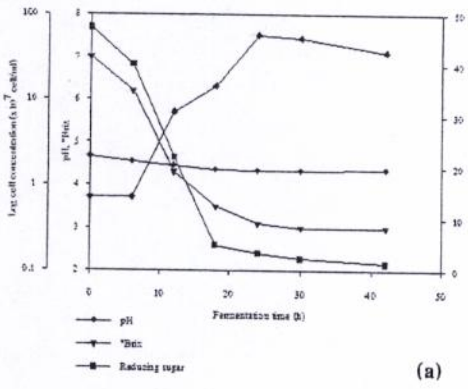
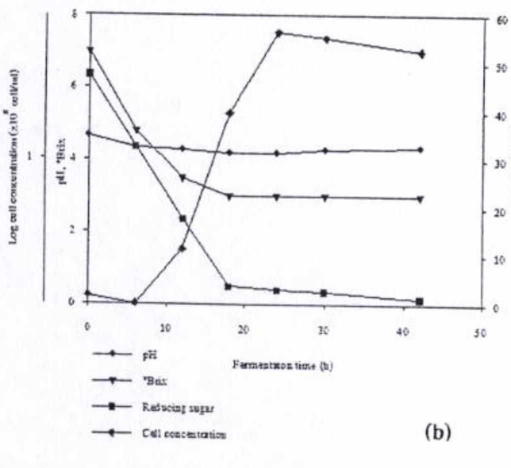
3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* โดยใช้กระบวนการหมักแบบกะในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรากต้นธูปฤาษี

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ (โดยน้ำหนัก)
คาร์โบไฮเดรต	67.52
โปรตีน	12.99
ไฟเบอร์	7.23
ความชื้น	7.18
เถ้า	4.5
ไขมัน	0.58





ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (a) และร้อยละ 10 (b) ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การศึกษาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* จากสารละลายที่เตรียมได้โดยการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษีด้วยกระบวนการหมักแบบกะ เปรียบเทียบกันระหว่างปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ในสภาวะนิ่ง ได้ผลการทดลองดัง ภาพที่ 1

ภาพที่ 1 (a) แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะโดย *S. cerevisiae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และความเข้มข้นของเซลล์ มีค่าเท่ากับ 4.65$\pm$ 0.07, 7.00 $\pm$ 0.00 องศาบริกซ์, 47.43 กรัมต่อลิตร และ 7.14 $\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มต้นของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.36 $\pm$ 0.05 ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 18 จากนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะค่อยๆ ลดลงและเริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 30 มีค่าเท่ากับ 3.00 $\pm$ 0.00 องศาบริกซ์ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก โดยมีค่าเท่ากับ 1.39 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 24 ของการหมักจากนั้นเริ่มคงที่โดยมีความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 5.73$\times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ภาพที่ 1 (b) แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะโดย *S. cerevisiae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และ

ความเข้มข้นของเซลล์ มีค่าเท่ากับ 4.65 ± 0.07, 7.00 ± 0.00 องศา บริกซ์, 47.67 กรัมต่อลิตร และ 1.36×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ตั้งแต่เริ่มต้นของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.36 ± 0.05 ในขณะที่ปริมาณของแข็ง ที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้น การหมักจนถึงชั่วโมงที่ 18 จากนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดก็เริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 18 มีค่าเท่ากับ 3.00 ± 0.00 องศาบริกซ์ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก มีค่าเท่ากับ 1.11 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 24 ของการหมักจากนั้นเริ่มคงที่โดยมีความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 6.28×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ในขณะที่การศึกษาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* จากสารละลายที่เตรียมได้โดยการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษีด้วยกระบวนการหมักแบบกะเปรียบเทียบกันระหว่างปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ในสภาวะเขย่า ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 (a) แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะโดย *S. cerevisiae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะเขย่า ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และความเข้มข้นของเซลล์ มีค่าเท่ากับ 4.65± 0.07, 7.00 ± 0.00 องศาบริกซ์ 47.14 กรัมต่อลิตร และ 7.14×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มต้นของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.36 ± 0.02 ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 12 จากนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะค่อยๆ ลดลงและเริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 12 มีค่าเท่ากับ 3.00 ± 0.00 องศาบริกซ์ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก มีค่าเท่ากับ 1.28 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นการหมักถึงชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก จากนั้นเริ่มคงที่โดยมีความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 8.03×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ภาพที่ 2 (b) แสดงค่าการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะโดย *S. cerevisiae* ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมัก ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และความเข้มข้นของเซลล์ มีค่าเท่ากับ 4.65 ± 0.07, 7.00 ± 0.00 องศา บริกซ์, 47.65 กรัมต่อลิตร และ 1.36×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มต้นของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.38 ± 0.04 ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มในทำนองเดียวกันคือ มีการลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 12 จากนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดก็เริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 12 มีค่าเท่ากับ 3.00 ± 0.00 องศาบริกซ์ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ค่อยๆลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก มีค่าเท่ากับ 1.11 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก จากนั้นเริ่มคงที่โดยมีความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเท่ากับ 5.53×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

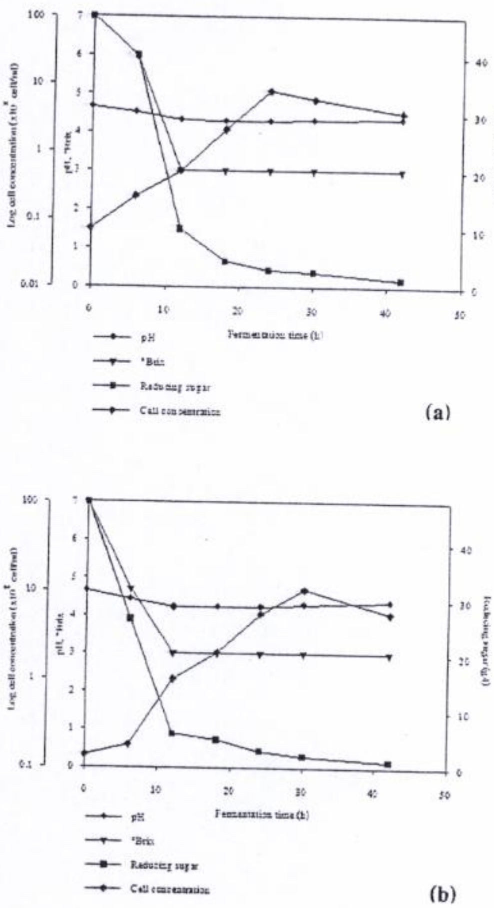
เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ของการผลิตเอทานอลจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการ

ผลิตเอทานอล (ตารางที่ 2) จะเห็นได้ว่าสภาวะที่ดีที่สุด คือ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในสภาวะเขย่า

ตารางที่ 2 เปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (a) และร้อยละ 10 (b) ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

พารามิเตอร์	ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ร้อยละ 5		ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ร้อยละ 10	
	สภาวะนิ่ง 30 องศาเซลเซียส	เขย่าที่ 100 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส	สภาวะนิ่ง 30 องศาเซลเซียส	เขย่าที่ 100 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส
ปริมาณแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร)	16.20	19.35	19.75	20.54
ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป (กรัมต่อลิตร)	46.04	45.86	46.56	46.56
เวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)	42	42	42	42
ผลได้	0.35	0.42	0.42	0.44
อัตราผลผลิต (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.39	0.46	0.47	0.49

รองลงมาคือ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในสภาวะนิ่ง ตามด้วยที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะเขย่า และสุดท้ายคือที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะนิ่ง โดยให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 20.54 19.75 19.35 และ 16.20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีผลได้ (yield) เท่ากับ 0.44 0.42 0.42 และ 0.35 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ ตามลำดับ และมีอัตราผลผลิต เท่ากับ 0.49 0.47 0.46 และ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งค่าผลได้มีค่าเท่ากับงานวิจัยของ พรเทพ และคณะ [4] ที่ได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากข้าวฟ่างหวานโดย *S. cerevisiae* ด้วยวิธีการหมักแบบกะโดยมีผลได้สูงสุด 0.44 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ และมีค่าผลได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ อลิศรา และคณะ [5] ซึ่งได้ทำการศึกษาผลผลิตเอทานอลจากน้ำบีบเปลือกและแกนสับปะรดโดยการหมักแบบกะ ในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5048 จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลแบบกะคือ การหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 5.0 และใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นร้อยละ 5 ซึ่งให้ผลได้ของเอทานอลและอัตราการผลิตเท่ากับ 0.58 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการผลิตเอทานอลด้วยการหมักแบบกะ ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (a) และร้อยละ 10 (b) ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

4. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้สามารถผลิตเอทานอลได้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 20.54 กรัมต่อลิตร ผลได้เท่ากับ 0.44 และอัตราผลผลิตเท่ากับ 0.49 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งยังมีค่าค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการผลิตเพิ่มเติม แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ก็สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนได้อีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งไม่ต้องพึ่งพาพืชอาหารที่มีต้นทุนการผลิตสูงกว่า

5. เอกสารอ้างอิง

[1] Sanchez, O.J. and Carlos, A. 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. Bioresource Technology. 99 : 5270-5295.

[2] Demirbas, A. 2008. Biofuels sources, biofel policy, biofuel economy and global biofuel projection. Energy Conversion and Management. 49: 2106-2116.

[3] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1965. Officail Method of Analysis. 12th ed. Washington, D.C.: The Association of Official Agricultural Chemists.

[4] พรเทพ ถนนแก้ว พัฒนา เหล่าไพบูลย์ ลักขณา เหล่าไพบูลย์ และประสิทธิ์ ใจศีล. 2547.การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากข้าวฟ่างหวานโดย *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยวิธีการหมักแบบกะและกึ่งกะ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ภาควิชเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

[5] อลิศรา เรืองแสง พรเทพ ถนนแก้ว ผกาวดี นารอง และ สามารถ มูลอามาตย์. 2551. การผลิตเอทานอลจากน้ำบีบเปลือกและแกนสับปะรดโดยการหมักแบบกะและกึ่งกะในระดับห้องปฏิบัติการ. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ผู้ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

<SCI-38> (42)

วารสารวิจัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

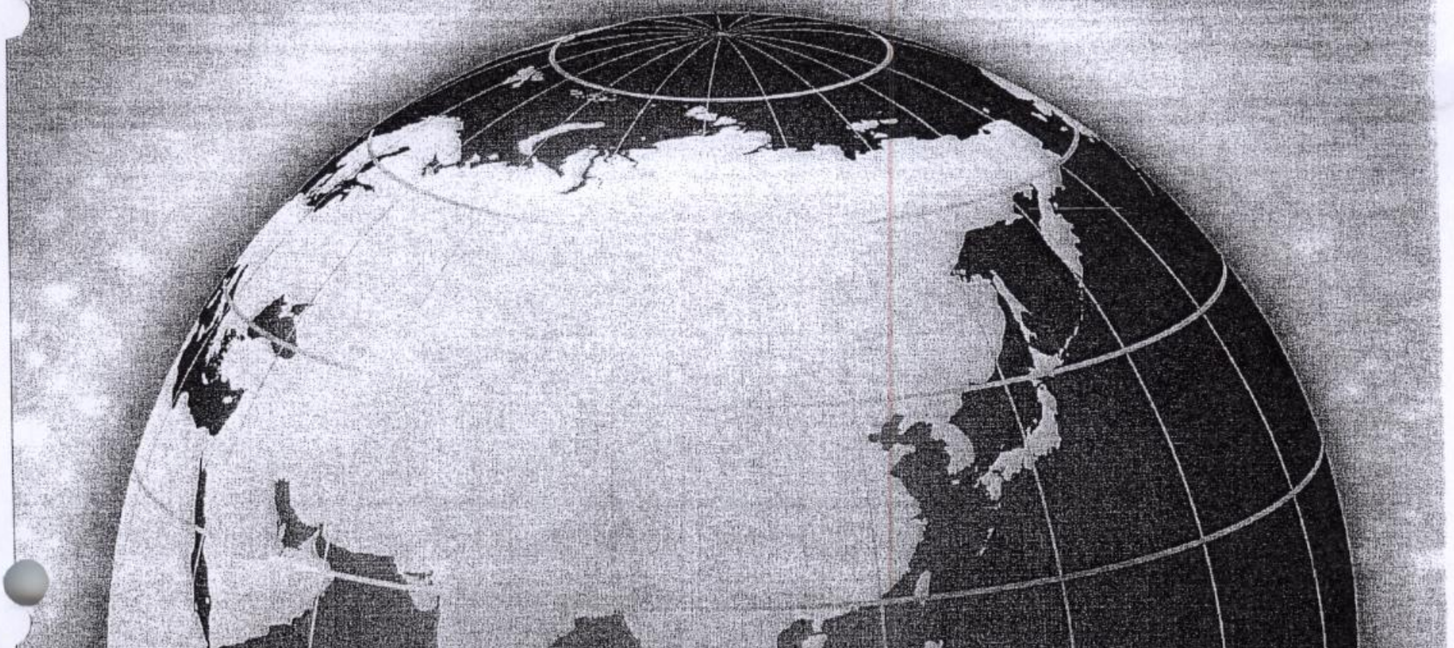
ฉบับพิเศษ ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 (มกราคม - เมษายน 2554)

ISSN 1686 - 8420

เล่มที่ 1

การประชุมวิชาการ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 3

"การพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในยุคเศรษฐกิจสร้างสรรค์"



24 - 26 พฤศจิกายน 2553

ศูนย์ประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

3rd RMUTCON

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากรากต้นธูปฤาษี

ศิริพร ลุนพรม[1] และ สิริแข พงษ์สวัสดิ์[1]

บทคัดย่อ--- งานวิจัยนี้ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำรากต้นธูปฤาษีมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตเอทานอล ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอล โดยเตรียมตัวอย่างรากธูปฤาษีและนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี จากนั้นเตรียมสารละลายน้ำเชื่อมจากการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษีด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส และนำไปใช้ในทดลองผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักแบบกะ โดยทำการแปรผันปริมาณเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 10 เปรียบเทียบระหว่างสภาวะการหมักแบบนิ่งและแบบเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ทำการหมัก 42 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ารากต้นธูปฤาษีมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 67.52 โดยน้ำหนัก เมื่อนำรากต้นธูปฤาษีมาเตรียมสารละลายน้ำเชื่อมและนำไปผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักแบบกะ พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดของการหมักคือที่ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ในสภาวะเขย่ารองลงมาคือเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ที่สภาวะนิ่ง ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที และที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ในสภาวะนิ่ง ตามลำดับ โดยสภาวะที่ดีที่สุดได้ปริมาณแอลกอฮอล์ เท่ากับ 20.54 กรัมต่อลิตร ผลได้ (yield) เท่ากับ 0.44 และอัตราผลผลิต เท่ากับ 0.49 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

คำสำคัญ ต้นธูปฤาษี การผลิตเอทานอล การหมักแบบกะ พลังงานทางเลือก

1. บทนำ

วิกฤตการณ์ด้านพลังงานส่งผลกระทบต่อทุกภูมิภาคทั่วโลก ประกอบกับราคาน้ำมันที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง และปริมาณน้ำมันดิบที่มีแนวโน้มว่าจะหมดลงในอนาคต ส่งผลให้เกิดแรงผลักดันในการคิดค้นและพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานทดแทนขึ้น [1] เอทานอล จัดเป็นพลังงานทดแทนที่มีความสำคัญและมีศักยภาพสูงสำหรับการนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งผลิตได้จากวัตถุดิบทางชีวภาพหลายชนิด อาทิ วัตถุดิบทางการเกษตร วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม [2] แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีวัตถุดิบทางชีวภาพอีกหลายชนิดที่มีคุณสมบัติ ที่เหมาะสมต่อการนำมาผลิตเอทานอลได้ อาทิ กลุ่มวัชพืชที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำรากต้นธูปฤาษีมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตเอทานอล โดยกระบวนการทางชีวภาพ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอล และเป็นแนวทางในการผลิตพลังงานทางเลือกในอนาคต

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี 39 หมู่ 1 ต. คลองหก อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110

โทรศัพท์: +66(2)-549-4177 , +66(2)-549-4143

โทรสาร : +66(2)-5494179

E-mail: lunprom@hotmail.com, pongsawadi@hotmail.com

2. วิธีการวิจัย

2.1 จุลินทรีย์

สายพันธุ์จุลินทรีย์คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5048 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย)

2.2 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* จาก YM slant จำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเหลวสูตร YM นำไปบ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วในการเขย่า 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 โดยปริมาตร ใส่ในอาหารใหม่ และทำการเพาะเลี้ยงต่อในสภาวะเดิม ให้ได้จำนวนเซลล์ตามต้องการ สำหรับนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมักต่อไป

2.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างรากต้นธูปฤาษี

ทำการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร (กาก) เถ้า และความชื้น ตามวิธีการ AOAC [3]

2.4 เตรียมสารละลายน้ำเชื่อมโดยการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษี

นำตัวอย่างรากของต้นธูปฤาษีปริมาณ 50 กรัม มาเติมน้ำบาดาลปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้เท่ากับ 6 เติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากันหลังจากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้เท่ากับ 4.5-5 แล้วเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส ควบคุมอุณหภูมิไม่ให้ต่ำกว่า 58 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* โดยใช้กระบวนการหมักแบบกะ ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร

ทำการแปรผันปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดย *S. cerevisiae* จากสารละลายที่เตรียมได้โดยการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษี ด้วยกระบวนการหมักแบบกะ เปรียบเทียบกันระหว่างปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 และร้อยละ 10 โดยเริ่มจากทำการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อให้ได้จำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อดังกล่าวลงในอาหารสำหรับผลิตเอทานอล คือ สารละลายที่เตรียมได้จากการย่อยตัวอย่างรากต้นธูปฤาษี ที่มีความหวานเริ่มต้นหรือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 7 องศาบริกซ์ ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.65 $\pm$ 0.07 และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 47.48 $\pm$ 0.25 กรัมต่อลิตร และเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (% w/v) ปริมาตรรวมของน้ำหมัก เท่ากับ 200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีแอร์ล็อกด้านบน จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่สภาวะการหมักแบบนิ่งและที่สภาวะเขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

1) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS
2) จำนวนเซลล์จุลินทรีย์โดยใช้Haemocytometer
3) ความเป็นกรด ด่าง โดย pH meter
4) ปริมาณแอลกอฮอล์โดย Ebulliometer
5) ความเข้มข้นน้ำตาลโดย Hand refracto meter
6) คำนวณผลได้และอัตราผลผลิตเอทานอลดังนี้

$$\text{ผลได้ (Yield)} = \frac{\text{ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)}}{\text{ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)}}$$

อัตราผลผลิต (Productivity)

$$= \frac{\text{ปริมาณเอทานอลที่ได้ (กรัมต่อลิตร)}}{\text{เวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)}}$$

3. ผลและการอภิปรายผล

3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่าง รากต้นธูปฤาษี

พบว่ารากต้นธูปฤาษีมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 67.52 โดยน้ำหนัก