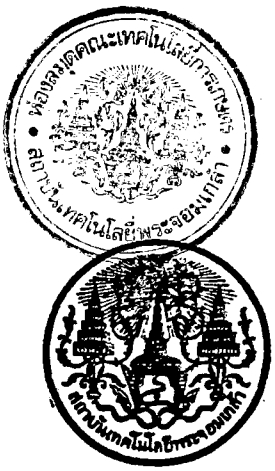
589



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง การหมักแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่า

(ALCOHOL FERMENTATION FROM SLOP WASTE)

โดย นางสาวกุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

..... 31/มี.ค./32 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(นางอนงค์ วรอุไร) .../.../...

..... 31/มี.ค./32 กรรมการชั่งภาควิชา

(นางระพีพร หาเรือนกิจ)

..... 31/มี.ค./32 กรรมการของภาควิชา

(นางสาวรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

(นางสาวเยาวลักษณ์ สุรพันธพิทิษฐ์)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 31 เดือน มี.ค. พ.ศ. 32

13676
27 พ.ย. 254

ปพ.
กท๒๕ก
2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13676

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ (45499)

เรื่อง

การหมักแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่า

(ALCOHOL FERMENTATION FROM SLOP WASTE)

T096507

โดย

นางสาวกุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์

ปพ.
ก728ก
2531

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96507
วัน,เดือน,ปี.....

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและจัดหาวัตถุดิบในการทดลองให้ และขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อนงค์ วรอุไร ที่ให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในปัญหาพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณคุณพงษ์ศิลป์ รุ่งเรือง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาห-กรรมเกษตร ตลอดจนพี่ น้อง และเพื่อน ๆ ทุกคน โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณวิโรจน์ ฤดีศานต์ และเพื่อน ๆ ในกลุ่มทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จด้วยดี

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณยายที่แม้จะไม่ได้อยู่ดูความสำเร็จในวันนี้ คุณพ่อ คุณแม่ และท่านที่มีพระคุณทุก ๆ ท่านที่กรุณาให้คำแนะนำสั่งสอนและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

กุลยา ลิ้มรุ่งเรืองรัตน์

มีนาคม 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(1)
สารบาญภาพ	(2)
บทคัดย่อ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ผลการทดลองและวิจารณ์	21
สรุปผลการทดลอง	38
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติของน้ำกากส่าและกากน้ำตาล	21
2	การเตรียมกล้าเชื้อโดยใช้น้ำกากส่าและกากน้ำตาล	22
3	ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ	23
4	Log number of yeast cells ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆกัน	23
5	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ	24
6	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ	24
7	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ	25
8	ปริมาณกรดในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ	25
9	ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณต่างๆ	30
10	Log number of yeast cells ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณต่างๆ	31
11	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณต่างๆ	31
12	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่างๆ	32
13	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่างๆ	32
14	ปริมาณกรดในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่างๆ	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนผังแสดงกรรมวิธีการผลิตแอลกอฮอล์และสุราและการกำจัดน้ำกากส่าของโรงงานสุรากรมสรรพสามิต	3
2	แนวทางในการผลิตแอลกอฮอล์โดยผ่าน Embden-Meyerhof pathway	8
3	การเจริญของเชื้อยีสต์ในช่วงเวลาต่าง ๆ	13
4	ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ	26
5	ปริมาณน้ำตาลในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ	27
6	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ	28
7	ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ	34
8	ปริมาณน้ำตาลในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ	35
9	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การหมักแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่า

(ALCOHOL FERMENTATION FROM SLOP WASTE)

ศึกษาคุณสมบัติของน้ำกากส่าที่เหลือจากการกลั่นแอลกอฮอล์จากโรงงานสุรา เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำมาใช้เตรียมกล้าเชื้อ และหมักแอลกอฮอล์ด้วยเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae Sc.90 โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5

จากการศึกษาพบว่า น้ำกากส่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 3.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 12 °Brix ความเป็นกรดด่าง 4.6 และไม่เหมาะสมในการนำมาเตรียมกล้าเชื้อ ในการหมักเมื่อใช้น้ำกากส่าผสมกับกากน้ำตาล 22 °Brix ในอัตราส่วนต่างๆ กันคือ ร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ น้ำกากส่าผสมกับกากน้ำตาลร้อยละ 10 โดยมีน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 14.89 หมักแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 5.57 และจากการศึกษาหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม โดยใช้น้ำกากส่าร้อยละ 10 เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณร้อยละ 0.05 0.10 0.15 0.20 และ 0.25 พบว่า ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมคือร้อยละ 0.10 จะให้ผลผลิตแอลกอฮอล์สูงสุดร้อยละ 6.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่า
(ALCOHOL FERMENTATION FROM SLOP WASTE)

คำนำ

ในขบวนการหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้กากน้ำตาล (Molasses) เป็นวัตถุดิบนั้น ของผสมที่เกิดจากการหมักกากน้ำตาลด้วยยีสต์ ซึ่งประกอบด้วยกากน้ำตาลที่เหลือ แอลกอฮอล์ และเซลของยีสต์ เรียกว่า น้ำส่า เมื่อทำการกลั่นน้ำส่าแยกแอลกอฮอล์ออกแล้ว จะได้ของเหลวที่เรียกว่า น้ำกากส่า (Slop waste) ซึ่งมีค่า BOD สูง จัดเป็นน้ำเสีย และเป็นปัญหาในการกำจัดมาก ถ้าปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ จะมีผลทำให้แม่น้ำ ลำคลอง เกิดการเน่าเสีย และเกิดกลิ่นที่น่ารังเกียจ นอกจากนี้อาจกำจัดโดยใช้ระบบบ่อกำจัดแบบ Anaerobic logoon แต่จะเสียค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงน่าจะนำน้ำกากส่ามาใช้ประโยชน์ โดยนำน้ำกากส่าซึ่งยังมีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่บ้าง และยังมีแร่ธาตุและสารอาหารที่จำเป็นต่อยีสต์กลับมาหมักร่วมกับกากน้ำตาล เพื่อเป็นการลดปริมาณของเสียที่ต้องการกำจัด จึงได้ทำการศึกษาการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำกากส่า
2. เพื่อศึกษาการนำน้ำกากส่ามาเตรียมใช้กล้าเชื้อ
3. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

น้ำกากส่าหรือน้ำส่าทิ้ง (Slop waste) เป็นของเหลวเหลือทิ้งจากโรงงานสุรา ซึ่งได้จากการกลั่นแอลกอฮอล์ Underkofler และ Hickley (1954) รายงานว่า น้ำกากส่าโดยทั่วๆไปมีความเป็นกรด อุณหภูมิสูง มีสีเข้ม ของแข็งละลายอยู่ประมาณร้อยละ 7-10 และมีสารอินทรีย์อยู่สูง ดังแสดงได้ในรูปของ BOD ที่สูงถึง 18,000-20,000 ppm. ในขบวนการหมักแอลกอฮอล์ จะมีการใช้กากน้ำตาลหรือที่เรียกว่า น้ำเหลือง (Molasses) ซึ่งเป็นผลผลิตจากโรงงานน้ำตาล เป็นวัตถุดิบ ผ่านขั้นตอนขบวนการหมัก และเมื่อผ่านขั้นตอนการกลั่นเอาแอลกอฮอล์ออกแล้ว จะมีผลพลอยได้ที่ไม่พึงปรารถนาเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก คือ น้ำกากส่า ดังแสดงในภาพที่ 1 จากการวิเคราะห์ทางชีวเคมี พบว่ามีค่า BOD (Biochemical oxygen demand) สูงถึง 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงจัดได้ว่าเป็นน้ำเสีย ซึ่งถ้ากำจัดโดยทิ้งลงในแม่น้ำลำคลองจะก่อให้เกิดมลภาวะทางน้ำ ทำให้แม่น้ำลำคลองเน่าเสีย มีกลิ่นเหม็น ทำลายชีวิตสัตว์น้ำ และไม่สามารถนำน้ำนั้นๆมาใช้ประโยชน์ได้ เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของน้ำกากส่า ซึ่งได้มาจากกากน้ำตาลซึ่งเป็นสารอินทรีย์ล้วนๆ และเป็นสารพลังงาน จะพบว่ามีทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลือแร่ น่าที่จะนำมาใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้ (สันทนา 2530)

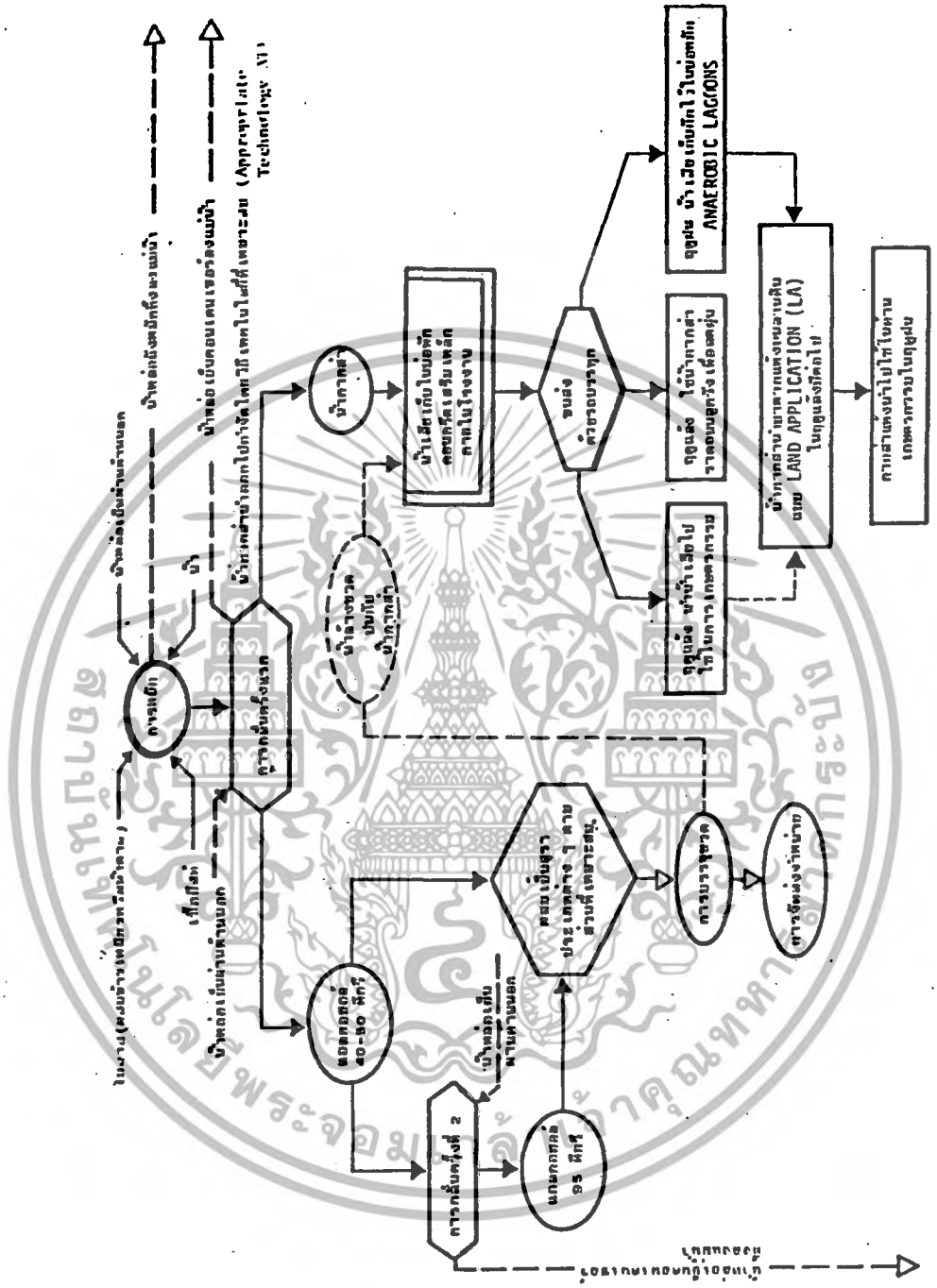
ลักษณะของน้ำกากส่าที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์ด้วยวัตถุดิบต่างกัน จะมีคุณสมบัติต่างกันดังนี้

	Molasses	Grain	Cassava
pH	3.5-5.0	4.0-5.0	4.5
Total solids (%)	8-10	4.7	2.3
Ash (%)	2.7-3.0	0.4	0.2
Crude protein , N x 6.25 (%)	0.75	-	0.25
Potash (%)	1.2-1.5	-	0.1
BOD_5 [1] (ppm.)	7,000-60,000 (Usually 20,000-40,000)	22,000-34,000	19,000

ที่มา : M.R. Adams and G. Flynn 1982

1 : BOD_5 - Biological oxygen demand carried out over 5 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แผนผังแสดงกรรมวิธีการผลิตแอลกอฮอล์และสุรา และการกำจัดน้ำกากส่าของโรงงานกรมสรรพสามิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คุณสมบัติทางเคมีของน้ำกากส่า</u>

โดยทั่วไปน้ำกากส่ามีเกลืออนินทรีย์อยู่สูง โดยเฉพาะเกลือโปแตสเซียมจะมีประมาณ 4,000-6,000 ppm. (พินิจ 2527) สำหรับชนิดและปริมาณน้ำตาลในน้ำกากส่านั้นตามปกติในกากน้ำตาลจะมีซูโครสอยู่เป็นส่วนใหญ่ (Paturau 1969) แต่ Underkolfer และ Kickley (1954)รายงานว่า เมื่อวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลในน้ำกากส่าที่เกิดจากการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ ด้วยวิธี Paper chromatography ไม่พบซูโครส พบแต่กลูโคส และฟรุคโตส ซึ่งอาจเป็นเพราะซูโครสเกิดการแตกตัวเมื่อได้รับความร้อนจากการกลั่นแยกแอลกอฮอล์ในสภาพที่เป็นกรด (Paturau 1969) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นตรวจไม่พบ ซึ่งอาจเนื่องมาจากมีน้ำตาลชนิดอื่นๆในปริมาณน้อย จนไม่สามารถตรวจพบได้โดยวิธี Paper chromatography (สกุณี 2525)

จากผลการวิเคราะห์น้ำกากส่าที่ยังมิได้ผ่านการทำแห้งของโรงงานสุราไทยทำนนทบุรี มีองค์ประกอบดังนี้

อุณหภูมิ	95	องศาเซลเซียส (°C)
pH	4.8	
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	85	มก./ลิตร
โปแตสทั้งหมด	5,711	มก./ลิตร
โซเดียม	2,020	มก./ลิตร
แคลเซียม	1,335	มก./ลิตร
แมกนีเซียม	494	มก./ลิตร
ซัลเฟต	3,485	มก./ลิตร

และเมื่อนำมาทำการเคี่ยวให้เข้มข้นเหลือร้อยละ 35 จากเดิม สามารถวิเคราะห์พบวิตามินบีและโปรตีนอีกจำนวนมาก วิตามินบีที่วิเคราะห์พบคือ บี 1 บี 6 และ บี 12

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบย่อยของโปรตีนของน้ำส่าเข้มข้น จะมีกรดอะมิโนซึ่งเป็นประโยชน์ต่อพืชและสัตว์ครบทุกชนิด โดยเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวมจะมีประมาณร้อยละ 6-8 หรือคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนประมาณร้อยละ 1 (โปรตีน = N x 6.25)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้มีองค์ประกอบดังนี้

1. Aspartic acid
2. Threonine
3. Serine
4. Glutamic acid
5. Proline
6. Alanine
7. Valine
8. Cystine
9. Methionine
10. Isoleucine
11. Leucine
12. Tyrosine
13. Phenylalamine
14. Lysine
15. Histidine
16. Arginine
17. Tryptophan

นอกจากองค์ประกอบเหล่านี้แล้ว น้ำกากส่ายังมีองค์ประกอบอื่นๆเช่น ฮอร์โมนธรรมชาติ และวิตามิค แอซิด อีกพอสมควร (เปรมปรี 2529)

<u>การใช้ประโยชน์น้ำกากส่าจากวัตถุดิบกากน้ำตาล</u>

ในขบวนการกลั่นแอลกอฮอล์จากการหมักกากน้ำตาล ผลผลิตของแอลกอฮอล์ทุกๆ 1 ลูกบาศก์เมตร จะมีน้ำกากส่า (ของเสีย) ประมาณ 9.5 ลูกบาศก์เมตร จากผลการทดลองนำไปเคี่ยวให้เข้มข้นในหอระเหยหลายชั้น (Multiple effect evaporators) น้ำส่าที่ได้เมื่อนำไปอบจะได้ผลผลิตส่าแห้ง (Dried soluble) ซึ่งในแง่อาหารสัตว์จะมีปริมาณเกลือแร่สูงประมาณร้อยละ 30 ส่าแห้งจะมีองค์ประกอบที่สำคัญดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	Dried molasses solubles (% Dried matter)
Protein	9.0-16.6
Ash	22-29
Fibre	0.6
Nitrogen - free extract	60.8
Ether extract	0.2

ที่มา : M.R. Adams and G. Flynn 1982

สำหรับแนวทางในการใช้ประโยชน์ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ดังนี้คือ

1. นำมาใช้เป็นปุ๋ยเสริมในนาข้าว สามารถเพิ่มผลผลิตได้อย่างชัดเจน
2. สามารถแก้ปัญหาการขาดแคลนน้ำชลประทานสำหรับพืชบางชนิดได้
3. นำมาผลิตเป็นปุ๋ยหมัก
4. ใช้เลี้ยงปลา
5. ใช้เป็นอาหารสัตว์
   5.1 นำไปผสมกับกากมันสำปะหลัง เป็นอาหารสุกร
   5.2 ทำน้ำส่าข้น ใช้ในฟาร์มหมู
   5.3 นำไปผสมในน้ำโดยตรงใช้เลี้ยงไก่
   5.4 ผสมในอาหารสัตว์โดยตรง

นอกจากนี้ส่าแห้งยังสามารถนำไปใช้เป็นอาหารสุกรได้ เนื่องจากมีวิตามินบีและแร่ธาตุต่างๆอีกด้วย

6. สามารถนำมาหมักเพื่อผลิตแกสมีเทนได้ นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำกากส่าที่ผ่านการหมักมีเทนมีคุณสมบัติของการเป็นปุ๋ยสำหรับพืชได้ดีกว่าน้ำกากส่าที่ยังไม่ได้ผ่านการหมักมีเทน (ประเวทย์ 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขบวนการหมักแอลกอฮอล์

เป็นขบวนการที่เกิดขึ้นในสภาพที่ไม่มีอากาศ การหมักแอลกอฮอล์ที่รู้จักกันดี โดยทั่วไปเป็นการหมักโดยเชื้อยีสต์ในสกุล Saccharomyces sp. ตามทฤษฎี ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 51.1 และแกสคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.9 โดยน้ำหนักของน้ำตาล ดังสมการ

$$(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \xrightarrow[\text{or acid}]{\text{enzyme}} nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{bacteria}]{\text{yeast or}} 2nC_2H_5OH + 2nCO_2$$

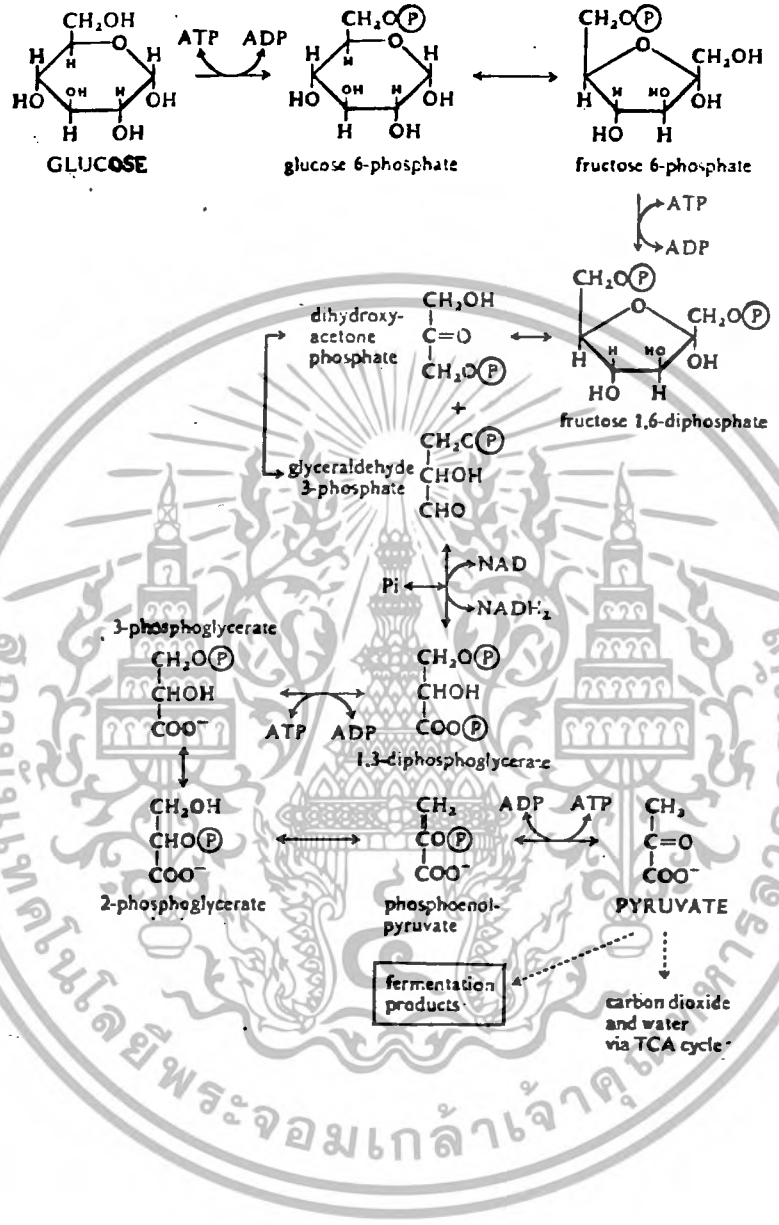
starch/cellulose/hexan	hexose	ethanol	gas
162 grams	180 grams	92 grams	88 grams
	(100)	(51.1)	(48.9)

แต่ในทางปฏิบัติ น้ำตาลประมาณร้อยละ 95 เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ นอกนั้นยีสต์ใช้สำหรับการเจริญ และเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่นๆ ในอุตสาหกรรมการหมักยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และอื่นๆ คิดเป็นร้อยละ ดังนี้ (ปราโมทย์ และ จรูญ 2526)

1. Ethanol	48.4
2. Carbon dioxide	46.5
3. Acetaldehyde	0-0.03
4. Acetic acid	0.05-0.25
5. Glycerol	2.5-3.6
6. Lactic acid	0-0.2
7. Succinic acid	0.5-2.77
8. Fusel oil	0.25-0.5
9. Furfural	Trace

สำหรับแนวทางในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์อาศัย Embden - Meyerhof pathway ดังภาพที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แนวทางในการผลิตแอลกอฮอล์โดยผ่าน Embden-Meyerhof pathway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำตาลโดยยีสต์ผ่าน Embden-Meyer P'way

Step	Reaction	Enzyme	Type*	G°
1.	Glucose+ATP $\longrightarrow$ Glucose-6-phosphate +ADP+H^+	Hexokinase	a	-4.0
2.	Glucose-6-phosphate $\rightleftharpoons$ Fructose-6-phosphate	Phosphoglucose isomerase	c	+0.4
3.	Fructose-6-phosphate+ATP $\longrightarrow$ Fructose-1,6-diphosphate+ADP+H^+	Phosphofructokinase	a	-3.4
4.	Fructose-1,6-diphosphate $\rightleftharpoons$ Dihydroxyacetone phosphate+ Glyceraldehyde-3-phosphate	Aldolase	e	+5.7
5.	Dihydroxyacetone phosphate $\rightleftharpoons$ Glyceraldehyde-3-phosphate	Triose phosphate isomerase	c	+1.8
6.	Glyceraldehyde-3-phosphate+Pi+NAD $\rightleftharpoons$ 1,3-Diphosphoglycerate+NADH+H^+	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	f	+1.5
7.	1,3-Diphosphoglycerate+ADP $\rightleftharpoons$ 3-Phosphoglycerate+ATP	Phosphoglycerate kinase	a	-4.5
8.	3-Phosphoglycerate $\rightleftharpoons$ 2-Phosphoglycerate	Phosphoglycero mutase	b	+1.1
9.	2-Phosphoglycerate $\rightleftharpoons$ Phosphoenolpyruvate+H_2O	Enolase	d	+0.4
10.	Phosphoenolpyruvate $\longrightarrow$ Pyruvate+ATP	Pyruvate kinase	a	-7.5
11.	Pyruvate+H^+ $\longrightarrow$ Acetaldehyde+CO_2	Pyruvate decarboxylase		
12.	Acetaldehyde+NADH+H^+ $\longrightarrow$ Ethanol+NAD^+	Alcohol dehydrogenase		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reaction type : (a) Phosphoryl transferase

(b) Phosphoryl shift

(c) Isomerization

(d) Dehydration

(e) Aldol cleavage

(f) Phosphorylation couple oxidation

ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ปัญหาใหญ่ที่เป็นสาเหตุทำให้การหมักไม่ได้ผลเท่าที่ควรก็เนื่องมาจากการปนเปื้อนของแบคทีเรีย โดยมากแล้วกากน้ำตาลและน้ำที่ใช้จะเป็นแหล่งใหญ่และก่อให้เกิดปัญหาต่อการหมักมากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เตรียมกล้าเชื้อไม่ดีพอ ทำให้จำนวนยีสต์ที่มีชีวิตน้อยและเชื้อยีสต์อ่อนแอ ยีสต์ไม่มีความสามารถที่จะแข่งขันกับแบคทีเรียที่มีอยู่เดิมได้ แบคทีเรียก็จะเจริญเติบโตขึ้นมาก่อนและสร้างสารประกอบบางอย่าง เช่น กรดอินทรีย์ ขึ้นมายับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ได้ แต่ในทางตรงกันข้ามหากสามารถเร่งให้ยีสต์เจริญเติบโตได้ก่อนและเร็วกว่าแบคทีเรีย แอลกอฮอล์ที่ยีสต์สร้างขึ้นมาก็มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเช่นกัน (วิเชียร และคณะ, 2526)

<u>การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์</u>

การควบคุมขบวนการหมักให้ถูกต้องเหมาะสม จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการหมัก ทั้งยังตัดปัญหาการหมักตกต่ำอีกด้วย ในการหมักควรมีการควบคุมขั้นตอนการผลิตดังนี้ (ปราโมทย์ และ จรูญ 2526)

1. <u>ขั้นตอนเกี่ยวกับเชื้อและการเตรียมกล้าเชื้อ</u>

ขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการหมักแอลกอฮอล์ คือ การเตรียมกล้าเชื้อ จุดประสงค์สำหรับการเตรียมกล้าเชื้อ ก็เพื่อขยายหรือเพิ่มจำนวนยีสต์ให้มากเพียงพอสำหรับหมักในถังใหญ่ เพราะถ้าเริ่มจากเชื้อจำนวนน้อยก็จะใช้เวลานานมาก เชื้อไม่ค่อยแข็งแรงและเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อแปลกปลอม (ปราโมทย์ 2525)

<u>หลักการและข้อควรปฏิบัติสำหรับการเตรียมกล้าเชื้อ</u>

1.1 เลือกใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ดี มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เพราะยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์โดยตรง ได้ผลผลิตมากน้อยต่างกันตามความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสายพันธุ์ นอกจากเอธิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นสารหลักที่เชื้อสร้างขึ้นแล้ว ยีสต์ยังสร้างสารอื่นๆ ขึ้นมาประกอบในระหว่างขบวนการหมักอีกด้วย สารต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ แอลกอฮอล์หนัก อัลดีไฮด์ เอสเทอร์ และกรดชนิดต่างๆ เป็นต้น ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้จะไปมีผลต่อกลิ่นรส ตลอดจนคุณภาพของแอลกอฮอล์ที่หมักได้

ยีสต์สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับหมักแอลกอฮอล์ ควรมีคุณสมบัติดังนี้

- ทนแอลกอฮอล์สูง และสามารถหมักได้รวดเร็ว
- สามารถเจริญ และหมักได้ดีที่อุณหภูมิสูง
- ทนต่อสารต่างๆที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหมักจากกากน้ำตาล
- ทนต่อความเป็นกรดได้ดี
- สร้างสารอื่นๆได้เหมาะสมซึ่งจะให้กลิ่นรสดี
- มีความคงทนต่อสายพันธุ์ ไม่กลายพันธุ์ได้ง่าย

1.2 เลือกใช้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์ปราศจากเชื้อแปลกปลอม ในการเก็บรักษาเชื้อยีสต์ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ ต้องมีการต่อเชื้อสม่ำเสมอเป็นประจำ มีโอกาสที่เชื้อแปลกปลอมจะลงไปปะปนได้ จึงควรเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ถูกต้อง และถ่ายเชื้อด้วยความระมัดระวังภายใต้เปลวไฟทุกครั้ง ก่อนนำมาใช้จึงควรแน่ใจว่าไม่มีเชื้อแปลกปลอมปะปนมา ถ้ามีเชื้อปะปนมา การหมักแอลกอฮอล์จะตกลงมาก เพราะเชื้อเหล่านี้จะไปแย่งอาหาร และกีดกันการทำงานของยีสต์

1.3 เลือกใช้อาหารที่อุดมสมบูรณ์สำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ

อาหารที่ยีสต์ต้องการ นอกจากน้ำตาลซึ่งเป็นอาหารหลักแล้ว ยีสต์ยังต้องการอาหารเสริมอื่นๆ ได้แก่

- แหล่งไนโตรเจน มีความจำเป็นต่อการเจริญและขบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ สามารถเติมลงไปในรูปของเกลือหรือปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต
- แหล่งฟอสฟอรัส อาจเติมในรูปของแคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต แอมโมเนียมฟอสเฟต หรือกรดฟอสฟอริก
- แหล่งแมกนีเซียม มีความจำเป็นต่อขบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ในยีสต์
- แหล่งไวตามิน ได้แก่ ไบโอติน แพนโททินิค และอินโนซิทอล สำหรับกากน้ำตาลโดยทั่วไปมีไวตามินเหล่านี้อยู่เพียงพอ
- ธาตุอาหารอื่นๆ ได้แก่ โปตัสเซียม แคลเซียม เหล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังกะสี และทองแดง ซึ่งธาตุเหล่านี้มีอยู่เพียงพอในกากน้ำตาล

1.4 เตรียมกล้าเชื้อโดยกรรมวิธีที่ปราศจากเชื้อ

ในการเตรียมกล้าเชื้อทุกขั้นตอน ต้องป้องกันไม่ให้มีเชื้อจรปะปนลงไป อาหารที่จะนำมาเลี้ยงกล้าเชื้อต้องผ่านการฆ่าเชื้อมาก่อนที่จะเติมยีสต์ลงไป นิยมฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที หรือต้มเดือดสักครู่

1.5 ใช้กล้าเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมไม่น้อยเกินไป

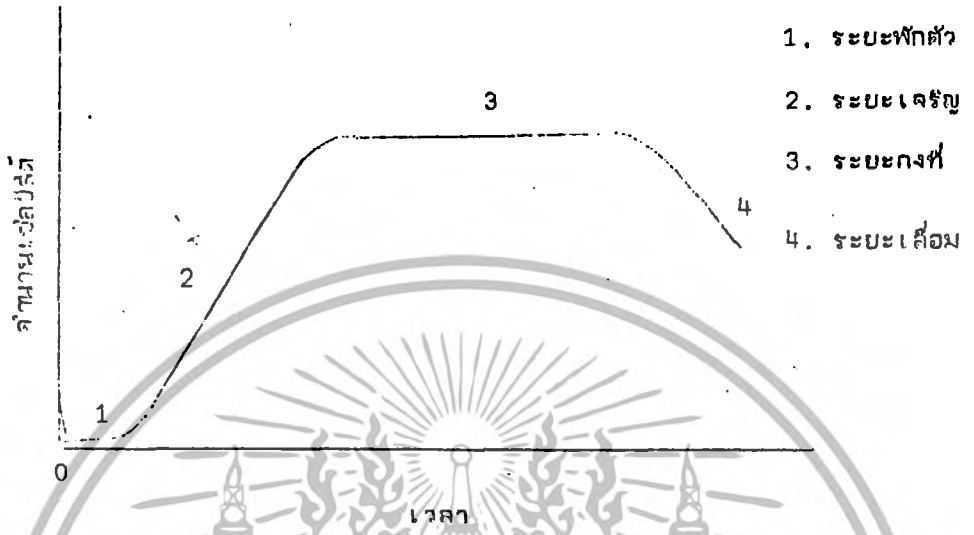
ยีสต์มีการเจริญเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ คือจาก 1 2 4 8 16 และเพิ่มจำนวนอยู่สูงรวดเร็วเมื่อเซลมีจำนวนมากขึ้น ถ้าหมักส่าจำนวนมากโดยใช้กล้าเชื้อน้อย จะใช้เวลานานมาก และเสี่ยงต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแปลกปลอมสูง ดังนั้นจึงควรใช้กล้าเชื้ออย่างน้อยร้อยละ 3 หรือควรมีจำนวนเซลเริ่มต้นไม่ต่ำกว่า 1×10^{7} เซลต่อมิลลิลิตร การใช้กล้าเชื้อปริมาณค่อนข้างสูง คือประมาณร้อยละ 5 ขึ้นไปจะช่วยป้องกันเชื้อแปลกปลอมได้เป็นอย่างดี

1.6 ผ่าส่าในช่วงที่กล้าเชื้อครบอายุและสมบูรณ์เต็มที่

ในการเจริญของยีสต์ เมื่อใส่เชื้อลงในอาหารใหม่ระยะแรกเชื้อจะพักตัวเพื่อปรับตัวให้เข้ากับอาหารใหม่ และสร้างความสมบูรณ์ของเซล ต่อไปเป็นระยะเจริญซึ่งยีสต์จะแตกหน่อเพิ่มจำนวนเซลอย่างรวดเร็วแบบทวีคูณจนมีจำนวนเซลสูงสุด ประมาณหกสิบล้านเซลถึงหนึ่งร้อยเก้าสิบล้านเซลต่อมิลลิลิตรแล้วแต่ความสมบูรณ์ของอาหาร เมื่อเข้าสู่ระยะคงที่จะมีจำนวนเซลคงที่ไม่เพิ่มขึ้น แต่ยีสต์จะทำการหมักอย่างเต็มที่ในระยะนี้ จากนั้นเมื่ออาหารหมดและแอลกอฮอล์สูงขึ้นมากก็เข้าระยะเสื่อม มีการตายมากขึ้น จำนวนเซลยีสต์ที่ยังมีชีวิตก็ลดน้อยลงตามลำดับ ดังภาพที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปแสดงการเจริญของเชื้อยีสต์ ช่วงที่เหมาะจะใช้ผ่าล่าคือช่วง 2



ภาพที่ 3 การเจริญของยีสต์ในช่วงเวลาต่างๆ

ช่วงเวลาที่เหมาะสมที่จะใช้ผ่าล่าคือเมื่อกล้าเชื้อเข้าสู่ต้นถึงช่วงกลางของระยะคงที่ ซึ่งยีสต์กำลังแข็งแรงหรือสมบูรณ์เต็มที่ หรือเมื่อยีสต์ใช้น้ำตาลไปประมาณครึ่งหนึ่งของน้ำตาลเริ่มต้น กล้าเชื้อจะอยู่ในระยะที่สมบูรณ์เต็มที่

1.7 ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์

1.7.1 ความเข้มข้นของน้ำตาล ควรอยู่ประมาณร้อยละ 12-15 ซึ่งเป็นค่าที่ไม่สูงหรือต่ำเกินไป เพราะถ้าน้ำตาลสูงเกินไปยีสต์จะเจริญเติบโตช้า และถ้าความเข้มข้นต่ำไปเชื้อแปลกปลอมมีโอกาสเจริญได้ง่ายกว่า

1.7.2 pH ปรับ pH ให้เหมาะสม ยีสต์สามารถเจริญได้ดีใน pH ตั้งแต่ 3.5-7.0 แต่ที่ pH สูง แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีและเร็วกว่ายีสต์ ดังนั้นในบางครั้งอาจจะต้องปรับ pH ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ปะปนอยู่ด้วย ค่า pH ที่เหมาะสมจะอยู่ประมาณ 4.0-5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7.3 อุณหภูมิ มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อความแข็งแรงสมบูรณ์ของยีสต์ อุณหภูมิสูงนอกจากจะทำให้ยีสต์อ่อนแอลงแล้ว ยังมีผลให้ยีสต์หมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำลงอีกด้วย ยิ่งอุณหภูมิสูงขึ้นเท่าไร เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่ยีสต์จะหมักได้ก็ยิ่งต่ำลง และถ้าสูงมากยีสต์ก็จะหยุดหมัก ดังนั้นในถังเพาะกล้าเชื้อใหญ่ ถ้าอุณหภูมิขึ้นสูงไปถึง 40 °ซ ก็ควรจะใช้น้ำรดเลี้ยงไว้ให้อยู่ประมาณ 37 °ซ เพื่อยีสต์จะเพิ่มจำนวนได้เต็มที่และแข็งแรงสมบูรณ์

1.7.4 การกวนและการให้อากาศ การกวนและการให้อากาศจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่ยีสต์ การกวนจะช่วยให้ยีสต์มีการกระจายทั่วถังหมัก ได้รับอาหารเต็มที่ และมีโอกาสสัมผัสกับอากาศ การให้อากาศสำหรับกล้าเชื้อจะช่วยให้ยีสต์แข็งแรงสมบูรณ์เต็มที่ เพราะเซลยีสต์ที่ได้รับอากาศจะมีความแข็งแรงกว่าเซลที่ไม่ได้รับอากาศ ถ้าจะมีการให้อากาศ ข้อควรระวังคือ อากาศที่ให้ต้องผ่านเครื่องกรองจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์ก่อนผ่านเข้าถัง และภายในถังไม่มีเชื้อแบคทีเรียปะปนอยู่ เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้เร็วกว่ายีสต์เมื่อมีการให้อากาศ

2. <u>การควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ</u>

วัตถุดิบ เช่นกากน้ำตาล ก่อนรับเข้าโรงงาน ควรมีการตรวจคุณภาพและเลือกใช้เฉพาะกากน้ำตาลคุณภาพดีที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงเท่านั้น กากน้ำตาลที่ดีควรมีเปอร์เซ็นต์น้ำตาล 58 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป แต่โดยทั่วไปกากน้ำตาลส่วนมากจะมีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลต่ำกว่านี้ เนื่องจากเปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูญเสียไปในระหว่างการเก็บรักษาหรือสาเหตุอื่นๆ กระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดมาตรฐานกากน้ำตาล (มอก. 394-2524) ว่า กากน้ำตาลที่ได้มาตรฐานจะต้องมีน้ำตาลทั้งหมดไม่น้อยกว่า 50 % °Brix ไม่น้อยกว่า 79 เถ้าซัลเฟตไม่เกิน 11 % และความเป็นกรดด่างระหว่าง 5-6 กากน้ำตาลที่มีน้ำเจือปนหรือเปอร์เซ็นต์น้ำตาลต่ำกว่ามาตรฐาน เมื่อนำมาเก็บไว้จะเกิดแบคทีเรียเจริญสะสมอยู่ สร้างกรดทำให้สูญเสียน้ำตาลและเกิดปัญหาการหมักล่าอย่างมาก

3. <u>การควบคุมปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการหมัก</u>

3.1 ความเข้มข้นของน้ำตาล การผ่าล่า °Brix ต่ำและ °Brix สูงมีผลแตกต่างกัน คือ ผ่าล่า °Brix ต่ำมีน้ำตาลเริ่มต้นน้อยกว่าซึ่งจะได้แอลกอฮอล์ต่ำกว่า แต่มีความแน่นอนในการในการหมักมากกว่า คือยีสต์หมักน้ำตาลได้หมดโดยง่าย ข้อเสียก็คือ ผลผลิตต่อถังต่ำ เป็นการสิ้นเปลืองไอน้ำ แรงงาน และปริมาณน้ำล่าทิ้งมีมาก ทำให้ต้นทุนสูง การผ่าล่า °Brix สูงจะได้แอลกอฮอล์สูงกว่า ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่า แต่ต้องการการดูแล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างใกล้ชิด เพราะอาจหยุดหมักก่อนกำหนดได้ ถ้าการหมักมีปัญหา โดยปกติผลของความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีต่อการหมักคือ ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำ ยีสต์จะเจริญและหมักแอลกอฮอล์ได้เร็วกว่าน้ำตาลสูง กากน้ำตาลทั่วไปที่ 18 °Brix (บริกส์) จะมีน้ำตาลประมาณร้อยละ 18-20 โดยจะเป็นน้ำตาลที่ไม่สามารถหมักได้ประมาณร้อยละ 2

3.2 การควบคุมอุณหภูมิภายในถังหมัก อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อการเจริญและการหมักของยีสต์ ที่อุณหภูมิสูงยีสต์จะเจริญเติบโตช้าและหมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นในการหมักควรรดน้ำควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 37 °ซ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 40 และ 43 °ซ แอลกอฮอล์สูงสุดที่หมักได้จะลดลงอย่างมาก

3.3 ผลของแอลกอฮอล์ต่อการหมัก แอลกอฮอล์มีผลต่อการเจริญของยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงเกินร้อยละ 7 ขึ้นไป ยีสต์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่จะยังสามารถหมักต่อไปได้จนถึงร้อยละ 14 หรือมากกว่าเล็กน้อย ขึ้นกับวิธีการหมักและสภาพแวดล้อม

3.4 การเติมสารอาหารที่จำเป็นต่อการหมัก การหมักกากน้ำตาลส่วนใหญ่ต้องการสารประกอบไนโตรเจนซึ่งอาจเติมในรูปของปุ๋ยแอมโมเนียมหรือยูเรีย ปริมาณปุ๋ยแอมโมเนียมที่ใช้ประมาณร้อยละ 0.05 ส่วนการเติมฟอสเฟต (KH_2PO_4) หรือแมกนีเซียมซัลเฟตร้อยละ 0.05 บางครั้งก็ช่วยให้การหมักดีขึ้น

3.5 การปรับ pH ให้เหมาะสมต่อการหมัก สำหรับน้ำตาลเก่าเก็บที่มีแบคทีเรียปะปนอยู่มาก เปอร์เซ็นต์น้ำตาลต่ำ และความเป็นกรด (Acidity) สูง ซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาการหมักได้มากขึ้น การใช้กรดกำมะถันปรับ pH ลงมาประมาณ 4.2-4.5 จะช่วยลดปัญหาแบคทีเรียลงไปได้มาก

3.6 การกำหนดระยะเวลากลั่นที่เหมาะสม ควรทำการกลั่นทันทีที่ยีสต์หมักน้ำตาลและได้แอลกอฮอล์สูงสุดแล้ว ไม่ควรทิ้งไว้ เพราะแบคทีเรียจะเจริญขึ้น และสร้างกรดทำให้ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด กลิ่นรสที่ไม่ดีจะเพิ่มขึ้น เพราะยีสต์และแบคทีเรียจะหันมาใช้แอลกอฮอล์แทนน้ำตาล ทำให้ผลผลิตลดลง

3.7 ระยะเวลาเติมส่าข้าว ควรเติมส่าข้าวลงในส่าแดง (กากน้ำตาล) เมื่อนับจำนวนเซลยีสต์ได้สูงสุด ประมาณ 10^8 เซลต่อมิลลิลิตรขึ้นไป ซึ่งจะอยู่ในช่วง 12-14 ชั่วโมงหลังผ่าส่า ทำให้แบคทีเรียในส่าข้าวไม่มีโอกาสเจริญสร้างปัญหาในถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 การป้องกันการกำจัดฟอง ถังหมักที่หมักได้ดีจะมีฟองแกสเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก อาจมีปัญหาล่าล้นเกิดขึ้นได้ การป้องกันกำจัดควรใช้น้ำยากำจัดฟอง ได้แก่ Terric 127 , Silicone Toshiba TSA 737 Food Grade หรือใช้น้ำมันมะพร้าว

4. การติดตามการหมักและวิเคราะห์ข้อมูลของการหมัก

ในระยะเริ่มแรกควรมีการติดตามและวิเคราะห์ผลของการหมักโดยละเอียด มีการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ประจำ เพื่อตรวจสอบและป้องกันปัญหาการหมักที่อาจเกิดขึ้น ตัวอย่างที่ควรเก็บมาวิเคราะห์ได้แก่ ตัวอย่างกากน้ำตาลที่เข้าโรงงานและที่จะทำการหมัก หาเปอร์เซ็นต์น้ำตาล pH และความเป็นกรด (Acidity) ตัวอย่างกล้าเชื้อก่อนผ่าส่านับจำนวนเซลล์ความสมบูรณ์ของกล้าเชื้อก่อนผ่าส่าเพื่อป้องกันเชื้อจร ตัวอย่างในถังหมักส่าในระยะต่างๆ การวิเคราะห์อาจเลือกวิเคราะห์เฉพาะส่วนที่สำคัญจากปัจจัยต่างๆเหล่านี้ เช่น ปริมาณน้ำตาล แอลกอฮอล์ ความเป็นกรด pH เซลล์ยีสต์และอุณหภูมิภายในถัง เป็นต้น เมื่อได้ผลการวิเคราะห์ควรนำมาใช้ประโยชน์โดยการตีความให้ถูกต้อง เพื่อแก้ไขหรือปรับปรุงการหมักให้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบที่ใช้

1.1 น้ำกากส่า

1.2 กากน้ำตาล

2. สารเคมี

2.1 HCl เข้มข้น

2.2 40 % , 20 % NaOH

2.3 Methylene blue solution 1 % , 0.2 %

2.4 Sucrose

2.5 Felhing's solution A , B สำหรับหาน้ำตาลตามวิธีของ Lane and Eynon (AOAC 1975)

2.6 Ferrous ammonium sulfate

2.7 Potassium dichromate

2.8 Potassium metabisulfite

2.9 Ammonium sulfate

2.10 Citric acid

3. อุปกรณ์

3.1 กล้องจุลทรรศน์

3.2 หม้อนึ่งความดัน

3.3 ตู้อบ (Oven)

3.4 เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.5 pH-meter

3.6 เครื่องให้อากาศ (Air pump)

3.7 Hot plate

3.8 Haemacytometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96507

3.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.10 ลวดเขี่ยเชื้อ

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 PDA

5. เชื้อจุลินทรีย์

5.1 Saccharomyces cerevisiae. Sc. 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1 วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำกากส่า

1.1 วิเคราะห์น้ำตาล โดยการไตเตรตกับ Felhing's solution และใช้ Methylene blue เป็นอินดิเคเตอร์

1.2 วิเคราะห์กรด โดยการไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N. โดยใช้ Bromthymol blue เป็นอินดิเคเตอร์

1.3 วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ โดยใช้ Hand refractometer

1.4 วัดความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH-meter

2 ศึกษาการนำน้ำกากส่ามาใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ

ทำการทดลองโดยนำน้ำกากส่า 100 มล. ใส่ Flask 250 มล. 2 ใบ ใบที่ 1 เติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 ใบที่ 2 เติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.10 นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในหม้อนึ่งความดัน 15 นาที ปล่อยให้เย็น เขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 2 loops ใส่ลงใน Flask ตรวจนับเชื้อยีสต์เมื่อครบ 18 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลการทดลอง เมื่อใช้กากน้ำตาลร้อยละ 3 เติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 4.5 ด้วยกรดซิตริก และนึ่งฆ่าเชื้อที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน เขี่ยเชื้อลงไป 2 loops ตรวจนับเชื้อยีสต์เมื่อครบ 18 ชั่วโมง

3 หาอัตราส่วนน้ำกากส่าที่เหมาะสมในการหมัก

3.1 การเตรียมกากน้ำตาล โดยนำกากน้ำตาลมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยวิธีการไตเตรตกับ Fehling's solution และใช้ Methylene blue เป็นอินดิเคเตอร์ วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกากน้ำตาล

3.2 การเตรียมน้ำกากส่า โดยนำน้ำกากส่ามาต้มเดือดประมาณ 30 นาที แล้วนำมาทดลองหมักโดยใช้อัตราส่วนของน้ำกากส่าร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 (โดยปริมาตรน้ำกากส่าต่อปริมาตรกากน้ำตาล 22 °Brix) เปรียบเทียบกับการหมักเมื่อใช้กากน้ำตาล 22 °Brix

3.3 การเตรียมกล้าเชื้อ โดยเตรียมสารละลายกากน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 5 เติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 ปรับความเป็นกรดให้ได้ pH 3.5 โดยใช้กรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิตริก นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ทำให้เย็น แล้วเขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae. สายพันธุ์ Sc. 90 อายุ 18-24 ชั่วโมง ลงไปในขวดหมักที่เตรียมไว้ ทำการให้อากาศโดยใช้ Air pump 18-24 ชั่วโมงลงไปในน้ำหมักที่เตรียมไว้แล้วถ่ายกล้าเชื้อลงสู่ขวดหมัก โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 5

3.4 การหมัก ทำการหมักในขวดหมักปริมาตร 1 ลิตร เติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 และโปแตสเซียมเมตาไปซัลไฟต์ (KMS) 200 ppm. ทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง เติมกล้าเชื้อลงไป ทำการให้อากาศโดยใช้ Air pump 6-8 ชั่วโมง แล้วหมักจนครบ 36 ชั่วโมง

3.5 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ เก็บตัวอย่างเมื่อเริ่มต้น และต่อไปทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เก็บไว้มาวิเคราะห์โดยนับจำนวนเซลยีสต์ หาแอลกอฮอล์ น้ำตาล กรด และวัด pH

4 <u>หาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม</u>

4.1 เตรียมกล้าเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 3.3

4.2 ทดลองหมัก จากผลการทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในข้อ 3 นำอัตราส่วนที่เหมาะสมมาหมัก โดยเติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณร้อยละ 0.05 0.10 0.15 0.20 และ 0.25 ทำการหมักเช่นเดียวกับข้อ 3.4

4.3 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13676

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำกากส่าและกากน้ำตาล

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลจากกากน้ำตาล มีน้ำตาลอยู่ร้อยละ 54.8 ซึ่งจัดได้ว่าเป็นปริมาณน้ำตาลที่สูง เหมาะที่จะนำไปใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ จากผลการทดลอง ตารางที่ 1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีของน้ำกากส่า พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ร้อยละ 3.2 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 12 °Brix และความเป็นกรด-ด่าง 4.6 ทั้งนี้น้ำกากส่าที่ใช้เป็นของเหลวเหลือทิ้งที่ได้จากการกลั่นแอลกอฮอล์ครั้งแรก ซึ่งมีอุณหภูมิสูง พอที่แบคทีเรียชนิดที่เป็น Thermophile เจริญเติบโตได้ดี และจากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า แบคทีเรียเหล่านี้มีรูปร่างเป็นท่อนเสียส่วนใหญ่ และมีรูปร่างกลมบ้างเล็กน้อย และจากข้อมูลที่ค้นพบ พบว่า แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญและผลิตกรดแลคติกได้ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45-50 °C (ปราโมทย์ 2529)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของน้ำกากส่าและกากน้ำตาล

คุณสมบัติ	น้ำกากส่า	กากน้ำตาล
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	3.2	54.8
ปริมาณกรด (% กรดแลคติก)	0.73	0.50
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix)	12	-
ความเป็นกรด-ด่าง	4.6	5.53

2. ศึกษาการนำน้ำกากส่ามาใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ

จากการนำน้ำกากส่ามาใช้เตรียมกล้าเชื้อ และนับจำนวนเซลยีสต์เมื่อครบเวลา 18 ชั่วโมง เปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อใช้กากน้ำตาลเตรียมกล้าเชื้อ ได้ผลดังตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2 การเตรียมกล้าเชื้อโดยใช้น้ำกากส่าและกากน้ำตาล

วิธีการเตรียม	ปริมาณยีสต์ (เซล/มล.)
น้ำกากส่าเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05	1.58×10^7
น้ำกากส่าเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.10	1.73×10^7
กากน้ำตาลเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05	5.67×10^7

เนื่องจากน้ำกากส่ามีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 3.2 ซึ่งสามารถจะนำมาเตรียมกล้าเชื้อได้ อีกทั้งยังมี pH 4.6 อยู่ในช่วงที่ยีสต์สามารถจะเจริญได้ จึงได้ทดลองนำมาใช้ แต่จากผลการทดลอง ตารางที่ 2 จะพบว่าเมื่อใช้น้ำกากส่าร่วมกับ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 และ 0.10 พบว่าสามารถเตรียมกล้าเชื้อได้ปริมาณยีสต์เท่ากับ 1.58×10^7 และ 1.73×10^7 เซล/มล. ตามลำดับ ภายใน 18 ชั่วโมง ซึ่งเป็นปริมาณยีสต์ที่น้อยกว่าปริมาณยีสต์ที่ได้จากการเตรียมกล้าเชื้อโดยใช้กากน้ำตาลในสภาวะเดียวกัน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้กล้าเชื้อที่เตรียมจากกากน้ำตาลมากกว่า ในการใช้กล้าเชื้อในปริมาณค่อนข้างสูง จะช่วยป้องกันเชื้อแปลกปลอมได้เป็นอย่างดี และถ้าเราหมักส่าจำนวนมากโดยใช้กล้าเชื้อเพียงเล็กน้อยจะใช้เวลานานมาก และเสี่ยงต่อการเจริญของเชื้อแปลกปลอมสูง และควรผ่าส่าในช่วงที่กล้าเชื้อมีปริมาณยีสต์ $6 \times 10^7 - 1.9 \times 10^8$ เซล/มล. (ปราโมทย์ 2525)

สำหรับกรณีน้ำกากส่าที่ใช้ปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.10 มีปริมาณยีสต์สูงกว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.05 อธิบายได้ว่า การเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นการเพิ่มแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์ ซึ่งไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ (วราวุฒิ 2529)

3. หาอัตราส่วนน้ำกากส่าที่เหมาะสม

จากการศึกษาหาอัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เหมาะสมโดยใช้อัตราส่วนน้ำกากส่าร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 นำไปหมักและเก็บตัวอย่างมาศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณของยีสต์เซล ปริมาณน้ำตาล ปริมาณแอลกอฮอล์ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรด โดยเปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้กากน้ำตาล ดังแสดงในตารางที่ 3-8 และภาพที่ 4-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆกัน

ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	$2.35x10^8$	$1.98x10^8$	$1.98x10^8$	$1.98x10^8$	$1.69x10^8$	$1.87x10^8$
6	$6.69x10^8$	$6.22x10^8$	$5.18x10^8$	$4.57x10^8$	$4.07x10^8$	$5.54x10^8$
12	$1.26x10^9$	$9.95x10^8$	$1.02x10^9$	$1.04x10^9$	$9.95x10^8$	$7.60x10^8$
18	$1.75x10^9$	$1.31x10^9$	$1.37x10^9$	$1.19x10^9$	$1.18x10^9$	$1.13x10^9$
24	$2.42x10^9$	$1.51x10^9$	$1.60x10^9$	$1.24x10^9$	$1.38x10^9$	$1.41x10^9$
30	$2.13x10^9$	$1.69x10^9$	$1.54x10^9$	$1.64x10^9$	$1.62x10^9$	$1.34x10^9$
36	$2.04x10^9$	$1.44x10^9$	$1.45x10^9$	$1.38x10^9$	$1.36x10^9$	$1.34x10^9$

ตารางที่ 4 Log number of yeast cells ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆกัน

ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	8.37	8.29	8.29	8.29	8.22	8.27
6	8.82	8.79	8.71	8.66	8.61	8.74
12	9.10	8.99	9.00	9.01	8.99	8.88
18	9.24	9.12	9.13	9.07	9.07	9.05
24	9.38	9.18	9.20	9.09	9.13	9.14
30	9.32	9.22	9.19	9.21	9.20	9.12
36	9.31	9.16	9.16	9.14	9.13	9.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ

ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	16.85	14.89	12.27	11.15	9.99	9.18
6	16.32	13.54	11.24	8.12	7.81	6.65
12	13.27	12.14	8.87	7.01	5.88	4.53
18	8.71	8.63	6.45	4.21	3.13	2.23
24	5.73	4.04	3.43	2.33	2.12	2.11
30	5.53	3.42	2.21	2.15	2.06	2.03
36	5.01	2.64	2.11	2.07	1.98	1.96

ตารางที่ 6 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ

ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	0	0	0	0	0	0
6	0.29	0.45	0.25	0.77	1.06	1.23
12	1.39	1.23	1.47	1.50	2.01	2.27
18	2.95	2.81	2.89	3.90	2.79	3.15
24	3.88	4.29	3.54	4.06	3.46	3.45
30	5.45	5.16	5.01	4.29	3.80	3.55
36	5.90	5.57	5.04	4.54	3.96	3.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

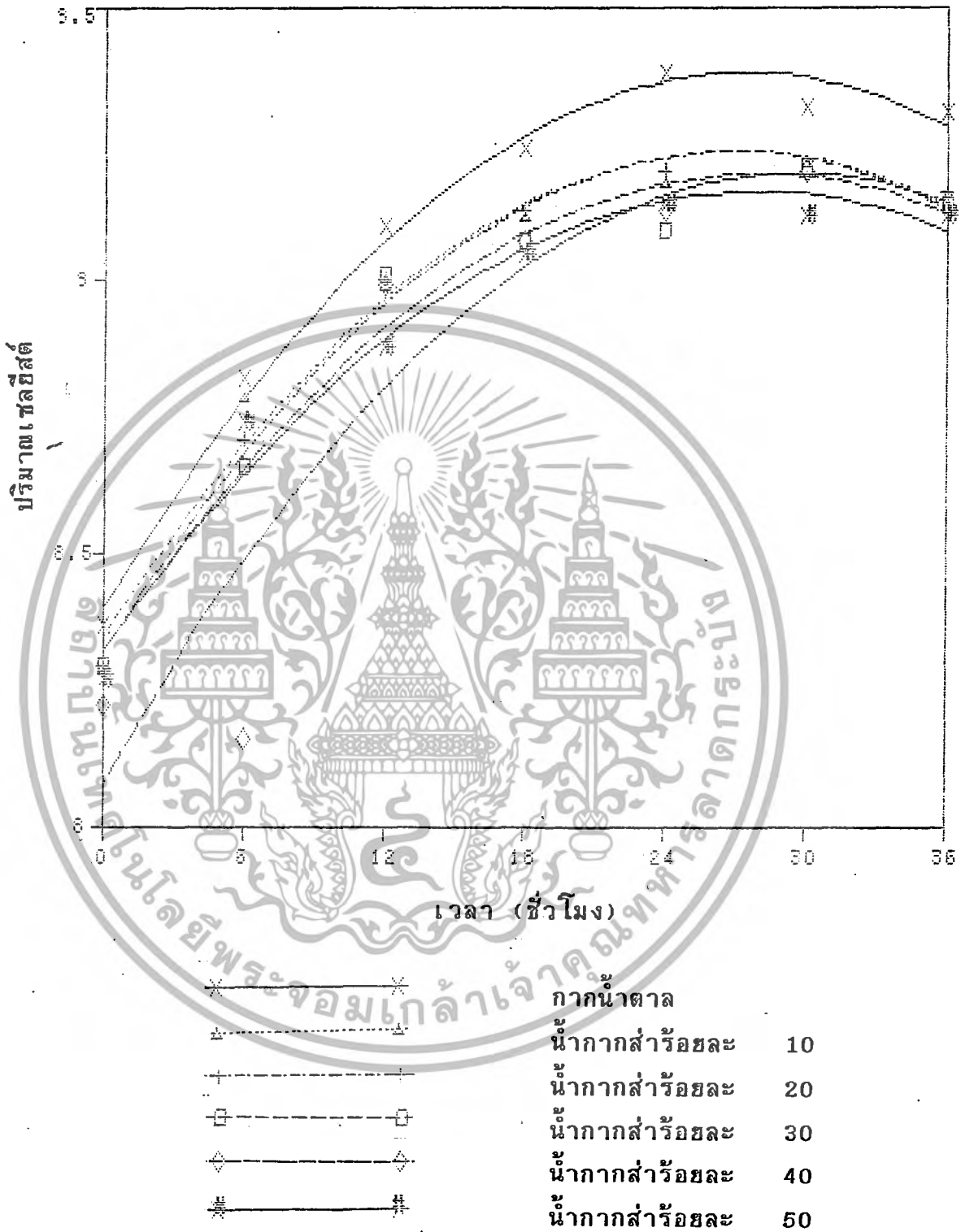
ตารางที่ 7 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ

ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	5.11	5.04	5.00	4.97	5.04	4.98
6	5.10	5.09	5.03	4.80	5.03	4.96
12	5.00	5.01	4.92	4.82	4.97	5.00
18	4.95	4.92	4.90	4.82	4.92	4.97
24	5.06	5.04	5.02	4.90	4.94	4.98
30	5.01	4.99	5.01	4.87	4.98	5.10
36	5.03	5.03	5.01	4.70	4.90	4.94

ตารางที่ 8 ปริมาณกรดในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ

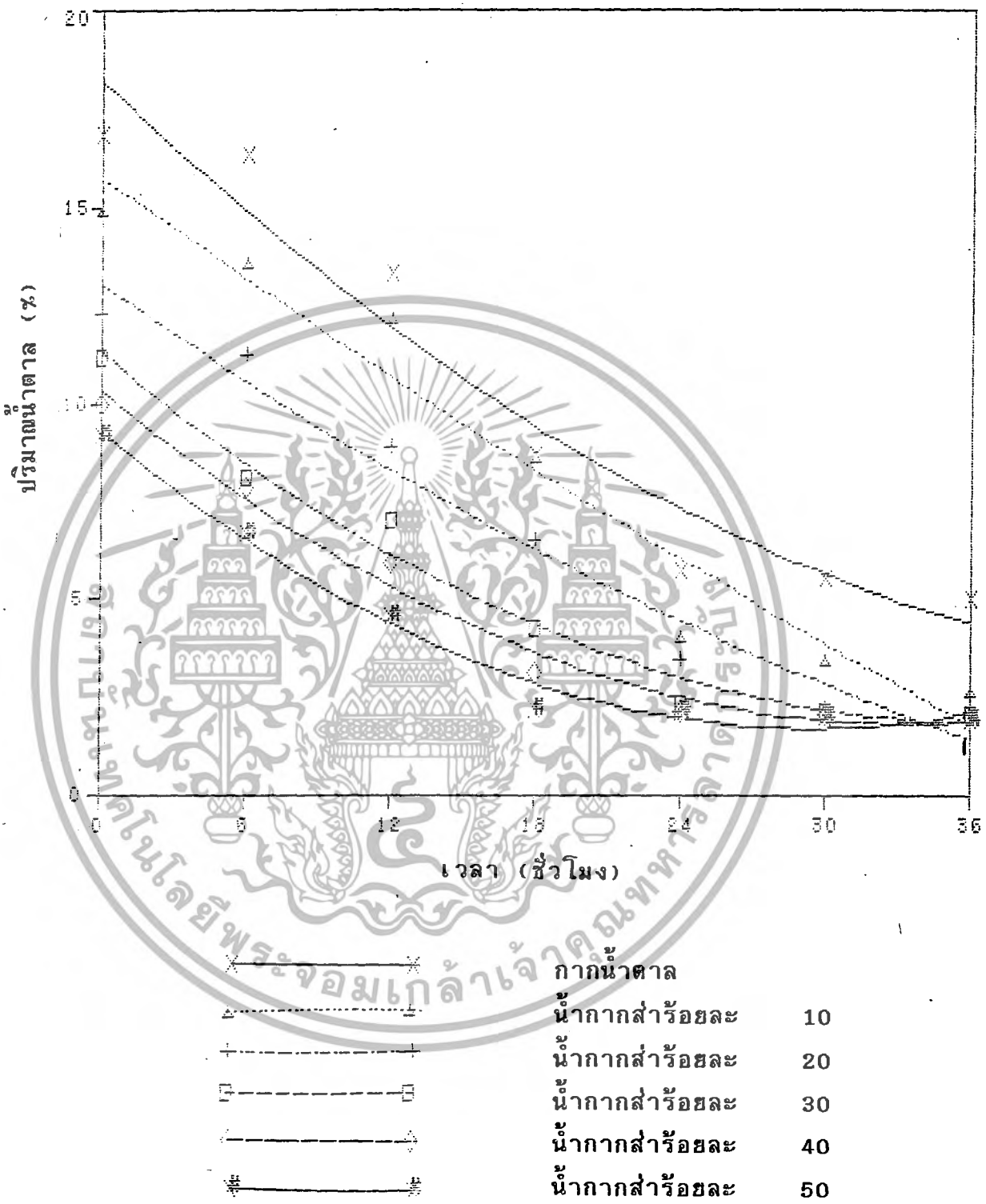
ชั่วโมงที่	กากน้ำตาล	อัตราส่วนของน้ำกากส่าที่เติม (ร้อยละ)				
		10	20	30	40	50
0	0.50	0.50	0.45	0.63	0.54	0.81
6	0.50	0.50	0.54	0.68	0.63	0.81
12	0.45	0.63	0.63	0.68	0.68	0.81
18	0.45	0.63	0.63	0.68	0.68	0.81
24	0.45	0.63	0.54	0.68	0.68	0.76
30	0.45	0.54	0.54	0.68	0.68	0.81
36	0.45	0.54	0.54	0.72	0.76	0.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



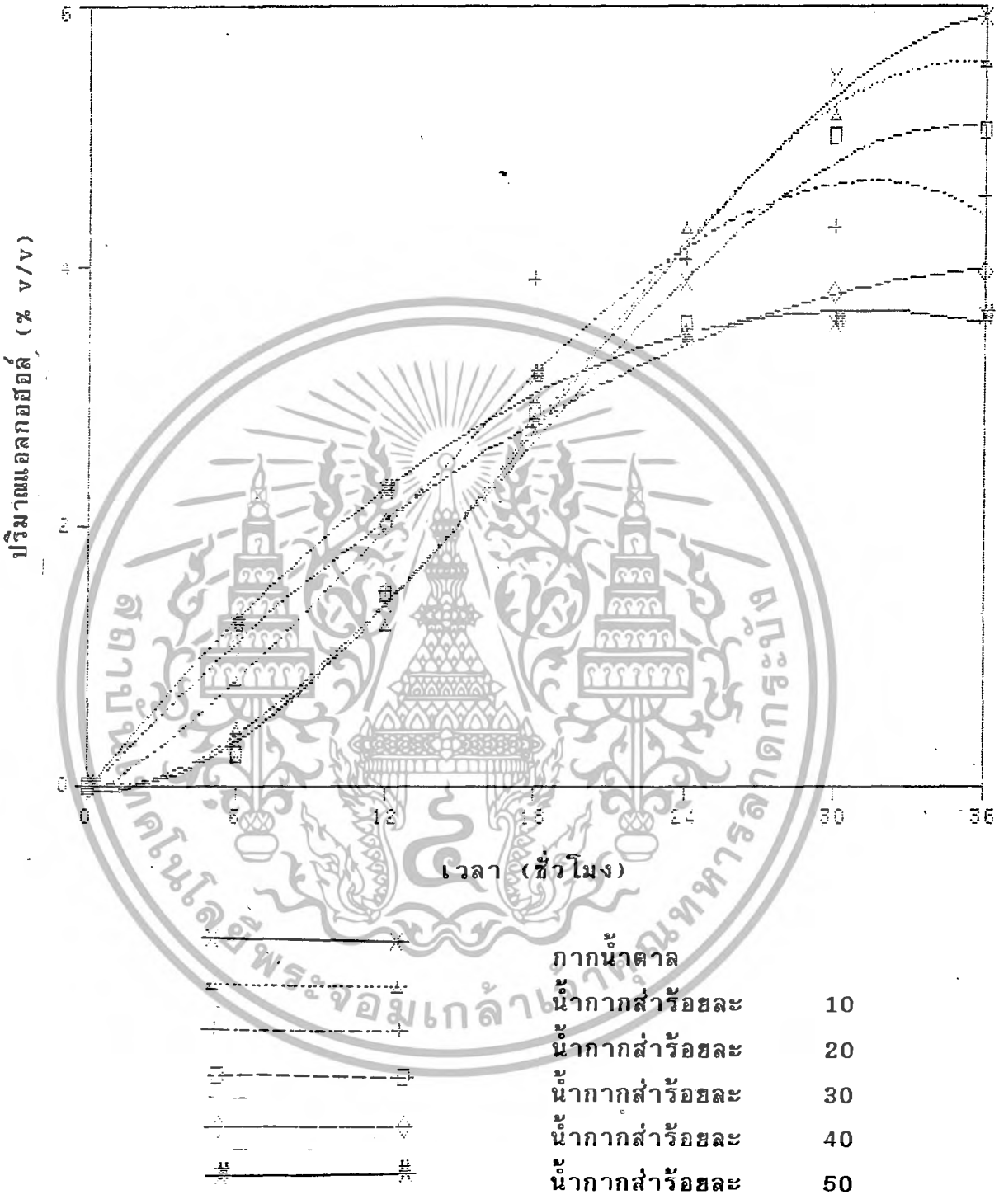
ภาพที่ 4 ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ปริมาณน้ำตาลในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักอัตราส่วนต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาหาอัตราส่วนน้ำกากส่าที่เหมาะสม จากตารางที่ 3 4 และภาพที่ 4 จะเห็นได้ว่าปริมาณยีสต์ในน้ำหมักอัตราส่วนต่างๆ คือ ร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 ของน้ำกากส่า และน้ำหมักจากกากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว ปริมาณยีสต์จะเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป พบว่าใน 12 ชั่วโมงแรก ปริมาณยีสต์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากในช่วงแรกมีการให้อากาศ ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจน และยีสต์จะใช้ออกซิเจนนี้ในการเจริญ การให้อากาศจะช่วยให้ยีสต์แข็งแรงสมบูรณ์เต็มที่ เพราะเซลยีสต์ที่ได้รับอากาศจะมีความแข็งแรงกว่าเซลที่ไม่ได้รับอากาศ ถ้ามีการให้อากาศ ข้อควรระวัง คือ อากาศที่ให้ต้องผ่านเครื่องกรองจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์ก่อนผ่านเข้าถังหมัก และภายในถังหมักไม่มีเชื้อแบคทีเรียปะปนอยู่ เพราะแบคทีเรียสามารถเจริญได้เร็วกว่ายีสต์เมื่อมีการให้อากาศ (ปราโมทย์ 2525) และจากผลในตารางที่ 5 6 7 และ 8 พบว่าปริมาณกรดในน้ำหมักที่เป็นกากน้ำตาลอย่างเดียวค่อนข้างคงที่ และแตกต่างจากปริมาณกรดในน้ำหมักที่ผสมน้ำกากส่าในอัตราส่วนต่างๆ ซึ่งจะมีปริมาณกรดไม่คงที่ ทั้งนี้เนื่องจาก น้ำกากส่ามีแบคทีเรียทำให้มีปัญหาในการหมัก โดยมากแล้วเป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถสร้างกรดได้ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนต่อกันเป็นโซ่ มีทั้งพวกที่สามารถสร้างกรดได้อย่างเดียว (Homofermentative) และพวกที่สร้างได้ทั้งกรดและแกส (Heterofermentative) จัดอยู่ในสกุล Lactobacilli (ผัฐศิษฎ์ 2528 ; ปราโมทย์ และคณะ, 2529) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียกลุ่มอื่นอีก เช่น กลุ่มที่มีรูปร่างกลม รูปไข่ และรูปร่างเป็นท่อน-สร้างสปอร์ แต่แบคทีเรียในกลุ่มหลังเหล่านี้ไม่ทำให้เกิดปัญหาในการหมักมากนัก และมักพบการปนเปื้อนในกากน้ำตาลใหม่ๆ (วราวุฒิ และคณะ, 2530) ในน้ำกากส่ามีแบคทีเรียพวก Thermophile ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ จึงเป็นผลให้ความเป็นกรดของน้ำหมักเพิ่มขึ้น สำหรับอัตราส่วนร้อยละ 30 40 และ 50 จากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น บอกให้รู้ว่ามีปริมาณแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่สูง และเป็นผลให้เซลยีสต์เจริญได้ไม่ดีพอ แบคทีเรียจะเจริญแข่งขันกับยีสต์โดยใช้น้ำตาลจากน้ำหมัก ทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลง แต่ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ไม่สูงนัก และยังทำให้ความเป็นกรดของน้ำหมักเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลา 36 ชั่วโมง เนื่องจากผลิตกรดแลคติก ดังผลแสดงในตารางที่ 8

จากผลการทดลอง เมื่อพิจารณาจะเห็นได้ว่า การใช้น้ำกากส่าในปริมาณร้อยละ 10 และ 20 สามารถผลิตแอลกอฮอล์ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับการหมักโดยใช้กากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว แต่เนื่องจากการผสมน้ำกากส่าในปริมาณร้อยละ 20 จะมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียมากกว่า ดังนั้นความเหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำกากส่านั้น ควรใช้ในปริมาณเพียงร้อยละ 10 เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. หาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม

จากการทดลองหมักแอลกอฮอล์โดยใช้อัตราส่วนน้ำกากส่าที่เหมาะสม คือร้อยละ 10 นำมาเติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 0.05 0.10 0.15 0.20 และ 0.25 จากผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9-14 และภาพที่ 7-9

ตารางที่ 9 ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆ

ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	5.12×10^7	9.40×10^7	8.50×10^7	4.00×10^7	4.00×10^7
6	1.51×10^8	6.48×10^8	5.66×10^8	5.57×10^8	7.57×10^8
12	1.65×10^8	1.14×10^9	1.16×10^9	4.60×10^8	5.24×10^8
18	1.09×10^9	1.96×10^9	1.90×10^9	1.96×10^9	1.90×10^9
24	1.65×10^9	1.96×10^9	1.85×10^9	1.99×10^9	1.95×10^9
30	1.73×10^9	2.37×10^9	1.95×10^9	1.90×10^9	1.71×10^9
36	1.65×10^9	2.85×10^9	2.65×10^9	2.04×10^9	2.17×10^9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 Log number of yeast cells ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณต่างๆ

ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	7.71	7.91	7.92	7.60	7.60
6	8.18	8.81	8.75	8.74	8.87
12	8.22	9.05	9.06	8.66	8.71
18	9.04	9.29	9.27	9.29	9.27
24	9.22	9.39	9.26	9.30	9.29
30	9.24	9.37	9.29	9.27	9.23
36	9.22	9.45	9.42	9.31	9.33

ตารางที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆ

ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	14.81	14.85	14.83	14.80	14.78
6	11.35	11.62	11.83	11.51	11.33
12	7.71	8.37	7.59	9.10	8.62
18	5.24	6.51	6.46	7.82	5.89
24	4.30	3.41	3.61	3.38	3.33
30	3.09	3.11	3.34	2.93	2.24
36	2.80	2.01	1.98	2.04	1.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆ

ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	0	0	0	0	0
6	1.58	1.55	1.41	1.51	1.55
12	2.62	3.11	3.40	2.62	2.77
18	3.25	3.93	3.93	3.21	3.50
24	3.55	5.49	5.27	5.25	5.15
30	4.98	6.12	5.40	5.46	5.34
36	5.08	6.17	6.03	5.90	5.88

ตารางที่ 13 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆ

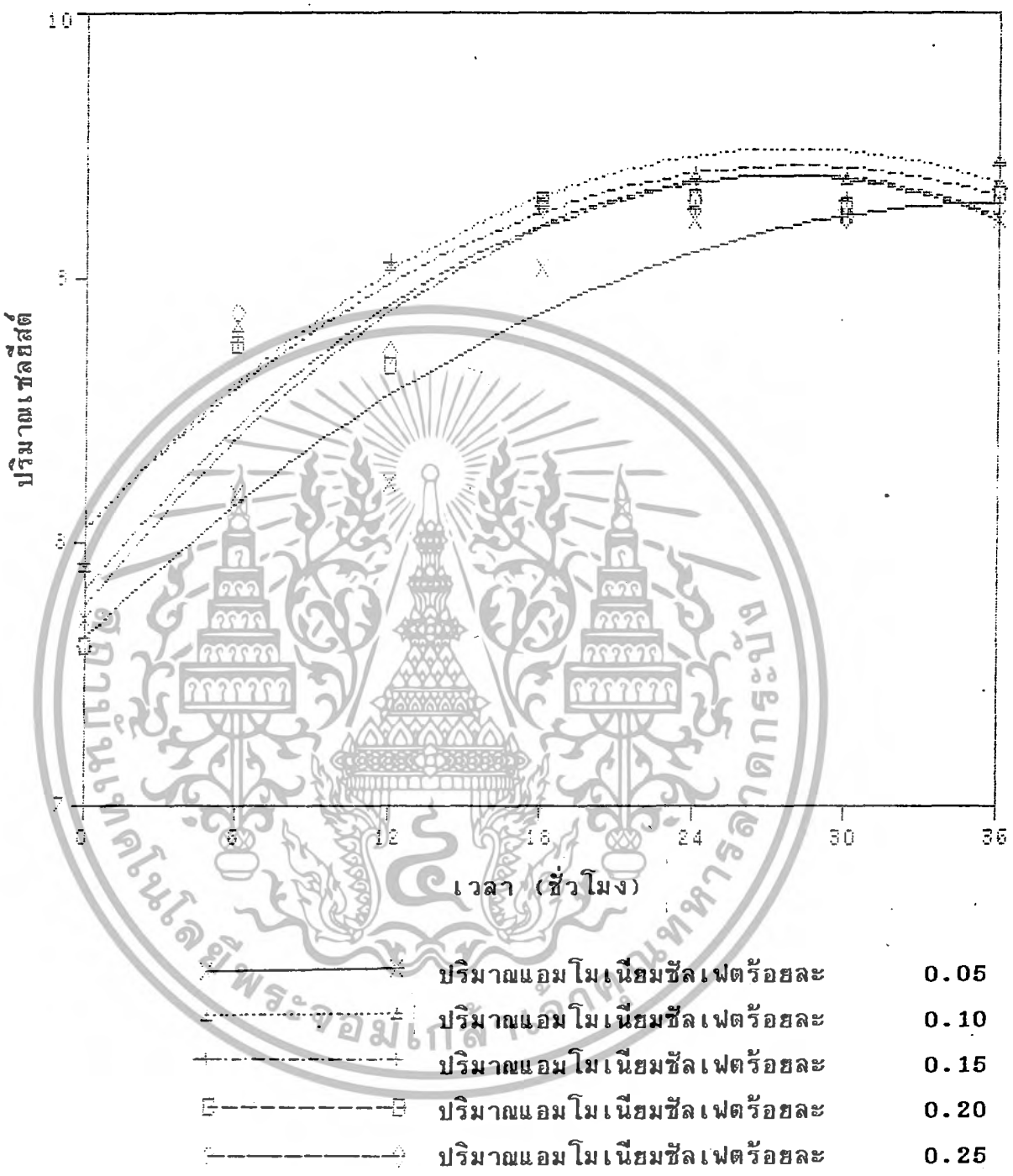
ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	4.70	4.84	4.87	4.89	4.95
6	4.62	4.65	4.74	4.77	4.72
12	4.42	4.52	4.61	4.68	4.58
18	4.34	4.51	4.48	4.47	4.47
24	4.34	4.47	4.46	4.43	4.43
30	4.34	4.50	4.48	4.44	4.47
36	4.39	4.57	4.55	4.52	4.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ปริมาณกรดในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักที่เติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆ

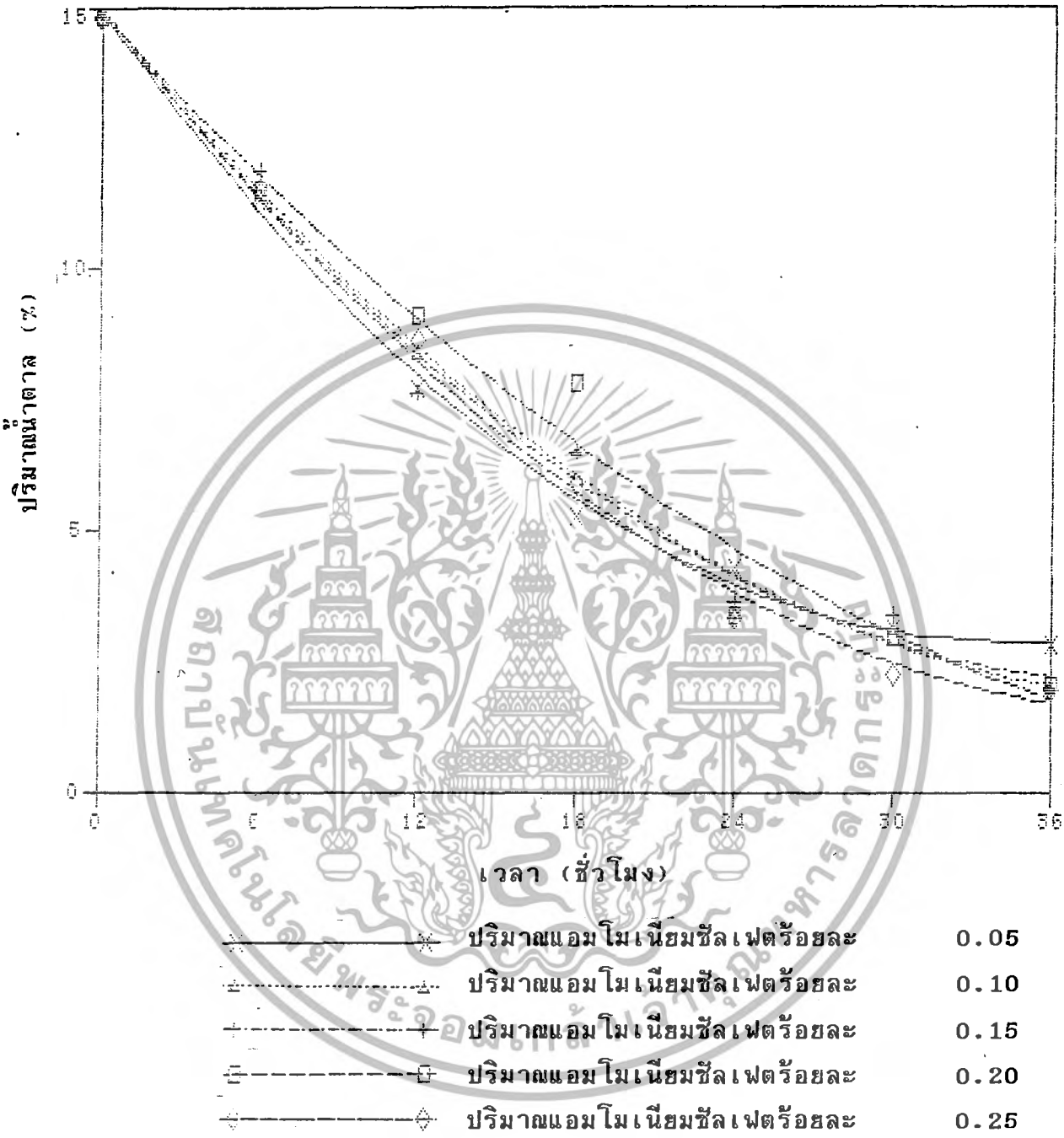
ชั่วโมงที่	ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ที่เติม (ร้อยละ)				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
6	0.45	0.54	0.45	0.49	0.45
12	0.54	0.60	0.60	0.60	0.64
18	0.64	0.59	0.45	0.64	0.64
24	0.64	0.64	0.60	0.64	0.64
30	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
36	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



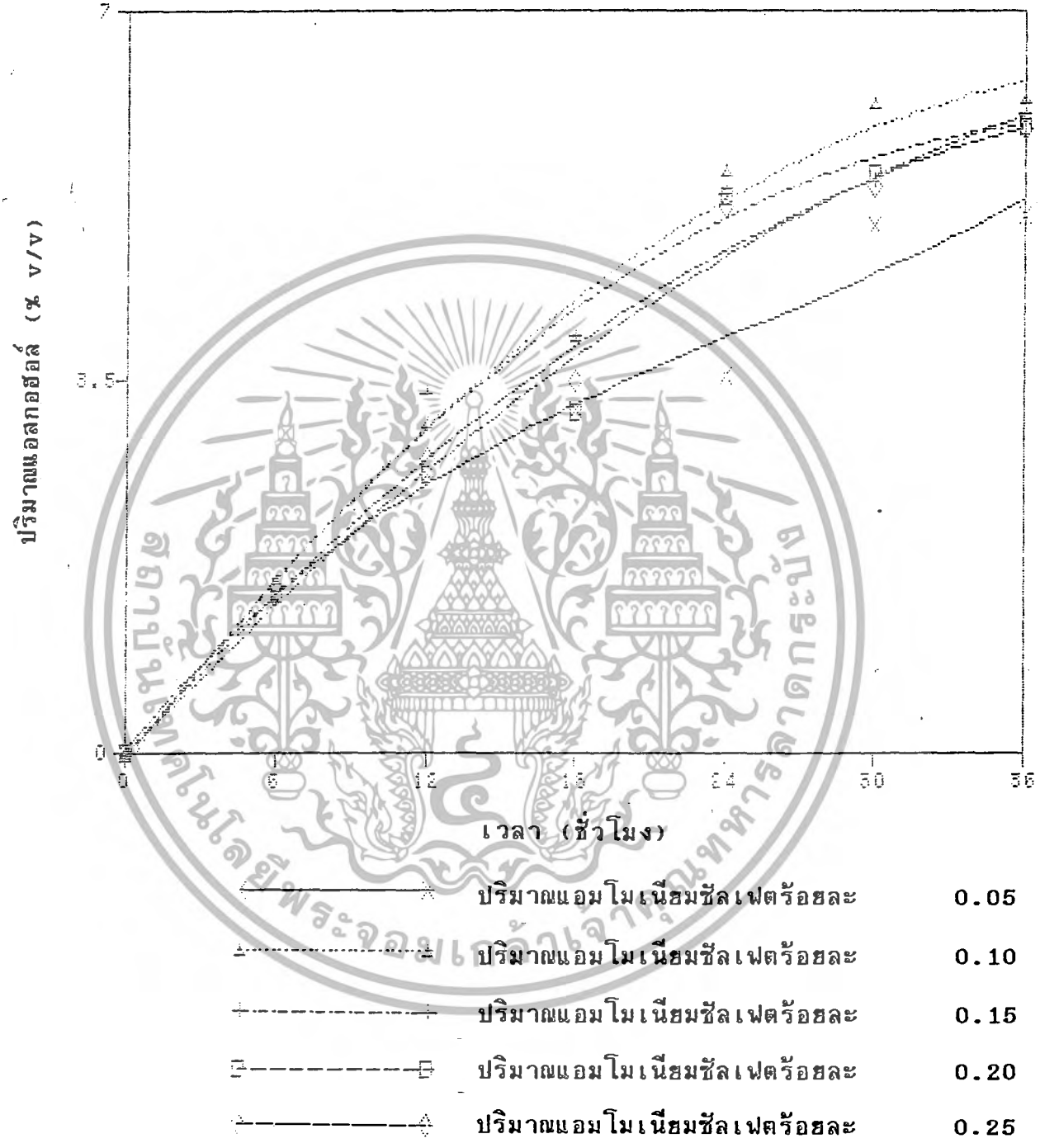
ภาพที่ 7 ปริมาณเซลยีสต์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 ปริมาณน้ำตาลในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาต่างกันของน้ำหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการหาปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ที่เหมาะสม ดังตารางที่ 9 และ 10 จะเห็นได้ว่า การเติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณต่างๆลงในน้ำหมัก จะมีผลในการเพิ่มจำนวนเซลยีสต์ เนื่องจาก $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและขบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ (ปราโมทย์ 2525) นอกจากนี้ยีสต์ยังต้องการกรดอะมิโน Methionine แต่เนื่องจาก Methionine มีราคาแพงมาก ดังนั้นจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน เกลือ Inorganic sulfate จะถูกเปลี่ยนเป็น Methionine ภายในเซลของยีสต์ แต่ต้องอาศัยพลังงาน 2 moles ATP / mole SO_4^{2-} reduced (วราวุฒิ 2529) จากการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณร้อยละ 0.05 และ 0.25 ลงในน้ำหมักที่มีปริมาณยีสต์ใกล้เคียงกัน พบว่าน้ำหมักที่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.25 จะมีปริมาณเซลยีสต์เพิ่มขึ้นมากกว่าน้ำหมักที่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 ภายใน 36 ชั่วโมง และจากผลในตารางที่ 11 12 13 และ 14 พบว่าน้ำหมักที่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 0.10 0.15 0.20 และ 0.25 เมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง สามารถตรวจสอบปริมาณแอลกอฮอล์คิดเป็นร้อยละโดยปริมาตร 5.08 6.17 6.03 5.90 และ 5.88 ตามลำดับ อธิบายได้ว่า การใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.05 นั้นยังไม่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์ ทั้งนี้เนื่องจาก ในน้ำกากส่าที่ผสมในน้ำหมักนั้นมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ และแบคทีเรียเหล่านี้ต้องการแหล่งไนโตรเจนจาก $(NH_4)_2SO_4$ เพื่อใช้ในการดำรงชีวิตด้วยเช่นกัน ทำให้เซลยีสต์เจริญและผลิตแอลกอฮอล์ได้ไม่ดีนัก ส่วนการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.20 และ 0.25 นั้นเป็นปริมาณที่มากจนทำให้เซลแบคทีเรียเจริญได้ดี ซึ่งสังเกตุได้จากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น ในตารางที่ 14 แม้ว่าการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ปริมาณยีสต์เพิ่มขึ้น แต่ไม่ได้ช่วยให้ผลผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มมากขึ้นนัก ดังผลในตารางที่ 12 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก $(NH_4)_2SO_4$ ที่มากเกินพอ จะทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์ของเซลยีสต์ และจากการพิจารณาจะเห็นได้ว่า การใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณร้อยละ 0.10 และ 0.15 ให้ผลแอลกอฮอล์ที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงควรใช้ $(NH_4)_2SO_4$ ในปริมาณร้อยละ 0.10 ก็เพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำกากส่า พบว่า มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 3.2 ปริมาณกรดร้อยละ 0.73 (คิดเป็นกรดแลคติก) มีความเป็นกรด-ด่าง 4.6 ซึ่งสูงกว่ากากน้ำตาล ซึ่งมีความเป็นกรด-ด่าง 5.53 เนื่องจากในน้ำกากส่ามีแบคทีเรียชนิด Thermophile ที่สร้างกรดแลคติก ทำให้น้ำกากส่ามีความเป็นกรดสูงกว่ากากน้ำตาล

จากการนำน้ำกากส่าเตรียมกล้าเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับกล้าเชื้อที่เตรียมจากกากน้ำตาลแล้ว พบว่า การนำน้ำกากส่ามาเตรียมกล้าเชื้อไม่เหมาะสม เพราะมีปริมาณเชื้อยีสต์น้อยกว่าเชื้อที่ใช้จากกากน้ำตาลล้วน

จากการหาอัตราส่วนน้ำกากส่าที่เหมาะสม พบว่า ที่อัตราส่วนน้ำกากส่าร้อยละ 10 เหมาะสมที่สุด เพราะสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ใกล้เคียงกับการหมักโดยใช้กากน้ำตาลล้วน (Control) เนื่องจากในน้ำกากส่ามีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ แบคทีเรียจะเจริญแข่งขันกับยีสต์ ทำให้ผลผลิตแอลกอฮอล์ที่ได้ต่ำ การใช้อัตราส่วนร้อยละ 10 จะทำให้มีแบคทีเรียปนเปื้อนน้อยที่สุด ผลผลิตแอลกอฮอล์จึงสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ

และจากการหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม พบว่า เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.10 เหมาะสมที่สุด เนื่องจากในน้ำหมักมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ ซึ่งมาจากน้ำกากส่า ทำให้แบคทีเรียแย่งใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเจริญ ดังนั้นการใช้ปริมาณร้อยละ 0.05 จึงไม่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์ แต่ในกรณีที่ปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ สูงๆ ไม่สามารถทำให้ยีสต์หมักแอลกอฮอล์ได้มากขึ้น เนื่องจากปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ สูงๆ อาจทำให้เกิดสภาพไม่เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ได้

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำกากส่าที่นำมาใช้ ควรใช้น้ำกากส่าที่ได้จากการกลั่นแอลกอฮอล์ใหม่ๆ
2. น้ำกากส่าที่นำมาใช้ควรนำมาต้มเดือดให้นานกว่า 30 นาที เพื่อทำลายแบคทีเรีย Thermopile ซึ่งทำลายได้ยากให้มีปริมาณลดลง
3. ควรนำน้ำกากส่าต้มเดือดใหม่ๆ มาละลายกากน้ำตาล จะละลายได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จรูญ คำนวณตา. 2525. อุปสรรคบางประการในช่วงการหมักแอลกอฮอล์. ชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย. 1(1) : 2-13.

ชัฐศิษฏ์ ไทยตระกูล. 2528. บทบาทของแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. 2528. การทดลองหมักมีเทนจากน้ำกากส่าจากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2525. การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์. เอกสารประกอบการอบรมภาคฤดูร้อน. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง วิทยาเขตกำแพงแสน.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ คณะ. 2529. การศึกษาปัญหาที่เกิดจากการหมักกากน้ำตาลเก่าจากโรงงานแอลกอฮอล์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เสนอสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประเภทสาขาวิชาการ ประจำปี 2526.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และ จรูญ คำนวณตา. 2526. การเพิ่มประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์. ชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย. 2(2) : 124-137

เปรมปรี ณ สงขลา. 2529. วิธีทำส่าเหล้าให้เป็นทองคำ. เคหการเกษตร. 10 (135-138).

เปรมปรี ณ สงขลา. 2530. แนวทางการใช้ประโยชน์จากน้ำส่าเหล้า. เคหการเกษตร 11 (127) : 8-12.

พินิจ กุสุมา. 2527. ปัญหาน้ำเสียกับการผลิตแอลกอฮอล์. เอกสารประกอบการสัมนาการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการหมักแอลกอฮอล์. 20 เมษายน 2527. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วราวุฒิ ครูส่ง และ ณัฐศิษฏ์ ไทยตระกูล. 2531. แบคทีเรียทำให้แอลกอฮอล์ลดลงจริงหรือ. เกษตรพระจอมเกล้า. 6(1) : 55-62.

วิเชียร ยงมานิตชัย และ คณะ. 2526. การปรับปรุงขบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล. ชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย. 2(3) : 207-216.

สกุณี กุณเทียะ. 2525. การเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำส่าทิ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สันทนา วรรณกะลัค. 2530. การใช้ส่าเหล้าแห้งเป็นอาหารสุกร. เคหการเกษตร. 11(129) : 66-70.

Adams, M. R. and G. Fynn. 1982. Fermentation ethanol : an industrial profile. Tropical products institute. London.

Amerine, M. A. and C. S. Ough. 1974. Wine and must analysis. John wilcy and Sons, Inc.

Amerine, M. A. and C. S. Ough. 1980. Method for analysis of mustand wine, University of California.

A.O.A.C. 1975. Official method of analysis 12th ed. Washington,D.C.. : Assoc. Officer agric chemists.

Paturau, J. M. 1969. By-product of cane sugar industry. Elsevier publishing. Co., Amsterdum.

Plews, R. W. 1970. Analytical method used in sugar refining. Elsevier publishing company limited Amsterdum London. New York, p. 234.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Underkofler, L.A. and R.J. Hickley. 1954. Alcoholic fermentation of molasses. Industrial fermentation. Chemical publishing Co., New York. p. 320.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางด้านการหมักแอลกอฮอล์

1. วิธีการหา Invert sugar ใน molasses และน้ำอ้อย

1.1 สารเคมีที่ใช้

1.1.1 Felhing's solution A

ละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 34.634 กรัม ในน้ำ 500 มล. ปรับปริมาตรโดยใช้ Volumetric flask

1.1.2 Felhing's solution B

ละลาย Sodium potassium tartrate 173 กรัม และ NaOH 50 กรัม ในน้ำ 500 มล. ปรับปริมาตรโดยใช้ Volumetric flask

วิธีใช้ ผสม Felhing's solution A 5 มล. กับ Felhing's solution B 5 มล. ผสมเสร็จใช้ทันที ห้ามผสมทิ้งไว้ค้างคืน

1.1.3 Hydrochloric acid conc. หรือ 50 % HCl

1.1.4 NaOH 20 %

1.1.5 Methylene blue 1 %

1.2 วิธีการ

1.2.1 ใช้ตัวอย่าง Molasses หรือน้ำอ้อย X มล. เติมกรด HCl conc. จำนวน 10 % ของตัวอย่างที่ใช้ โดยใส่ตัวอย่างใน Volumetric flask ขนาด 100 มล. ตัวอย่างที่ใช้ในการ Hydrolyze เตรียมได้ดังนี้

Molasses (น้ำอ้อย) 15 °B ขึ้นไปใช้ตัวอย่าง 2 มล. + HCl conc. = 0.2 มล.
Molasses (น้ำอ้อย) 13 °B ขึ้นไปใช้ตัวอย่าง 4 มล. + HCl conc. = 0.4 มล.
Molasses (น้ำอ้อย) 10 °B ขึ้นไปใช้ตัวอย่าง 10 มล. + HCl conc. = 1.0 มล.
Molasses (น้ำอ้อย) 10 °B ลงไปใช้ตัวอย่าง 20 มล. + HCl conc. = 2.0 มล.

1.2.2 Hydrolyze ใน Hot air oven อุณหภูมิ 70 °ซ ประมาณ 10-15 นาที

1.2.3 ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นประมาณ 100 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วทำให้เป็นกลางด้วย NaOH 20 % โดยใช้ Lithmus paper ทดสอบ เมื่อปรับตัวอย่างให้เป็นกลาง คือ pH ประมาณ 7

1.2.4 ทำให้ตัวอย่างอยู่ในสภาพ Slightly acid หลังจากเป็นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วเติม HCl เล็กน้อย ประมาณ 1 หยด

1.2.5 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล.

1.2.6 Titrate กับ Standard felhing's solution (ใช้ Felhing's A 5 มล. ผสมกับ Felhing's B 5 มล.)

1.3 <u>วิธีหา Standard invert sugar</u>

1.3.1 ชั่ง sucrose 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มล. เติม HCl conc. 1 มล.

1.3.2 Hydrolyze ที่อุณหภูมิ 70 °ซ นานประมาณ 10-15 นาที หรือตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง

1.3.3 เติมน้ำกลั่น 50 มล. แล้วทำให้เป็นกลางด้วย NaOH 40 % ทำเป็น Slightly acid

1.3.4 ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล.

1.3.5 Titrate กับ Felhing's (A+B) 10 มล. Titrate โดยเร็วจนเหลืออีก 1-2 มล. ก่อนถึง End point สีน้ำเงินจะหายไป

<u>หมายเหตุ</u>

1. การ Titrate ของ Standard solution ควรใช้ไม่เกิน 10 มล. เมื่อใช้ Felhing's A+B 10 มล. ถ้าใช้ Felhing's (A+B) 25 มล. Standard solution จะใช้ประมาณไม่เกิน 25 มล.

2. การหาน้ำตาล Invert ในตัวอย่างน้ำอ้อยจะมีค่าใกล้เคียงกับ °Brix (% W/V)

3. เมื่อนำมาคำนวณหาค่า Fector ของ Felhing's (A+B) ควรมีค่าไม่เกิน 0.04-0.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 วิธีการคำนวณ

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \xrightarrow{\text{invertase or HCl conc.}} \underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Fructose}}{C_6H_{12}O_6}$$

MW = 180+180 = 360

$$\text{ดังนั้น } C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow[H_2O]{\text{HCl conc.}} 2C_6H_{12}O_6$$

$$(12.010)12+(1.0080)22+(16)11 \longrightarrow 2\ (12.010)6+(1.0080)12+(16)6$$

$$342.296 \longrightarrow 360.312$$

ดังนั้น 342.296 กรัม จะได้ Glucose 360.312 กรัม

X กรัม จะได้ Glucose $\frac{(360.312)X}{342.296}$ กรัม

Sucrose X กรัม ละลายอยู่ในสารละลาย 100 มล.

Sucrose 100 มล. จะต้องมี Glucose $\frac{(360.312)X}{342.296}$ กรัม

Sucrose Y มล จะต้องมี Glucose $\frac{(360.312)XY}{(342.296)100}$ กรัม

ดังนั้น 10 มล. ของ Fehling's (A+B) ทำปฏิกริยาพอดีกับ Standard solution $\frac{(360.312)XY}{(342.296)100}$ กรัม เป็นค่า Factor

ค่า Factor ของ Felhing's (A+B) ควรมีค่าไม่เกิน 0.04-0.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การคำนวณหา % Sucrose (Invert sugar) ใน Molasses

2.1 วิธีการ

2.1.1 ชั่ง Molasses ประมาณ 24 กรัม นำมาละลายใน Volumetric flask 250 มล.

2.1.2 ดูดตัวอย่างจากข้อ 2.1.1 มา 10 มล. ทำให้เจือจางใน Volumetric flask 250 มล.

2.1.3 ดูดตัวอย่างมา 24 มล. นำไป Hydrolyze ด้วยวิธีการเดียวกับวิธีการข้างต้น

2.2 การคำนวณ

สมมติ ชั่ง Molasses มา = 23.5396 กรัม

Molasses 250 มล. มีเนื้อ Molasses = 23.5396 กรัม

Molasses 1 มล. มีเนื้อ Molasses = $\frac{23.5396}{250}$ กรัม

Molasses 10 มล. มีเนื้อ Molasses = $\frac{23.5396 \times 10}{250}$ กรัม

ดังนั้น Molasses 250 มล. มีเนื้อ Molasses = $\frac{23.5396 \times 10}{250}$ กรัม

(ดูดตัวอย่าง 10 มล. นำไปเจือจางเป็น 250 มล.)

Molasses 1 มล. มีเนื้อ Molasses = $\frac{23.5396 \times 10}{250 \times 250}$ กรัม

Molasses 24 มล. มีเนื้อ Molasses = $\frac{23.5396 \times 10 \times 24}{250 \times 250}$ กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น Molasses $\frac{23.5396 \times 10 \times 24}{250 \times 250}$ กรัม มีเนื้อ = 0.0494145 (Factor ของ Fehling's (A+B))

Molasses 100 มล. มีเนื้อ = $\frac{0.049415 \times 250 \times 250 \times 100}{23.5396 \times 10 \times 24}$

ดังนั้น Total invert sugar (Sucrose) = 54.67 %

ตัวอย่างการคำนวณ Molasses ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์

สมมติ ใช้ตัวอย่าง Molasses 2 มล. มา Hydrolyze ด้วย HCl conc. จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. นำมา Titrate กับ Fehling's (A+B) 10 มล. ได้ค่า Titre (หรือปริมาตรที่ใช้ในการ Titrate) = 27 มล. ค่า Factor ของ Fehling's (A+B) = 0.05

สารละลาย 27 มล. Fehling's (A+B) 10 มล. = 0.05 กรัม

สารละลาย 1 มล. Fehling's (A+B) 10 มล. = $\frac{0.05 \times 1}{27}$ กรัม

สารละลาย 100 มล. Fehling's (A+B) 10 มล. = $\frac{0.05 \times 1 \times 100}{27}$ กรัม

ในสารละลาย Molasses 100 มล. มีเนื้อ Molasses อยู่ 2 มล. = $\frac{0.05 \times 1 \times 100}{27}$ กรัม

Molasses 100 มล. = $\frac{0.05 \times 1 \times 100 \times 100}{27 \times 2}$ กรัม

ดังนั้น % Total invert sugar = $\frac{0.05 \times 1 \times 100 \times 100}{27 \times 2}$ กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปสูตรทั่วไปในการคำนวณหา % Total invert sugar ดังนี้

$$\% \text{ Total invert sugar} = \frac{\text{Factor} \times 100 \times 100}{(X)\ (Y)}$$

โดยที่ X = จำนวน มล. ของ Molasses ที่ใช้ในการ Hydrolyze ด้วย HCl conc.

Y = ปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ Titrate กับ Fehling's (A+B)

3. วิธีการหาปริมาณแอลกอฮอล์

3.1 การหาปริมาณ Alcohol โดยวิธีไดโครเมตออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ในสภาพที่เป็นกรด ให้กลายเป็นกรดอะซิติก ดังสมการ

$$2Cr_2O_7^{2-} + 3C_2H_5OH + 16H^+ \longrightarrow 4Cr^{3+} + 3CH_3COOH + 11H_2O$$

ไดโครเมตที่เหลือจะถูกรีดิวซ์โดยวิธีไตเตรตกับเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ดังนี้

$$Cr_2O_7^{2-} + 6Fe^{2+} + 14H^+ \longrightarrow 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O$$

3.2 สารเคมีที่ใช้

3.2.1 สารละลายไดโครเมต

เตรียมโดยเทน้ำกลั่นประมาณ 400 มล. ลงใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 325 มล. ผสมให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 80-90 °ซ เติมโปแตสเซียมไดโครเมต 33.768 กรัม เขย่าให้ละลาย ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรโดยใช้น้ำกลั่น

3.2.2 สารละลายเฟอรร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

เตรียมโดยละลายเฟอรร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีน้ำ 6 โมเลกุล 135.5 กรัมในน้ำกลั่น 500 มล.ใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 30 มล. ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรโดยใช้น้ำกลั่น

3.2.3 สารละลาย 1,10-Phenanthroline-ferrous sulfate-indicator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เตรียมโดยเติมเฟอร์รัสซัลเฟตที่มีน้ำ 7 โมเลกุล 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มล. ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วเติม O-phenanthroline 1.485 กรัม เขย่าให้ละลาย ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.โดยใช้น้ำกลั่น

3.3 วิธีการ

การกลั่นแอลกอฮอล์ใช้ Microdistillation apparatus ปิเปตสารละลายไดโครเมต 25 มล.ใส่ใน Flask ขนาด 50 มล. นำไปรองรับ Distillate โดยใช้ปลายเครื่องควบแน่น (Condenser) ของเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายไดโครเมต ปิเปตตัวอย่างที่ใช้หาปริมาณแอลกอฮอล์ 1 มล. ใส่ลงในหลอดแก้วสำหรับกลั่น ล้างให้ตัวอย่างที่ติดอยู่ลงไปในหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่นหลายๆ มล. จนมีปริมาตรน้ำ 1 ใน 3 ของปริมาตรน้ำทั้งหมดของหลอดเครื่องกลั่น ปิดท่อที่เติมตัวอย่างและปล่อยให้ไอน้ำกลั่นแอลกอฮอล์จนกระทั่งปริมาตรของของเหลวภายใน Flask ที่รองรับ Distillate ได้ประมาณ 15 มล. ล้างปลายก้านเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่น นำ Flask ออกมาปิดด้วยจุกยาง นำไปแช่ใน Water bath อุณหภูมิ 60 °ซ นานประมาณ 20-25 นาที การออกซิไดซ์ก็จะสมบูรณ์ ถ่ายลงใน Flask ขนาด 500 มล. โดยใช้น้ำกลั่นฉีดล้างให้สะอาดประมาณ 2-3 ครั้ง นำไปไตเตรตกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตจนมีสีเขียว แล้วหยดสารละลาย Indicator สามหยด ไตเตรตต่อจนกระทั่งถึง End point โดยสังเกตุสีจะเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีน้ำตาลม่วง

3.4 วิธีการคำนวณ

% แอลกอฮอล์ (มล./100 มล.) = 25-[25x(A/B)]

หรือ % แอลกอฮอล์ (กรัม/100 มล.) = 25-[25x(A/B)]x(7.933/10)

โดยกำหนดให้ A = ปริมาตรของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับไดโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกริยากับแอลกอฮอล์ (มล.)

B = ปริมาตรของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับ Blank (มล.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิธีการหา Total acidity

4.1 สารเคมีที่ใช้

4.1.1 NaOH 0.1 N.

4.1.2 Phenolphthalein 1 % หรือ Bromthymol blue 1 %

4.2 วิธีการ

ปิเปตตัวอย่าง 5 มล. ลงใน Flask ขนาด 500 มล. เติมน้ำกลั่น 100 มล. ที่ต้มให้เดือดเพื่อไล่เอา CO_2 ออก แล้วหยด Phenolphthalein 1 % 3-5 หยดเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N. เมื่อถึง End point จะมีสีชมพูอ่อน แต่ถ้าใช้ Bromthymol blue 1 % จะมีสีเขียวอ่อน นำมาคำนวณค่า Total acidity โดยมีสูตรดังนี้

$$\% \text{ Total acidity (กรัม/100 มล.)} = \frac{(V)(N)(MW)(100)}{(1000)(U)}$$

โดยกำหนดให้ V = ปริมาตรสารละลาย NaOH 0.1 N.ที่ใช้ในการไตเตรตจนถึง End point (มล.)

N = Normality ของสารละลายมาตรฐาน NaOH

U = ปริมาตรของตัวอย่างที่นำมาไตเตรต (มล.)

MW = น้ำหนักโมเลกุลของกรดที่ต้องการหา

5. การนับเซลยีสต์ที่มีชีวิตโดยตรง (Direct viable count)

ตามวิธีการของ Townsend and Lindgren

5.1 สารเคมีที่ใช้

5.1.1 Methylene blue 0.2 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 วิธีการ

5.2.1 ปิเปตตัวอย่างมาทำให้เจือจางในสารละลาย 0.2 % Methylene blue ในหลอดทดสอบ โดยกะอัตราส่วนอย่างคร่าวๆผสมกัน

5.2.2 เช็ดสไลด์และ Cover glass ของ Haemacytometer ให้สะอาด วาง Cover glass ให้อยู่ตรงกลางสไลด์ ใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างเจือจางจากข้อ 5.2.1 มาแตะที่ขอบ Cover glass ปล่อยให้สารละลายตัวอย่างของเซลแทรกไประหว่าง Cover glass และสไลด์จนเต็มพอดี และทำอีกด้านหนึ่งในทำนองเดียวกัน

5.2.3 นำไปนับจำนวนเซลที่มีชีวิต โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400X โดยถือว่าเซลที่ติดสีทึบหมดทั้งเซลเป็นเซลที่ตายแล้ว และเซลที่ไม่ติดสีเป็นเซลที่มีชีวิตอยู่

การนับให้นับเซลที่ไม่ติดสีทั้งหมดที่อยู่ในตารางใหญ่ และเซลที่อยู่คาบเส้นทางด้านขวาและล่าง ส่วนเซลที่อยู่คาบเส้นทางด้านซ้ายและบนไม่นับ จำนวนเซลที่นับได้จะต้องอยู่ระหว่าง 10-30 เซลต่อช่อง ถ้ามากหรือน้อยกว่านี้ จะต้องเจือจางตัวอย่างใหม่ ทำการนับทีละพื้นที่ตามแนวทะแยงซ้าย-ขวา จนกระทั่งครบ 9 ช่อง ได้จำนวนเซลรวมทั้งหมดประมาณ 300 เซล

5.3 การคำนวณ

ขนาดความลึกของ Haemacytometer ที่ใช้ = 0.1 มม.

ขนาดพื้นที่ของ Haemacytometer ที่ใช้ = 1/400 ตร.มม.

ดังนั้น Haemacytometer ที่ใช้ในปริมาตรแต่ละพื้นที่ = $\frac{1}{400} \times 10^{-6}$ มล.

$$\text{จำนวนเซลต่อมล.} = \frac{\text{จำนวนเซลที่นับได้ทั้งหมด} \times \text{ปริมาตรตัวอย่าง} \times \text{ปริมาตรสี} \times 4 \times 10^{6}}{\text{จำนวนพื้นที่ที่นับ} \quad \text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

$$= \frac{X}{9} \times 4 \times 10^{6} \times DF$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar)

6.1 วัตถุดิบและสารเคมี

6.1.1 มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200	กรัม
6.1.2 Glucose	20	กรัม
6.1.3 Agar	15	กรัม

6.2 วิธีการ

6.2.1 ต้มมันฝรั่งเป็นเวลา 1 ชั่วโมงในน้ำกลั่น 1000 มล.

6.2.2 กรองเอาน้ำใส เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มล.

6.2.3 เติม Glucose และ Agar ต้มให้ละลาย

6.2.4 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้