

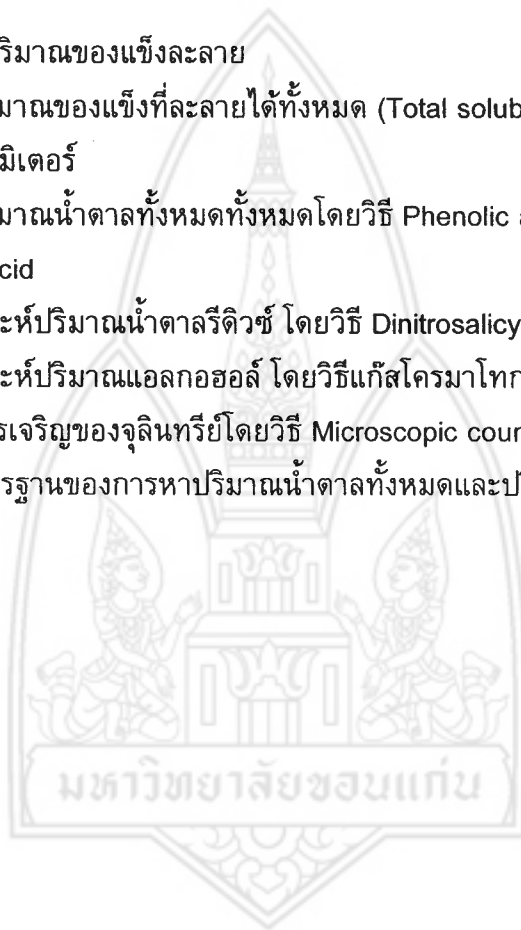
## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
Abstract	ข
บทคัดย่อ	ค
คำนำ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 เอทานอล	3
2.1.1 คุณสมบัติทั่วไปของเอทานอล	3
2.1.2 ประโยชน์ของเอทานอล	3
2.1.3 การผลิตเอทานอลทางชีวภาพ	4
2.2 ยีสต์	8
2.2.1 ลักษณะทั่วไปและโครงสร้างของยีสต์	8
2.2.2 ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักเอทานอล	8
2.3 การตรึงเซลล์จุลินทรีย์	13
2.3.1 วิธีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์	13
2.3.2 คุณลักษณะที่ดีของตัวพุงที่ใช้ในการตรึงเซลล์	16
2.3.3 ข้อได้เปรียบของการใช้เซลล์ตรึงรูป	16
2.3.4 ข้อจำกัดในการใช้เซลล์ตรึงรูป	17
2.4 กระบวนการหมัก	17
2.4.1 การหมักแบบกะ	17
2.4.2 การหมักแบบกึ่งกะ	19
2.4.3 การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง	20
2.4.4 การหมักแบบต่อเนื่อง	20
2.5 ข้าวโพด	21
2.6 ข้าวฟ่างหวาน	22
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23

**บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย**

3.1 วัสดุตั้งและการเตรียมวัสดุตั้งเพื่อใช้ในการหมักเอทานอล	25
3.2 จุลินทรีย์และการเตรียมกล้าเชื้อ	25
3.2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	25
3.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อ	25
3.2.3 การเตรียมเซลล์ยีสต์ตั้งรูป	25
3.3 วัสดุอุปกรณ์และการเตรียมวัตถุดิบ	26
3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารที่ใช้ในการตั้งเซลล์	26
3.3.2 การเตรียมน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานเพื่อใช้ในการหมัก	26
3.3.3 สารเคมี	26
3.3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์	27
3.4 วิธีการทดลอง	27
3.4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด และเซลล์อิสระ โดยการหมักแบบกะ	27
3.4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะซ้ำ	28
3.4.3 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะซ้ำ	28
3.4.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 และ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 โดยการหมักแบบกะซ้ำ	29
3.4.5 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตั้งบนแอปเปิ้ล โดยการหมักแบบกะซ้ำ	29
3.4.6 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเมื่อใช้วัสดุตั้งชนิดต่าง ๆ โดยการหมักแบบกะซ้ำ	29
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย</b>	
4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดยใช้ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด และเซลล์อิสระโดยการหมักแบบกะ	30
4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะซ้ำ	35
4.3 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตั้งบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะซ้ำ	38

	หน้า
4.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะช้าโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 และ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรึงบนขังข้าวโพด	42
4.5 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนแอปเปิ้ลโดยการหมักแบบกะช้า	44
4.6 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะช้าเมื่อใช้วัสดุตั้งต่าง ๆ	45
<b>บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>50</b>
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวกที่ 1 การปรับปริมาณของแข็งละลาย	55
ภาคผนวกที่ 2 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) โดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์	56
ภาคผนวกที่ 3 การวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดทั้งหมดโดยวิธี Phenolic and concentrate sulfuric acid	57
ภาคผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)	59
ภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี	61
ภาคผนวกที่ 6 การวัดการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Microscopic count	63
ภาคผนวกที่ 7 กราฟมาตรฐานของการหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	65



## สารบัญรูป

	หน้า
<b>รูปที่ 2.1</b> การสลายน้ำตาลกลูโคสโดยวิถีไกลโคไลซิสโดยน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นกรดไพรูวิก จากนั้นกรดไพรูวิกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	5
<b>รูปที่ 2.2</b> วิธีการตรึงเซลล์โดยวิธีต่าง ๆ (a) วิธีจับกับพาหะ (b) วิธีการเชื่อมไขว้ (c) วิธีการกักเซลล์แบบ entrapment และ (d) วิธีการกักเซลล์แบบไมโครแคปซูล	14
<b>รูปที่ 2.3</b> ลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบกะ	18
<b>รูปที่ 2.4</b> กระบวนการแยกส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานแบบ Tilby	23
<b>รูปที่ 4.1</b> การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เซลล์ยีสต์อิสระที่มีชีวิต และความเข้มข้นของเอทานอล ในระหว่างการหมักโดยเซลล์อิสระของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048	30
<b>รูปที่ 4.2</b> การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เซลล์ยีสต์อิสระที่มีชีวิต และความเข้มข้นของเอทานอล ในระหว่างการหมักโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพดขนาด 6 มิลลิเมตร	31
<b>รูปที่ 4.3</b> การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เซลล์ยีสต์อิสระที่มีชีวิต และความเข้มข้นของเอทานอล ในระหว่างการหมักโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพดขนาด 12 มิลลิเมตร	32
<b>รูปที่ 4.4</b> การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำหมักระหว่างการหมักเอทานอลโดยใช้เซลล์อิสระ และเซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพดขนาด 6 มิลลิเมตร และ 12 มิลลิเมตร	32
<b>รูปที่ 4.5</b> ความเข้มข้นของเอทานอลที่เวลาต่าง ๆ ระหว่างการหมักโดยใช้เซลล์ยีสต์อิสระ และเซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพดขนาด 6 มิลลิเมตร และ 12 มิลลิเมตร	33
<b>รูปที่ 4.6</b> การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะขี้โดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพด	35
<b>รูปที่ 4.7</b> การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำหมักในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะขี้โดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพด	36
<b>รูปที่ 4.8</b> การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ยีสต์อิสระที่มีชีวิตในน้ำหมัก ในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะขี้โดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพด	36
<b>รูปที่ 4.9</b> การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเอทานอลในระหว่างการหมักแบบกะขี้โดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนขั้วข้าวโพด	37

รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะช้ำโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูก ตรีงบนซังข้าวโพด	39
รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำหมักในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะช้ำโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด	39
รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ยีสต์อิสระที่มีชีวิตในน้ำหมัก ในระหว่างการหมักเอทานอลแบบกะช้ำโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด	40
รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเอทานอลในระหว่างการหมักแบบกะช้ำโดย <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด	40
รูปที่ 4.14 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะช้ำโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 และ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด	43
รูปที่ 4.15 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะช้ำ จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ล และแคลเซียมอัลจีเนต	48
รูปที่ 4.16 การเปรียบเทียบผลได้เอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะช้ำจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ล และแคลเซียมอัลจีเนต	48
รูปที่ 4.17 การเปรียบเทียบอัตราผลผลิตเอทานอลสุทธิที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะช้ำ จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรีงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ล และแคลเซียมอัลจีเนต	49
รูปที่ ผ. 1 ปฏิกริยาระหว่างฟีนอลและคาร์โบไฮเดรต (ฟรุคโตส) ในกรดซัลฟูริกเข้มข้นได้ ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบที่มีสีส้มของสาร triarylmethane dyes	57
รูปที่ ผ. 2 ปฏิกริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และสาร 3,5- dinitrosalicylic acid ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี เข้มของ 3- amino-5- nitrosalicylic acid	59
รูปที่ ผ. 3 Gas chromatography Block Diagram ในการวิเคราะห์หาเอทานอล	61
รูป ผ.4 ตัวอย่างช่องสี่เหลี่ยมภายในสไลด์	64
รูปที่ ผ.5 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสสำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	65
รูปที่ ผ.6 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสสำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	66

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ผลของวิตามินต่อเมตาบอลิซึมของยีสต์	11
ตารางที่ 2.2 ข้อดีและข้อเสียของการตรึงเซลล์แบบดูดซับบนผิว	14
ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของเอทานอล ผลได้ และอัตราผลผลิต เมื่อใช้เซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงบน ซังข้าวโพดขนาด 6 และ 12 มิลลิเมตร และเซลล์อิสระ	34
ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิ ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล เมื่อใช้ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะขี้	37
ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิ ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล เมื่อใช้ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด โดยการหมักแบบกะขี้	41
ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลแบบกะขี้โดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 และ <i>S. cerevisiae</i> NP 01 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด	42
ตารางที่ 4.5 ความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิ ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล เมื่อใช้ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนแอปเปิ้ลขนาด 3 มิลลิเมตร โดยการหมักแบบกะขี้ ที่ ระยะเวลาในการหมักแต่ละกะ 48 ชั่วโมง	44
ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิ ผลได้ และอัตราผลผลิตเอทานอล เมื่อใช้ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนแอปเปิ้ลขนาด 6 มิลลิเมตร โดยการหมักแบบกะขี้ ที่ ระยะเวลาในการหมักแต่ละกะ 48 ชั่วโมง	45
ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบ กะขี้จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ลและแคลเซียมอัลจีเนต	46
ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเอทานอลสุทธิที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะ ขี้จากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ล และแคลเซียมอัลจีเนต	46
ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบผลได้เอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะขี้จากน้ำคั้นลำ ต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ลและ แคลเซียมอัลจีเนต	47
ตารางที่ 4.10 การเปรียบเทียบอัตราผลผลิตเอทานอลที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะขี้จาก น้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานโดย <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5048 ที่ถูกตรึงบนซังข้าวโพด แอปเปิ้ล และแคลเซียมอัลจีเนต	47
ตารางที่ ผ.1 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร	65
ตาราง ผ.2 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร	66