

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเอทานอลจากการหมักกากสับปะรดโดยใช้วิธีการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีเคมีฟิสิกส์และใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเชื้อแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* ในการหมักกากสับปะรดเพื่อผลิตเอทานอลได้ทำการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำปาง ซึ่งสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี การวิจัยนี้ยังมีการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักกากสับปะรดด้วยวิธี Gas Chromatography ที่ห้องปฏิบัติการเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำปางซึ่งทำให้ผลการทดลองมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏรำปางที่มีห้องปฏิบัติการวิจัยและเครื่องมือที่เอื้ออำนวยต่องานวิจัย บริษัท Brenntag Ingredients (Thailand) Public Company Limited ในการอนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยในการอนุเคราะห์ เชื้อจุลินทรีย์ *Zymomonas mobilis* TISTR no. 415 และผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักบริหารโครงการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยทำให้โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินงานได้และหวังว่าผลการวิจัยที่ได้จะเกิดประโยชน์ด้วยการสามารถนำไปใช้ได้จริงในอนาคตต่อไป

อาจารย์ ทิพรรัตน์ ดิษะปัญญา

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำปาง

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากการหมักกากสับปะรดมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีการเคมีฟิสิกส์, 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *Zymomonas mobilis* ในการย่อยกากสับปะรดเพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด และ 3) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด สำหรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์คือ การลดขนาดกากสับปะรดให้มีขนาด 0.5-1.0 มิลลิเมตร แล้วนำไปปรับสภาพด้วยด่าง NaOH ความเข้มข้น 2.5 M เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อปรับสภาพให้มีความเป็นกลาง แล้วนำมาปรับสภาพในกรด H_2SO_4 ความเข้มข้น 3 และ 5 M โดยมีการให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ $85^{\circ}C$ นาน 4 ชั่วโมงสำหรับการใช้ H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น 5 M มีปริมาณของแอลฟาเซลลูโลสสูงที่สุดมีค่าเป็นร้อยละ 87.75 ± 0.50 ในขณะที่การให้ความร้อนด้วยเครื่องแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $125^{\circ}C$ เป็นเวลา 90 นาทีสำหรับการใช้ H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น 5 M มีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสร้อยละ 98.44 ± 0.15 ซึ่งเป็นค่าสูงที่สุด โดยที่การให้ความร้อนด้วยเครื่องแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $105^{\circ}C$ เป็นเวลา 120 นาทีสำหรับการใช้ H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น 5 M มีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสร้อยละ 80.23 ± 0.24

กากสับปะรดผ่านการปรับสภาพด้วยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจำเป็นต้องมีการเติมน้ำตาลร้อยละ 5 w/v หลังจากนั้นทำการเติมเชื้อจุลินทรีย์ *Zymomonas mobilis* โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ เป็นเวลา 96 และ 108 ชั่วโมง จะทำให้ได้ร้อยละ(%v/v)ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่ได้มากที่สุดและมีค่าเป็น 10.10 ± 0.17 และ 10.33 ± 0.15 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ร้อยละของปริมาณเอทานอลมากที่สุดคือระยะเวลาในการหมักที่ 72 ชั่วโมงซึ่งมีค่าเป็น 8.45 ± 6.57 (%v/v) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ $25^{\circ}C$ และควรมีการเติมน้ำตาลเพื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอนให้แก่เชื้อจุลินทรีย์ โดยระยะเวลาในการหมักที่ทำให้ได้ร้อยละ(%v/v)ปริมาณของแอลกอฮอล์ที่ได้มากที่สุดคือระยะเวลาในการหมักที่ 84 ชั่วโมงมีค่าเป็น 14.23 ± 0.15 แต่อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ร้อยละของปริมาณเอทานอลมากที่สุดคือระยะเวลาในการหมักที่ 120 ชั่วโมงมีค่าเป็น 45.42 ± 2.44 ซึ่งไม่แตกต่างกับระยะเวลาในการหมักที่ 72 ชั่วโมงซึ่งมีค่าเป็น 40.17 ± 3.07

Abstract

The studying optimum condition of ethanol production by fermented pineapple waste project had 3 objectives following as 1) studying optimum condition of pre-treated pineapple waste by chemicalphysical method, 2) studying optimum growth condition of *Zymomonas mobilis* fermented pineapple waste to produce highest consumption of ethanol and 3) studying optimum growth condition of *Saccharomyces cerevisiae* fermented pineapple waste to produce highest consumption of ethanol. The result was shown that the suitable condition of pre-treated pineapple waste reduced size of it to be 0.5 to 1.0 mm. and then treated by NaOH, 2.5 M, 24 hrs in room temperature. Rinse the sample by distilled water and add H₂SO₄, 3 and 5 M combined with thermal condition. At 85°C, 4 hrs with H₂SO₄ (5M) in water bath gave a higher alpha cellulose as 87.75±0.50 while at 125°C, 90 minutes with same condition of H₂SO₄ in autoclave revealed a highest alpha cellulose as 98.44±0.15. At 105°C, 120 minutes with H₂SO₄ (5M) gave 80.23±0.24 of alpha cellulose.

The pre-treated pineapple waste by suitable condition should be add glucose 5 %w/v before inoculum *Zymomonas mobilis* that was incubated at 30°C for 96 and 108 hrs had higher percentage of alcohol (10.10±0.17 and 10.33±0.15, respectively). However, the highest concentration of ethanol 45±6.57 (%v/v) at incubation time 72 hrs. For *Saccharomyces cerevisiae* was found that optimum growth temperature was 25°C that adding glucose for increasing carbon source. Optimum incubation time was 84 hrs to have a higher volume of alcohol 14.23±0.15%. The highest concentration of ethanol was found at 120 hrs, 45.42±2.44% not different at 72 hrs, 40.17±3.07 %

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย	2
1.3 ทฤษฎี และ/หรือ แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัยและผลการวิจัย	
2.1 รายละเอียดของระเบียบวิธีวิจัย	6
2.2 ผลการวิจัย	
2.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพ กากสับปะรดด้วยวิธีการเคมีฟิสิกส์	12
2.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ <i>Zymomonas mobilis</i> ในการย่อยกากสับปะรด เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด	12
2.2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด	13

	หน้า
บทที่ 3 อภิปรายและวิจารณ์ผลการวิจัย	25
บทที่ 4 บทสรุป	
4.1 สรุปผลการวิจัย	29
4.2 ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต	30
บทที่ 5 ผลผลิตที่ได้	31
รายงานการเงิน	
บรรณานุกรม	
ภาคผนวก	
ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานที่สังกัด	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสและแกมมาเซลลูโลสของกากสับปะรด ที่ผ่านการให้ความร้อนอุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 2 และ 4 ชั่วโมง	14
ตารางที่ 2 ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสและแกมมาเซลลูโลสของกากสับปะรดที่ผ่าน การให้ความร้อนอุณหภูมิ 105, 125 °C เป็นเวลา 60, 90 และ 120 นาที	16
ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อ <i>Zymomonas mobilis</i> (log cfu/ml) ในสิ่งทดลองที่ไม่เติม น้ำตาลและเติมน้ำตาลและใช้อุณหภูมิในการหมักที่ 30 และ 35 °C เป็น เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง	18
ตารางที่ 4 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้จากสิ่งทดลองที่มีการเติมน้ำตาลและหมัก ที่อุณหภูมิ 30 และ 35 °C	19
ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของเอทานอล*ที่ได้จากการหมักกากสับปะรดด้วย <i>Zymomonas mobilis</i> ในสิ่งทดลองที่มีการเติมน้ำตาลและทำการหมัก ที่อุณหภูมิ 30 °C	20
ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (log cfu/ml) ในสิ่งทดลอง ที่ไม่เติมน้ำตาลและเติมน้ำตาลและใช้อุณหภูมิในการหมักที่ 25, 30 และ 35 °C เป็นเวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง	22
ตารางที่ 7 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้จากสิ่งทดลองที่ไม่มีการเติมน้ำตาลและเติม น้ำตาลทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 °C	23
ตารางที่ 8 ความเข้มข้นของเอทานอล*ที่ได้จากการหมักกากสับปะรดในสิ่งทดลอง ที่มีการเติมน้ำตาลและทำการหมักที่อุณหภูมิ 25 °C ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 เครื่องกลั่นไอน้ำแบบธรรมดาที่ใช้ในการกลั่นแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมัก	8
ภาพที่ 2 ลักษณะของเหลวที่ได้จากการหมักกากสับประดก่อนนำไปกลั่นด้วยไอน้ำ เพื่อหาปริมาณแอลกอฮอล์	9
ภาพที่ 3 Gas chromatography รุ่น GC-14B, Shimadzu	10
ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas Chromotography	10
ภาพที่ 5 กากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพด้วย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น 3 และ 5 M และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85, 105 และ 125°C ที่มีปริมาณของ แอลฟาเซลลูโลสมากที่สุด	15
ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของ <i>Zymomonas mobilis</i> ในสิ่งทดลองที่ ไม่เติมน้ำตาลและน้ำตาลและใช้อุณหภูมิ 30 และ 35°C ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง	17
ภาพที่ 7 ร้อยละ(v/v) ของปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้จากสิ่งทดลองที่มีการเติมน้ำตาล และหมักที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ <i>Zymomonas mobilis</i>	19
ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ในสิ่งทดลอง ที่ไม่เติมน้ำตาลและน้ำตาลและใช้อุณหภูมิ 25, 30 และ 35°C ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง	21
ภาพที่ 9 ร้อยละ(v/v) ของปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้จากสิ่งทดลองที่เติมน้ำตาล และหมักที่อุณหภูมิ 25°C ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23

ภาพที่ 10 การย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตสด้วย
เชื้อจุลินทรีย์ *Zymomonas mobilis*

คำอธิบายสัญลักษณ์

TISTR	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
PA	Peak area: พื้นที่ใต้กราฟ (PA*s)
PH	Peak height: ความสูงของกราฟ
KPa	หน่วยแรงดัน (กิโลปาสคาล)
ml	หน่วยปริมาตร (มิลลิลิตร)
μ l	หน่วยปริมาตร (ไมโครลิตร)
M	หน่วยความเข้มข้น (โมลาร์)