

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
บทที่ 1	1
บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงการและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2	4
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ผลงานวิจัยที่ผ่านมา	4
2.2 หลักการทั่วไปของกระบวนการหมักแข็ง ในเทคโนโลยีชีวภาพ	5
2.3 จุลินทรีย์และสับสเตรทต่างๆ ในกระบวนการหมักแข็ง	7
2.4 ปัจจัยทางกายภาพควบคุมการเติบโตในการหมักแข็ง	12
บทที่ 3	15
วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังและเปลือกสับประรด	15
3.2 วิธีการปลูกถ่ายเชื้อเดี่ยว	15
3.3 วิธีการปลูกถ่ายเชื้อผสม TY	17
3.4 วิธีการหาสภาวะเหมาะสมของการหมักแข็งกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อผสม TY	17
3.5 วิธีการหาสภาวะของการหมักเอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY	22
3.6 วิธีการหมักเอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY ที่สภาวะเหมาะสม	22

สารบัญเรื่อง

		หน้า
บทที่ 4	ผลการวิจัยและวิจารณ์	24
	4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยว	24
	4.2 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อผสม TY บนอาหารวุ้นแข็ง 2 ชนิด	30
	4.3 ผลการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ผสมจากงานเพาะเลี้ยงที่อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	32
	4.4 ผลของสภาวะการหมักแข็งกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตจุลินทรีย์ผสม ชนิดหัวเชื้อสด TY-FS	33
	4.5 ผลของสภาวะการหมักแข็งกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตจุลินทรีย์ผสม ชนิดหัวเชื้อสด TY-FS	38
	4.6 เปรียบเทียบต้นทุนวิทยาของเชื้อเดี่ยวและผสมจากการส่งด้วย ก่อจตุรกรรมแบบส่งผ่าน	41
	4.7 ผลสภาวะที่เหมาะสมของการหมักเหลวเอทานอลจากเปลือก สับประรดด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมชนิดผงแห้ง (TY-DP) ด้วยวิธีการ ทดลองออร์โทโกนอล	55
	4.8 ผลการหมักเหลวเอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY-DP อายุ 5 วันที่สภาวะเหมาะสม	62
บทที่ 5	สรุปและข้อเสนอแนะ	66
	5.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม	66
	5.2 สภาวะการหมักแข็งกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตจุลินทรีย์ผสม ชนิดหัวเชื้อสด TY-FS	67
	5.3 สภาวะที่เหมาะสมของการหมักเหลวเอทานอลจากเปลือกสับประรด ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมชนิดผงแห้ง (TY-DP) ด้วยวิธีการทดลองออร์ โทโกนอล	67
	5.4 การหมักเหลวเอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY-DP ที่ สภาวะเหมาะสม	67
	5.5 ข้อเสนอแนะ	68
เอกสารอ้างอิง		69

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 3.1	ตัวแปรของแต่ละการทดลองด้วยวิธีออร์โทโกนอล ของการหมัก เอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY ต่อ 100 มิลลิลิตรของ อาหารเหลวที่พีเอช 5 และอุณหภูมิ 26°C	23
ตารางที่ 4.1	ขนาดของไตรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 ที่วัดได้จากกล้องจุลทรรศน์แบบ เลนส์ประกอบ	27
ตารางที่ 4.2	สัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้แทนเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม	38
ตารางที่ 4.3	ขนาดของ T-P, Y-P และ TY-P จากกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 40 เท่า	39
ตารางที่ 4.4	สัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้แทนเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม	42
ตารางที่ 4.5	ขนาดความกว้างและยาวของเซลล์จุลินทรีย์เดี่ยวและผสมที่อายุ 5 วันและ 7 วัน	48
ตารางที่ 4.6	ปัจจัยควบคุมและระดับการแปรผันของวิธีทดลองออร์โทโกนอล	55
ตารางที่ 4.7	ผลของปัจจัยควบคุมที่มีต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ผสม TY-DP อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	55
ตารางที่ 4.8	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเชื้อผสม TY-DP อายุ 3 วัน จากการคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	56
ตารางที่ 4.9	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเชื้อผสม TY-DP อายุ 5 วัน จาก การคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	56
ตารางที่ 4.10	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเชื้อผสม TY-DP อายุ 7 วัน จาก การคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	56
ตารางที่ 4.11	สถานะที่เหมาะสมจากผลของปัจจัยควบคุมต่อการเติบโตของเชื้อผสม TY-DP อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	57
ตารางที่ 4.12	ผลของปัจจัยควบคุมที่มีต่อความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากจุลินทรีย์ ผสม TY-DP อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	57
ตารางที่ 4.13	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเอทานอลจากเชื้อผสม TY-DP อายุ 3 วัน ที่ได้จากการคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	58
ตารางที่ 4.14	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเอทานอลจากเชื้อผสม TY-DP อายุ 5 วัน ที่ได้จากการคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	58

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 4.15	ผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นของเอทานอลจากเชื้อผสม TY-DP อายุ 7 วัน ที่ได้จากการคำนวณตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล	58
ตารางที่ 4.16	สถานะที่เหมาะสมจากผลของปัจจัยควบคุมต่อความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จากเชื้อผสม TY-DP อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	59
ตารางที่ 4.17	เปรียบเทียบเอทานอลที่ได้จากการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับเชื้อผสมสายพันธุ์ต่างๆ ของงานวิจัยที่ผ่านมาและงานวิจัยนี้	65

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 3.1	ไทรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 เติบโตบนอาหารแข็งพีดีเอ	16
รูปที่ 3.2	แซคคาโรมายซีส สิริวิซอี RT-P2 เติบโตบนอาหารแข็งวายเอ็มเอ	16
รูปที่ 3.3	การเพาะเลี้ยงเชื้อผสม TY อายุ 1 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วันบนอาหาร วุ้นแข็ง (ก) พีดีเอ (ข) วายเอ็มเอ	18
รูปที่ 3.4	กากมันสำปะหลังแห้งและอาหารเหลว LM-pH5	19
รูปที่ 3.5	เชื้อผสม TY อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ในอาหารเหลวความเข้มข้น น้ำตาลมะพร้าว 10 กรัมต่อลิตร	19
รูปที่ 3.6	เชื้อผสม TY ในกากมันสำปะหลัง (ก) เชื้อผสม TY สดก่อนการอบแห้ง (ข) เชื้อผสม TY ชนิดผงแห้ง หลังการอบ	20
รูปที่ 3.7	แผนภาพการหมักแข็งกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อผสมชนิดผงแห้งจาก เชื้อผสมอายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน	21
รูปที่ 3.8	แผนภาพการหมักเอทานอลจากเปลือกสับประรดด้วยเชื้อผสม TY-DP ชนิดผงแห้ง	22
รูปที่ 3.9	การหมักเอทานอลจากเปลือกสับประรดหลังการปรับสภาพด้วยเชื้อผสม TY-DP ในอาหารเหลว โดยใช้วิธีการทดลองออร์โทโกนอล	23
รูปที่ 4.1	ภาพวาดไทรโคเดอร์มา รีลีส ที่ได้จากเว็บไซต์ [17]	24
รูปที่ 4.2	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 40 เท่าของ ไทรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ	25
รูปที่ 4.3	สเกลความกว้างและยาวสปอร์ของไทรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 จากกล้อง จุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ	26
รูปที่ 4.4	สเกลความกว้างก้านชูสปอร์ของไทรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 จากกล้อง จุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 40 เท่า ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง บนอาหารแข็งพีดีเอ	26
รูปที่ 4.5	สเกลความยาวก้านชูสปอร์ของไทรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 จากกล้อง จุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 40 เท่า ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง บนอาหารแข็งพีดีเอ	27

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 4.6	สเกลความยาวโคไนดีโอฟอร์ของไตรโคเดอร์มา รีลีอี RT-P1 จากกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบกำลังขยาย 40 เท่า ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งพีดีเอ	27
รูปที่ 4.7	การติดสีเมทิลีนบลูของแซคคาโรมายซิส สิริวิซีอี RT-P2 และไตรโคเดอร์มา รีลีอี RT-P1	29
รูปที่ 4.8	การติดสีเลคโตฟีนอลของแซคคาโรมายซิส สิริวิซีอี RT-P2 และไตรโคเดอร์มา รีลีอี RT-P1	29
รูปที่ 4.9	ขนาดของเซลล์แซคคาโรมายซิส สิริวิซีอี RT-P2 จากกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ กำลังขยาย 40 เท่า	30
รูปที่ 4.10	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสม TY บนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอและวายเป็นเอ็มเอ กับระยะเวลา 2 วัน	31
รูปที่ 4.11	จุลินทรีย์ผสม TY บนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอและวายเป็นเอ็มเอกับระยะเวลา 12 วัน	31
รูปที่ 4.12	เชื้อจุลินทรีย์ผสมระหว่าง <i>T.reesei</i> RT-P1 กับ <i>S.cerevisiae</i> RT-P2 อายุ 3 วัน 5 วันและ 7 วัน เพาะเลี้ยงร่วมกันบนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ	32
รูปที่ 4.13	เส้นใยและสปอร์จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ของเชื้อจุลินทรีย์ผสม	32
รูปที่ 4.14	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสม TY-P บนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ อายุ 3 วัน อายุ 5 วัน และอายุ 7 วัน	33
รูปที่ 4.15	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมกับเวลาของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง ด้วย 1 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว 60, 80 และ 100 mL	34
รูปที่ 4.16	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมกับเวลาของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง ด้วย 2 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว 60, 80 และ 100 mL	34
รูปที่ 4.17	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมกับเวลาของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง ด้วย 3 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว 60, 80 และ 100 mL	35
รูปที่ 4.18	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมกับเวลาของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง ด้วย 4 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว 60, 80 และ 100 mL	35
รูปที่ 4.19	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมกับเวลาของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง ด้วย 1%w, 2%w, 3%w และ 4 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว 100 mL	36

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 4.20	ความขึ้นเริ่มต้นของการหมักแข็งกากมันสำปะหลังด้วยจุลินทรีย์ผสมที่ 1%w, 2%w, 3%w และ 4 %w น้ำตาลมะพร้าวในปริมาณอาหารเหลว LM-pH5 เท่ากับ 60, 80 และ 100 mL	36
รูปที่ 4.21	ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมที่ได้ (TY-FS) จากการหมักกากมันสำปะหลังด้วยจุลินทรีย์ผสมบนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ (TY-P) อายุ 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน กับระยะเวลาานาน 5 วัน	37
รูปที่ 4.22	จุลินทรีย์ผสมชนิดหัวเชื้อสดจากการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง อายุ 3 วัน 5 วันและ 7 วัน	37
รูปที่ 4.23	จุลินทรีย์ผสมชนิดผงแห้งจากการอบแห้งเชื้อผสมชนิดหัวเชื้อสด TY-FS	38
รูปที่ 4.24	ส่วนประกอบและขนาดของจุลินทรีย์บริสุทธิ์บนจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ T-P	39
รูปที่ 4.25	ส่วนประกอบและขนาดของจุลินทรีย์บริสุทธิ์บนกากมันสำปะหลังชนิดเชื้อเดี่ยวสด T-FS	40
รูปที่ 4.26	ส่วนประกอบและขนาดของจุลินทรีย์ผสมบนจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ TY-P	40
รูปที่ 4.27	ส่วนประกอบและขนาดของจุลินทรีย์ผสมบนกากมันสำปะหลังชนิดเชื้อสด TY-FS	41
รูปที่ 4.28	ภาพจากกล้อง TEM ของไตรโคเดอร์มา รีสีอี RT-P1 ที่มีสีเขียว (T-P) อายุ 5 วัน และ 7 วัน	42
รูปที่ 4.29	ภาพจากกล้อง TEM ของแซคคาโรมายซิส สิริวิซอี RT-P2 ที่มีสีขาว	43
รูปที่ 4.30	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีสีเขียว (TY-P-G) อายุ 5 วัน	43
รูปที่ 4.31	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีสีเขียวปนขาว (TY-P-G-W) อายุ 5 วัน	44
รูปที่ 4.32	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีสีขาว (TY-P-W) อายุ 5 วัน	45
รูปที่ 4.33	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีสีเขียว (TY-P-G) อายุ 7 วัน	46
รูปที่ 4.34	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อเดี่ยวไตรโคเดอร์มา รีสีอี (T-P) อายุ 7 วัน	46
รูปที่ 4.35	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อเดี่ยวไตรโคเดอร์มา รีสีอี ชนิดผงแห้ง (T-DP) อายุ 5 วัน และ 7 วัน	47
รูปที่ 4.36	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อผสมชนิดผงแห้ง (TY-DP) อายุ 5 วัน	47

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 4.37	ภาพจากกล้อง TEM ของเชื้อผสมชนิดผงแห้ง (TY-DP) อายุ 7 วัน	48
รูปที่ 4.38	ไฮไฟของไตรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 ดิคส์เลคโตฟินอล	49
รูปที่ 4.39	(ก) ไฮไฟของไตรโคเดอร์มา รีลีส RT-P1 ที่ไม่ได้ย้อมสี (ข) แซคคาโรมายซิส ซีรีวิลีส RT-P2 สีย้อมเลคโตฟินอล	50
รูปที่ 4.40	ไฮไฟของเชื้อผสมTY อายุ 3 วัน บริเวณสีเขียวปนขาวบนจานเพาะเชื้อ ฟีดี้เอตดิคส์น้ำเงินเลคโตฟินอล	51
รูปที่ 4.41	ไฮไฟของเชื้อผสมTY อายุ 3 วัน บริเวณสีขาวบนจานเพาะเชื้อฟีดี้เอตดิคส์ น้ำเงินเลคโตฟินอล	52
รูปที่ 4.42	ไฮไฟของเชื้อผสม TY อายุ 5 วัน บริเวณที่มีสีเขียวปนขาวบนจานเพาะเชื้อ ฟีดี้เอตดิคส์น้ำเงินเลคโตฟินอล	52
รูปที่ 4.43	เซลล์เชื้อผสม TY อายุ 5 วัน ดิคส์น้ำเงินอยู่ในไฮไฟที่รูปร่างเปลี่ยนไปจาก ไฮไฟของเชื้อเดี่ยว	53
รูปที่ 4.44	เซลล์เชื้อผสม TY อายุ 5 วันรูปร่างลักษณะคล้ายยีสต์ดิคส์น้ำเงินเลคโต ฟินอลอยู่ในไฮไฟ	53
รูปที่ 4.45	การดิคส์เลคโตฟินอล ของเชื้อผสม TY-P อายุ 5 วันบริเวณที่มีสีขาว	54
รูปที่ 4.46	ไฮไฟของเชื้อผสม TY-P อายุ 7 วันดิคส์ฟ้าอ่อน เซลล์ดิคส์น้ำเงินสม่ำเสมอ	54
รูปที่ 4.47	เอทานอลที่ได้กับเวลาจากการหมัก 8%w เปลือกสับประรดด้วย 6%w เชื้อ ผสม TY-DP อายุ 3 วัน ในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 2%w และ 3%w	60
รูปที่ 4.48	เอทานอลที่ได้กับเวลาจากการหมัก 8%w เปลือกสับประรดด้วย 6%w เชื้อ ผสม TY-DP อายุ 5 วัน ในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 2%w และ 3%w	60
รูปที่ 4.49	เอทานอลที่ได้กับเวลาจากการหมัก 8%w เปลือกสับประรดด้วย 6%w เชื้อ ผสม TY-DP อายุ 7 วัน ในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 2%w และ 3%w	61
รูปที่ 4.50	เอทานอลที่ได้กับเวลาจากการหมัก 8%w เปลือกสับประรดด้วย 6%w เชื้อ ผสม TY-DP อายุ 5 วัน และ 7 วัน ในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาล เริ่มต้นเท่ากับ 3%w	62

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 4.51	เอทานอลที่ได้ และน้ำตาลรีดิวิซที่เหลืออยู่กับเวลาของการหมักเหลว เอทานอลจาก 8%w เปลือกสับประคด้วย 6%w เชื้อผสม TY-DP อายุ 5 วันในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 3%w	63
รูปที่ 4.52	เซลล์เลส แอคทีวิตี และเชื้อผสม TY-DP กับเวลาของการหมักเหลว เอทานอลจาก 8%w เปลือกสับประคด้วย 6%w เชื้อผสม TY-DP อายุ 5 วันในอาหารเหลว LM-pH5 ที่มีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 3%w	63