เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2552. เอทานอล. แผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (พ.ศ. 2551-2565). กระทรวงพลังงาน, กรุงเทพ, ประเทศไทย.

กรุงเทพธุรกิจ. ปูนใหญ่รับมือวิกฤติน้ำ ลดผลิตปิโตรเคมี 40%, 2548.

กุลวดี คตชนะเลขา. 2552. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

คณาจารย์สาขาวิชาจุลชีววิทยา. 2544. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จรัญญา เชียงถา. 2549. การใช้ BOD sensor ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ EM ในการย่อยสลายพืชบางชนิดเพื่อการทำปุ๋ยหมัก. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จารุวรรณ กันทะใหม่. 2550. การขยายการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและการลดค่าบีโอดีจากน้ำเวย์เต้าหู้โดย *Candida utilis* TISTR 5001. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จันทร์จิรา พงษ์เสน. 2549. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจาก *Candida utilis* TISTR 5001 ในน้ำเวย์เต้าหู้. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และกัลยา อยู่นาน. 2547. การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยหมักด้วยแซคคาโรไมซีส ซีรีวีซีอี 5049. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30, ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี, กรุงเทพ. หน้า 59.

นาตยา ประภาสิทธิ์. 2550. การขยายขนาดการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการลดค่าบีโอดีจากน้ำเวย์เต้าหู้โดยยีสต์. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. 2551. วิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแข็งแห้ง. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. ภาควิชาอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ.

สมบัติ ใจคำ. 2544. รายงานผลการวิจัย "การเปรียบเทียบผลผลิตเหล้าน้ำขาวกับเหล้าสาเก". ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สถิต วงศ์สว่าง. 2533. การเพาะเลี้ยงและปริมาณโปรตีนของสาหร่าย *Spirulina platensis* ที่เลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สรินทรา ศุภธีระนนท์. 2548. การเพาะเลี้ยง *Saccharomyces cerevisiae* ในน้ำเวย์เต้าหู้. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์. 2544. กากน้ำตาล. เทคโนโลยีสำหรับชนบท. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี, ประเทศไทย.

หยกแก้ว ยามาลี, ไปรมา ยงนิมตรชัย และสมบูรณ์ ผู้พัฒน์. 2525. การกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลือง โดยใช้สาหร่ายสีเขียว (*Chlorella* sp.). สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, เรณู ปิ่นทอง และชินอิชิ คิโนชิตะ. 2529. การศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้น้ำเวย์จากโรงงานเต้าหู้เลี้ยงจุลินทรีย์. วารสารเกษตร. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2(1): 63-75

Agrawal, R. and Basappa, S.C. 1996. Ethanol fermentation technology. Biotechnology Letters. 18: 673-678.

APHA, AWWA and WEF. 1992. Standard method for examination of water and waste water. American Public Health and Association, Washington DC, USA.

Ayse, a. and Sedat, D. 2005. Effect of zinc on ethanol production by two *Thermoanaerobacter* strains. Process Biochemistry. 41: 984-989.

Bradford, M.M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analysis Biochemistry. 72:248-254.

Beevers, C.A., Mcdonald, T.R.R.,Robertson, J.H. and Stern, F. 1952. The crystal structure of sucrose. Acta Crystallography. 5: 689-690.

Carrasco, C., Baudel,H.M., Sendelius, J., Modig, T., Roslander, C., Galbe, M., Hahn-Hangerdal, B., Zacchi, G. and Liden, G. 2009. SO_2-catalyzed stream treatment and fermentation of enzymatically hydrolyzed sugarcane bagasse. Enzyme and Microbial Techonology. 40: 64-73.

Cristina, A., Isabella, S. and Julio, M. 1985. Nutrient-enhanced production of remarkably high concentration of ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* through soy flour supplementation. Applied and Environmental Microbiology. 50: 1333-1335.

Dawes, E.A. 1986. Microbial energetics. Blackie and Son, Glasgow, UK.

Eklund, R. and Zacchi, G. 1994. Simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated willow. Enzyme and Microbial Technology. 17(3): 255-259.

Food Standards Australia New Zealand. 2004. *Bacillus cerues* limits in infant formula. Final assessment report. Food Standards Australia New Zealand, Wellington, New Zealand.

Gaber, Z. 2010. Production of 16% ethanol from 35% sucrose. Biomass and Bioenergy. 34: 1243-1249.

Ghaly, A.H. and El-Taweel, A.A. 1997. Kinetic modeling of continuous production of ethanol from cheese whey. Biomass and Bioenergy. 12(6): 461-472.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stalay, J.T. and Williams, S.T. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Maryland. U.S.A.

Hubert, S., Margaret, C. and Gunter, P. 2007. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

International Energy Agency. 2003. From oil crisis to climate challenge: understanding CO_2 Emission trends in IEA countries. OECD/IEA, Paris, France.

Jenning, D.H. and Lysek, G. 1999. Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. Bios Scientific Publishers, Oxford, UK.

Johnson, A. 1994. Thailand's drought crisis. TDRI Quarterly Review. 9(10): 28-29.

Karl, L.K., Tavis, S.H., Marilyn, B.O. and Murli, R.D. 2003. Making wine for home use. State fruit experiment station, Southwest Missouri State University, Missuori, U.S.A.

Katarzyna, K., Boguslae, C. and Grzegorz, K. 2005. Effect of various activators on the course of alcoholic fermentation. Journal of food engineering. 77(4): 965-971.

Kessler, B. and Begtrup, G. 2008. Mitigating the oil crisis: coal-to-liquid technology for American energy independence. University of California, Berkley, U.S.A.

KO, J.K., Bak, J.S., Jung, M.W., Lee, H.J.,Choi, I.G.,Kim, T.H and Kim, K.H. 2009. Ethanol production from rice straw using optimized aqueous-ammonia soaking pretreatment and

simultaneous saccharification and fermentation processes. Bioresource and Technology. 100: 4374-4380.

Lakkana, L., Sunan, N., Penjit, S., Preekanol, K. and Pattana L. 2009. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: effects of carbon and nitrogen supplementations. Bioresource Technology. 100: 4176-4182.

Lee, Y.L., Ong, B.Y.,Curran, R. and Liu, S.Q. 2010. Profile of volatile compounds during papaya juice fermentation by mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus*. Food Microbiology. 27(7): 853-861.

Lezinou, P.,Christakopoulos, D.K. and Macris, B.J. 1994. Simultaneous saccharification and fermentation of sweet sorghum carbohydrates to ethanol in a fed-batch process. Biotechnology Letters. 16(9): 983-988.

Lui, C.G., Lin, Y.H. and Bai, F.W. 2010. Ageing vessel configuration for continuous redox-potential controlled very-high-gravity fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering. 110(5): 615-620

Lum, E. 1998. The home winemakers manual. Ramona Valley, U.S.A.

Ma, J.T., Nicolas, R., Montse, P., Jose, M.G. and Albert, M. 2003. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Food Microbiology. 80(1): 47-55

Martinez, J.E. 2002. Microbial bioburden on oral solid dosage forms. Pharmaceutical technology. Iselin, New York, U.S.A.

Matthews, T.M. and Webb, C. 1991. Culture systems. In *Saccharomyces* (eds M.F. Tuite and S.G. Oliver), Plenum Press, New York, U.S.A.

Ophardt, C.E. 2003. Sucrose. Virtual chembook. Elmhurst Collage, Illinois, U.S.A.

Poosaran, N., Heyes, R.H. and Rogers, P.L. 1985. Ethanol production from cassava starch using a highly productive strain of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces uvarum* ATCC 26602. Biomass. 7(3): 171-183.

Ronald,, S.J. 2008. Fermentation. Wine Science. Principles and Applications. 3:332-417.

Silveira, W.B, Passos, F.J.V, Mantovani, H.C and Passos F.M.L. 2005. Ethanol production from cheese whey permeate by *Kluyveromyces marxianus* UFV-3: A flux analysis of oxido-reductive metabolism as a function of lactose concentration and oxygen levels. Enzyme and Microbial Technology. 36: 930-936.

Siqueira, D.F., Karp, S.G., Crvalho, J.C. Sturn, W., Rodriquez-Leon, J.A., Tholozan, J.L., Singhania, R.R. Pandy, A. and Soccol, C.R. 2008. Production of bio-ethanol from soybean molasses by *Saccharomyces cerevisiae* at laboratory, pilot and industrial scales. Bioresource Technology. 99(7): 8156-8163

Staniszewski, M. Kujawski, W. and Lewandowska, M. 2007. Ethanol from whey in bioreactor with co-immobilized enzyme and yeast cells follows by pervaporative recovery from product-kinetic model predictions. Journal of Food Engineering. 82: 618-625.

Sugimoto, H. 1974. Treatment of soybean spent soluble by means of yeast cultivation. Journal of Food Science. 39: 934-938.

Teresa, G.C., Robert, A., Marselles, F., Margaluz, A.G. and Olga, M.B. 2007. Influence of SO_2 on the consumption of nitrogen compound through alcoholic fermentation of must sterilized by pulsed electric fields. Food Chemistry. 103(3): 771-777.

Walker, G.M. 1998. Yeast physiology and biotechnology. University of Abertay Dundee, Dundee, Scotland.

Wong, H. 1985. Cultivation of microalgae in refuse compost and soybean waste extracts. Agricultural Waste. 12: 224-233.

World Water Assessment Programme. 2003. Water for people water for life. The United Nations World Water Development Report, UNESCO, Paris, France.

Yamashita, Y., Kurosumi, A., Sasaki, C. and Nakamura, Y. 2008. Ethanol production from paper sludge by immobilized *Zymomonas mobilis*. Biochemical Engineering Journal. 42(3): 314-319.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม (ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, 2551)

1. Nutrient agar

Beef extract	3.0	g
Peptone	5.0	g
Agar	15.0	g
Distilled water	1,000	ml

pH 6.8

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปต้มจนวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

2. Nutrient broth

Beef extract	3.0	g
Peptone	5.0	g
Agar	15.0	g
Distilled water	1,000	ml

pH 6.8

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

3. Yeast extract Malt extract agar

Yeast extract	3.0	g
Malt extract	5.0	g
Peptone	5.0	g
Glucose	10.0	g
Agar	15.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปต้มจนวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

4. Yeast extract Malt extract broth

Yeast extract	3.0	g
Malt extract	5.0	g
Peptone	5.0	g
Glucose	10.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

5. *Zymomonas* medium agar

Peptone	10.0	g
Yeast extract	10.0	g
Glucose	20.0	g

Agar	15.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปต้มจนวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

6. *Zymomonas* medium broth

Peptone	10.0	g
Yeast extract	10.0	g
Glucose	20.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การศึกษาลักษณะทางสัญฐานวิทยาและสารเคมี

1. **การย้อมสีแกรม** (คณาจารย์สาขาวิชาจุลชีววิทยา, 2544)

Crystal violet stain

Crystal violet (Gentian violet)	0.5	g
Distilled water	100	ml

Gram iodine solution

Iodine	1.0	g
Potassium iodide	2.0	g
Distilled water	300	ml

Decolourizer

Ethyl alcohol 95%	250	ml
Acetone	250	ml

Safranin O stain

Safranin O	2.5	g
Ethyl alcohol 95%	100	ml

เมื่อต้องการให้เจือจาง 5-10 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการย้อมสีแกรม

1. เกลี่ยเชื้อในน้ำบนบนแผ่นสไลด์แก้ว ปล่อยให้แห้ง ตรึงด้วยความร้อนโดยการผ่านเปลวไฟ
2. หยดสี crystal violet ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้ออยู่ แช่ไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
3. เททับด้วย gram iodine แช่ไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
4. จากนั้นเท decolourizer ผ่านอย่างรวดเร็ว ล้างออกด้วยน้ำ
5. เททับด้วย safranin O แช่ไว้นาน 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ ปล่อยให้แห้งก่อนนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. HCl 1.0 M

Hydrochloric acid 38% (w/v)	83	ml
Distilled water	917	ml

ใส่ HCl ลงในภาชนะแก้ว ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 ml เก็บในขวดแก้วติดฉลลากให้เรียบร้อย

3. NaOH 1.0 M

NaOH	40	g
Distilled water	1,000	ml

ใส่ NaOH ลงในภาชนะแก้ว ปรับปริมารด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 ml เก็บในขวดแก้วติดฉลากให้เรียบร้อย

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลาย Standard McFarland (นาตยา, 2550)

ตาราง 1 เปรียบเทียบความขุ่นของ McFarland เบอร์ต่างๆกับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย

Tube	No.										
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$BaCl_2$ (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
H_2S0_4 (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.2	9.0
Aprox.cell density ($x10^8$)	1.5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

ผสมสารละลาย 1% aqueous barium chloride ($BaCl_2$) และ 1% aqueous sulfuric acid (H_2S0_4) ในหลอดทดลองฝาเกลียว โดยใช้ปริมาตรตามตาราง นำมาผสมกันในหลอดทดลองฝาจุกเกลียวที่ปิดแน่น สามารถเก็บได้นาน 6 เดือน การเปรียบเทียบความขุ่น ใช้กระดาษขาวที่ขีดเส้นตรงสีดำวางเป็นฉากข้างหลัง ดูเส้นสีดำที่เห็นให้มีความชัดเจนเท่ากัน

ภาคผนวก ง

การใช้เครื่องมือในการทดลองและการตรวจสอบคุณภาพน้ำเวย์เต้าหู้

1. เครื่อง Pocket Refractometer (ATAGO)

เครื่อง Pocket refractomenter เป็นเครื่องที่ใช้วัดค่า total soluble solid โดยอาศัยการส่องผ่านได้ของแสงในระบบ digital การใช้เครื่อง pocker refractometer สามารถทำได้โดยหยดน้ำเปล่าแล้วกด zero เพื่อทำการปรับค่าตั้งต้นให้ได้ 0.00 และหยดสารละลายที่ต้องการทดสอบลงหลุมหยดตัวอย่าง กด star เพื่อทำการวัดค่า เครื่องจะอ่านค่าการละลายได้ของของแข็งออกบนหน้าปัด มีหน่วยเป็น % Brix (0-53%)

2. เครื่อง Ebulliometer (สมบัติ, 2544)

เครื่อง Ebulliometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ในสารละลายแอลกอฮอล์ ซึ่งบ่งบอกโดยการใช้ความแตกต่างระหว่างจุดเดือดของน้ำและสารละลาย แล้วเทียบกับ scales เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

การใช้เครื่อง Ebulliometer

เติมน้ำถึงขีดล่างของหลอด เทลงไปในเครื่อง แล้วเสียบเทอร์โมมิเตอร์ จากนั้นต้มน้ำจนเดือดแล้วอ่านอุณหภูมิที่ได้ หลังจากนั้นต้มสารละลายที่ต้องการวัดเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์โดยเติมสารละลายจนถึงขีดบนของหลอด แล้วเทลงไปในเครื่อง จากนั้นต้มสารละลายจนเดือดแล้วอ่านอุณหภูมิที่ได้ จากนั้นเทียบอุณหภูมิของสารละลายกับอุณหภูมิของน้ำที่อ่านได้กับ scales เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของสารละลาย (ภาพ 22)

ภาพ 22 เครื่องวัดปริมาณเอทานอล (Ebulliometer)

3. เครื่องกลั่นชนิดหม้อต้มขนาด 2 ลิตร

การกลั่นเป็นการทำของเหลวให้บริสุทธิ์ ใช้สำหรับแยกของเหลวที่ผสมรวมกับของแข็ง หรือแยกของเหลว 2 ชนิดขึ้นไปที่ผสมจนกลายเป็นสารละลายเนื้อเดียวกันออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของจุดเดือดเป็นปัจจัยในการแยก การกลั่นเป็นกระบวนการที่ทำให้ของเหลวได้รับความร้อนจนกลายเป็นไอ แล้วทำให้ไอน้ำควบแน่นกลับมาเป็นของเหลวอีกครั้ง ในขณะที่กลั่นของเหลวผสม ของเหลวที่มีจุดเดือดต่ำจะกลายเป็นไอแยกออกมาก่อน แล้วของเหลวที่ที่มีจุดเดือดสูงกว่าจะแยกออกมาภายหลัง

การใช้เครื่องกลั่นชนิดหม้อต้มทำได้โดย เติมน้ำเวย์เต้าหู้ที่ผ่านการหมักแล้วลงในขวดกลม ต่อ condenser เข้ากับขวดกลม แล้วเปิดน้ำเข้าทางด้านล่างของ condenser (ทางน้ำออกอยู่ทางด้านบนของ condenser) จากนั้นเปิดไฟเพื่อทำการต้มน้ำหมัก

4. วิธีวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำโดยวิธี Azide modification

(ดัดแปลงจาก APHA, 1992)

1.1 ล้างขวด BOD ชนิดขวดใส ขนาด 300 ml ด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

1.2 ทำการเจือจางตัวอย่างของน้ำเวย์เต้าหู้ 0.01% โดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการเติมอากาศลงไปด้วยเครื่องปั๊มอากาศเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.3 เทตัวอย่างของน้ำเวย์เต้าหู้ที่เจือจางแล้วลงในขวด BOD ที่เตรียมไว้

1.4 เติมสารละลาย $MnSO_4$ 1 ml และสารละลาย alkali-iodine azide reagent 1ml ปิดฝาทิ้งให้ตกตะกอน เป็น 5 นาที

1.5 เติม conc. H_2SO_4 1 ml เขย่าให้เข้ากัน

1.6 รินสารละลายที่ได้ปริมาตร 100 ml ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ไตเตรทด้วย $Na_2S_2O_3$ 0.025 M จนได้สีเหลืองจางๆ แล้วเติมน้ำแป้ง 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินจางหายไป บันทึกปริมาตร $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ แล้วนำไปคำนวณตามสูตร

DO (mg/l) = ปริมาตร $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้ (ml) x 2

5. การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการในย่อยสลายสารอินทรีย์

(ดัดแปลงจาก APHA, 1992)

2.1 ล้างขวด BOD ชนิดขวดดำด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง

2.2 ทำการเจือจางตัวอย่างของน้ำเวย์เต้าหู้ดังข้อ 1.2

2.3 นำขวด BOD ที่ใส่ตัวอย่างของน้ำเวย์เต้าหู้ที่ทำการเจือจางเรียบร้อยแล้ว ใส่ไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน

2.4 เติมสารละลายและทำการไตเตรทเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

2.5 คำนวณตามสูตร

$$\text{BOD} = (\frac{DO_0 - DO_5}{P})$$

P = ร้อยละของน้ำตัวอย่างตั้งต้นที่ใช้ในการเจือจาง

3. การวิเคราะห์ปริมาณ Total protein โดย Bradford Kit (Bradford, 1976)

3.1 เจือจาง Standard protein จาก 2 mg/ml ที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 µg/100µl ด้วย Diluent buffer

3.2 ใส่ Blank (diluents buffer), standard protein และน้ำเวย์เต้าหู้ อย่างละ 100 µl ในหลอดทดลอง

3.3 เติม Bradford reagent ปริมาตร 5 ml ในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที

3.4 หยดตัวอย่างลงใน 96 wells plate แล้วว่าค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Absorbance microplate reader mความยาวคลื่น 595 nm

3.5 คำนวณค่าปริมาณ total protein จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการทำ standard protein

ภาคผนวก จ

ผลวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตาราง 2 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเอทานอลที่ทดสอบปัจจัยทั้ง 4 ที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ALC

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7545.189(a)	439	17.187	9236.350	.000
Intercept	25506.108	1	25506.108	13706889.909	.000
DAY	3644.526	10	364.453	195855.530	.000
SBW	1030.495	4	257.624	138446.056	.000
SUGAR	283.813	1	283.813	152519.846	.000
CONC	382.478	3	127.493	68514.064	.000
DAY * SBW	155.149	40	3.879	2084.415	.000
DAY * SUGAR	512.262	10	51.226	27528.792	.000
DAY * CONC	84.549	30	2.818	1514.544	.000
SBW * SUGAR	1108.096	4	277.024	148871.687	.000
SBW * CONC	29.919	12	2.493	1339.882	.000
SUGAR * CONC	20.677	3	6.892	3703.989	.000
DAY * SBW * SUGAR	169.190	40	4.230	2273.057	.000
DAY * SUGAR * CONC	24.638	30	.821	441.346	.000
SBW * SUGAR * CONC	33.865	12	2.822	1516.591	.000
DAY * SBW * SUGAR * CONC	65.531	240	.273	146.733	.000
Error	.819	440	.002		
Total	33052.116	880			
Corrected Total	7546.008	879			

a R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

ตาราง 3 ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116ในน้ำเวย์เต้าหู้ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นน้ำเวย์เต้าหู้	% ethanol (v/v) ±SD
0	3.52±2.15
25	4.81±2.08
50	6.05±2.88
75	6.18±2.93
100	

ตาราง 4 ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 ของแต่ละระดับน้ำตาล

ระดับน้ำตาล % (w/v)	% ethanol (v/v) ±SD
15	4.43±2.28
18	5.16±2.77
21	5.76±3.09
24	6.18±3.19

ตาราง 5 ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยโดย *Saccharomyces cerevisiae* V1116 จากระยะเวลาหมักต่างๆ

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	% ethanol (v/v) ±SD
0	0
2	3.27±1.18
4	4.57±1.62
6	5.28±1.88
8	5.88±2.05
10	6.09±2.19
12	6.41±2.41
14	6.67±2.50
16	6.92±2.56
18	6.99±2.64
20	7.11±2.66

ตาราง 6 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า total soluble solid ที่ทดสอบปัจจัยทั้ง 4 ที่มีผลต่อค่าการละลายได้ของของแข็ง

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BRIX

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	15200.829(a)	439	34.626	82.551	.000
Intercept	148171.906	1	148171.906	353251.505	.000
DAY	4841.482	10	484.148	1154.241	.000
SBW	1347.508	4	336.877	803.137	.000
SUGAR	437.241	1	437.241	1042.411	.000
CONC	5023.073	3	1674.358	3991.778	.000
DAY * SBW	249.503	40	6.238	14.871	.000
DAY * SUGAR	675.221	10	67.522	160.977	.000
DAY * CONC	247.546	30	8.252	19.672	.000
SBW * SUGAR	1498.180	4	374.545	892.940	.000
SBW * CONC	75.391	12	6.283	14.978	.000
SUGAR * CONC	66.262	3	22.087	52.657	.000
DAY * SBW * SUGAR	259.445	40	6.486	15.463	.000
DAY * SUGAR * CONC	51.102	30	1.703	4.061	.000
SBW * SUGAR * CONC	43.987	12	3.666	8.739	.000
DAY * SBW * SUGAR * CONC	384.889	240	1.604	3.823	.000
Error	184.559	440	.419		
Total	163557.293	880			
Corrected Total	15385.387	879			

a R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .976)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล นายสุภงช์ ไชยวงศ์

วัน เดือน ปี เกิด 1 ตุลาคม 2527

ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การอบรม

มิถุนายน 2549	การอบรมเทคโนโลยีจุลินทรีย์อาหารหมัก และจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารระดับชุมชน
กรกฎาคม 2549	อบรมหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิตอาหารว่าด้วยสุขลักษณะทั่วไป (GMP)
กุมภาพันธ์ 2550	การนำเสนอผลงานปัญหาพิเศษ ระดับปริญญาตรี ประจำปี พ.ศ. 2550
มกราคม 2550	อบรมเรื่อง การวิเคราะห์อันตรายและจุดควบคุมวิกฤต (HACCP)
พฤษภาคม 2552	การอบรมโครงการเพาะเห็ดให้ได้มาตรฐานและเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์เห็ด
สิงหาคม 2553	การประชุมวิชาการนานาชาติ GMSTEC 2010: International Conference for a Sustainable Greater Mekong Subregion