

## สารบัญ

|                                                                                                                     | หน้า      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| กิตติกรรมประกาศ                                                                                                     | ก         |
| Abstract                                                                                                            | ข         |
| บทคัดย่อ                                                                                                            | ค         |
| คำนำ                                                                                                                | ง         |
| สารบัญ                                                                                                              | จ         |
| สารบัญรูป                                                                                                           | ช         |
| สารบัญตาราง                                                                                                         | ซ         |
| <b>บทที่ 1 บทนำ</b>                                                                                                 | <b>1</b>  |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย                                                                             | 1         |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย                                                                                         | 3         |
| <b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>                                                                        | <b>4</b>  |
| 2.1 การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ                                                                                         | 4         |
| 2.2 ยีสต์                                                                                                           | 7         |
| 2.2.1 ลักษณะทั่วไปและโครงสร้างของยีสต์                                                                              | 7         |
| 2.2.2 ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักเอทานอล                                                                        | 7         |
| 2.3 ข้าวฟ่างหวาน                                                                                                    | 13        |
| 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง                                                                                           | 14        |
| <b>บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง</b>                                                                        | <b>19</b> |
| 3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและวัตถุดิบ                                                                                     | 19        |
| 3.2 จุลินทรีย์ การเตรียมกล้าเชื้อ และสารอาหารเสริม                                                                  | 19        |
| 3.3 วัสดุอุปกรณ์                                                                                                    | 20        |
| 3.4 วิธีการทดลอง                                                                                                    | 21        |
| 3.4.1 การวิเคราะห์ประกอบน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน ยีสต์เอ็กซ์แทรค และกากเซลล์ยีสต์                                   | 21        |
| 3.4.2 การผลิตเอทานอลแบบกะโดยใช้อาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล                                                | 21        |
| 3.4.3 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยไม่เติมสารอาหารเสริม                                         | 22        |
| 3.4.4 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยการเติมสารอาหารเสริม                                         | 22        |
| <b>บทที่ 4 ผลการทดลอง</b>                                                                                           | <b>24</b> |
| 4.1 การวิเคราะห์ประกอบน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน ยีสต์เอ็กซ์แทรค และกากเซลล์ยีสต์                                     | 24        |
| 4.2 การผลิตเอทานอลแบบกะโดยใช้อาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล                                                  | 25        |
| 4.3 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยไม่เติมสารอาหารเสริม                                           | 26        |
| คอลัมน์เดียวโดยใช้เซลล์ยีสต์ตรึงรูปที่ปริมาตรต่างๆ                                                                  |           |
| 4.4 การผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยการเติมสารอาหารเสริม                                           | 27        |
| 4.5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน | 28        |
| <b>บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง</b>                                                                                       | <b>32</b> |

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| เอกสารอ้างอิง                                                                                  | 33 |
| ภาคผนวก 1 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) โดยใช้<br>รีแฟรคโตมิเตอร์ | 38 |
| ภาคผนวก 2 การวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol and concentrate sulfuric acid                | 38 |
| ภาคผนวก 3 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี                                  | 40 |
| ภาคผนวก 4 การวิเคราะห์ปริมาณกลีเซอรอลโดย HPLC                                                  | 42 |
| ภาคผนวก 5 การวัดการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Microscopic count                                 | 43 |
| ภาคผนวก 6 กราฟมาตรฐานและโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน                                          | 45 |

## สารบัญรูป

|                                                                                                                                                         | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 2.1 การสลายน้ำตาลกลูโคสโดยวิถีไกลโคไลซิส โดยน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดไพรูวิก จากนั้นกรดไพรูวิกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์         | 6    |
| รูปที่ 2.2 ลักษณะภายในกล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ <i>S. cerevisiae</i>                                                                                       | 7    |
| รูปที่ 2.3 วิธีการผลิตเอทานอล ADH : alcohol dehydrogenase, LDH : lactate dehydrogenase, PDC : pyruvate decarboxylase, PDH, pyruvate dehydrogenase       | 10   |
| รูปที่ 2.4 การจับกันระหว่าง DNA กับ ZIF268 protein ซึ่งมีอยู่ 3 zinc finger motifs                                                                      | 10   |
| รูปที่ 2.5 สังกะสีจับกับ Cysteine ในการซ่อมแซม DNA                                                                                                      | 10   |
| รูปที่ 2.6 $Mg^{2+}$ เป็น ligand interaction ในโครงสร้างของเอนไซม์ phosphoenolpyruvate                                                                  | 11   |
| รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยา carboxylation ของ pyruvate carboxylate                                                                                             | 11   |
| รูปที่ 2.8 กระบวนการแยกส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานแบบ Tilby                                                                                               | 14   |
| รูปที่ 3.1 การผลิตเอทานอลแบบกะในฟลาสก์แอร์ล็อกขนาด 500 มิลลิลิตร                                                                                        | 22   |
| รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล                                                                | 26   |
| รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่มีการเติมสารอาหาร                                                      | 26   |
| รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหาร                                                         | 27   |
| รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอล และน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมและไม่เติมสารอาหารเสริม | 29   |

## สารบัญตาราง

|                                                                                                                                                                                              | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 2.1 ผลของวิตามินต่อเมตาบอลิซึมของยีสต์                                                                                                                                              | 9    |
| ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตรผลิตเอทานอล                                                                                                                                     | 21   |
| ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบของสารอาหารเสริม                                                                                                                                                      | 23   |
| ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบของน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน ยีสต์เอ็กซ์แทรคและกากเซลล์ยีสต์                                                                                                           | 25   |
| ตารางที่ 4.2 ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่มีการเติมสารอาหาร                                                                                       | 28   |
| ตารางที่ 4.3 ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบจากอาหารสังเคราะห์สูตรมาตรฐานการผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่สภาวะต่างๆ                                                     | 30   |
| ตารางที่ 4.4 ปริมาณ fermentable nitrogen ที่ถูกใช้ และความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ผลิตขึ้นในระหว่างการหมักเอทานอลจากอาหารสังเคราะห์มาตรฐานสูตรผลิตเอทานอลและน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานที่สภาวะต่างๆ | 31   |