

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
Abstract	ข
บทคัดย่อ	ค
คำนำ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เอทานอล	6
2.1.1 คุณสมบัติทั่วไปของเอทานอล	6
2.1.2 ประโยชน์ของเอทานอล	7
2.1.3 การผลิตเอทานอล	7
2.2 ยีสต์	8
2.2.1 ลักษณะทั่วไปและโครงสร้างของยีสต์	8
2.2.2 ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักเอทานอล	9
2.3 กระบวนการหมัก	16
2.3.1 การหมักแบบกะ	16
2.3.2 การหมักแบบกึ่งกะ	17
2.3.3 การหมักแบบต่อเนื่อง	17
2.3.4 การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง	18
2.4 ข้าวฟ่างหวาน	18
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 จุลินทรีย์และการเตรียมกล้าเชื้อ	26
3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	26
3.1.2 การเตรียมกล้าเชื้อ	26
3.2 วัสดุอุปกรณ์และการเตรียมวัตถุดิบ	26
3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ	26

	หน้า
3.2.2 การเตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการหมัก	26
3.2.3 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	27
3.2.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	27
3.4 วิธีการทดลอง	28
3.4.1 การเตรียมวัตถุดิบจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล	28
3.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน	28
3.4.3 การเตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการหมัก	29
3.4.4 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> NP 01	29
3.4.5 การศึกษาเบื้องต้น (preliminary studies)	29
3.4.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลที่มีการแปรผันปัจจัยต่างๆ โดยการออกแบบการทดลองด้วยวิธี Orthogonal	30
3.4.7 สรุปผลการศึกษาและเขียนรายงานฉบับสมบูรณ์ และนำผลงานวิจัยไปเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ/นานาชาติ หรือตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับชาติ/นานาชาติ	31
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การหาองค์ประกอบหลักที่สำคัญในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานและเตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการหมัก	32
4.2 เตรียมกล้าเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก	32
4.3 การผลิตเอทานอลแบบกะโดยการแปรผันอัตราการให้อากาศ การกวน และเวลาในการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์และการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยใช้ Orthogonal	33
4.4 การทวนสอบผลการทดลอง (verification experiment) และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลในรูปของความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ ผลได้ และอัตราผลผลิตของเอทานอลที่สภาวะการให้อากาศต่างๆ	47
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	49
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวกที่ 1 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) โดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์	60
ภาคผนวกที่ 2 การวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดทั้งหมดโดยวิธี Phenol sulfuric	61
ภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี	63
ภาคผนวกที่ 4 การวัดการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Microscopic count	65
ภาคผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานและโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน	67

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 วิธีอีเอ็มพีในยีสต์สายพันธุ์ <i>Sacchromyces cerevisiae</i>	3
รูปที่ 2.2 เมแทบอลิซึมของยีสต์ภายใต้สภาวะ (ก) การหายใจโดยใช้อากาศ และ (ข) การหมักโดยไม่ใช้อากาศ	14
รูปที่ 2.3 ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบกะ	16
รูปที่ 2.4 กระบวนการแยกส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานแบบ Tilby	19
รูปที่ 4.1 การเจริญของ <i>S. cerevisiae</i> NP01 ในน้ำเคี้ยวลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด 150 กรัมต่อลิตร และมีการเติมและไม่มีการเติมด้วยยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ (3 กรัมต่อลิตร) มอลท์เอ็กซ์แทรกท์ (3 กรัมต่อลิตร) และเปปโทน (5 กรัมต่อลิตร)	33
รูปที่ 4.2 การผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีน้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร สภาวะที่ 1 (A) มีอัตราการกวน 100 rpm ไม่มีการให้อากาศ 2 (B) มีอัตราการกวน 100 rpm มีการให้อากาศ 0.5 vvm เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง 3 (C) มีอัตราการกวน 200 rpm ไม่มีการให้อากาศและ 4 (D) มีอัตราการกวน 200 rpm มีการให้อากาศ 2.5 vvm เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> NP01 เริ่มต้น 1.0×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร	36
รูปที่ 4.3 การผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีน้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร สภาวะที่ 1 (A) มีอัตราการกวน 100 rpm ไม่มีการให้อากาศ 2 (B) มีอัตราการกวน 100 rpm มีการให้อากาศ 0.5 vvm เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง 3 (C) มีอัตราการกวน 200 rpm ไม่มีการให้อากาศและ 4 (D) มีอัตราการกวน 200 rpm มีการให้อากาศ 2.5 vvm เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 9 กรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 เริ่มต้น 2.0×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร	40
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (A) ความเข้มข้นเอทานอล (B) และความเข้มข้นเซลล์ที่มีชีวิต (C) ในการผลิตเอทานอล (เมื่อระบบหยุดให้อากาศ) จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร และมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 9 กรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณกล้าเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> NP01 เริ่มต้น 2.0×10^7 เซลล์	42
รูปที่ 4.5 การผลิตเอทานอลแบบกะภายใต้สภาวะที่ 1 โดยใช้ น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีน้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร และมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 9 กรัมต่อลิตร โดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01	44
รูปที่ 4.6 การผลิตเอทานอลแบบกะภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (อัตราการกวน 200 rpm อัตราการให้อากาศ 2.5 vvm และเวลาในการให้อากาศ 4 ชั่วโมง) จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่าง	48

หวานที่มีน้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร และมีการเติมยีสต์เอคส์แทรกต์ 9 กรัมต่อลิตร โดย *S. cerevisiae* NP 01

- รูปที่ ผ.1 ปฏิกริยาระหว่างฟีนอลและคาร์โบไฮเดรต (ฟรุคโตส) ในกรดซัลฟูริกเข้มข้นได้ 61
ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบที่มีสีส้มของสาร triarylmethane dyes
- รูปที่ ผ.2 แผนภาพเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี 63
- รูปที่ ผ.3 ตัวอย่างช่องสีเหลี่ยมภายในสไลด์ Heamacytometer 66
- รูปที่ ผ.4 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล 67
ทั้งหมด
- รูปที่ ผ.5 โครมาโตแกรมของเอทานอลมาตรฐาน (5.523 นาที) และโพรพานอล (7.547 นาที) 68
- รูปที่ ผ.6 กราฟมาตรฐานของเอทานอลโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟี 68

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ผลของวิตามินต่อเมแทบอลิซึมของยีสต์	12
ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	27
ตารางที่ 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	27
ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานพันธุ์ KKU 40	32
ตารางที่ 4.2 ค่าพารามิเตอร์ของกระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มี น้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร โดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ภายใต้สภาวะต่างๆ กัน	37
ตารางที่ 4.3 ค่าพารามิเตอร์ของกระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มี น้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร และมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ 9 กรัมต่อลิตร โดย <i>S.</i> <i>cerevisiae</i> NP 01 ภายใต้สภาวะต่างๆ กัน	43
ตารางที่ 4.4 การออกแบบการทดลองโดยใช้ $L_9 (3^4)$ Orthogonal	43
ตารางที่ 4.5 พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน โดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ภายใต้การออกแบบ Orthogonal	45
ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ลำดับของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอลใน $L_9 (3^4)$ Orthogonal โดยใช้ความเข้มข้นเอทานอล	46
ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์ลำดับของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักเอทานอลใน $L_9 (3^4)$ Orthogonal โดยใช้อัตราผลผลิตเอทานอล	46
ตารางที่ 4.8 สภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยอิสระและระดับของแต่ละปัจจัยจากการออกแบบโดย L_9 (3^4) Orthogonal	46
ตารางที่ 4.9 ค่าพารามิเตอร์ของกระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มี น้ำตาลเริ่มต้น 290 กรัมต่อลิตร และมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกต์ 9 กรัมต่อลิตร โดย <i>S.</i> <i>cerevisiae</i> NP 01 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและสภาวะควบคุม	48