

ภาคผนวก ก

รูปภาพที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย



ภาพที่ ก.1 ฝักไม้สมบูรณ์ ฝักเมล็ดกลมและฝักเมล็ดห่าง



ภาพที่ ก.2 ฝักแก่และฝักอ่อน



เมล็ดที่ได้คุณภาพ



เมล็ดที่ผ่านจากข้าวโพดตกเกรด

ภาพที่ ก.3 เมล็ดที่ได้คุณภาพ และเมล็ดที่ผ่านจากฝักที่ไม่ได้คุณภาพ



ส่วนเหลือจากเครื่องคัดแยกเมล็ด



ส่วนเหลือจากเครื่องด้างและร้อนเมล็ด

ภาพที่ ก.4 ลักษณะของส่วนเหลือข้าวโพดหวานจากเครื่องคัดแยกเมล็ด และจากเครื่องด้างและร้อนเมล็ด



ภาพที่ ก.5 เครื่องกลั่นสุราที่ใช้ในการวิจัย

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้า (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า Memmert, Model 600 ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 °C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้วและชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W2)
3. นำเอาอบกระป๋องอบความชื้นที่ใส่ตัวอย่างแล้วนำไปอบพร้อมฝา โดยเปิดฝาทิ้งไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า Memmert, Model 600 ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 °C นาน 3 ชั่วโมง
4. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าโดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักที่คงที่ (W3)

$$\text{ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก} = \{(W2 - W3) \times 100\} / W2 - W1$$

2. การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีโรส-กอตต์เลียบ (AOAC, 2000)

1. ชั่งน้ำหนักด้วยน้ำหนักใส่ในบีกเกอร์ที่มีฝาปิด (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในบีกเกอร์
2. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2) เติมน้ำอุ่นเล็กน้อยเข้าให้ตัวอย่างละลาย เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำละลายแอมโมเนีย 1.25 มิลลิลิตร เติมนีลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ
4. เติมนีลเอธิลเอเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง โคนการค่อยๆเปิด
5. เติมนีลเอธิลเอเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวังเหมือนเดิม ล้างจุกด้วยสารละลายผสมจำนวนเล็กน้อย
6. ตั้งทิ้งไว้ ให้สารละลายแยกชั้น ถ่ายสารละลายส่วนชั้นบนออก ลงในบีกเกอร์
7. เติมนีลเอธิลเอเทอร์อีก 1 มิลลิลิตร ทำการสกัดเหมือนเดิมแต่เปลี่ยนปริมาณนีลเอธิลเอเทอร์และนีลเอธิลเอเทอร์ เป็นอย่างละ 15 มิลลิลิตร

8. นำบิกเกอร์ไปอังที่เครื่องอังน้ำที่อยู่ในตู้ดูดควัน จนปริมาณไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยออกจนหมด จึงนำไปอบต่อในตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า Memmert, Model 600 ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 °C นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W 3)

9. นำบิกเกอร์ที่ชั่งน้ำหนักเสร็จเรียบร้อยแล้ว ไปล้างไขมันออก โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ 3 ครั้งๆละ 15 มล. รินใส่ขวดแล้วนำไปกลั่นเพื่อนำกลับมาใช้ต่อได้

10. นำบิกเกอร์ที่ล้างไขมันออกแล้วไปอบต่อในตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า Memmert, Model 600 ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 °C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W4)

$$\text{ปริมาณร้อยละของน้ำหนักไขมัน} = \{(W3 - W4) \times 100\} / W2 - W1$$

3. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีเคลดาล์ (Kjeldahl Method) (AOAC, 2000)

1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนโดยใช้บิกเกอร์ใส่ตัวอย่าง 0.5–2.0 กรัม และชั่งน้ำหนัก (W 1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเคลดาล์ แล้วชั่งน้ำหนักบิกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W 2) ทำ blank ควบคู่ไปด้วย

2) เติมอะดัลติฟิเคชันจำนวน 8 กรัม

3) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดและค่อยๆรินกรดลงข้างๆหลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ

4) นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีนในตู้ควัน โดยใช้ความร้อนระดับ 5 ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วจึงเพิ่มเป็นความร้อนระดับ 10 อีกประมาณ 2 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งสารละลายใสจึงปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง

5) นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน Buchi, Model 323 โดยนำขวดรูปชมพู่ที่กรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตรและหยดอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 3-5 หยด

6. อัตราการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาณมากเกินไป (ปริมาณ 60 มิลลิลิตร) โดยมีข้อสังเกต ถ้าปริมาณต่างมากเกินไป สารละลายจะมีสีดำ ถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มอีก 5-10 มิลลิลิตร

7) เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่น โดยให้ทำ Blank ก่อนตัวอย่าง จึงทำการกลั่นตัวอย่าง

8) นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนได้จุดยุติ คือ สังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง

ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนักร้อยละของน้ำหนัก = $\{(V_a - V_b) \times N.H_2SO_4 \times 1.4007\} / W_1 - W_2$

V_a = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

V_b = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$N.H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก มีหน่วยเป็นนอร์มอล

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนักร้อยละของน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนักร้อยละของน้ำหนัก \times แฟกเตอร์
(ค่าแฟกเตอร์ของข้าวโพด = 6.25)

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

1) เผาด้วยเครื่องกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525-550 °C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W_2)

2) นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้า E.G.O. Elektro-Geratebau GMBH Germany โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยจนตัวอย่างไหม้เกรียม และเผาต่อด้วยตะเกียงเบนเซนให้หมดควัน

3) นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525-550 °C จนได้เถ้าสีขาว

4) ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักไว้ (W_3)

ปริมาณเถ้า ร้อยละของน้ำหนักร้อยละของน้ำหนัก = $\{(W_2 - W_1) \times 100\} / W_2 - W_1$

6. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการคำนวณ (AOAC, 2000)

เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรต = $100 - (\% \text{ความชื้นหรือ}\% \text{น้ำ} - \% \text{ไขมัน} - \% \text{โปรตีน} - \% \text{กาก} - \% \text{เถ้า})$

7. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 2000)

7.1 การเตรียมสารละลาย

1) สารละลายเฟห์ลิง (Fehling's solution) ประกอบด้วย

สารละลาย Fehling 1 : ละลายคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 36.639 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ Volumetric flask

สารละลาย Fehling 2 : ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 50 กรัม และโปแตสเซียมโซเดียมคาร์เตต (NaKC₄O₆.4H₂O) 173 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ Volumetric flask

2) สารละลาย Carrez ประกอบด้วย

สารละลาย Carrez 1 : ละลาย zinc acetate dihydrate 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดอะซิติก (glacial acetic acid) 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask

สารละลาย Carrez 2 : ละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask

3) สารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล : ตวงกรดไฮโดรคลอริก จำนวน 264.165 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask

4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มอล : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 50 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask

5) สารละลายเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ : ละลายเมธิลีนบลู จำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask

7.2 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1) ชั่งตัวอย่าง 2.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นพอประมาณ

2) เติมสารละลาย Carrez 1 และ Carrez 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

3) กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4

4) นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในบิวเรตชนิดปลายงอ ขนาด 50 มิลลิลิตร ไล่ฟองอากาศในบิวเรตออกให้หมด

5) ปิเปตสารละลาย Fehling 1 และ Fehling 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติม glass bead ลงไป 8-10 เม็ด

6) ต้มสารละลายในพลาสติกให้เดือดบนตะเกียงเบนเซน เติมเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1 หยด ไตเตรตจนได้ตะกอนสีส้มแดง สารละลายที่ใช้ในการไตเตรตต้องอยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร

7) ทำการไตเตรตซ้ำ โดยปิเปตสารละลาย Fehling 1 และ Fehling 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ในพลาสติก ปล่อยสารละลายตัวอย่างจากบิวเรตลงไปก่อนถึงจุดยุติประมาณ 1-2 มิลลิลิตร

8) ต้มสารละลายในพลาสติกให้เดือด เติมเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ แล้วจึงทำการไตเตรตจนได้ตะกอนสีส้มแดง บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรต

9) นำไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างจากตาราง และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์

8. การหาปริมาณกรดโดยวิธีไตเตรชัน (AOAC, 2000)

1) นำผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปที่คนให้เข้ากันหรือที่ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันหลังจากการวัด pH มากรองโดยใช้ผ้าขาวบางหลายๆชั้นให้ได้ของเหลวมากกว่า 50 มล.

2) ปิเปตของเหลวที่ได้มา 1 หรือ 10 มล. ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มล เติมน้ำกลั่น 50 มล. เขย่าให้เข้ากัน

3) หยดฟีนอล์ฟธาลินลงไป 2 - 3 หยด

4) ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ทราบความเข้มข้น บันทึกปริมาณ NaOH ที่ใช้ไป (A) โดยจุดยุติหรือจุดเปลี่ยนสีคือจุดที่เปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์เริ่มต้นเป็นสีชมพูอ่อน ถ้าหากยังคงมองไม่เห็นจุดเปลี่ยนสีให้วิธีเทียบโดยจุ่มกับ pH meter โดยจุดที่เปลี่ยนเป็นสีชมพูอยู่ที่ประมาณ pH 8.70

5) ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างนำไปไตเตรต บันทึกปริมาณ NaOH ที่ใช้ไป (B)

6) คำนวณหา % Acidity (as Lactic Acid) ดังนี้

$$\% \text{ Acidity} = \{9 \times (A - B) \times \text{Normality ของ NaOH}\} / \text{ปริมาตรตัวอย่าง}$$

เมื่อ A = ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

B = ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไตเตรต Blank

9. การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง Hanna Instrument, Model 8417 Portugal ซึ่งได้ปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.00 กับ 4.00 ตามลำดับ

10. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

นำของเหลวจากตัวอย่างมาวัดด้วย Hand refractometer, Tamco Taiwan ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็น degree Brix การปรับเทียบศูนย์ใช้น้ำกลั่น

11. การวิเคราะห์เมธานอลและฟูเซลออยล์ (สถานบริการวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (สวท-มช))

วิเคราะห์หาเมธานอล

เตรียมสารมาตรฐานเมธานอล

1. เตรียมความเข้มข้น 10 20 40 80 และ 120 ppm ใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร

1.1 เติม 200 ul ของ 50 ppm 1- Butanol เป็น Internal standard ทุกขวด

1.2 เตรียมตัวอย่างใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร โดยเติม 50 ppm 1- Butanol ด้วย

2. ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้สภาวะดังนี้

Column : HP-INNOWAX (30 m × 0.25 mm × 0.25 mm)

GC condition : Inlet 200c

Detector (FID) 250 c

Carrier gas 1 ml/min (He)

Injection volume 1 ul (split 50:1)

Oven 35c (4 min), 35-85c (7c/min), 85-150c (25 c/min), 150c (2 min)

วิเคราะห์หาฟูเซลออยล์

1. เตรียมความเข้มข้นเดียวกัน 50 100 200 400 และ 1200 ppm ใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร

1.1 เติม 200 ul ของ 50 ppm 1- Butanol เป็น Internal standard ทุกขวด

1.2 เตรียมตัวอย่างใน Volumetric flask 10 มิลลิลิตร โดยเติม 50 ppm 1- Butanol ด้วย

2. ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยสภาวะการทดลองเช่นเดียวกับการหาเมธานอล

การคำนวณ

1. กรณีที่พบว่าในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์มี 1- Butanol ปนอยู่ด้วย การคำนวณหาปริมาณสามารถหาได้จากกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างพื้นที่ใต้พีคของสารกับความเข้มข้น โดยไม่เอาพื้นที่ใต้พีคของ 1- Butanol มาคิด

2. กรณีที่ไม่พบว่าตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ 1- Butanol ปนอยู่ด้วยการคำนวณหาปริมาณสามารถหาได้จากกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่าง

$$\{\text{พื้นที่ใต้พีคของสาร} \times \text{ความเข้มข้น}\} / \text{พื้นที่ใต้พีคของ 1-Butanol}$$

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารวุ้นแข็ง

ทำสารละลายอาหารปริมาณ 500 มิลลิลิตร จะประกอบด้วยส่วนผสมต่างๆดังนี้

น้ำกลั่น	400	มิลลิลิตร
น้ำมันฝรั่ง	100	มิลลิลิตร
Bacto™ Agar	7.50	กรัม
D (+) - Glucose monohydrate	10.00	กรัม

1.1 การเตรียมน้ำมันฝรั่ง

- 1.1.1 น้ำมันฝรั่งปอกเปลือก หั่นแล้ว 100 กรัม
- 1.1.2 ต้มในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร จนเดือด 10 – 15 นาที
- 1.1.3 กรองผ่านผ้าขาวบาง ถ้าหากใช้ไม่หมดเก็บใส่ขวดไว้ในตู้เย็น

1.2 การทำอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.1 ต้มน้ำมันฝรั่งที่เอามาจากตู้เย็นจนเดือด (ในกรณีที่นำเอามาจากตู้เย็น) แล้วค่อยๆเติมส่วนผสมต่างๆลงไป แบ่งน้ำกลั่นใส่ประมาณ 300 มิลลิลิตร ต้มจนวุ้นละลายสังเกตได้จากสารละลายใส จึงเติมน้ำกลั่นที่เหลือให้ครบ 500 มิลลิลิตร

1.2.2 แบ่งใส่ขวดแบน ปิดฝาขวดด้วยจุกสำลีและหุ้มพอยล์

1.2.3 ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำ (Autoclave, Electric Pressure Steam Sterilizer Model No. 25 X, USA) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

1.2.4 ทำการ pour plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำไปใช้

2. การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อรา (นภา โล่ห์ทอง, 2535)

- 1) นำเอาข้าวเจ้าหอมมะลิมาแช่น้ำทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง สะเด็ดน้ำออก
- 2) ชั่งน้ำหนัก 100 กรัม เติลงในขวดแก้วแบน แล้วกลิ้งกระจายข้าวให้ทั่วขวด
- 3) อุดจุกด้วยสำลี ปิดทับด้วยแผ่นอลูมิเนียม แล้วครอบด้วยถุงพลาสติกกันร้อน

4) นำเอาไปทำให้ปลอดเชื้อ โดยใช้หม้อนึ่งไอน้ำ (Autoclave, Electric Pressure Steam Sterilizer Model No. 25 X, USA) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^oซ เป็นเวลา 20 นาที

5) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำไปใช้

2.1 การถ่ายเชื้อรา

เขี่ยเชื้อราจาก Stock จำนวน 1 หลวง นำไปตากบนอาหารวุ้นแข็งที่ได้ในข้อ 1 นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จนมองเห็นเส้นใยของเชื้อรา แล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4^oซ จนกระทั่งนำมาใช้งาน

2.2 การเตรียมกล้าเชื้อรา

ทำการเขี่ยเชื้อราที่ได้ในข้อ 2.1 ลงจำนวน 2 หลวงในอาหารในขวดแบนในสภาพปลอดเชื้อ แล้วไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-7 วัน จนมองเห็นเส้นใยของเชื้อราคลุมทั่วทั้งขวด จึงนำไปใช้งาน ถ้าหากใช้ไม่หมดให้นำเอาขวดกล้าเชื้อราที่ไม่ได้เปิดจุกที่ขวดนำไปเก็บในตู้เย็น

3. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

นำยีสต์สายพันธุ์ทางการค้าชนิดผง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Fermivin PDM V1116 และ Bourgoblanc จำนวน 0.2 กรัมต่อข้าวโพดหวาน 1 กิโลกรัม ผสมลงในน้ำสะอาดประมาณ 15 กรัม ที่มีอุณหภูมิประมาณ 40^oซ ผสมให้กระจายตัว ตั้งทิ้งไว้ 15 – 20 นาที จึงนำไปใช้งาน

ภาคผนวก ง

วิธีการคำนวณที่ใช้ในการวิจัย

1. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณผลผลิตที่ได้

- ถ้าในแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ มีแอลกอฮอล์ 35%
ดังนั้นแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 2760 มิลลิลิตร จะมีแอลกอฮอล์ 966 มิลลิลิตร
- ใช้ข้าวโพดหวาน 86300 กรัม

จากสูตรการคำนวณผลผลิตแอลกอฮอล์ที่ได้ (%V/W)

$$= \{ \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{น้ำหนักข้าวโพดหวาน (กรัม)} \} \times 100$$
$$= (966 / 86300) \times 100 = 1.12\%$$

2. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากน้ำหมัก

- ถ้าน้ำหมักมีแอลกอฮอล์ 4%
ดังนั้นในน้ำหมักจำนวน 133050 มิลลิลิตร จะมีแอลกอฮอล์ 5322 มิลลิลิตร
- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 2760 มิลลิลิตร

จากสูตรการคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากน้ำหมัก (%V/V)

$$= \{ \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักหลังการหมัก (มล.)} \} \times 100$$
$$= (2760 / 5322) \times 100 = 51.86\%$$

3. ตัวอย่างวิธีการคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จริงจากแป้ง

- ถ้าข้าวโพดหวานมีแป้งจำนวน 17.87% ดังนั้นข้าวโพดหวานจำนวน 86300 กรัม มีแป้ง 15421.8 กรัม
- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ทั้งหมด 2760 มิลลิลิตร

จากสูตรการคำนวณผลผลิตแอลกอฮอล์ที่ได้ (%V/W)

$$= \{ \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้ (มล.)} / \text{น้ำหนักแป้งในมันฝรั่งที่ใช้ (กรัม)} \} \times 100$$
$$= (2760 / 15421.8) \times 100 = 6.26\%$$

4. ตัวอย่างวิธีการคำนวณประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์

- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จริงจากแป้ง (%V/W) (จากข้อ 3)
- ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ตามทฤษฎี (%) คือ หากมีแป้งจำนวน 1.7 หน่วย สามารถหมักให้ได้แอลกอฮอล์ จำนวน 1 หน่วย คิดเป็น 58.82%

จากสูตรคำนวณ ประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์

$$= \{ \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จริงจากแป้ง (\%)} / \text{ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ตามทฤษฎี (\%)} \} \times 100$$

$$= (6.26 / 58.82) \times 100 = 10.64\%$$

5. การคำนวณต้นทุนการผลิต

ตารางที่ ๑ การคำนวณต้นทุนการผลิตสุรากลั่นจากข้าวโพดหวาน

รายการ	ราคา (บาท)/ หน่วย	จำนวนที่ใช้	คิดเป็นเงิน (บาท)
ข้าวโพดหวาน	0.10 / กก.	86.3 กก.	8.63
ค่าเอนไซม์แอลฟาอะมิเลส	300 / กก.	0.039 กก.	11.70
ค่าเอนไซม์กลูโคอะมิเลส	400 / กก.	0.040 กก.	16.00
ค่ายีสต์	200 / 20 ก.	1.7 ก.	17.00
รวมต้นทุน (ไม่มีค่าแรง)			53.33
ค่าแรง 30% ของต้นทุน			16.00
	รวมเป็นเงิน		69.33
ผลผลิตที่ได้ 2.76 ลิตร	ดังนั้นต้นทุนในการผลิต / ลิตร		25.11
	ต้นทุนในการผลิต / 750 มิลลิลิตร		18.83