่สุด และดำเนินการในส่วนที่ 3 โดยนำน้ำสกัดไปทำให้แห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อให้สะดวกในการนำไปใช้และการเก็บรักษา



ภาพที่ 4 ขั้นตอนในการทำการวิจัยโดยภาพรวม

ส่วนที่ 1 การเตรียมและหาค่าองค์ประกอบของใบมันสำปะหลัง

1. การเตรียมใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 89 ดังภาพที่ 5 ได้รับความอนุเคราะห์จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เทียงธรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยใบมันสำปะหลังสด จะถูกทำให้แห้งด้วยวิธีการตากแดดเป็นเวลาประมาณ 2-3 วัน ดังภาพที่ 6 จากนั้นทำการบดด้วยเครื่องบดแฮมเมอมีลล์ (Retsch, Germany) และนำใบมันสำปะหลังบดไปทำการแยกขนาดด้วย

เครื่อง Vibratory sieve shaker (Retsch Model AS 200, Germany) โดยจะนำขนาด 212 μm (35/70 mesh) ไปหาส่วนประกอบโครงสร้างและทำการสกัด



ภาพที่ 5 สวนมันสำปะหลัง ณ มหาวิทยาลัยเกษตร วิทยาเขตกำแพงแสน



ภาพที่ 6 ใบมันสำปะหลังตากแดด

2. การหาส่วนประกอบโครงสร้างของใบมันสำปะหลัง

2.1 การสกัดตัวอย่างด้วยน้ำ (Extractive in water)

การสกัดด้วยน้ำ DI ใช้ในปริมาณ 190 mL ลงในขวดปริมาตรและทำการวางขวดปริมาตรให้รับกับเครื่อง Soxhlet พร้อมกับเปิดเครื่องทำความร้อน โดยให้น้ำไหลผ่าน Thimble ประมาณ 4-5 รอบต่อชั่วโมงและให้น้ำไหลเย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อน้ำกลายเป็นสีใสปล่อยให้อุณหภูมิลดลง และทำการสกัดด้วยเอทานอลต่อ

2.2 การสกัดตัวอย่างด้วยเอทานอล (Extractive in ethanol)

หลังจากการสกัดด้วยน้ำจะทำการสกัดด้วยเอทานอลต่อ โดยใช้เอทานอล 95% ในปริมาณ 190 mL ลงในขวดปริมาตรและทำการวางให้รับกับเครื่อง Soxhlet พร้อมกับเปิดแผงเครื่องทำความร้อน โดยให้น้ำไหลผ่าน Thimble ประมาณ 6-10 รอบต่อชั่วโมงและให้น้ำไหลย้อนเป็นเวลา 7 ชั่วโมง เมื่อน้ำกลายเป็นสีใสปล่อยพักให้อุณหภูมิลดลง นำไขมันสำปะหลังที่ได้จากการสกัดไปแช่เย็นไว้เพื่อวิเคราะห์ต่อไป ส่วนไขมันสำปะหลังบดใน Thimble นำไปกรองสุญญากาศโดยใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ในกรวย Buchner พร้อมกับล้างด้วยเอทานอล 95% ปริมาณ 100 mL นำไปตากให้แห้ง และนำไปวิเคราะห์หาลิกนินและน้ำตาลโครงสร้างต่อไป

2.3 การหาลิกนินและน้ำตาลโครงสร้างในไขมันสำปะหลัง

2.3.1 การเตรียมตัวอย่างและ Hydrolysis

2.3.1.1 นำไขมันสำปะหลังที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่ตากแห้งแล้วมาวิเคราะห์ โดยชั่ง 300 ± 10 mg ใส่ใน Extraction volume tubes 3 ขวด พร้อมบันทึกน้ำหนัก

2.3.1.2 เติมกรด 72% sulfuric acid ลงใน Extraction volume tube แต่ละขวด คนให้เข้ากัน

2.3.1.3 นำ Extraction volume tubes เข้าไปวางในเครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิ $30 \pm 3^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงพร้อมกับคนสารทุก 5 นาที

2.3.1.4 เติมน้ำ DI 84.00 ± 0.04 mL ลงใน Extraction volume tube และเขย่าเพื่อเจือจาง

2.3.1.5 นำ Extraction volume tubes ไป Auto cleave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นพักทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลง

2.3.2 วิเคราะห์ตัวอย่าง Acid insoluble lignin (AIL)

2.3.2.1 ใช้กรงสุญญากาศกรองสารใน Extraction volume tube ด้วย crucibles ลงในขวดปริมาตร เพื่อแยกส่วนที่เป็นของเหลวและของแข็ง และเก็บใส่ขวดเก็บตัวอย่างประมาณ 50 mL

2.3.2.2 นำ crucibles ที่มีกากไปอบในเตาที่อุณหภูมิ $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปพักใน desiccator และบันทึกน้ำหนัก

2.3.2.3 นำ crucibles ที่มีกากไปอบในเตาที่อุณหภูมิ $575 \pm 25^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 24 ± 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปพักใน desiccator และบันทึกน้ำหนัก

2.3.2.4 คำนวณปริมาณ Acid insoluble lignin (AIL) โดยใช้สมการ (4)

$$\% AIL = \frac{(Weight_{crucible\ plus\ AIR} - Weight_{crucible}) - (Weight_{crucible\ plus\ ash} - Weight_{crucible}) - Weight_{protein}}{ODW_{sample}} \times 100 \quad (4)$$

2.3.3 วิเคราะห์ตัวอย่าง Acid soluble lignin (ASL)

2.3.3.1 นำสารที่เก็บในขวดตัวอย่างปริมาณ 50 mL ในขั้นที่ 2.3.2.1 ไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ wavelength 270 nm โดยใช้ 4% sulfuric acid เป็น Blank

2.3.3.2 คำนวณปริมาณ acid insoluble lignin (ASL) โดยใช้สมการ (5)

$$\% ASL = \frac{UV_{abs} \times Volume_{filtrate} \times Dilution}{\epsilon \times ODW_{sample} \times Pathlength} \times 100 \quad (5)$$

โดย UV_{abs} = ค่าการดูดกลืนแสง UV-Vis

Volume hydrolysis liquor = ปริมาตรของกรอง 86.73 mL

$$Dilution = \frac{Volume_{sample} + Volume_{diluting\ solvent}}{Volume_{sample}}$$

ϵ = การดูดซับของมวลชีวภาพที่ความยาวคลื่นเฉพาะ ตามตารางที่ 4

ODW_{sample} = น้ำหนักของตัวอย่างหน่วยเป็น mg

Pathlength = ความยาวทางเดินของเซลล์ UV-Vis หน่วยเป็น cm

2.3.4 วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำตาลโครงสร้าง

2.3.4.1 นำสารที่เก็บในขวดตัวอย่างปริมาณ 50 mL ในขั้นที่ 2.4.2.1 มาประมาณ 20 mL และใช้แคลเซียมคาร์บอเนต เพื่อปรับค่า pH ให้ค่าอยู่ที่ประมาณ 5-6 โดยใช้กระดาษวัดค่า pH

2.3.4.2 เตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ HPLC โดยกรองสารผ่านตัวกรองขนาด 0.45 μ m ลงในขวดเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์โดยใช้ Standards CVS และใช้คอลัมน์ Rezex™ RPM-Monosaccharide Pb+2 (8%) ในการวิเคราะห์ HPLC

2.4 การหาเถ้าในไขมันสำหรับหลัง

2.4.1 นำ crucibles ไปเผาที่อุณหภูมิ 575 \pm 25°C เป็นเวลา > 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปพักใน desiccator และบันทึกน้ำหนัก

2.4.2 ชั่งน้ำหนักไขมันสำหรับหลังที่ยังไม่ผ่านกระบวนการใดๆ 0.5 ถึง 2.0 กรัม ใส่ลงใน Crucible พร้อมบันทึกน้ำหนัก โดยวิเคราะห์ซ้ำ 2 ครั้ง

2.4.3 นำ crucibles ไปเผาที่อุณหภูมิ 575 \pm 25°C เป็นเวลา 24 \pm 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปพักใน desiccator และบันทึกน้ำหนัก

2.4.4 คำนวณหา% Ash ได้จากสมการ (6)

$$\% \text{ Ash} = \frac{\text{Weight}_{\text{crucible plus ash}} - \text{Weight}_{\text{crucible}}}{\text{ODW}_{\text{sample}}} \times 100 \quad (6)$$

โดย	Weight crucible plus ash	คือ น้ำหนักของ Crucible รวมกับ ash
	Weight crucible	คือ น้ำหนักของ Crucible
	ODW sample	คือ น้ำหนักตัวอย่าง

ส่วนที่ 2 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันสำปะหลัง

1. การออกแบบการทดลอง (Design of Experiment: DOE)

1.1 การออกแบบ Plackett Burman Design (PBD)

ใช้การออกแบบ PBD เพื่อคัดกรองปัจจัยที่ส่งผลต่อการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลัง โดยปัจจัยที่สนใจและค่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 5 ปัจจัยมีที่มาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้ 1. อุณหภูมิ (Temperature) โดยมีการรายงานผลของการใช้อุณหภูมิต่อการปรับสภาพนั้นมีความสำคัญต่อการเพิ่มปฏิกิริยาจลนศาสตร์ในกระบวนการ LHW ส่งผลให้มีการกำจัดโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสได้ดียิ่งขึ้น (Suriyachai et al., 2020), 2. ระยะเวลา (Duration) โดยมีการรายงานผลของการใช้ระยะเวลาต่อการปรับสภาพนั้นมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส (Olawuni et al., 2024), 3. ขนาดอนุภาค (Particle size) โดยมีการรายงานผลของการใช้ขนาดอนุภาคต่อการปรับสภาพพบว่ามีความสัมพันธ์กับข้อจำกัดในการถ่ายเทความร้อนและมวล ซึ่งส่งผลต่อการสลายตัวของวัสดุลิกโนเซลลูโลส (Kammoun et al., 2023), 4. ปริมาตรของการสกัด (Extraction volume), และ 5. ปริมาณของแข็ง (Solid loading) โดยมีการรายงานผลของการใช้ปริมาณต่อการปรับสภาพส่งผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการสกัดและความเข้มข้นหรือผลผลิตของสารสกัด (Gong et al., 2023) ดังตารางที่ 3 โดยจะใช้เพียง 2 levels (+ และ -) ในแต่ละปัจจัย การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ผลจะใช้โปรแกรม Design-Expert software (Stat Ease, 13.0 trial version) โดยมีการทดลองทั้งหมด 12 สภาวะ (conditions) และทดลองผลซ้ำ 2 ครั้ง ดังตารางที่ 4

การวิเคราะห์ผลการทดลองนั้นจะวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยพิจารณาจากค่า% Confident level ที่วิเคราะห์ความแปรปรวนได้เปรียบเทียบกับค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด ซึ่งการทดลองก่อนหน้าได้ใช้ตัวแปรที่เป็นความเข้มข้นของสารเคมี Potassium Hydroxide (KOH) เป็นปัจจัยในวิธีการออกแบบนี้ด้วย แต่เนื่องจากผลลัพธ์ในทางสถิติแสดงค่าเป็น insignificant (p -value

< 0.05) จึงถือว่าไม่มีนัยสำคัญต่อผลของปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ได้ จึงไม่ถูกนำมาใช้เป็นปัจจัยในการออกแบบ PBD

ตารางที่ 3 ตารางแสดงตัวแปรที่สนใจในการออกแบบ Plackett Burman design

Code	Factors	Unit	Low level (-1)	High level (+1)
X_1	Temperature	°C	120	200
X_2	Duration	min	10	60
X_3	Particle Size	µm	50	212
X_4	Extraction volume	mL	50	150
X_5	Solid loading	%	10	30

ตารางที่ 4 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman design โดยแสดง Actual (Code) ของตัวแปร

Condition	Temperature (°C), (X_1)	Duration (min), (X_2)	Particle Size (µm), (X_3)	Extraction volume (mL), (X_4)	Solid loading (%), (X_5)
1	120 (-1)	60 (+1)	212 (+1)	150 (+1)	10 (-1)
2	120 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	150 (+1)	30 (+1)
3	120 (-1)	10 (-1)	50 (-1)	50 (-1)	10 (-1)
4	120 (-1)	10 (-1)	50 (-1)	150 (+1)	10 (-1)
5	200 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	50 (-1)	10 (-1)
6	200 (+1)	10 (-1)	212 (+1)	150 (+1)	10 (-1)
7	200 (+1)	10 (-1)	212 (+1)	150 (+1)	30 (+1)
8	120 (-1)	10 (-1)	212 (+1)	50 (-1)	30 (+1)
9	200 (+1)	60 (+1)	212 (+1)	50 (-1)	10 (-1)
10	200 (+1)	10 (-1)	50 (-1)	50 (-1)	30 (+1)
11	200 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	150 (+1)	30 (+1)
12	120 (-1)	60 (+1)	212 (+1)	50 (-1)	30 (+1)

1.2 การออกแบบ Face Central Composite Design (FCCD)

เมื่อทราบปัจจัยในการสกัดที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนจากการออกแบบ Plackett Burman ในหัวข้อที่ 1.1 โดยได้คัดเลือกปัจจัยที่มีความสำคัญมาทั้งหมด 3 ปัจจัย ดังตารางที่ 5 แล้วนำมาออกแบบหาสภาวะที่ดีที่สุดด้วย FCCD ประกอบด้วย Axial points (2k) เป็น -1 และ +1 แทน โดยใช้โปรแกรม Design-Expert software (Stat Ease, 13.0 trial version) โดยมีการทดลองทั้งหมด 17 conditions และทำการทดลองผลซ้ำ 2 ครั้ง ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ตารางแสดงตัวแปรที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อความเข้มข้นของกรดอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการออกแบบ Plackett Burman

Code	Factors	Unit	Low level (-1)	Center (0)	High level (+1)
X_1	Solid loading	%	10	25	40
X_2	Extraction volume	mL	50	100	150
X_3	Duration	min	20	30	40

ตารางที่ 6 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design โดยแสดง Space type, Actual และ Code ของตัวแปร

Run No.	Space Type	Solid loading (%), (X_1)	Extraction volume (mL), (X_2)	Duration (min), (X_3)
1	Factorial	40 (+1)	150 (+1)	20 (-1)
2	Axial	25 (0)	100 (0)	40 (+1)
3	Factorial	10 (-1)	50 (-1)	40 (+1)
4	Axial	10 (-1)	100 (0)	30 (0)
5	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)
6	Factorial	10 (-1)	150 (+1)	20 (-1)
7	Axial	40 (+1)	100 (0)	30 (0)
8	Factorial	10 (-1)	50 (-1)	20 (-1)
9	Axial	25 (0)	150 (+1)	30 (0)
10	Factorial	40 (+1)	50 (-1)	20 (-1)
11	Axial	25 (0)	50 (-1)	30 (0)

12	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)
13	Factorial	40 (+1)	150 (+1)	40 (+1)
14	Axial	25 (0)	100 (0)	20 (-1)
15	Factorial	10 (-1)	150 (+1)	40 (+1)
16	Factorial	40 (+1)	50 (-1)	40 (+1)
17	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)

2. การทำการสกัดด้วยน้ำร้อน (Liquid Hot Water Extraction: LHW)

เมื่อทำการออกแบบการทดลอง PBD และ FCCD เรียบร้อยแล้ว จากนั้นก็จะทำการสกัดด้วยวิธี LHW ตามการออกแบบการทดลองของแต่ละ Condition ตามตารางที่ 4 และ 6 โดยชั่งใบมันสำปะหลังบดตาม %Solid loading แล้วนำไปผสมกับน้ำ DI ลงใน static Parr reactor 300 mL ดังภาพที่ 7 และนำไปใส่ในเตาเผา (furnace) ตามอุณหภูมิและเวลาที่ได้ออกแบบไว้ หลังจากการสกัดแล้วนำ reactor ออกจากเตาและนำลงถึงใส่น้ำแข็งทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วแยกของแข็งออกจากของเหลวด้วยการกรองสุญญากาศใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ในกรวย Buchner ดังภาพที่ 8 จากนั้นนำส่วนที่เป็นโปรตีนที่อยู่ในส่วนของเหลวนั้นไปเก็บรักษา โดยการแช่เย็นเพื่อนำไปวิเคราะห์วัดปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในน้ำสกัดที่ในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 7 static Parr reactor 300-mL



ภาพที่ 8 กรองสุญญากาศใช้กระดาษกรอง Whatman #1 ในกรวย Buchner

3. การวัดปริมาณ Amino nitrogen

ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในสารสกัดจากไขมันสำปะหลัง ถูกวัดได้โดยใช้ชุดทดสอบ Primary Amino Nitrogen Assay Kit (K-PANOPA, CAS Number 7727-37-9 จาก Megazyme (Bray, Ireland) ซึ่งขั้นตอนการทดสอบนั้นทำตามคำแนะนำของผู้ผลิต

4. การหาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากไขมันสำปะหลัง

หลังจากทราบทำการสกัดตามสภาวะที่ดีที่สุดแล้ว ทางผู้วิจัยได้นำน้ำสกัดส่งวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่เป็นกรดอะมิโนที่ศูนย์เครื่องมือกลาง (Central instrument facility) ณ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน (Amino acid Analysis) โดยใช้ AccQ-Fluor Reagent Kit วิเคราะห์ทั้งหมด 2 วิธี ได้แก่

4.1 การหาปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (Total amino acids)

4.1.1 นำตัวอย่างน้ำสกัด 1 mL ไปผสมกับ 6N กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และให้ความร้อนที่ 110°C เป็นเวลา 22 ชั่วโมง

4.1.2 เติม internal standard และทำการปรับปริมาณด้วยน้ำ DI ให้ได้ 100 mL และกรองด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 μm

4.1.3 ผสมสาร AccQ-four ที่เป็นบัฟเฟอร์การเกิดอนุพันธ์ (derivatization buffer) และ AccQ-fluor reagent เพื่อที่จะทำให้เกิดอนุพันธ์

4.1.4 จากนั้นตัวอย่างจะถูกให้ความร้อนที่ 55°C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนฉีดเข้าไปใน HPLC ซึ่ง Condition สำหรับ HPLC นั้นวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยใช้ Poroshell C18 (4.6 \times 100 มม., 2.7 μm) พร้อมด้วย Jasco FP2020 fluorescence detector ด้วยการไหล 1.2 mL/min ของ sodium acetate buffer/acetonitrile/water as mobile phase ที่อุณหภูมิ 35°C

4.2 การหาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในน้ำสกัด (Free amino acids)

4.2.1 นำตัวอย่างน้ำสกัด 1 mL ไปผสมกับ 0.1N กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

4.2.2 เติม internal standard และทำการปรับปริมาณด้วยน้ำ DI ให้ได้ 100 mL และกรองด้วยเมมเบรน cellulose acetate ขนาด 0.22 μm

4.2.3 ผสมสาร AccQ-flour ที่เป็นบัฟเฟอร์การเกิดอนุพันธ์ (derivatization buffer) และ AccQ-flour reagent เพื่อที่จะทำให้เกิดอนุพันธ์

4.2.4 ตัวอย่างจะถูกให้ความร้อนที่ 55°C เป็นเวลา 10 นาที ก่อนฉีดเข้าไปใน HPLC

ส่วนที่ 3 การผลิตผงอะมิโนไนโตรเจนโดยการพ่นฝอย

1. การทำแห้งด้วยเครื่อง Spray dryer

ทำการทดลองโดยใช้เครื่อง Spray dryer รุ่น Buchi B190 Mini Spray Dryer ดังภาพที่ 7 ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย สำหรับสถานะที่ใช้ในการฉีดพ่นฝอยนั้นจะถูกออกแบบด้วยวิธี Face Center Central Composite Design โดยปัจจัยที่จะวิเคราะห์ทั้งหมดมี 3 ปัจจัย ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการพ่นฝอย (Arebo et al., 2023; Sharma et al., 2023) ดังตารางที่ 7 และในการออกแบบใช้โปรแกรม Design-Expert software (Stat Ease, 13.0 trial version) โดยมีการทดลองทั้งหมด 17 conditions และทำการทดลองผลซ้ำ 2 ครั้ง ดังตารางที่ 8 สำหรับผลลัพธ์ที่ต้องการคือได้ผงที่มีความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนมากที่สุด

ตารางที่ 7 ตารางแสดงตัวแปรที่ใช้ในการออกแบบ Central Composite Design

Code	Factors	Unit	Low level (-1)	Center (0)	High level (+1)
X_1	Inlet air temperature	°C	120	140	160
X_2	Feed flow rate	mL/min	1	2	3
X_3	Amount of maltodextrin	%	0	15	30

ตารางที่ 8 ตารางการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design โดยแสดง Space type, Actual และ Code ของตัวแปร

Run No.	Space type	Inlet air temperature (°C), (X_1)	Feed flow rate (mL/min), (X_2)	Amount of maltodextrin (%), (X_3)
1	Axial	160	2	15
2	Factorial	160	1	10
3	Axial	140	1	15
4	Factorial	120	1	10
5	Factorial	120	1	20
6	Axial	120	2	15
7	Factorial	160	3	20
8	Center	140	2	15
9	Center	140	2	15
10	Factorial	120	3	20
11	Axial	140	3	15
12	Center	140	2	15
13	Axial	140	2	10
14	Factorial	160	1	20
15	Factorial	160	3	10
16	Factorial	120	3	10
17	Axial	140	2	20



ภาพที่ 9 เครื่อง Spray dryer รุ่น Buchi B190 Mini Spray Dryer

2. การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณสมบัติของผงแห้งที่ได้

โดยจะวิเคราะห์คุณสมบัติแยกเป็น 2 ส่วน ดังต่อไปนี้

2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ (Physicochemical properties) (Wang et al., 2019)

2.1.1 ปริมาณความชื้น (Moisture content) ด้วยวิธี AOAC (2016) 952.08

2.1.2 ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, A_w) วัดด้วยเครื่อง Aw meter (AQUA Lab model 3TE Series 3B v 3.0.) ที่ (Adeogun et al., 2019) อุณหภูมิ 25°C

2.1.3 ค่าพีเอช (pH) วัดด้วยเครื่อง pH meter (Starter 2100 pH Bench, Ohaus)

2.1.4 ค่าสี (Color) ค่าสีระบบ CIE (L^* , a^* , b^*) วัดด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab Digital Colorimeter รุ่น COLORFLEX 4510 ค่าที่วัดได้ ได้แก่ ค่าสี L^* , a^* , b^* โดย

ค่า L^* บ่งบอกถึงความสว่างของตัวอย่าง มีค่าตั้งแต่ 0-100 (มืด-สว่าง)

ค่า a^* บ่งบอกถึงความเป็นสีเขียวและสีแดง ค่าที่เป็นลบหมายถึงสีเขียว ค่าที่เป็นบวกหมายถึงสีแดง

ค่า b^* บ่งบอกถึงค่าความเป็นสีน้ำเงินและสีเหลือง ค่าที่เป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน ค่าที่เป็นบวกหมายถึงสีเหลือง

2.1.5 ร้อยละการละลาย (Water solubility, %) โดยนำผงมาละลายน้ำ 1 g ต่อน้ำ DI 15 mL แล้วกวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar) เวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuged) ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และนำส่วนใสไปอบที่อุณหภูมิ 105°C

2.2 สัณฐานวิทยาทางจุลภาค (Micro-morphology)

2.2.1 ขนาดของผงแห้ง (Particle size) นำผงมาละลายน้ำที่อัตราส่วน 1/50 (w/v) หลังจากนั้นกวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar) เวลา 3 นาที และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Zeta sizer โดยใช้ refraction index ที่ 1.33 เป็นเวลา 20 นาที

2.2.2 สัณฐานวิทยา นำผงมาติดที่ Aluminum stubs โดยใช้ Carbon tape และทำการเคลือบด้วยทอง นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning electron microscope system (SEM) รุ่น Hitachi SU 8000 Scanning Electron Microscope, Japan ที่ 5 kV เป็นเวลา 15 นาที

โดยหัวข้อ 2.2.1 – 2.2.2 จะทำการส่งวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างที่หน่วยงานวิเคราะห์ทดสอบ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ ณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ระยะเวลาในการทดสอบประมาณ 2 – 3 สัปดาห์หลังจากส่งตัวอย่าง

3. ตรวจสอบคุณสมบัติของผงอะมิโนไนโตรเจน (Cassava leaf Extraction Liquid Powder (CELP)) ที่ได้ในการเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอทานอลจากยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5196

3.1 การเตรียมยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5196 เพื่อเป็นหัวเชื้อ (inoculum)

นำเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 จำนวน 1 โคโลนี ลงอาหาร YM medium (yeast extract 0.45 g, Malt extract 0.45 g, Peptone 0.75 g, Glucose 1.5 g) ที่ละลายในน้ำ DI 150 mL ป่มที่ 30°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมงที่ตุ้มหมักแบบเขย่าที่ 200 รอบ/นาที

3.2 การเตรียมอาหาร เพื่อผลิตเอทานอลหมัก *S. cerevisiae* TISTR 5196

เริ่มจากการปรับปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในผง CELP ให้เท่ากับปริมาณอะมิโนไนโตรเจนในอาหาร YM โดยเริ่มจากการวัดปริมาณอะมิโนไนโตรเจนของอาหาร YM ปริมาณ 60 mL ได้เท่ากับ 22.2 mg of N และเมื่อวัดปริมาณไนโตรเจนจากสารละลาย CELP 0.5 g ในน้ำ DI 7.5 mL พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.93 mg of N จึงทำการคำนวณแล้วพบว่าต้องใช้ CELP 3 g สำหรับการเตรียมอาหาร 60 mL เพื่อให้ได้ค่าไนโตรเจนเท่ากับ YM และในสถานะที่ลดปริมาณไนโตรเจนลงครึ่งหนึ่งของไนโตรเจนในอาหาร YM ต้องใช้ CELP 1.5 g หลังจากนั้นทำการละลาย CELP ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 60 mL ดังนั้นมีอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 6 สภาวะ ดังนี้

1. Control 1 (ใช้ CELP 1.5 g และน้ำ DI)
2. Control 2 (ใช้ CELP 3 g และน้ำ DI)
3. YM + 15 g/L glucose
4. CELP 1.5 g + 15 g/L glucose
5. CELP 3 g + 15 g/L glucose
6. Glucose 15 g/L

โดยเตรียมทั้งหมด 6 สภาวะลงในขวด Fermentation 100 mL เตรียมทั้งหมด 60 mL โดยจะมีอาหารเลี้ยงเชื้อ 54 mL และเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 10% (6 mL) จากนั้นนำไปบ่มในตู้ Incubator shaker ที่ 30°C เขย่าที่ 200 รอบ/นาที และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24, และ 28 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดความเจริญเติบโตของเชื้อ (OD_{600}) ด้วยเครื่อง fluorescence spectrophotometer ที่ 600 nm จากนั้นทำการนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 1 นาที ให้เชื้อตกตะกอนแล้วนำเอาส่วนใสไปกรองด้วย filter 0.22 μm ลงในขวด vial ขนาด 2 mL แล้วแช่ไว้ในตู้แช่แข็งเพื่อรอนำไปตรวจวัดปริมาณเอทานอลด้วยวิธี HPLC



บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

ส่วนที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบในใบมันสำปะหลัง

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลัง สายพันธุ์ระยอง 89 พบว่ามีเถ้า 10% ผลรวมของสารประกอบที่สามารถสกัดได้จากวัสดุชีวมวลด้วยน้ำ DI และ 95% เอทานอลรวมกันได้ทั้งหมด (Total extractives) 41%, Acid insoluble lignin 22%, กลูแคน 13.6% และไซแลน 7.7% ซึ่งไม่เหมาะกับการเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมัก นอกจากนี้ถือว่ามีไนโตรเจน 2.94% เทียบเท่ากับโปรตีน 18% ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักได้ เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ใบมันสำปะหลังพันธุ์ 50 KU นั้นมีโปรตีนประมาณ 20% (Karuna et al., 2022) ใบมันสำปะหลังพันธุ์ Medan จากมาเลเซีย มีโปรตีนอยู่ที่ 33.6% (Yeoh & Chew, 1976) นอกจากนี้ปัจจัยต่างๆเช่น พันธุ์ ตำแหน่งของใบ และอายุของพืชจะมีอิทธิพลต่อปริมาณและคุณภาพของโปรตีนในใบมันสำปะหลัง (Chaiareekitwat et al., 2022) สำหรับโปรตีนในสายพันธุ์นี้ยังใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ซึ่งอยู่ในช่วง 17 - 34% (Hue et al., 2012) ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลขององค์ประกอบของใบมันสำปะหลัง

Composition	Unprocessed leaf (%)w/w
Moisture	11.1
Ash	9.9
Total Extractives	41.8
Extractive in water	28.9
Extractive in ethanol	12.9
Acid insoluble residue	22.4
Nitrogen	2.9
Structural Sugars	22.0
Glucan	13.6
Xylan	7.7
Arabinan	0.7
Total	99.0

ส่วนที่ 2 ทาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดไขมันสำปะหลัง

1. ผลการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลัง ด้วยแผนการทดลองแบบ Plackett–Burman (PBD)

ทำการสกัดอะมิโนไนโตรเจนตามตารางที่ 10 โดยมีความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน (mg of N/L) เป็นตัวแปรที่ตาม เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรมทางสถิติ ANOVA แล้วพบว่าปัจจัยที่มีผลอย่างน้อยสำคัญต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่สกัดออกมาได้ 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณของแข็งเริ่มต้น, ปริมาตรของการสกัด, และระยะเวลา โดยมีระดับความเชื่อมั่น 99.99%, 93.11% และ 89.2% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 11 และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Coefficient) พบว่า Solid loading มีค่าเป็นบวก หมายความว่าปริมาณของแข็งเริ่มต้นส่งผลกระทบต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่สกัดออกมาได้ หากเพิ่ม Solid loading จะสามารถเพิ่มความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่สกัดมาได้ ส่วน Extraction volume และ Duration มีค่าเป็นลบ หมายความว่าตัวแปรเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจน สำหรับ Temperature และ Particle size ไม่ได้มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจน จึงถูกกำหนดให้คงที่ที่ 120°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่มีรายงานว่าสามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากตัววัสดุที่เป็นลิกโนเซลลูโลสได้ และอนุภาคที่ 212 μm เนื่องจากการที่ไม่ต้องใช้อุณหภูมิสูงมากมาใช้ในการสกัด เป็นผลดีในด้านการประหยัดพลังงานและเวลา จากนั้นนำทั้ง 3 ปัจจัยนี้ไปใช้ในการออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาค่าที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยหลักด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ Central Composite ในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 10 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Plackett–Burman จำนวน 12 แผนการทดลอง

Run	Temperature (°C), (X_1)	Duration (min) (X_2)	Particle Size (μm), (X_3)	Extraction volume (mL), (X_4)	Solid loading (%), (X_5)	Concentration (mg of N/L) (Y)
1	120 (-1)	60 (+1)	212 (+1)	150 (+1)	10 (-1)	290.618
2	120 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	150 (+1)	30 (+1)	864.068
3	120 (-1)	10 (-1)	50 (-1)	50 (-1)	10 (-1)	282.833
4	120 (-1)	10 (-1)	50 (-1)	150 (+1)	10 (-1)	212.125
5	200 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	50 (-1)	10 (-1)	172.554
6	200 (+1)	10 (-1)	212 (+1)	150 (+1)	10 (-1)	282.185
7	200 (+1)	10 (-1)	212 (+1)	150 (+1)	30 (+1)	834.877

8	120 (-1)	10 (-1)	212 (+1)	50 (-1)	30 (+1)	1302.59
9	200 (+1)	60 (+1)	212 (+1)	50 (-1)	10 (-1)	323.701
10	200 (+1)	10 (-1)	50 (-1)	50 (-1)	30 (+1)	1028.84
11	200 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	150 (+1)	30 (+1)	646.754
12	120 (-1)	60 (+1)	212 (+1)	50 (-1)	30 (+1)	897.152

ตารางที่ 11 แสดงค่า Model, factors, regression coefficient, P-values และ Confidence level ของความเข้มข้นของไนโตรเจนจากแผนการทดลองแบบ Plackett–Burman

Source	Coefficient	p-value	%Confident level	
Model	249.2474	0.0007	99.93	significant
X_1 -Temperature	-1.16766	0.2071	79.29	
X_2 -Duration	-2.49533	0.1079	89.21	
X_3 -Particle size	0.744804	0.1176	88.24	
X_4 -Extraction volume	-1.46174	0.0689	93.11	
X_5 -Solid loading	33.41886	< 0.0001	99.99	

2. ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่คัดเลือกได้ ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology; RSM)

เมื่อทราบปัจจัยที่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (mg of N) จากการทดลอง PBD ข้างต้นซึ่งได้แก่ ปริมาณของแข็งเริ่มต้น (Solid loadings: X_1), ปริมาตรของการสกัด (Extraction volume: X_2), และเวลา (Duration: X_3) จึงทำการออกแบบการทดลองด้วย FCCD จากนั้นนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Face Centered Central Composite ด้วย 3 ปัจจัย

Run No.	Space Type	Solid loading (%), (X_1)	Extraction volume (mL), (X_2)	Duration (min), (X_3)	Amino nitrogen (mg of N) (Y)
1	Factorial	40 (+1)	150 (+1)	20 (-1)	220.688
2	Axial	25 (0)	100 (0)	40 (+1)	101.976

3	Factorial	10 (-1)	50 (-1)	40 (+1)	12.909
4	Axial	10 (-1)	100 (0)	30 (0)	41.387
5	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)	92.245
6	Factorial	10 (-1)	150 (+1)	20 (-1)	49.625
7	Axial	40 (+1)	100 (0)	30 (0)	186.955
8	Factorial	10 (-1)	50 (-1)	20 (-1)	16.931
9	Axial	25 (0)	150 (+1)	30 (0)	111.371
10	Factorial	40 (+1)	50 (-1)	20 (-1)	78.882
11	Axial	25 (0)	50 (-1)	30 (0)	66.589
12	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)	126.042
13	Factorial	40 (+1)	150 (+1)	40 (+1)	174.565
14	Axial	25 (0)	100 (0)	20 (-1)	115.663
15	Factorial	10 (-1)	150 (+1)	40 (+1)	53.907
16	Factorial	40 (+1)	50 (-1)	40 (+1)	99.607
17	Center	25 (0)	100 (0)	30 (0)	128.572

เมื่อทำการทดลองทั้ง 17 ทดลองแล้วนำผลการทดลองที่ได้มาจะวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และตรวจสอบความเหมาะสมของข้อมูล ซึ่งการตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลจะตรวจสอบ ดังนี้

2.1 ผลการวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสม

จากผลการวิเคราะห์ความเหมาะสมของสมการถดถอยของโปรแกรม Design expert ได้ทำการแนะนำแบบจำลองเพื่อหาภาพแบบสมการที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เป็นภาพแบบจำลองแบบเส้นตรง (Linear) เนื่องจากมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่เหมาะสม โดย p -value ที่น้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ดังตาราง 13

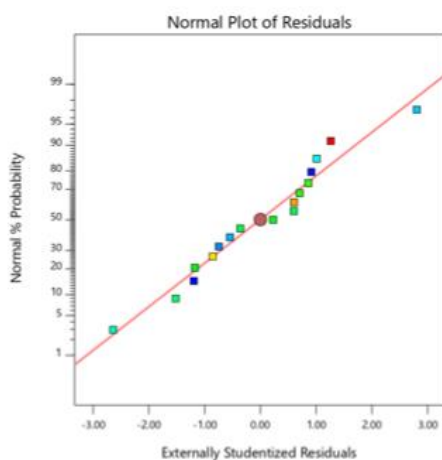
ตารางที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ Fit Summary ในแต่ละแบบจำลอง

Source	p -value	Lack of Fit p -value	Adjusted R^2	Predicted R^2
Linear	< 0.0001	0.5638	0.8511	0.7622
2FI	0.2739	0.5966	0.8664	0.4389
Quadratic	0.3301	0.621	0.8796	0.4063
Cubic	0.3686	0.9636	0.9095	0.9389

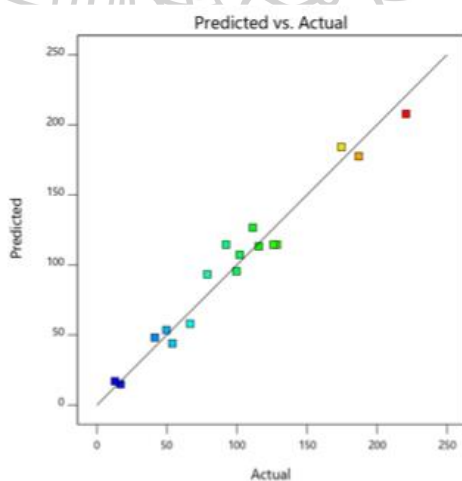
2.2 ผลการพิจารณาความถูกต้องของแบบจำลอง (Model)

1. การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals) เป็นการตรวจสอบส่วนตกค้าง (Residuals) ของข้อมูลว่ามีการแจกแจงข้อมูลแบบปกติหรือไม่ ดังภาพที่ 10 พบว่ามีลักษณะการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงให้เห็นว่ามีการแจกแจงแบบปกติ

2. การตรวจสอบความสัมพันธ์ของค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการทำนายและการทดลองจริง พบว่าค่าการทำนายและค่าการทดลองจริงนั้นมีความสัมพันธ์ในทิศทางมีแนวโน้มเข้าใกล้กับเส้นทแยงมุม ดังภาพที่ 11 ซึ่งบ่งบอกว่าช่วงของปัจจัยอิสระที่เลือกมาศึกษานั้นมีความเหมาะสม



ภาพที่ 10 กราฟกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals)



ภาพที่ 11 กราฟระหว่างค่าทำนายกับค่าการทดลองจริง (Predicted vs. Actual)

2.3 ผลค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination)

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square: R-Sq) เป็นค่าที่ใช้บอกร้อยละการเปลี่ยนแปลงของปัจจัย ตามที่สามารถอธิบายได้ด้วยปัจจัยอิสระในสมการถดถอย ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 14 ค่า p -value ของแบบจำลองน้อยกว่า 0.0001 ซึ่งถือว่ามีความสำคัญ โมเดลนี้สามารถนำไปใช้ทำนายผลการทดลองได้

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์การถดถอยของพินผิวตอบสนอง

ANOVA for Linear model					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	p -value	
Model	150.66	3	16.74	0.0002	significant
Solid loading (X_1)	102.88	1	102.88	<0.0001	
Extraction volume (X_2)	33.40	1	33.40	0.0002	
Duration (X_3)	0.2032	1	0.2031	0.6104	
Lack of Fit	3.12	5	0.6232	0.6935	insignificant
R ²	0.9679				

จากตารางที่ 14 วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ linear model และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9679 เมื่อมีค่า R^2 ค่อนข้างเข้าใกล้ 1 แสดงถึงความแม่นยำของการนำสมการ regression ไปใช้ เพื่อทำนายผลลัพธ์ย่อมมีสูงมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปควรมีค่า R^2 อย่างน้อย 0.75 (Haaland, 1991; Hu, 2017) และค่าความไม่เหมาะสมของแบบจำลองกับผลลัพธ์ (Lack of fit) เป็นค่าที่ใช้กันทั่วไปในสถิติและการวิเคราะห์การถดถอย ซึ่งหมายถึง กรณีที่แบบจำลองถดถอย (regression model) ไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ที่แท้จริงระหว่างตัวแปรอิสระ (factors) กับตัวแปรตาม (response) ได้อย่างเพียงพอ (Weisberg, 2005) ในงานวิจัยนี้พบว่า lack of fit ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) สามารถแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองกับผลลัพธ์ที่ได้

การใช้ปัจจัย Solid loading ที่ปริมาณสูง จะทำให้ได้ค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจนสูงขึ้น โดยมีค่า p -value < 0.0001 จึงถือว่าปริมาณของแข็งที่สูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ผลทางสถิตินี้มีผลเช่นเดียวกับปัจจัย Extraction volume โดยมีค่า p -value = 0.0002 เนื่องจากการใช้ปริมาตรการสกัดมากขึ้นนั้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายของน้ำสูงขึ้น ซึ่งช่วยให้น้ำนั้นสามารถซึมเข้าไปสลายส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสได้ดี และเพิ่มแรงขับเคลื่อนจากการ

แพร่ของตัวถูกละลายจากของแข็งเข้าสู่ตัวทำละลายด้วยกฎการแพร่ของฟิค (Fick's law of diffusion) โดยเมื่อใช้ปริมาตรตัวละลายมากขึ้น จะช่วยให้สารอะมิโนไนโตรเจนในไขมันสำปะหลังแพร่ออกมาสู่ตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น เพราะสามารถลดความเข้มข้นของตัวละลายในเฟสตัวทำละลาย แต่หากใช้ปริมาตรมากเกินไปจะทำให้สารสกัดเจือจาง ประสิทธิภาพในกระบวนการลดและเป็น การเพิ่มต้นทุน สำหรับปัจจัย Duration ที่มีค่า p -value > 0.05 ถือว่าไม่มีนัยสำคัญจึงใช้เวลา น้อยที่สุด ในการสกัด เพื่อให้ได้ค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่สูงที่สุด เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงจ่อ จลนศาสตร์ต่อการสกัดและต้องพิจารณาร่วมกับอุณหภูมิการใช้น้ำมันน้อยนั้นก็สามารถลดพลังงาน ที่ใช้ในการสกัดได้ดี แต่ก็ยังถือว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการทำให้กระบวนการสกัดเข้าสู่สมดุล โดยไม่ ทำให้สารประกอบที่ไวต่อความร้อนเสื่อมสลาย ที่จะย่อยลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในลิกโนเซลลูโลสได้ดี

2.4 ผลการสร้างสมการทำนายค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน

สร้างสมการทำนายค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน โดยนำค่าปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์ สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (Regression Model) ของค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน ผลการ วิเคราะห์แสดงในตารางที่ 15 สมการถดถอย (regression) สามารถสร้างสมการ power term ในรูป ของ code factor ได้ตั้งสมการที่ 7 โดยสมการนี้สามารถประเมินอิทธิพลสัมพันธ์ของตัวแปร ผ่าน การพิจารณาตัวแปรแต่ละปัจจัย จะเห็นว่า ปริมาณของแข็งมีอิทธิพลต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจน มากกว่าปริมาตรในการสกัด และเมื่อใช้ปริมาตรในการสกัดที่สูงเกินไปจะส่งผลในทางลบต่อ ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน

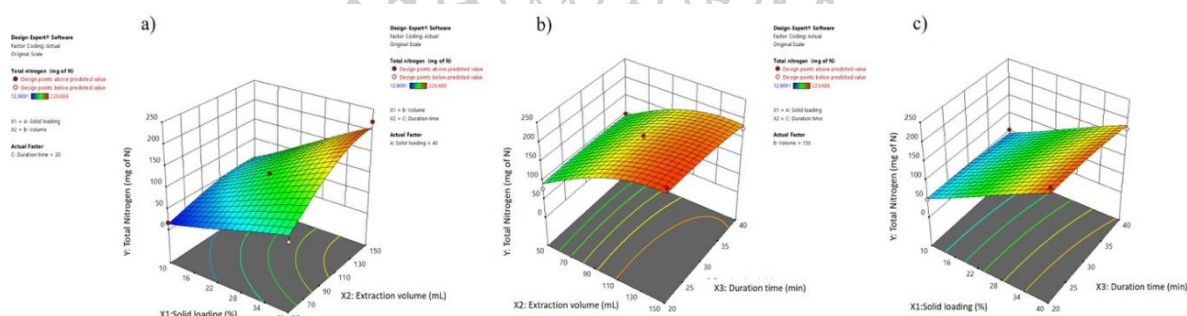
$$Y = 113.85 + 68.50X_1 + 52.50X_2 - 26.17X_2^2 \quad (7)$$

ตารางที่ 15 ความคลาดเคลื่อนของค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficients) ในรูปของ code factors สำหรับ แสดงสมการถดถอยแบบเส้นตรง (Linear Model)

Factor	Coefficient
Intercept	113.85
X_1 -Solid loading	68.50
X_2 -Extraction volume	52.50
X_2^2 -Extraction volume	-26.17

2.5 ผลการสร้างพื้นผิวตอบสนองของค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน

เมื่อได้สมการการทำนายค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน จึงนำมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง (response surface) โดยพิจารณาจากปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจน จากกราฟ 3D เมื่อให้สีน้ำเงินแสดงถึงปริมาณอะมิโนไนโตรเจนปริมาณต่ำ และสีแดงแสดงถึงการที่ได้อะมิโนไนโตรเจนสูง จากภาพที่ 12 พบว่าสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการออกแบบสำหรับการสกัดปริมาณอะมิโนไนโตรเจน ได้แก่ Solid loading 40%, Extraction volume 150 mL และ Duration 20 min โดยที่ปัจจัย Temperature และ Particle size กำหนดคงที่ที่ 120°C และ $212\ \mu\text{m}$ ภายใต้สภาวะดังกล่าว ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการทำนายได้เท่ากับ 209 mg of N ขณะที่ค่าที่ทำการลองจริงเท่ากับ 221 mg of N ซึ่งมากกว่าค่าการทำนาย เมื่อคำนวณพบว่ามีความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ประมาณ 6%



ภาพที่ 12 กราฟ 3D จากพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่างแต่ละปัจจัยกับ Y: ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (mg of N) โดย a) X_1 : Solid loading (%) กับ X_2 : Extraction volume (mL) b) X_2 : Extraction volume กับ X_3 : Duration time (min) และ c) X_1 : Solid loading (%) กับ X_3 : Duration time (min)

2.6 ผลการวิเคราะห์การหาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากไขมันสำปะหลัง

ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดของไขมันสำปะหลัง จากตารางที่ 16 พบว่า มีกรดอะมิโนทั้งหมดหลังจากถูกย่อยด้วยกรดที่ $210.8\ \text{mg/g}$ และกรดอะมิโนอิสระในน้ำสกัด $19.29\ \text{mg/g}$ โดยมีกรดกลูตามิกมากที่สุด รองลงมาเป็นกรดแอสปาร์ติกและอะลานีน ซึ่งมีเมื่อเทียบกับงานวิจัยที่วิเคราะห์หากรดอะมิโนในไขมันสำปะหลัง พบว่ากรดอะมิโนที่พบมากที่สุดในไขมันสำปะหลังนั้นเหมือนในวิจัยนี้ (Hue et al., 2012; Karuna et al., 2022; Yeoh & Chew, 1976) และจากงานวิจัยก่อนหน้านี พบว่ากรดกลูตามิกทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ช่วยสังเคราะห์โปรตีน

และกระบวนการเผาผลาญ ส่งผลให้สามารถผลิตกรดอะมิโนอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ และยีสต์สามารถเผาผลาญกรดกลูตามิกให้เป็นพลังงาน (ATP) ที่มีความสำคัญต่อการทำงานของเซลล์ด้วย tricarboxylic acid cycle นอกจากนี้สามารถลดความเครียดของยีสต์ เนื่องจากการสังเคราะห์กลูตาไรโอน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่ช่วยให้เซลล์ยีสต์จัดการกับความเครียดให้ลดลงได้จากการผลิตเอทานอล (Wu et al., 2013) ซึ่งเป็นผลดีเช่นเดียวกับกรดแอสพาทิกที่พบว่าสามารถช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของยีสต์ได้มากขึ้นภายใต้สภาวะที่มีอากาศ (Algéus, 2006)

ตารางที่ 16 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดจากใบมันสำปะหลัง

Type	Total Amino acids (mg/g cassava leaves)	Free Amino acids (mg/g cassava leaves)	Free/Total amino acids (%)
Aspartic acid	40.5	1.2	3
Serine	11.4	5.0	43
Glutamic acid	46.9	1.3	3
Glycine	6.8	0.3	5
Histidine	3.7	0.3	8
Threonine	10.1	1.0	10
Arginine	1.0	-	-
Alanine	27.6	3.6	13
Proline	14.3	2.0	14
Cystine	-	-	-
Tyrosine	5.4	0.8	14
Valine	15.3	1.6	11
Methionine	-	-	-
Lysine	5.1	0.2	3
Isoleucine	6.5	0.5	8
Leucine	7.8	0.7	9
Phenylalanine	8.4	0.9	10

สรุปผลในส่วนที่ 2 จากการออกแบบ PBD เพื่อคัดกรองปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมากที่สุด พบว่า Solid loading, Extraction volume และ Duration มีผลมากที่สุด โดยมีค่า Confident level อยู่ที่ 99.99%, 93.11% และ 89.2% ตามลำดับ และเมื่อนำไปหาสภาวะที่ดี

ที่สุดโดยวิธีการออกแบบ FCCD พบว่า Solid loading 40%, Extraction volume 150 mL และใช้เวลา 20 นาที สามารถสกัดกรดอะมิโนไนโตรเจนได้ปริมาณมากที่สุดอยู่ที่ 221 mg of N และจากค่าการทำนายด้วย respond surface methodology อยู่ที่ 209 mg of N และเมื่อวิเคราะห์ชนิดอะมิโน พบว่าในน้ำสกัดมีกรดกลูตามิกมากที่สุด รองลงมาคือกรดแอสพาทิก ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต การเผาผลาญและลดการตอบสนองต่อความเครียดในการหมัก และกรดอะมิโนที่สกัดได้ไม่ได้อยู่ในรูป free amino acid ดังนั้นสิ่งมีชีวิตจะต้องการย่อยก่อนที่จะสามารถดูดซึมและนำไปใช้ในการเผาผลาญหรือการเจริญเติบโตได้

ส่วนที่ 3 การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการทำแห้งแบบพ่นฝอยจากสารสกัดไขมันสำปะหลัง

1. ผลการศึกษาปัจจัยต่อความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จาก CLEP ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology; RSM)

ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิอากาศเข้า (Inlet Air Temperature: X_1), อัตราการไหลอากาศเข้า (Feed flow rate: X_2) และความเข้มข้นของสารทำให้แห้ง (Amount of maltodextrin: X_3) ต่อค่าปริมาณอะมิโนไนโตรเจนต่อกรัมผงแห้ง (amino nitrogen content; mg of N per g of powder) ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology; RSM) จะวิเคราะห์วิธีพื้นผิวตอบสนองโดยจะทำตามแผนการทดลองที่ใช้การออกแบบ face-central composite ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ผลการทดลองของแผนการทดลองแบบ Face-Central Composite ด้วย 3 ปัจจัย

Run	Space Type	Inlet Air Temperature (°C) (X_1)	Feed flow rate (mL/min) (X_2)	Maltodextrin (%) (X_3)	Content of nitrogen (mg of N/g of powder)
1	Axial	140	2	10	17.54
2	Factorial	160	3	20	10.06
3	Axial	120	2	15	12.86
4	Center	140	2	15	16.32
5	Factorial	160	3	10	15.06
6	Factorial	120	3	20	9.81
7	Factorial	160	1	20	11.31
8	Factorial	120	1	10	15.68

9	Factorial	160	1	10	15.84
10	Factorial	120	1	20	10.88
11	Center	140	2	15	17.34
12	Factorial	120	3	10	16.95
13	Axial	160	2	15	17.19
14	Center	140	2	15	14.46
15	Axial	140	3	15	20.66
16	Axial	140	1	15	16.08
17	Axial	140	2	20	9.85



ภาพที่ 13 ตัวอย่างผงที่ได้จากการ Spray drying ตามการออกแบบการทดลอง Central Composite Design

เมื่อทำการทดลองตามการทดลองทั้ง 17 ทดลองแล้วนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และตรวจสอบความเหมาะสมของข้อมูล ซึ่งการตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลจะตรวจสอบดังนี้

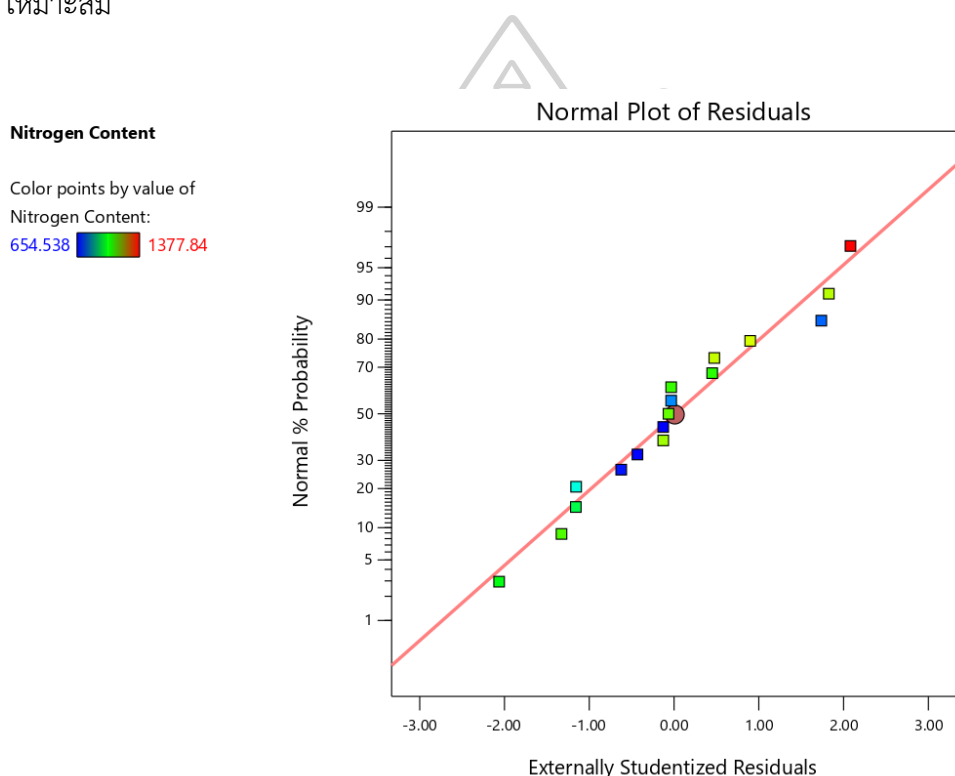
1.1 ผลการวิเคราะห์แบบจำลองการถดถอยที่เหมาะสม

จากผลการวิเคราะห์ความเหมาะสมของสมการถดถอยของโปรแกรม Design expert ได้ทำการแนะนำแบบจำลองเพื่อหาภาพแบบสมการที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พบว่า ภาพแบบจำลองแบบกำลังสอง (Quadratic Model) เนื่องจากมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่เหมาะสม โดย $p\text{-value} < 0.05$

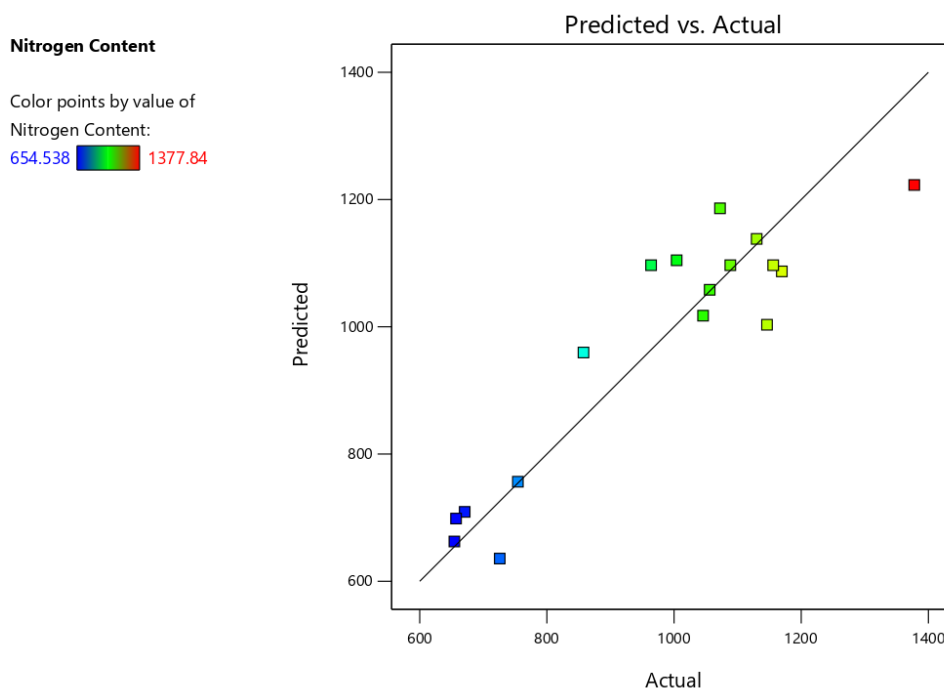
1.2 ผลการพิจารณาความถูกต้องของแบบจำลอง (Model)

1. การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals) เป็นการตรวจสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติของส่วนตกค้าง (Residuals) ของข้อมูล ดังภาพที่ 14 พบว่ามีลักษณะการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงให้เห็นว่ามีการแจกแจงแบบปกติ

2. การตรวจสอบความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่ได้จากการทำนายและการทดลองจริง พบว่าค่าการทำนายและค่าการทดลองจริงนั้นมีความสัมพันธ์ในทิศทางมีแนวโน้มเข้าใกล้กับเส้นทแยงมุม ดังภาพที่ 15 ซึ่งบ่งบอกว่าช่วงของปัจจัยอิสระที่เลือกมาศึกษานั้นมีความเหมาะสม



ภาพที่ 14 กราฟกระจายแบบแจกแจงปกติ (Normal plot of residuals)



ภาพที่ 15 กราฟระหว่างค่าทำนายกับค่าการทดลองจริง (Predicted vs. Actual)

1.3 ผลค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination)

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square: R-Sq) เป็นค่าที่ใช้บอกร้อยละการเปลี่ยนแปลงของปัจจัย ตามที่สามารถอธิบายได้ด้วยปัจจัยอิสระในสมการถดถอย ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 18 ค่า p -value ของแบบจำลองน้อยกว่า 0.05 ซึ่งถือว่ามีความสำคัญ โมเดลนี้สามารถนำไปใช้ทำนายผลการทดลองได้

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนอง

ANOVA for Quadratic model					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	p -value	
Model	140.44	9	15.6	0.038	significant
Inlet air temperature (X_1)	1.08	1	1.08	0.6122	
Feed flow rate (X_2)	0.7562	1	0.7562	0.6696	
Maltodextrin (X_3)	85.03	1	85.03	0.0021	
X_1X_2	0.6216	1	0.6216	0.6981	
X_1X_3	0.726	1	0.726	0.676	

X_2X_3	0.987	1	0.987	0.6257	
X_1^2	8.01	1	8.01	0.1895	
X_2^2	6.99	1	6.99	0.2167	
X_3^2	25.08	1	25.08	0.0371	
Lack of Fit	22.29	5	4.46	0.3544	insignificant
R^2	0.841				

จากตารางที่ 18 วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Quadratic model จะมีการพิจารณาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.841 สมการมีค่า R^2 ยิ่งสูงความแม่นยำของการนำสมการไปใช้เพื่อทำนายหรือคาดคะเน ผลลัพธ์ย่อมมีสูงมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ควรมีค่า R^2 อย่างน้อย 0.75 (Haaland, 1991; Hu, 2017) และค่าความไม่เหมาะสมของแบบจำลองกับผลลัพธ์ (Lack of fit) พบว่าต้องไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) เพื่อแสดงถึงความเหมาะสมของแบบจำลองกับผลลัพธ์ที่ได้

การใช้ปัจจัย Inlet air temperature ที่ระดับกลางจะทำให้ได้ค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนสูงขึ้น เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่จะทำให้ผลที่ได้นั้นมีความชื้นหรือค่า water activity ที่เหมาะสม ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นาน นอกจากนั้นยังเป็นอุณหภูมิที่ไม่สลายคุณสมบัติของสารสกัดไขมันสำหรับหลัง ส่วนความเข้มข้นของ Maltodextrin ได้ค่า p -value < 0.05 แสดงว่าเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน โดย Maltodextrin ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการห่อหุ้มเปปไทด์และกรดอะมิโน โดยจะป้องกันการย่อยสลายในระหว่างขั้นตอนการทำแห้งที่ต้องสัมผัสกับความร้อน (Sarabandi et al., 2019) จึงทำให้ได้ค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนสูง และอีกสิ่งหนึ่งที่สำคัญคือสามารถควบคุมคุณสมบัติทางเคมีได้ เช่น ช่วยลดการดูดความชื้น (Nadali et al., 2022) และคุณสมบัติการไหลของผงดีขึ้น เนื่องจากมอลโตเดกซ์ทรีนช่วยลดความเหนียวและป้องกันการเกาะตัวของผง (Ghosal et al., 2010) และการใช้ปัจจัยอัตราการไหลขาเข้าที่สูงจะส่งผลให้ได้ค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนสูง เนื่องจากอัตราการไหลที่สูงจะทำให้อนุภาคขนาดเล็กและเป็นละอองเพิ่มขึ้น ทำให้สัมผัสกับอากาศร้อนสั้นลง จึงทำให้ยังคงรักษาคุณสมบัติของไนโตรเจนไว้ได้

1.4 ผลการสร้างสมการทำนายค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน

สมการทำนายค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนสร้างโดยการนำค่าปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (Regression Model) ของค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 19 สมการถดถอย (regression) ที่เป็นสมการพหุนามกำลังสอง (Second-Order Polynomial Equation) สามารถสร้างสมการในรูปของ Code factor

ได้ตั้งสมการที่ 8 โดย Y คือ ค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน (mg of N/g of powder) ส่วนสัญลักษณ์อื่นๆ X_1 คือ Inlet air temperature, X_2 คือ Feed flow rate และ X_3 คือ Amount of maltodextrin

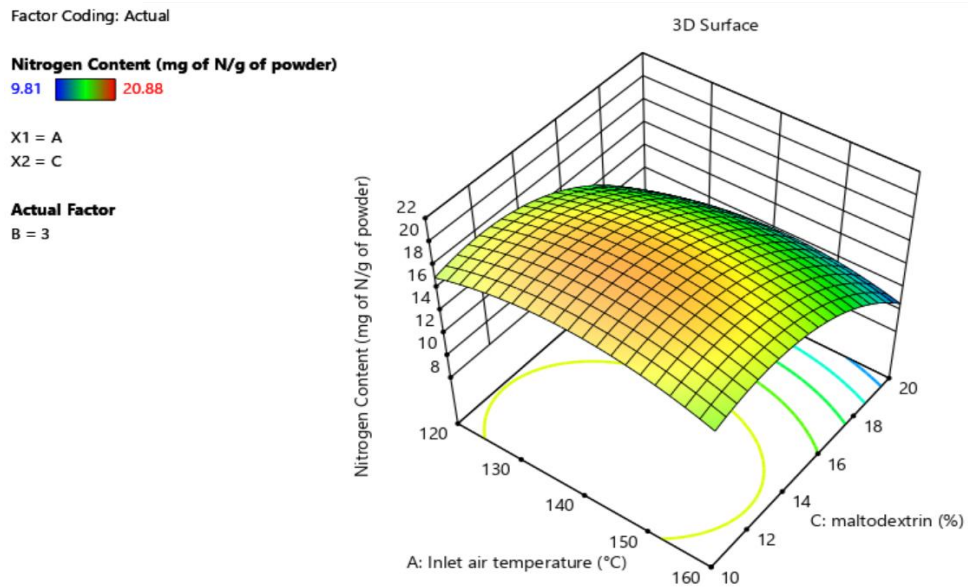
$$Y = 16.45 - 2.92(X_3) - 3.06(X_3^2) \quad (8)$$

ตารางที่ 19 ความคลาดเคลื่อนของค่าสัมประสิทธิ์ (Coefficients) ในรูปของ Code factors สำหรับแสดงสมการถดถอยแบบกำลัง (Quadratic model)

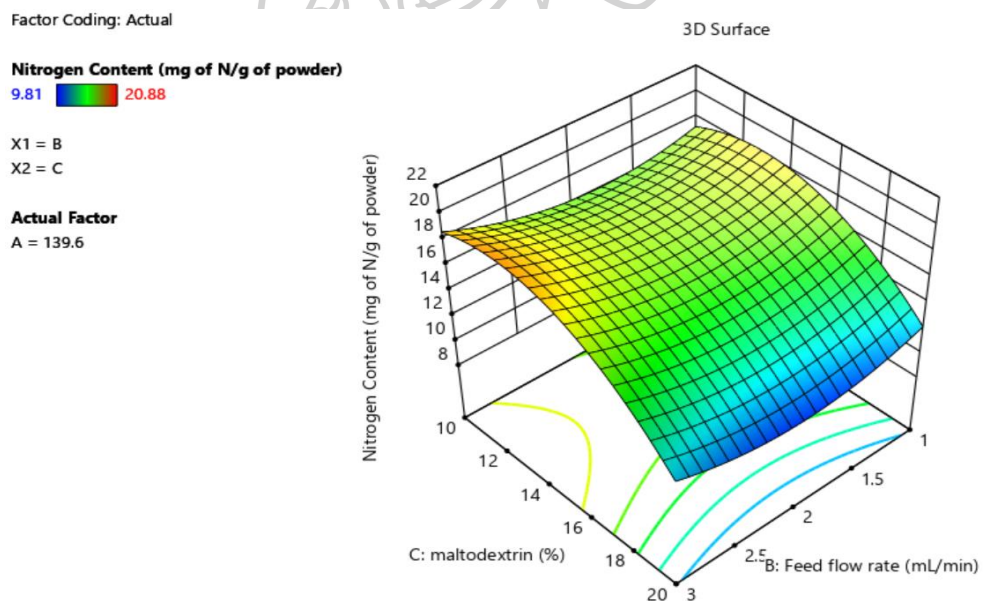
Factor	Coefficient
Intercept	16.45
X_1 - Inlet air temperature,	0.328
X_2 - Feed flow rate	0.275
X_3 - Amount of maltodextrin	-2.92
X_1X_2	-0.2788
X_1X_3	0.3012
X_2X_3	-0.3513
X_1^2	-1.73
X_2^2	1.62
X_3^2	-3.06

1.5 การสร้างพื้นผิวตอบสนองของค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน

เมื่อได้สมการการทำนายค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน จึงนำมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง (response surface) โดยพิจารณาจากปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความเข้มข้นของ อะมิโนไนโตรเจน จากกราฟ 3D เมื่อให้สีน้ำเงินแสดงถึงปริมาณอะมิโนไนโตรเจนปริมาณต่ำ และสีแดงแสดงถึงการที่ได้อะมิโนไนโตรเจนสูง จากภาพที่ 16 พบว่า บริเวณสูงสุดของส่วนโค้งของกราฟที่เป็นสีส้มอยู่ในช่วงที่มี Inlet air temperature 140°C ส่วนปริมาณ Maltodextrin อยู่ที่ 12.5% และภาพที่ 17 พบว่า จากจุดที่ปริมาณ Maltodextrin 12.5% นั้นจะได้ Feed flow rate อยู่ที่ 3 mL/min เมื่อใช้ทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าว แทนค่าไปที่สมการที่ 8 พบว่า จะได้ความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนที่ 19.20 mg of N/g of powder และเมื่อนำทำการสกัดโดยใช้ปัจจัยดังกล่าวพบว่า ได้ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนที่ 20.88 mg of N/g of powder ซึ่งมากกว่าค่าการทำนายอยู่ที่ 8.38%



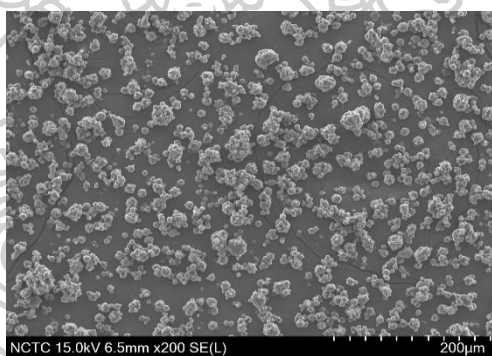
ภาพที่ 16 กราฟพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่าง Inlet air temperature กับ Maltodextrin ต่อค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน



ภาพที่ 17 กราฟพื้นผิวตอบสนองแสดงผลของการ Interaction ระหว่าง Feed flow rate กับ Maltodextrin ต่อค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน

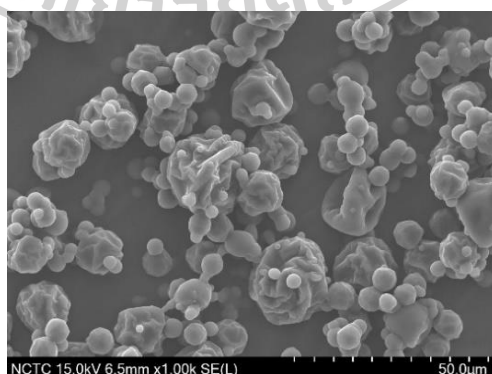
2. ผลการศึกษาคุณสมบัติของผงที่ได้จากทำ Spray drying

คุณสมบัติของผงที่ได้จากการสภาวะที่เหมาะสมที่สุด พบว่าได้ปริมาณผง (powder yield) 32.91% ความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจนของผง 20.88 N/g of powder ค่าแอกติวิตีของน้ำ (Water activity) 0.295 ซึ่งถือว่ามีความเหมาะสมในการเก็บรักษา ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.60% และความสามารถในการละลายที่ 99.3% ถือว่ามีการละลายที่ดีมาก ไม่จับตัวเป็นก้อน และการกระจายของผงที่สม่ำเสมอ (ภาพที่ 18) มีขนาดอนุภาคของผงเฉลี่ยที่ 426.21 นาโนเมตร เมื่อวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) พบว่า ผงมีลักษณะเป็นทรงกลมและบนพื้นผิวด้านนอกมีบางส่วนเว้าและรอยย่น (ภาพที่ 19) ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของผงที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งรอยเหี่ยวนี้อาจเกิดจากการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง ทำให้พื้นที่ที่มีการสะสมของโปรตีนใกล้พื้นผิวมีลักษณะเหี่ยวย่น ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ช่วยทำให้ผิวของอนุภาคไม่แตกจนฉีกขาด เนื่องจากโปรตีนมีความหนาและความยืดหยุ่น จึงทำให้พื้นผิวของอนุภาคหดตัวไม่สม่ำเสมอระหว่างการอบแห้ง (Wang et al., 2013)



ภาพที่ 18 ภาพถ่าย SEM ของผงสารสกัดไขมันสำปะหลังจากการอบแห้งแบบพ่นฝอย กำลังขยาย

200x



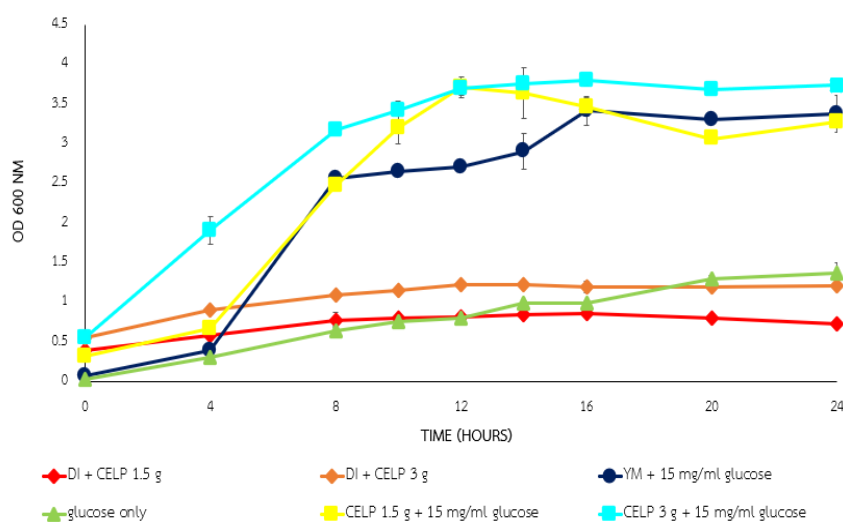
ภาพที่ 19 ภาพถ่าย SEM ของผงสารสกัดไขมันสำปะหลังจากการอบแห้งแบบพ่นฝอย กำลังขยาย

1000x

3. ผลการศึกษาการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 6 สภาวะ

การนำผง CELP มาเติมในการหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ (วนิดา, 2553) จากภาพที่ 20 พบว่าในช่วง 8 ชั่วโมงแรก การใช้อาหาร CELP 3 g + 15 mg/mL glucose นั้นยีสต์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสูงกว่าอาหาร YM + 15 mg/mL glucose ทั้งที่มีปริมาณไนโตรเจนและคาร์บอนเท่ากัน และในอาหาร CELP 1.5 g + 15 mg/mL glucose ที่ลดปริมาณไนโตรเจนครึ่งหนึ่ง พบว่าการเจริญเติบโตของยีสต์นั้นเท่ากับสภาวะที่ใช้อาหาร YM + 15 mg/mL glucose ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแหล่งไนโตรเจนใน CELP นั้นสามารถทำให้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5196 มีการเจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็วกว่าการใช้อาหาร YM

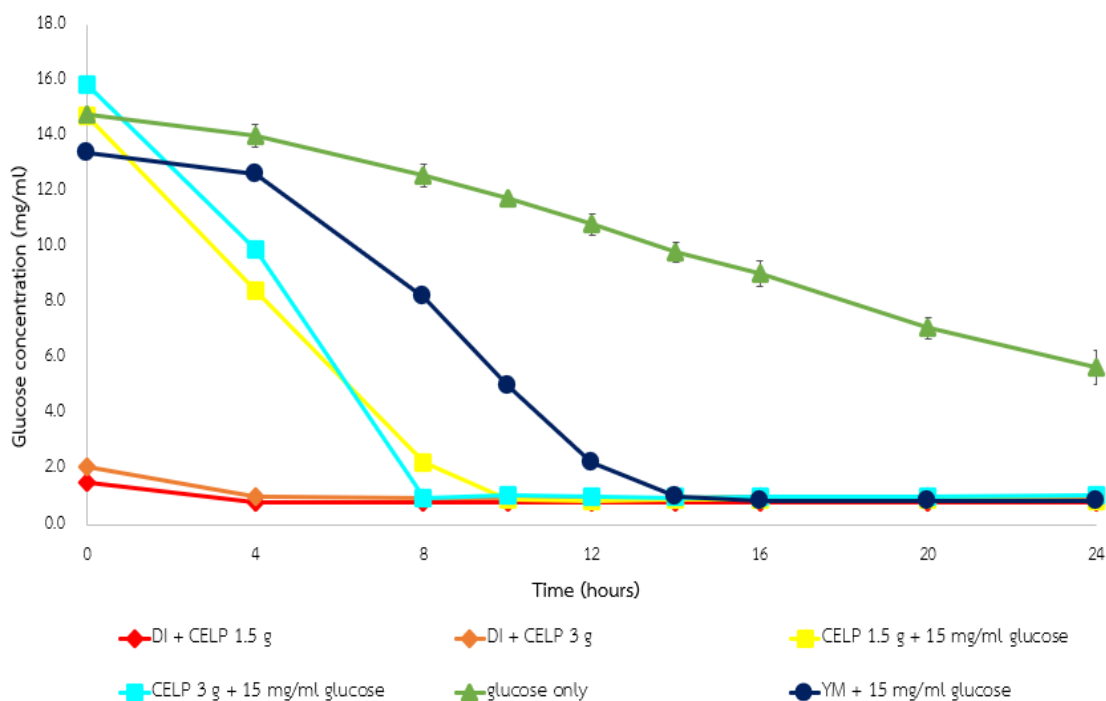
สำหรับอาหารที่ใช้เพียง CELP เพียงอย่างเดียวเท่านั้น พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตที่ช้าและคงที่หลังจากชั่วโมงที่ 12 ส่วนอาหารที่มี glucose เพียงอย่างเดียว เชื้อมีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ และยังมีมีการเจริญเติบโตอยู่หลัง 24 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า แหล่งคาร์บอนมีความสำคัญมากต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของ cell ส่วนแหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อ cell productivity ของเชื้อ *S. cerevisiae*



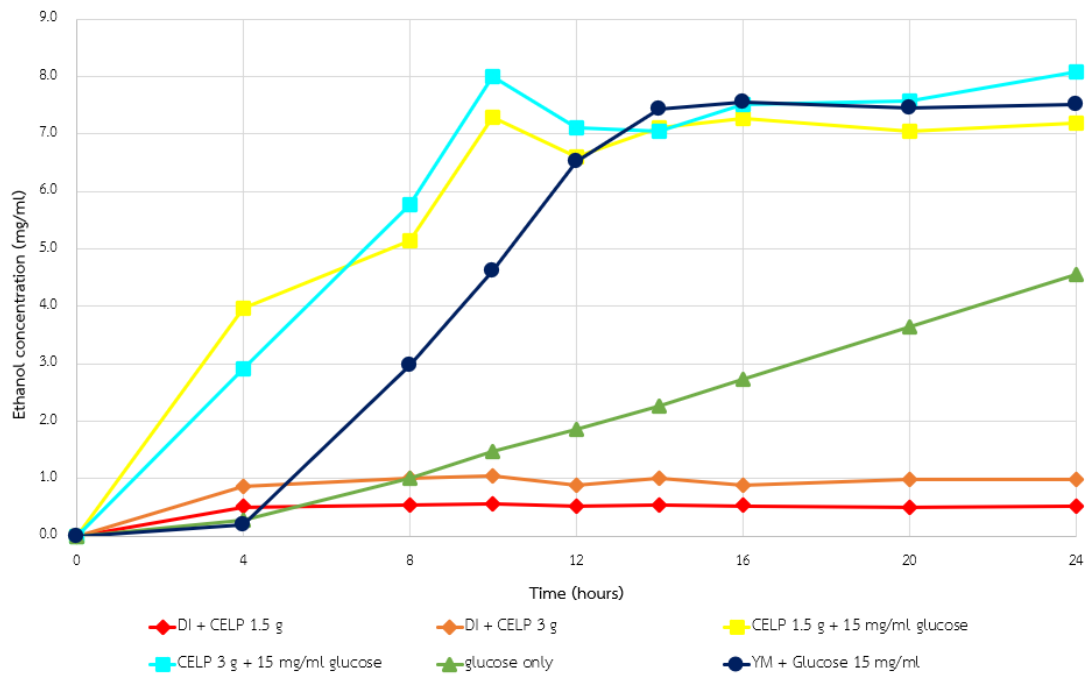
ภาพที่ 20 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

4. ผลการศึกษาการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ glucose (mg/mL) และความเข้มข้นของ ethanol (mg/mL) ในการหมักทั้งหมด 6 สภาวะ

เมื่อยีสต์มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นแหล่งคาร์บอนจะลดลง โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบทวีคูณ (ภาพที่ 21) ในการหมักอาหาร CLEP 1.5 g +15 mg/mL glucose และ CLEP 3 g + 15 mg/mL glucose เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 มีการใช้น้ำตาลกลูโคสอย่างรวดเร็วจนเกือบหมดที่ชั่วโมงที่ 10 และ 8 ตามลำดับ และมีค่าการผลิตเอทานอลสูงที่สุดอยู่ที่ 7.3 และ 8.0 mg/mL ณ ชั่วโมงที่ 10 ตามลำดับ ในขณะที่อาหาร YM + 15 mg/mL glucose เชื้อใช้น้ำตาลหมดที่ชั่วโมงที่ 16 มีค่าการผลิตเอทานอลสูงสุด ณ ชั่วโมงที่ 14 อยู่ที่ 7.5 mg/mL ซึ่งไม่แตกต่างจากปริมาณเอทานอลในอาหาร CLEP 1.5 g +15 mg/mL glucose ส่วนการใช้อาหาร CLEP 3 g + 15 mg/mL glucose ได้เอทานอลสูงที่สุดเมื่อเทียบกับทั้ง 3 อาหาร นอกจากนั้นพบว่า ยีสต์สามารถผลิตเอทานอลมากที่สุดได้ภายใน 10 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่าอาหาร YM ถึง 4 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่า ผงสารสกัดไขมันสำปะหลังนั้นสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* เพื่อผลิตเอทานอลได้ดีและรวดเร็วกว่าอาหาร YM



ภาพที่ 21 กราฟแสดงความเข้มข้นของ Glucose (mg/mL) ในการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 22 กราฟแสดงความเข้มข้นของ Ethanol (mg/mL) ในการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5196 ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าการหาสภาวะในการสกัดอะมิโนไนโตรเจนจากไขมันสำปะหลังที่ดีที่สุดด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง จากการออกแบบการทดลองแบบ Central composite พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดอะมิโนไนโตรเจนได้แก่ เวลาในการสกัด 20 นาที ปริมาณของแข็ง 40% และปริมาตรของการสกัด 150 mL ได้ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน 221 mg of N จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดนั้นได้แก่ ใช้อุณหภูมิอากาศเข้า 140°C อัตราการไหล 3 mL/min และความเข้มข้นของมอลโตเด็คซ์ตริน 12.5% ส่งผลให้ได้ค่าความเข้มข้นของอะมิโนไนโตรเจน 20.88 mg of N/g of powder และได้ปริมาณของผง ที่ 32.91% พร้อมกับคุณสมบัติที่สามารถเก็บรักษาได้นาน โดยมีค่า Water activity เท่ากับ 0.295 และปริมาณความชื้น 0.60% และมีความสามารถในการละลาย 99.3% ซึ่งถือเป็นคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงเชื้อได้ดี และเมื่อนำผง CELP ที่ได้มาเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตเอทานอล เปรียบเทียบกับอาหารทั่วไป (YM) พบว่า ในสภาวะที่ใช้ปริมาณคาร์บอนและกลูโคสที่เท่ากัน สภาวะที่ใช้ CELP สามารถผลิตเอทานอลได้ 8.0 mg/mL ซึ่งมากกว่าจาก YM ที่ผลิตได้ 7.5 mg/mL ในเวลาที่น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่า สารสกัดไขมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการ Spray drying สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการเลี้ยงยีสต์ได้เป็นอย่างดี งานวิจัยนี้ถือเป็นความก้าวหน้าที่จะใช้ไขมันสำปะหลังเป็นแหล่งไนโตรเจนในการใช้งานเทคโนโลยีชีวภาพต่างๆ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอย่างยั่งยืน



รายการอ้างอิง

- Abd El-Hamid, H. T., AlProl, A. E., & Hafiz, M. A. (2022). The efficiency of adsorption modelling and Plackett-Burman design for remediation of crystal violet by *Sargassum latifolium*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *44*, 102459. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102459>
- Adeogun, A. I., Agboola, B. E., Idowu, M. A., & Shittu, T. A. (2019). ZnCl₂ Enhanced Acid Hydrolysis of Pretreated Corncob for Glucose Production: Kinetics, Thermodynamics and Optimization Analysis. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, *4*(3), 149-158. <https://doi.org/https://doi.org/10.12162/jbb.v4i3.003>
- Algéus, S. (2006). The Utilization of Aspartic Acid, Succinamide and Asparagine by *Scenedesmus obliquus*. *Physiologia Plantarum*, *3*, 225-235. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1950.tb07504.x>
- Aragüez-Fortes, Y., Robaina-Morales, L. M., & Pino, J. A. (2019). Optimization of the spray-drying parameters for developing guava powder. *Journal of Food Process Engineering*, *42*(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13230>
- Arebo, M., Feyisa, J., Tafa, K., & Satheesh, N. (2023). Optimization of spray-drying parameter for production of better quality orange fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) powder: Selected physiochemical, morphological, and structural properties. *Heliyon*, *9*, e13078. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13078>
- Bagewadi, Z. K., Mulla, S. I., & Ninnekar, H. Z. (2017). Optimization of laccase production and its application in delignification of biomass. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, *6*(4), 351-365. <https://doi.org/10.1007/s40093-017-0184-4>
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, *76*(5), 965-977. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Boundy-Mills, K., Karuna, N., Garay, L. A., Lopez, J. M., Yee, C., Hitomi, A., Nishi, A. K., Enriquez, L. L., Roberts, C., & Block, D. E. (2019). Conversion of cassava leaf to

- bioavailable, high-protein yeast cell biomass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(6), 3034-3044.
- Chaiareekitwat, S., Latif, S., Mahayothee, B., Khuwijtjaru, P., Nagle, M., Amawan, S., & Müller, J. (2022). Protein composition, chlorophyll, carotenoids, and cyanide content of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) as influenced by cultivar, plant age, and leaf position. *Food Chem*, 372, 131173. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131173>
- Eroğlu, E., Tontul, I., & Topuz, A. (2018). Optimization of aqueous extraction and spray drying conditions for efficient processing of hibiscus blended rosehip tea powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13643. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13643>
- Ghosal, S., Indira, T. N., & Bhattacharya, S. (2010). Agglomeration of a model food powder: Effect of maltodextrin and gum Arabic dispersions on flow behavior and compacted mass. *Journal of Food Engineering*, 96(2), 222-228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.016>
- Gong, J.-S.-Q., Su, J.-E., Cai, J.-Y., Zou, L., Chen, Y., Jiang, Y.-L., & Hu, B.-B. (2023). Enhanced enzymolysis and bioethanol yield from tobacco stem waste based on mild synergistic pretreatment [Original Research]. *Frontiers in Energy Research*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2022.989393>
- Haaland, P. D. (1991). BOOK REVIEW. *Drying Technology*, 9(3), 817-817. <https://doi.org/10.1080/07373939108916715>
- Hu, R. (2017). *Food Product Design: A Computer-Aided Statistical Approach*. <https://doi.org/10.1201/9780203755624>
- Hue, K. T., Thanh Van do, T., Ledin, I., Wredle, E., & Spörndly, E. (2012). Effect of harvesting frequency, variety and leaf maturity on nutrient composition, hydrogen cyanide content and cassava foliage yield. *Asian-Australas J Anim Sci*, 25(12), 1691-1700. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12052>
- Josic, D., & Clifton, J. G. (2007). Mammalian plasma membrane proteomics. *Proteomics*, 7(16), 3010-3029. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700139>

- Kammoun, M., Margellou, A., Toteva, V. B., Aladjadjyan, A., Sousa, A. F., Luis, S. V., Garcia-Verdugo, E., Triantafyllidis, K. S., & Richel, A. (2023). The key role of pretreatment for the one-step and multi-step conversions of European lignocellulosic materials into furan compounds [10.1039/D3RA01533E]. *RSC Advances*, 13(31), 21587-21612. <https://doi.org/10.1039/D3RA01533E>
- Karuna, N., Jindapang, P., Saengphenchan, R., Panpedthan, J., & Supasorn, S. (2022). Cassava Leaves as an Alternative Nitrogen Source for Ethanol Fermentation. *BioEnergy Research*. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10473-7>
- Kemsawasd, V. (2018). Development of functional drink powder from cassava leave extract. *National Research Council of Thailand (NRCT)*.
- Lee, J.-S., Parameswaran, B., Lee, J.-P., & Park, S.-C. (2008). Recent developments of key technologies on cellulosic ethanol production.
- Ma, W., Zhang, J., Shu, L., Tan, X., An, Y., Yang, X., Wang, D., & Gao, Q. (2020). Optimization of spray drying conditions for the green manufacture of γ -aminobutyric acid-rich powder from *Lactobacillus brevis* fermentation broth. *Biochemical Engineering Journal*, 156, 107499. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107499>
- Maurya, D. P., Singla, A., & Negi, S. (2015). An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. *3 Biotech*, 5, 597-609.
- Mota, T. R., Oliveira, D. M., Simister, R., Whitehead, C., Lanot, A., dos Santos, W. D., Rezende, C. A., McQueen-Mason, S. J., & Gomez, L. D. (2021). Design of experiments driven optimization of alkaline pretreatment and saccharification for sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 321, 124499. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124499>
- Nadali, N., Pahlevanlo, A., Sarabi-Jamab, M., & Balandari, A. (2022). Effect of maltodextrin with different dextrose equivalents on the physicochemical properties of spray-dried barberry juice (*Berberis vulgaris* L.). *J Food Sci Technol*, 59(7), 2855-2866. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05308-w>

- Nassiri Mahallati, M. (2020). Advances in modeling saffron growth and development at different scales. In *Saffron* (pp. 139-167). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818638-1.00009-5>
- Olawuni, O. A., Sadare, O. O., & Moothi, K. (2024). Optimization of liquid hot water pretreatment for extraction of nanocellulose crystal from South African waste corncobs. *Chemical Engineering Communications*, 211(1), 26-39. <https://doi.org/10.1080/00986445.2023.2218269>
- Pawongrat, R. (2015). กระบวนการ ปรับ สภาพ เพื่อ เพิ่ม ประสิทธิภาพ การ ผลิต เอ ทาน อ ล จาก วัสดุ เหลือ ที่ ัง ทาง การเกษตร ประเภท ลิ ก โน เซลลูโลส/Pretreatment processes for enhancing the efficiency of ethanol production from lignocellulosic-agricultural wastes. *Veridian E-journal Science and Technology Silpakorn University*, 2(1), 143-157.
- Plackett R L, B. J. P. (1946). The Design of Optimal Multifactorial Experiments. *Biometrika*, 33(4), 305-325.
- Plackett, R. L., & Burman, J. P. (1946). The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika*, 33(4), 305-325. <https://doi.org/10.2307/2332195>
- Sarabandi, K., Gharehbeiglou, P., & Jafari, S. (2019). Spray-drying encapsulation of protein hydrolysates and bioactive peptides: Opportunities and challenges. *Drying Technology*, 38. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1689399>
- Sharma, M., Bains, A., Sridhar, K., Chawla, P., & Sharma, M. (2023). Process optimization for spray dried Aegle marmelos fruit nanomucilage: Characterization, functional properties, and in vitro antibiofilm activity against food pathogenic microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 249, 126050. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126050>
- Subramaniam, S., Karunanandham, K., Asm, R., & Uthandi, S. (2023). Delignification of the cotton stalk and ginning mill waste via EnZolv pretreatment and optimization of process parameters using response surface methodology (RSM). *Bioresource technology*, 387, 129655. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129655>
- Suriyachai, N., Weerasai, K., Upajak, S., Khongchamnan, P., Wanmolee, W., Laosiripojana, N., Champreda, V., Suwannahong, K., & Imman, S. (2020). Efficiency of Catalytic

- Liquid Hot Water Pretreatment for Conversion of Corn Stover to Bioethanol. *ACS Omega*, 5(46), 29872-29881. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04054>
- Wang, H., Sun, Y., Li, Y., Tong, X., Regenstein, J. M., Huang, Y., Ma, W., Sami, R., Qi, B., & Jiang, L. (2019). Effect of the condition of spray-drying on the properties of the polypeptide-rich powders from enzyme-assisted aqueous extraction processing. *Drying Technology*, 37(16), 2105-2115. <https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1563104>
- Wang, W., Jiang, Y., & Zhou, W. (2013). Characteristics of soy sauce powders spray-dried using dairy whey proteins and maltodextrins as drying aids. *Journal of Food Engineering*, 119(4), 724-730. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.047>
- Weisberg, S. (2005). *Applied linear regression* (Vol. 528). John Wiley & Sons.
- Wu, Z., Song, L., Liu, S. Q., & Huang, D. (2013). Independent and additive effects of glutamic acid and methionine on yeast longevity. *PLoS One*, 8(11), e79319. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079319>
- Yeoh, H. H., & Chew, M. Y. (1976). Protein content and amino acid composition of cassava leaf. *Phytochemistry*, 15(11), 1597-1599. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97435-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97435-1)



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

ศิรดา ทรัพย์เจริญดี

วุฒิการศึกษา

สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีจากมหาวิทยาลัยศิลปากร คณะ
วิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม สาขาธุรกิจวิศวกรรม

