

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abatract	ค
<b>บทที่ 1</b>	<b>1</b>
<b>บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาของโครงการและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 ผลสำเร็จของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่จะนำ ผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	4
<b>บทที่ 2</b>	<b>5</b>
<b>ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 การทบทวนวรรณกรรมหรือสารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	5
2.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	8
2.3 การเพาะเลี้ยงแบบกะ (batch culture)	15
<b>บทที่ 3</b>	<b>19</b>
<b>วิธีดำเนินการวิจัย</b>	
3.1 ศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำคั้น น้ำเชื่อมข้นและ ต้นสดข้าวฟ่างหวาน	19
3.2 การหมักเอทานอลจากน้ำคั้นสดข้าวฟ่างหวาน ด้วยยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2	19
3.3 การผลิตน้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวานโดยการระเหยน้ำคั้นสด	22
3.4 การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน ด้วยยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2	25
3.5 การหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วย ครูดเซลลูเลสผง เพียงอย่างเดียว	27
3.6 การหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน แบบรวมปฏิกิริยาด้วยครูดเซลลูเลสผง ( <i>T. reesei</i> RT-P1) ร่วมกับหัวเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2	30

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
<b>บทที่ 4</b>	<b>ผลการวิจัยและวิจารณ์ 31</b>
4.1	ผลขององค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำคั้นต้นสด สารละลายน้ำเชื่อมและต้นสดข้าวฟ่างหวาน 31
4.2	ผลการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นต้นสดข้าวฟ่างหวาน 32
4.3	ผลการผลิตน้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวาน โดยการระเหยน้ำคั้นสด 40
4.4	ผลการหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน ด้วยยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2 41
4.5	ผลการหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน ด้วยครูดเซลลูเลสผงเพียงอย่างเดียว 50
4.6	ผลการหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวานแบบรวมปฏิกิริยา ด้วยครูดเซลลูเลสผงร่วมกับหัวเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2 52
<b>บทที่ 5</b>	<b>สรุปและข้อเสนอแนะ 55</b>
5.1	องค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำคั้นต้นสด สารละลายน้ำเชื่อม และต้นสดข้าวฟ่างหวาน 55
5.2	การหมักเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน 55
5.3	การผลิตน้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวาน โดยการระเหยน้ำคั้นสด 56
5.4	การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน ด้วยยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2 57
5.5	ผลการหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน ด้วยครูดเซลลูเลสผงเพียงอย่างเดียว 58
5.6	เปรียบเทียบเอทานอลที่ได้จากการหมักส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างหวาน 59
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>60</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>63</b>
ภาคผนวก ก	อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม 64
ภาคผนวก ข	เทคนิคในการเพาะเลี้ยงและการปลูกถ่ายจุลินทรีย์ 65
ภาคผนวก ค	การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยเครื่องอิมพลูติโอมิเตอร์ 67
ภาคผนวก ง	การคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์จากร้อยละโดยปริมาตร (% v/v) เป็นร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร 68

สารบัญเรื่อง

		หน้า
ภาคผนวก จ	วิธีการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง	69
ภาคผนวก ฉ	การคำนวณค่าประสิทธิภาพผลได้ (Yield efficiency)	70
ภาคผนวก ช	แสดงการคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ	71
ภาคผนวก ซ	การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ลูลอส	72
ภาคผนวก ฅ	การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า	75
ภาคผนวก ฎ	การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น	76
ภาคผนวก ฏ	การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุไนโตรเจน โดยวิธีเจดดาห์ (Kjedahl Method)	77
ภาคผนวก ฐ	การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	80
ภาคผนวก ฑ	การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล	82
ภาคผนวก ท	การวิเคราะห์ปริมาณลิกนิน	84
ภาคผนวก ธ	ข้อมูลดิบของการหาสถานะที่เหมาะสมตาม วิธีการทดลองออร์โธโกนอล	85

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 1.1	พื้นที่ปลูก (ไร่) ผลผลิต (ตัน) และผลผลิตเฉลี่ย (กิโลกรัมต่อไร่) ของข้าวฟ่าง	3
ตารางที่ 1.2	ผลผลิตต้นสดของข้าวฟ่างหวาน ปริมาณน้ำที่หีบได้ และค่าความหวาน	3
ตารางที่ 2.1	ขั้นตอนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล โดยยีสต์ผ่านกระบวนการ Embden – Meyerhof – Parnas pathway [9]	10
ตารางที่ 2.2	อุณหภูมิของน้ำหมักที่มีผลต่อการทำงานของยีสต์	13
ตารางที่ 2.3	ค่า $a_w$ ต่ำสุดสำหรับการเติบโตของยีสต์บางชนิด	14
ตารางที่ 4.1	องค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์	31
ตารางที่ 4.2	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และไนโตรเจนในสารละลายน้ำเชื่อม ข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และควาเลย์	32
ตารางที่ 4.3	องค์ประกอบทางเคมีของต้นสดสดข้างฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และควาเลย์	32
ตารางที่ 4.4	สัญลักษณ์และคำย่อและความหมายที่ใช้ในตอน 4.2	33
ตารางที่ 4.5	พารามิเตอร์ของการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ SWJ-1 ที่หัวเชื้อยีสต์ร้อยละ โดยปริมาตรต่างๆ	34
ตารางที่ 4.6	พารามิเตอร์ของการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ชนิด SWJ-1 ที่พีเอชเริ่มต้นต่างๆ	36
ตารางที่ 4.7	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ SWJ-1 และ SWJ-2 ด้วย หัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในอาหารเหลวสูตร YM	36
ตารางที่ 4.8	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก น้ำคั้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์และเคลเลอร์ด้วยหัวเชื้อยีสต์ ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในอาหารสูตร YM และ SW	39
ตารางที่ 4.9	ผลการระเหยน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานหนัก 35.5 และ 80.6 กิโลกรัม	40
ตารางที่ 4.10	กำลังจากแก๊สหุงต้มที่ใช้ในการระเหยน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน	41
ตารางที่ 4.11	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก สารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ด้วยหัวเชื้อยีสต์ ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในน้ำข้าวฟ่างหวาน และอาหารเหลวสูตร N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	45

## สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 4.12	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก สารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์ด้วยหัวเชื้อยีสต์ ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในน้ำข้าวฟ่างหวานและอาหารเหลวสูตร N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	45
ตารางที่ 4.13	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก สารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวานพันธุ์ควาเลย์ด้วยหัวเชื้อยีสต์ ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในน้ำข้าวฟ่างหวานและอาหารเหลวสูตร N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	46
ตารางที่ 4.14	ความหนาแน่นของสารละลายข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ เคลเลอร์และควาเลย์ที่ความหวาน 20 องศาบริกซ์	50
ตารางที่ 4.15	สภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เคลเลอร์และควาเลย์ด้วยครูดเซลลูเลสผงอย่างเดียว ในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร	50
ตารางที่ 4.16	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอลจาก ต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์และควาเลย์ด้วย ครูดเซลลูเลสผงที่สภาวะเหมาะสม	52
ตารางที่ 4.17	พารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการหมักเอทานอล แบบรวมปฏิกิริยาจากต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์และควาเลย์ ด้วยครูดเซลลูเลสผงร่วมกับ หัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร	54
ตารางที่ 5.1	เปรียบเทียบการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานด้วย จุลินทรีย์ที่สภาวะต่างๆ ของงานวิจัยที่ผ่านมากับงานวิจัยนี้	56
ตารางที่ 5.2	เปรียบเทียบการระเหยน้ำด้วยเครื่องระเหยถึงสแตนเลส 2 ชั้น กับกระทะเหล็กปากกว้าง	56
ตารางที่ 5.3	ผลต่างระหว่างอัตราการผลิตเอทานอลของสารละลายน้ำเชื่อม ข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์และควาเลย์ ที่ N:P = 2:1 และที่ N:P = 0	57
ตารางที่ 5.4	สภาวะเหมาะสมของการหมักเอทานอลจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เคลเลอร์และควาเลย์	58

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 5.5	เปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ระหว่างการหมักเอทานอลจากต้นสด ข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์และข้าวเลี้ยงด้วยครูดเซลลูเลสเพียงอย่าง เดียวกับแบบรวมปฏิกิริยา	58
ตารางที่ 5.6	เอทานอลที่ได้จากการนำส่วนต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานใช้เป็นสับสเตรท	59

## สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 2.1	การแบ่งระยะการเติบโตของจุลินทรีย์	15
รูปที่ 2.2	การหาระยะปรับตัวก่อนการเติบโต	18
รูปที่ 3.1	เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> RT-P2	20
รูปที่ 3.2	(ก) อาหารเหลวสูตร YM (ข) อาหารเหลวสูตรSWJ-1 (ค) อาหารเหลวสูตร SWJ-2	21
รูปที่ 3.3	(ก) ดันสดข้าวฟ่างหวาน (ข) ขั้นตอนการคั้นน้ำข้าวฟ่างหวาน (ค) น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานก่อนการระเหย	23
รูปที่ 3.4	เครื่องระเหยสแตนเลส	24
รูปที่ 3.5	รีแฟรกโตมิเตอร์สำหรับวัดความหวาน	24
รูปที่ 3.6	(ก) น้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวานระหว่างการระเหย (ข) น้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวานหลังการระเหย	24
รูปที่ 3.7	(ก) น้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวาน (ข) สารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน	26
รูปที่ 3.8	การหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน	27
รูปที่ 3.9	สับสเตรทตันสดข้าวฟ่างหวาน (ก) พันธุ์ควาเลย์ และ (ข) พันธุ์เคลเลอร์	28
รูปที่ 3.10	เซลล์เลนซชนิดผงแห้ง (เชื้อราไตรโคเดอร์มาร์ทีอี RT-P1)	28
รูปที่ 3.11	การหาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักแบกะด้วยวิธีการทดลอง ออร์โทโกนอล	29
รูปที่ 3.12	ตัวอย่างจากการหมักตันสดข้าวฟ่างหวานแต่ละพันธุ์	29
รูปที่ 4.1	เซลล์แห้งกับเวลาของน้ำหมัก SWJ-1 ที่หัวเชื้อยีสต์ ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 โดยปริมาตร	34
รูปที่ 4.2	เอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์กับเวลาของน้ำหมัก SWJ-1 ที่หัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 5 10 15 20 และ 25 โดยปริมาตร	34
รูปที่ 4.3	เซลล์แห้งของยีสต์กับเวลาของน้ำหมัก ที่พีเอชเท่ากับ 3.5 4.0 4.5 และ 5.0	35
รูปที่ 4.4	ความเข้มข้นเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์กับเวลาของน้ำหมัก ที่พีเอชเท่ากับ 3.5 4.0 4.5 และ 5.0	35
รูปที่ 4.5	ความเข้มข้นของเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำหนักเซลล์แห้ง กับเวลาของการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นพันธุ์เรย์ชนิด SWJ-1 ด้วยหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในอาหารเหลวสูตร YM	37

## สารบัญรูป

	หน้า	
รูปที่ 4.6	ความเข้มข้นของเอทานอล น้ำตาลรีดิคซ์และน้ำหนักเซลล์แห้ง กับเวลาของการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นพันธุ์เรย์ชนิด SWJ-2 ด้วยหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 5 โดยปริมาตรในอาหารเหลวสูตร YM	37
รูปที่ 4.7	เซลล์แห้งกับเวลาของการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์และเคลเลอร์	38
รูปที่ 4.8	เอทานอลและน้ำตาลรีดิคซ์กับเวลาที่ใช้ในการหมักเอทานอลจาก น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์และเคลเลอร์	38
รูปที่ 4.9	น้ำเชื่อมข้นข้าวฟ่างหวานที่ได้จากการระเหย	40
รูปที่ 4.10	เอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	42
รูปที่ 4.11	เอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เคลเลอร์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	42
รูปที่ 4.12	เอทานอลที่ได้จากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ควาเลย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	42
รูปที่ 4.13	น้ำตาลที่ลดลงจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	43
รูปที่ 4.14	น้ำตาลที่ลดลงจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	43
รูปที่ 4.15	น้ำตาลที่ลดลงจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ควาเลย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	43
รูปที่ 4.16	น้ำหนักเซลล์แห้งจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เรย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	44
รูปที่ 4.17	น้ำหนักเซลล์แห้งจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์เคลเลอร์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	44
รูปที่ 4.18	น้ำหนักเซลล์แห้งจากการหมักสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ควาเลย์ที่ N:P = 0, N:P = 1:1 และ N:P = 2:1	44
รูปที่ 4.19	เปรียบเทียบเวลาที่ยีสต์ใช้ในระหว่างการเติบโตแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ของสารละลายน้ำเชื่อมข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และควาเลย์ ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	46



สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 4.20	เปรียบเทียบอัตราการผลิตเอทานอลของการหมักเอทานอล จากสารละลายน้ำข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และค่าเฉลี่ย ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	47
รูปที่ 4.21	เปรียบเทียบอัตราการผลิตเซลล์ของการหมักเอทานอลจาก สารละลายน้ำข้าวฟ่าง-หวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และค่าเฉลี่ย ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	48
รูปที่ 4.22	เปรียบเทียบผลได้ของเซลล์ต่อสับสเตรทสำหรับการหมักเอทานอล จากสารละลายน้ำข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และค่าเฉลี่ย ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	48
รูปที่ 4.23	เปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลต่อสับสเตรทสำหรับการหมักเอทานอล จากสารละลายน้ำข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และค่าเฉลี่ย ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	49
รูปที่ 4.24	เปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลต่อเซลล์สำหรับการหมักเอทานอล จากสารละลายน้ำข้าวฟ่างหวานพันธุ์เรย์ เคลเลอร์ และค่าเฉลี่ย ที่ N:P=0, N:P=1:1 และ N:P=2:1	49
รูปที่ 4.25	เอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ และจุลินทรีย์ของการหมักเอทานอลจาก ต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์ด้วยเซลล์ผสมชนิดผงแห้ง ที่สภาวะเหมาะสม	51
รูปที่ 4.26	เอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ และจุลินทรีย์ของการหมักเอทานอลจาก ต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์ควาเลียด้วยเซลล์ผสมชนิดผงแห้ง ที่สภาวะเหมาะสม	51
รูปที่ 4.27	เอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ และจุลินทรีย์ของการหมักเอทานอล แบบรวมปฏิกิริยาจากต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์เคลเลอร์ ด้วยครูดเซลล์ผสมร่วมกับหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร	53
รูปที่ 4.28	เอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ และจุลินทรีย์ของการหมักเอทานอล แบบรวมปฏิกิริยาจากต้นสดข้าวฟ่างหวานพันธุ์ควาเลีย ด้วยครูดเซลล์ผสมร่วมกับหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร	53