422 13444

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง การศึกษาผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

(A study on effect of Cotylelobium lanceolatum's bark extract on alcoholic fermentation)

alcoholic

T096934

โดย

นายชาติชาย กะตะเวที

นายนิรุทธิ์ สรรพพากย์พิสุทธิ์

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

.... 9/4/30 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(อาจารย์ วราวุฒิ ครูส่ง) .../.../...

.... 9/4/30 กรรมการของภาควิชา

(อาจารย์ วุฒิชัย นาครักษา)

.... 9/4/30 กรรมการของภาควิชา

(อาจารย์ อนงค์ วรอุไร)

ปพ.
ธ514ก
2530

ลขหมู่.........
เลขทะเบียน 96934
วัน.เดือน.ปี - 5 JUN 2009

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

....

(รศ. ...)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 10 เดือน ..เมษายน.. พ.ศ. 2530

ACC. NO........................
Date Re.... 1 ก.ค. 2530
Call No.........

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ (45497)

เรื่อง

การศึกษาผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

(A study on an effect of Cotylelobium lanceolatum's bark extract on alcoholic fermentation)

โดย

นาย ชาติชาย กะตะเวที

นาย นิรุทธิ์ สรรพพากย์พิสุทธิ์

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การศึกษาผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล
(A study on an effect of Cotylelobium lanceolatum's bark extract on alcoholic fermentation)

ไม้เคี่ยมเป็นไม้ชนิดหนึ่งที่มีมากในป่าดงดิบทางภาคใต้ของไทย ซึ่งชาวบ้านนิยมนำมาใส่ลงในกระบอกน้ำตาลสด เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ ที่เป็นสาเหตุให้น้ำตาลสดเสีย มีผู้ทำการศึกษาพบว่า สารสกัดจากไม้เคี่ยมมีผลในการยับยั้งยีสต์บางสายพันธุ์ ซึ่งมีผลในการยับยั้งเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SC - 90 น้อยที่สุด จึงได้นำคุณสมบัติของสารสกัดจากไม้เคี่ยมมาศึกษา ผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* SC - 90

ผลจากการทดลองพบว่า การเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 1.5 ในเวลาชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก มีผลในการยับยั้งเซลแบคทีเรียมากกว่าเซลยีสต์ โดยมีผลยับยั้งแบคทีเรียภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากที่เติมสารสกัด และยังพบว่าการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 6 มีผลทำให้อัตราการผลิตแอลกอฮอล์รวดเร็วและสูงขึ้น และมีการใช้น้ำตาลในการหมักต่ำลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบคุณอาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ และช่วยชี้แนะแนวทางในการดำเนินการทำปัญหาพิเศษลุล่วงได้ด้วยดี และนอกจากนั้นขอขอบคุณมายังทางโรงงานสุราอยุธยา สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร บางเขน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ จนปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

ชาติชาย กะตะเวที
นิรุทธิ์ สรรพากย์พิสุทธิ์
เมษายน 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(1)
สารบาญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	14
วิจารณ์ผลการทดลอง	42
สรุป	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของ Final molasses	4
2	ผลของการหมักน้ำตาลด้วยเชื้อยีสต์	8
3	การเปลี่ยนแปลงของน้ำส่าและเซลยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	21
4	จำนวนแบคทีเรียที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	22
5	ลักษณะเชื้อแบคทีเรียที่พบในระหว่างการหมักแอลกฮอล์ด้วยกากน้ำตาล	24
6	กลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการหมักแอลกฮอล์จากกากน้ำตาล	25
7	ผลของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล	26
8	ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล	28
9	ผลของการเติมเนื้อไม้เคี่ยมในปริมาณต่าง ๆ ต่อผลของการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90 ในชั่วโมงที่ 28	29
10	ผลการเติมสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90 ในชั่วโมงที่ 28	30
11	ผลการเติมเนื้อไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 5 ที่เวลาต่าง ๆ ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่		หน้า
12	ผลการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90 ในชั่วโมงที่ 28	33
13	ผลการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	35
14	ผลการเปลี่ยนแปลงของเซลยีสต์ ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	36
15	ผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลในน้ำส่า ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	37
16	ผลการเปลี่ยนของพีเอชในระหว่างการหมักแอลกฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc-90	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แนวทางในการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำตาลกลูโคส	7
2	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ไม้เคี่ยมเป็นไม้ยืนต้นชนิดหนึ่งที่ชาวบ้านใช้ส่วนของเปลือก นำไปย่างไฟจนแห้งแล้วใส่ลงในกระบอกน้ำตาลสด เพื่อป้องกันการเสียของน้ำตาลสดเนื่องจากจุลินทรีย์ จากการศึกษา (บุรินทร์, 2529) พบว่าสารสกัดจากไม้เคี่ยมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในการหมักไวน์สับปะรดด้วยเชื้อ Saccharomyces Cerevisiae Sc. 90 โดยใช้สารสกัด 1 เปอร์เซ็นต์ ได้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์สูงสุดหลังการหมักเป็นเวลา 5 วัน

ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล โดยปกติมีแบคทีเรียปนเปื้อนซึ่งเป็นปัญหาต่อการหมัก มีผลให้ประสิทธิภาพการหมักลดลง ได้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำ ดังนั้นคุณสมบัติของสารสกัดจากไม้เคี่ยม ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ไม่มีผลต่อยีสต์ที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล น่าที่จะนำไปใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่มีต่อจุลินทรีย์
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดที่มีต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ไม้เคี่ยมเป็นไม้ยืนต้นชนิดหนึ่ง ซึ่งมีมากในประเทศไทย ตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงไป ซึ่งจัดอยู่ในตระกูล Disterocarpaceal มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Cotylelobium lanceolatum craib (ลัดดาวัลย์, 2524)

ลักษณะของไม้เคี่ยม

ไม้เคี่ยมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางจึงใหญ่ มีความสูง 20 - 40 เมตร พบได้ในป่าดงดิบทางภาคใต้ของประเทศไทย ลักษณะเปลือกนอกเรียบ มีสีน้ำตาล มีรอยด่างสีเทาสลับเหลือง เปลือกด้านในเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อทิ้งไว้นาน ๆ จะเป็นสีน้ำตาลแก่ หรือสีน้ำตาลเกือบดำ ลักษณะของเนื้อไม้เสี้ยนค่อนข้างสั้น แข็งเหนียว หนัก และแข็งแรงมาก (จำลอง,2526) จัดอยู่ในจำพวกไม้เนื้อแข็ง (ณรงค์,2523)

ประโยชน์ของไม้เคี่ยม

เนื้อไม้ใช้ในการก่อสร้าง ส่วนของเปลือกมีสารแทนนินมาก ใช้ในการฟอกหนัง เป็นยาฝาดสมาน และใส่ในกระบอกน้ำตาลสดป้องกันการหมักของน้ำตาล (ลัดดาวัลย์,2524)

Faparusi และ Bassir (1972 a) ทดลองปฏิกิริยาของสารที่สกัดจากเปลือกไม้ Saccoglottis gabonensis ต่อจุลินทรีย์ในน้ำตาลสด พบว่าสารสกัดจากเปลือกไม้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์อย่างมีนัยสำคัญด้วย สำหรับการที่เปลือกไม้ช่วยป้องกันการเสียของน้ำตาลสดได้เนื่องจากมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรด

บุรินทร์ ริมคีรี (2529) ทดลองการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดจากไม้เคี่ยม พบว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อ Saccharomyces cerevisiae SC.90 น้อยที่สุด ส่วนผลการยับยั้งสายพันธ์ montrachet, burgundy, Sake, Champange สูงขึ้นตามลำดับ และพบว่าการหมักไวน์สับปะรดด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae SC.90 โดยเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 1 ของน้ำหนัก จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด รองลงมาคือการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากน้ำตาล (Molasses)

กากน้ำตาลเป็นของเหลวที่หล่อเลี้ยงผลึกน้ำตาล มีลักษณะข้นเหนียว สีน้ำตาลปนดำ และได้แยกออกจากผลึกน้ำตาลโดยวิธีทางกล เช่น แยกด้วยหม้อปั่นในขั้นสุดท้าย และไม่นำกลับไปผลิตน้ำตาลอีก กากน้ำตาลมี 3 ชนิด แล้วแต่กรรมวิธีผลิตน้ำตาลคือ

1. Blackstrap Molasses หมายถึงกากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว ปกติมีน้ำตาลอยู่ร้อยละ 50 - 60

2. Refinary Molasses หมายถึงกากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ มีน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 48

3. Invert or Hightest Molasses หมายถึง กากน้ำตาลที่ได้จากการนำบางส่วนของน้ำออกโดยอาศัยการระเหย กากน้ำตาลชนิดนี้ไม่มีน้ำตาลชนิดที่นำไปทำน้ำตาลทราย โดยปกติประกอบด้วยน้ำตาลอินเวริท ร้อยละ 77 น้ำร้อยละ 14 และสารอื่น ๆ อีกร้อยละ 9 (พูนสุข,2523)

ในกรรมวิธีผลิตน้ำตาลทรายขาว จะได้กากน้ำตาลออกมาในระหว่างการผลิตเป็น 3 ขั้น ด้วยกัน คือ

First Molasses หรือ A - Molasses

Second Molasses หรือ B - Molasses

Final Molsses หรือ C - Molasses

กากน้ำตาลชนิด A และ B สามารถนำไปใช้ในกรรมวิธีผลิตน้ำตาลได้อีก ส่วนกากน้ำตาลชนิด C ไม่สามารถนำกลับไปใช้ในกระบวนการผลิตน้ำตาลได้อีกต่อไป สำหรับส่วนประกอบของ Final molasses แสดงอยู่ในตารางที่ 1 พบว่า มีน้ำตาลทั้งหมด ร้อยละ 50 - 60

ประโยชน์ของกากน้ำตาล

กากน้ำตาลสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้โดยตรง และยังสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของ Final molasses

ส่วนประกอบ	ร้อยละของสารประกอบ
น้ำ	17-25
น้ำตาลซูโครส	30-40
น้ำตาลอินเวริท	10-25
เถ้า	7-15
ไนโตรเจน	0.86
ฟอสฟอรัส	0.81
โปแตสเซี่ยม	3.0
แคลเซี่ยม	0.5
เหล็ก	0.045
ทองแดง	0.045
โซเดียม	0.38

ที่มา : ภัทรา (2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ประโยชน์โดยตรง เช่น ส่งเป็นสินค้าออก ใช้เป็นปุ๋ย และใช้เป็นอาหารสัตว์

การนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ แบ่งได้เป็น 5 ประเภท คือ

ก. อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์

ข. อุตสาหกรรมที่เป็นผลได้จากการผลิตแอลกอฮอล์ เช่น เอททีลีน โพลีเอททีลีน โพลีสไตลีน โพลีไวนิลคลอไรด์ เอททีลีนออกไซด์ อะซีโตน อะซิตัลดีไฮด์ บิวตาไดอีน คลอโรฟอร์ม เอททิลคลอไรด์ และอีเทอร์ เป็นต้น

ค. อุตสาหกรรมการหมัก เช่น การผลิตกรดอซีติก กรดบิวทานอล กรดแลคติก กรดซิตริก กลีเซอรอล และซอบิตอล (sorbitol)

ง. อุตสาหกรรมการผลิตยีสต์ ทั้งชนิด Baker's yeast, Feed yeast และ Fodder yeast

จ. อุตสาหกรรมอื่น ๆ เช่น เด็กซ์แตรน กรดอิตาโคนิก กรดอะโคนิติค และโมโนโซเดียมกลูตาเมท

<u>อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์</u>

อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ ทั้งชนิดที่ใช้บริโภค และชนิดที่ใช้ในทางอุตสาหกรรม ส่วนมากผลิตออกจำหน่าย 3 ชนิด ด้วยกัน ดังนี้

1. แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ร้อยละ 95 ใช้ในทางการแพทย์และอุตสาหกรรม

2. Denature Alcolol ใช้ในทางอุตสาหกรรม

3. สุราชนิดต่าง ๆ ใช้บริโภค เช่น สุราขาว สุราผสม และสุราปรุงพิเศษ

แอลกอฮอล์ที่ผลิตจากการหมักวัตถุจำพวกน้ำตาลและแป้ง โรงงานสุราในประเทศส่วนมากใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ เนื่องจากราคาถูกกว่าการใช้วัตถุดิบชนิดอื่น ในการผลิตสุรา 1 เท (20 ลิตร หรือ 32 ขวด ขนาดความจุขวดละ 0.625 ลิตร) ชนิด 40 ดีกรี จะใช้กากน้ำตาล 36.59 กิโลกรัม หรือใช้ปลายข้าว 24.61 กิโลกรัม แต่ราคาของกากน้ำตาลต่อหน่วย ถูกกว่าราคาปลายข้าว จึงนิยมใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลนี้ นอกจากได้แอลกอฮอล์ ยังได้ผลพลอยได้อื่น ๆ อีก คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งนำไปทำน้ำแข็งแห้ง กลีเซอรีน และกรดซัคซินิก (ภัทรา,2526)

ขบวนการหมักแอลกอฮอล์

การหมักแอลกอฮอล์ที่รู้จักกันโดยทั่วไป เป็นการหมักโดยใช้ยีสต์ในสกุล Saecharomyces เป็นการหมักที่เกิดขึ้นในสภาพที่ไม่ต้องการอากาศ โดยมีแนวทางของการหมักจากน้ำตาลกลูโคส ดังที่แสดงในภาพที่ 1

ตามทฤษฎียีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 51.1 และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.9 โดยน้ำหนักของน้ำตาล ดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 \;|\; + nH_2O \xrightarrow[\text{or acid}]{\text{Enzyme}} nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{Bacteria}]{\text{Yeast}} 2n\,C_2H_5OH + 2nCO_2$$

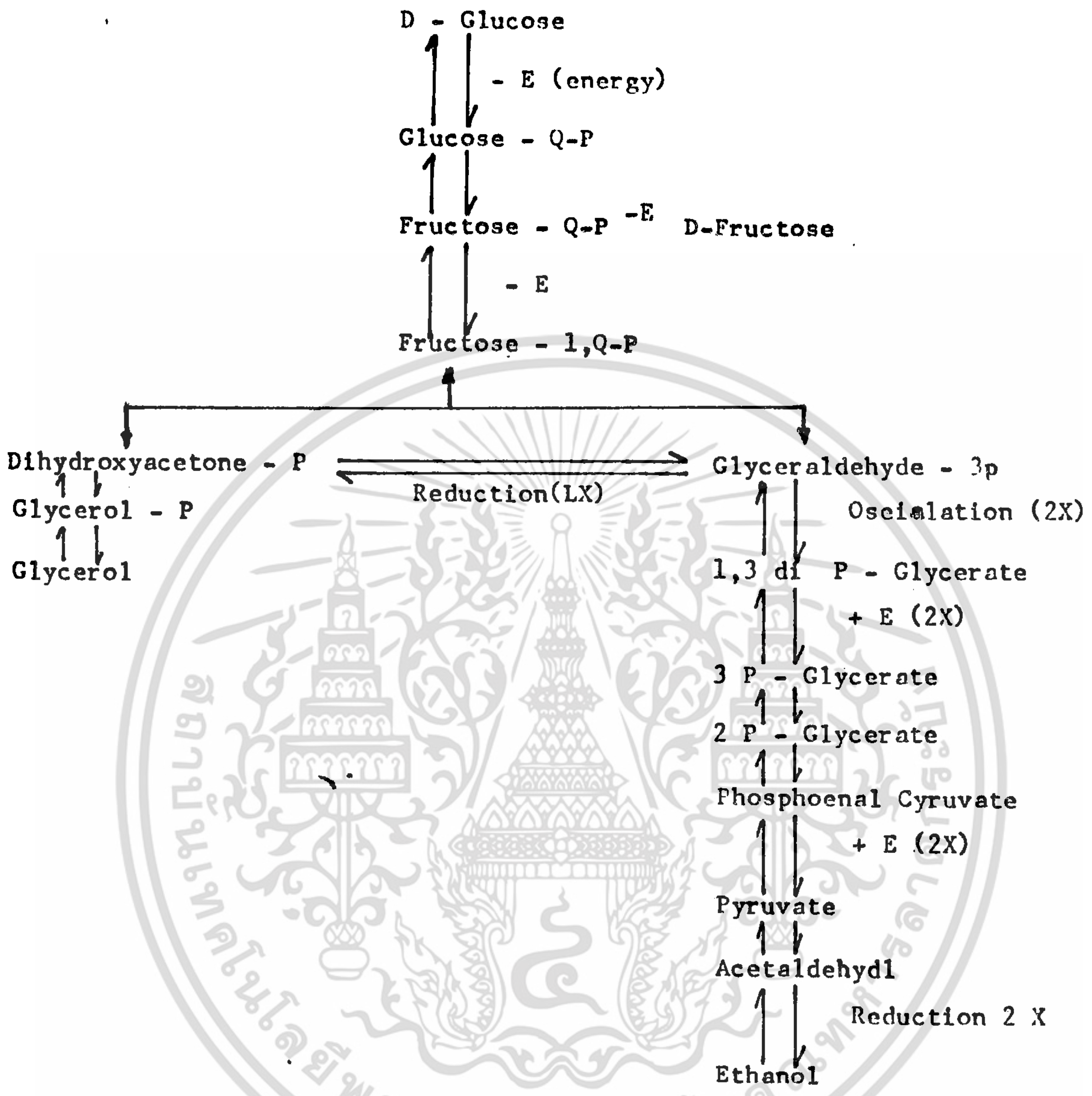
Starch/cellulose/ Hexane		ethanol	Gas
162 grams	180 grams	92 grams	88 grams
	(100%)	(51.1%)	(48.9)

แต่ในทางปฏิบัติ น้ำตาลประมาณร้อยละ 95 เท่านั้นที่เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ นอกนั้นยีสต์ใช้สำหรับการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ปัญหาการหมักแอลกอฮอล์ของโรงงานสุรา

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และคณะ (2526) ได้ศึกษาปัญหาและติดตามการหมักแอลกอฮอล์ จากโรงงานหลายแห่ง ได้แก่ โรงงานสุราอยุธยา โรงงานสุรากรมสรรพสามิต นครปฐม สุราษฎร์ธานี และชุมพร พบว่าโรงงานนิยมใช้น้ำตาลเริ่มต้นสำหรับการหมักค่อนข้างต่ำ กล่าวคือ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ร้อยละ 12 - 16 หลังจากหมักจะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ ๑</u> แนวทางในการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำตาลกลูโคส

ที่มา : Amerine and Ought, 1980

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 2</u> ผลของการหมักน้ำตาลด้วยเชื้อยีสต์

ผลิตภัณฑ์	ผลผลิตที่ได้ร้อยละ
เอธานอล	48.4
คาร์บอนไดออกไซด์	46.5
อะซิทอลดีไฮด์	0-0.03
กรดอะซิติค	0.05-0.25
กลีเซอรอล	2.5 -3.6
กรดแลคติก	0-0.2
กรดซัคซินิก	0.5 -0.77
ฟูเซลออยด์	0.25-0.5
เฟอฟูรอล	Trace

ที่มา : ปราโมทย์ และจรูญ (2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลกอฮอล์เฉลี่ยร้อยละ 6 - 8 โดยปริมาตรมีบ่อยครั้งที่โรงงานประสบกับปัญหาการหมักตกต่ำลง สาเหตุเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียเกิดขึ้นมากถึง 9.1×10^7 เซล/มล. แบคทีเรียที่ทำให้เกิดปัญหาเหล่านี้ พบว่าส่วนใหญ่เป็นพวกแกรมบวกรูปร่างเป็นท่อน ไม่พบการสร้างสปอร์ ไม่สร้างเอ็นไซม์คะตะเลส สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45-50° ซ. สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงร้อยละ 8 - 10 ได้ด้วย เมื่อเชื้อเจริญในกากน้ำตาลจะสร้างกรดและก๊าซจำนวนมาก และเมื่อเจริญในถังหมักจะแย่งอาหารทำให้จำนวนเซลของยีสต์ลดลงกว่าปกติ และแบคทีเรียจะเจริญเป็นเส้นสายสานกันเป็นร่างแหจับพาเซลยีสต์ตกตะกอนเป็นก้อนที่ก้นถัง

จรูญ คำนวนตา (2524) พบว่า แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่สร้างกรด เช่น พวกสร้างกรดแลคติก และกรดน้ำส้มสายชู โดยปกติแบคทีเรียจะเจริญเร็วกว่าเชื้อยีสต์ เมื่อแบคทีเรียสร้างกรดมากขึ้นยีสต์จะเจริญไม่ได้ ช่วง 8 ชั่วโมงแรกของการหมักนับว่ามีความสำคัญมากที่สุด ถ้าแบคทีเรียมากตั้งแต่ช่วงแรกของการหมักก็เกือบจะไม่ได้แอลกอฮอล์เพราะยีสต์เพิ่มจำนวนไม่ได้ แต่ถ้าภายใน 8 ชั่วโมง ยีสต์เพิ่มจำนวนขึ้นมาได้แล้วก็จะสร้างแอลกอฮอล์ ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย การหมักก็จะดำเนินต่อไปได้ ถึงแม้ตรวจพบว่าแบคทีเรียแต่ความเสียหายจะมีน้อย

<u>สาเหตุของการปนเปื้อนของแบคทีเรีย</u>

สาเหตุของการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เนื่องมาจากหลายสาเหตุ ดังนี้ (จรูญ, 2523)

1. จากเชื้อในหลอดที่เก็บไว้ไม่บริสุทธิ์ มีแบคทีเรียปนอยู่ ทำให้แบคทีเรียลุกลามไปยังกล้าเชื้อและถังหมักใหญ่ได้

2. การเตรียมกล้าเชื้อไม่ดีพอ มีแบคทีเรียปะปนอยู่มาก เป็นเพราะการฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่หมด ภาชนะไม่สะอาด และปิดจุกไม่ดี เชื้อจากอากาศเข้าไปได้

3. แบคทีเรียจากกากน้ำตาลมีมากเกินไป พบว่ากากน้ำตาลต้นฤดูหีบที่มาจากโรงงานใหม่ ๆ จะมีแบคทีเรียน้อยมาก เป็นพวกที่สร้างสปอร์ปริมาณประมาณ 100 เซล/มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่กากน้ำตาลที่เก็บไว้ค้างปี โดยเฉพาะถ้ามีน้ำตาลต่ำกว่าร้อยละ 50 แล้ว จะตรวจพบแบคทีเรียมากถึง 10 - 100 x 10^6 เซล/มล.

<u>บทบาทของแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม</u>

ณัฐศิษฏ์ (2528) ศึกษาบทบาทของแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม ได้คัดเลือกแบคทีเรียที่ทำให้ประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์จากกากน้ำตาลลดต่ำลง ผลจากการใช้แบคทีเรียที่แยกได้จากกากน้ำตาลจำนวน 463 เชื้อร่วมกับยีสต์ *Saccharomyces cerrevisise* Sc - 90 หมักแอลกอฮอล์โดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรด (คำนวนในรูปกรดแลกติก) ได้สูง และทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำลงได้ 6 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลทที่แยกได้จากน้ำส่าขณะกำลังหมักนี้ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนต่อกันเป็นสายโซ่ แกรมบวก มีทั้งพวก Homofermentative และ Heterofermontative เชื้อในกลุ่มดังกล่าว ได้แก่ *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbruckii*

เชื้อดังกล่าวนี้เชื้อ *Lactobacillus delbruckii* เป็นแบคทีเรียที่หมักน้ำตาลกลูโคสแล้วให้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว ไม่ให้ก๊าซ จัดเป็นพวก Homofermentative ส่วน *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสแล้วให้กรดและก๊าซ ซึ่งกรดส่วนใหญ่ คือกรดแลคติก เป็นกรดที่ไม่ระเหย และกรดซิตริคเป็นกรดระเหย อาจพบกรดฟอร์มิกบ้างในบางสายพันธ์ ส่วนก๊าซที่ได้ก็คือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรีย พวกนี้จัดเป็นพวก Heterofermentative

<u>การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์</u>

การควบคุมขบวนการหมักให้ถูกต้อง เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการหมัก ทั้งยังตัดปัญหาการหมักตกต่ำอีกด้วย ในการหมักควรมีการควบคุมขั้นตอนการผลิตต่าง ๆ ดังนี้ (ปราโมทย์, จรูญ 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. <u>ขั้นตอนเกี่ยวกับเชื้อและเตรียมกล้าเชื้อ</u> เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการหมัก เพราะถ้าเชื้อไม่ดีอ่อนแอ หรือมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ตั้งแต่ขั้นนี้ จะก่อให้เกิดความเสียหายต่อการหมักอย่างมาก ข้อควรคำนึงถึงในขั้นนี้ได้แก่

ก. เลือกใช้ยีสต์สายพันธ์ดี มีความสำคัญเป็นอันดับแรก เพราะมีหน้าที่ในการหมักโดยตรง ลักษณะที่ควรเลือก ได้แก่ ทนแอลกอฮอล์และสามารถหมักได้รวดเร็ว เจริญและหมักได้ดีที่อุณหภูมิสูง ทนต่อความเป็นกรดได้ดี ทนต่อสารต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหมักจากกากน้ำตาล ให้กลิ่นรสดี และมีความคงทนของสายพันธ์ ไม่กลายพันธ์ได้ง่าย

ข. เลือกใช้เชื้อบริสุทธิ์ปราศจากเชื้อแปลกปลอม โดยถ่ายเชื้อและเก็บรักษาอย่างดีไม่ให้มีเชื้อจรลงไปปนเปื้อนโดยเด็ดขาด

ค. เลือกใช้อาหารที่สมบูรณ์สำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ มีแหล่งคาร์บอนไนโตรเจน แร่ธาตุ และไวตามิน ครบถ้วน

ง. เตรียมกล้าเชื้อโดยกรรมวิธีที่ปราศจากเชื้อ ต้องการไม่ให้มีเชื้อจรปนเปื้อน ลงไปในการเตรียมกล้าเชื้อทุกขั้นตอน

จ. ใช้กล้าเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมไม่น้อยเกินไป โดยใช้กล้าเชื้อประมาณร้อยละ 5 ขึ้นไป จะช่วยป้องกันเชื้อปนเปื้อนได้อย่างดี ไม่ควรใช้กล้าเชื้อต่ำกว่าร้อยละ 3 หรือมีจำนวนเซลเริ่มต้นไม่ต่ำกว่า 1×10^7 เซล/มล.

ฉ. ถ่ายในช่วงที่กล้าเชื้อครบอายุและสมบูรณ์เต็มที่ คือในช่วงที่ยีสต์แบ่งตัวเต็มที่ มีจำนวนเซลสูงสุด ประมาณ 10^8 เซลขึ้นไป ปกติจะใช้กล้าเชื้อที่มีอายุ 12 - 24 ชั่วโมง แล้วแต่สภาพการเลี้ยง เช่น ปริมาณน้ำตาล, ร้อยละของกล้าเชื้อช่วงก่อน

ช. ถ่ายลำทันทีที่เตรียมน้ำหมักเสร็จเรียบร้อย เป็นการลดโอกาสที่แบคทีเรียที่ปะปนมากับกากน้ำตาล เจริญแข่งกับยีสต์

ซ. ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำตาล ประมาณร้อยละ 10%16 พีเอช 4.0-5.0 อุณหภูมิ 30 - 34° ซ ถ้ามีการให้อากาศในช่วงแรกจะทำให้ยีสต์แข็งแรงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ กากน้ำตาลที่ดีจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดร้อยละ 55 ขึ้นไป แต่โดยทั่วไปกากน้ำตาลจะมีปริมาณน้ำตาลต่ำกว่านี้ เนื่องจากสูญเสียไปในระหว่างการเก็บ กระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดมาตรฐานกากน้ำตาล (มอก. 394-2524) ว่า กากน้ำตาลที่ได้มาตรฐานจะต้องมีน้ำตาลทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 บริกซ์ไม่น้อยกว่า 79 เถ้าซัลเฟตไม่เกินร้อยละ 11 และความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 5-6 กากน้ำตาลมีน้ำเจือปน หรือปริมาณร้อยละของน้ำตาลต่ำกว่ามาตรฐาน เมื่อนำมาเก็บไว้จะเกิดแบคทีเรียสะสม สร้างกรดและทำให้สูญเสียน้ำตาล เกิดปัญหาต่อการหมักอย่างมาก

3. การควบคุมปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการหมัก

ก. ความเข้มข้นของน้ำตาล การผ่าส่าที่ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นต่ำ จะได้แอลกอฮอล์ต่ำแต่มีความแน่นอนในการหมัก คือยีสต์จะหมักน้ำตาลได้หมดโดยง่ายอย่างใกล้ชิด เพราะอาจหยุดหมักก่อนกำหนดได้ พบว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่ยีสต์จะเจริญและหมักแอลกอฮอล์ได้เร็วกว่าที่ความเข้มข้นสูง

ข. การควบคุมอุณหภูมิภายในถังหมัก อุณหภูมิมีผลอย่างมากในการเจริญและการหมักของยีสต์ ที่อุณหภูมิสูงยีสต์จะเจริญและหมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำกว่าที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้น ในการหมักควรควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 37 ซ ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 40-43 ซ การหมักแอลกอฮอล์จะลดต่ำลงอย่างมาก

ค. ผลของแอลกอฮอล์ต่อการหมัก แอลกอฮอล์มีผลต่อการเจริญของยีสต์ ที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 7 ยีสต์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่ยังสามารถหมักต่อไปได้จนถึงร้อยละ 14 หรือมากกว่าเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับวิธีการหมักและสภาพแวดล้อม

ง. การเติมสารอาหารที่จำเป็นต่อการหมัก การหมักกากน้ำตาลส่วนใหญ่ต้องการสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งอาจเติมในรูปของปุ๋ยแอมโมเนีย หรือยูเรีย ปริมาณที่ใช้ประมาณร้อยละ 0.05 ส่วนการเติม KH_2PO_4 หรือแมกนีเซียมซัลเฟต 0.05% บางครั้งก็ช่วยให้การหมักดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. การป้องกันกำจัดฟอง ในการหมักบางครั้งอาจเกิดฟองขึ้นเป็นจำนวนมากจนล้นออกนอกถัง การป้องกันโดยการใช้น้ำยากำจัดฟอง ได้แก่ Teric 127, Silicone Toshiba TSA 737 Food Grade หรือใช้น้ำมันมะพร้าว ประมาณร้อยละ 0.05-0.001

4. <u>การติดตามการหมักและวิเคราะห์ข้อมูลผลการหมัก</u>

ในการวิเคราะห์ข้อมูลผลการหมัก ตัวอย่างที่ควรเก็บมาวิเคราะห์ได้แก่

ก. ตัวอย่างกากน้ำตาล โดยหาเปอร์เซนต์น้ำตาล พีเอช และค่าความเป็นกรด (acidity)

ข. ตัวอย่างกล้าเชื้อก่อนผ่าส่า โดยนับจำนวนเซลของกล้าเชื้อเพื่อกันเชื้อจร

ค. ตัวอย่างน้ำส่าในขณะหมักช่วงเวลาต่าง ๆ โดยวิเคราะห์ปัจจัยที่สำคัญ เช่น ปริมาณน้ำตาล แอลกอฮอล์ ความเป็นกรด พีเอช เซลยีสต์ และอุณหภูมิภายในถัง

เมื่อได้ผลการวิเคราะห์แล้วควรนำมาใช้ประโยชน์โดยการตีความให้ถูกต้อง เพื่อนำมาใช้ปรับปรุงการหมักต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สารเคมี

- HCL เข้มข้น
- 40 %, 20 % NaOH
- Methylene blue Solution 1 %, 0.2 %
- Sucrose
- Fehling's Solution (Fehling's Solution A,B)
- น้ำกลั่น
- ไม้เคี่ยม
- กากน้ำตาล

2. อุปกรณ์

- Soxhlet Extraction
- กล้องจุลทรรศน์
- หม้อนึ่งความดัน
- ตู้อบ (Oven)
- เครื่องแก้วต่าง ๆ
- Rotary Evaporator
- pH meter
- Hot Plate
- Hemacytometer
- Ebulliometer
- จานเลี้ยงเชื้อ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ลวดเขี่ยเชื้อ

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- PDA
- Modify MY Agar

4. เชื้อจุลินทรีย์

- *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90

5. วิธีการทดลอง

5.1 การสกัด (Extraction)

นำเนื้อไม้เคี่ยมมาบดจนเป็นผงละเอียด แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรง จากนั้นนำผงไม้เคี่ยมปริมาณ 30 กรัม ไปทำการสกัดด้วยเครื่อง Soxhlet Extraction โดยใช้เอธานอน 95 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาสกัด 6 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสีของสารสกัดใน columm ใส นำสารที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จากนั้นเทสารสกัดใส่ขวดแก้วทึบแสง และทำการ Rinse ต่อด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ได้เป็นสารสกัดไม้เคี่ยมทั้งหมด

5.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลยีสต์และแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

5.2.1 การเตรียมกากน้ำตาล โดยนำกากน้ำตาลมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการไตเตรตกับ Fehling's Solution และใช้ Methylein blue 1 % เป็น indicator

5.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ โดยถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90 จาก Stack culture ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MY Agar slant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 - 48 ชั่วโมง เตรียมกากน้ำตาลเหลวให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ร้อยละ 5 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.05 นำมาฆ่าเชื้อโดยนึ่งในหม้อความดันที่ 250 °ฟ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารลงในอาหารกากน้ำตาล บ่มที่อุณหภูมิห้อง 12 - 24 ชั่วโมง

5.2.3 การหมักโดยเตรียมกากน้ำตาลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ร้อยละ 15 - 18 พีเอช 4.5-5 เติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.05 จากนั้นถ่ายกล้าเชื้อลงในอาหารกากน้ำตาลทันทีที่เตรียมเสร็จ ทำการหมัก 36 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0 และทุก ๆ 4 ชั่วโมง มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของการหมัก

5.2.4 การตรวจนับเซลของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก โดยเก็บตัวอย่างในชั่วโมงการหมักที่ 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 มาทำให้เจือจางเป็น 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} แล้วนำไป Pour Plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ modified MY agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว

(หมายเหตุ); ในการปฏิบัติการ ทำครั้งละ 3 ขวดที่ใช้ในการหมักปริมาตร 10 ลิตร ใส่กากอาหารน้ำตาล 5 ลิตร ปิดจุกด้วยสำลี ไม่มีการกวนในระหว่างการหมัก)

5.2.5 วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของน้ำส่า ในระหว่างการหมัก

ก. หาปริมาตรน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 1975)

ข. หาปริมาตรแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่อง Ebulliometer

ค. วัดพีเอชด้วย พีเอชมิเตอร์

ง. ตรวจนับจำนวนเซลยีสต์ โดยใช้ Hemacytometer และกล้องจุลทัศน์กำลังขยาย 40

5.3 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมัก

5.3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปลง MY agar (ภาคผนวก) จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อเทใส่จานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ในเย็นเพื่อนำไปใช้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.2 นำตัวอย่างน้ำส่าจากถังหมักที่เวลาต่าง ๆ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีระดับความเจือจางเท่ากับ 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} ตามลำดับ

5.3.3 ดูดสารละลายที่ความเจือจางที่ได้จากข้อ 5.2.1 จากนั้นกระจายเชื้อด้วยแท่งแก้วให้เชื้อกระจายบนผิวหน้า บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5.3.4 สังเกตเชื้อที่เจริญขึ้นมาในช่วงเวลาต่าง ๆ ของน้ำส่าที่ใช้ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ แล้วจึงเลี้ยงไว้ใน modified MY agar slant เพื่อไว้ศึกษาการย้อมสีแกรมและการยับยั้งด้วยสารสกัดไม้เคี่ยมต่อไป

5.4 การยับยั้งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์

5.4.1 นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากข้อ 5.2.4 มาถ่ายใส่อาหาร modified MY agar slant บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่ นำมาทำเป็นสารละลายของเชื้อด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ลวดเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อให้กระจายโดยทั่วทั้งหลอด

5.4.2 ดูดสารละลายเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 5.3.1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร modified MY agar แล้วกระจายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารด้วยแท่งแก้ว

5.4.3 นำแผ่น disc (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 มิลลิเมตร ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มสารสกัดไม้เคี่ยม วางบนเชื้อแบคทีเรียที่กระจายอยู่บนผิวหน้าอาหาร (ตามข้อ 5.3.2) จากนั้นก็จุ่มแผ่น disc ในน้ำกลั่นและแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซนต์ ตามลำดับลงในอาหารในจานเลี้ยงเชื้อเดิม

5.4.4 บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.4.5 ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากไม้เคี่ยม น้ำกลั่น และแอลกอฮอล์ 95% โดยทำการวัดบริเวณเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งต่อไป

96934

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5 ทดสอบผลการเติมเนื้อไม้และสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

5.5.1 เตรียมกากน้ำตาล กล้าเชื้อยีสต์ และทำการหมักเช่นเดียวกับข้อ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.3

5.5.2 หมักโดยเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 5 ของน้ำหมักที่ชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก แล้วเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 28 มาวิเคราะห์

5.5.3 หมักโดยการเติมเนื้อไม้เคี่ยม โดยเติมเนื้อไม้ที่บดละเอียดแล้วในปริมาณร้อยละ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 5.0 ของน้ำหมักที่ชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก แล้วเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 28 มาวิเคราะห์

5.5.4 หมักโดยไม่เติมสารชนิดใดลงในน้ำส่า เพื่อใช้เปรียบเทียบ เก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0, และ 28, มาวิเคราะห์

5.5.5 วิเคราะห์น้ำส่าเช่นเดียวกับข้อ 5.2.5

(หมายเหตุ ในการปฏิบัติทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ขวดที่ใช้ในการหมักปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่น้ำส่า 150 มิลลิลิตร ปิดจุกสำลี ปริมาตรสารสกัดต่อน้ำส่าใช้โดยปริมาตรต่อปริมาตร ส่วนปริมาณเนื้อไม้เคี่ยมต่อน้ำส่าใช้โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

5.6 ทดสอบการเติมเนื้อไม้และสารสกัดจากไม้เคี่ยมในเวลาที่เหมาะสมต่อการหมัก

5.6.1 เตรียมกากน้ำตาล กล้าเชื้อยีสต์ และทำการหมักเช่นเดียวกับข้อ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.3

5.6.2 หมักโดยเติมสารสกัดและเนื้อไม้ ในปริมาณที่หาได้จากข้อ 5.5 ในชั่วโมงการหมักที่ 8, 16, 24 เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 28 มาวิเคราะห์

5.6.3 หมักโดยไม่เติมสารลงในน้ำส่าเพื่อใช้เปรียบเทียบ เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 และ 28 มาวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6.4 วิเคราะห์น้ำส่า เช่นเดียวกับ ข้อ 5.2.5

5.7 ศึกษาการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักที่เติมเนื้อไม้และสารสกัดไม้เคี่ยมในเวลาและปริมาณที่เหมาะสม

5.7.1 เตรียมกากน้ำตาล และกล้าเชื้อยีสต์ และทำการหมักเช่นเดียวกับข้อ 5.2.1, 5.2.2, 5.2.3

5.7.2 หมักโดยเติมสารสกัด และเนื้อไม้ในปริมาณที่หาได้จากข้อ 5.4 ที่เวลาที่หาได้จากข้อ 5.5 เก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0, 4, 8, 12, 16, 24, 28, 32, 36 มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของการหมักเช่นเดียวกับข้อ 5.2.5

5.7.3 หมักโดยไม่เติมสารลงในน้ำส่าเพื่อใช้เปรียบเทียบ เก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0, 4, 8, 12, 20, 24, 28, 32, 36 มาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของการหมักเช่นเดียวกับข้อ 5.2.5

5.7.4 วิเคราะห์น้ำส่า เช่นเดียวกับข้อ 5.2.5

5.7.5 เปรียบเทียบความแตกต่างและบันทึกผลสรุปวิเคราะห์

(หมายเหตุ ใช้ขวดหมักขนาด 10 ลิตร ใส่น้ำส่า 5 ลิตรปิดจุกด้วยสำลี ไม่มีการกวนในระหว่างการหมัก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อยีสต์ และแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

จากการหมักกากน้ำตาลโดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90 ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ร้อยละ 15 พีเอช เท่ากับ 5.2 และเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.05 โดยใช้กล้าเชื้อปริมาณร้อยละ 5 ใช้เวลาในการหมัก 36 ชั่วโมง ผลของการวิเคราะห์และติดตามการหมักในช่วงทุก ๆ 4 ชั่วโมง แสดงอยู่ในตารางที่ 3 พบว่า การหมักชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 เซลของยีสต์มีปริมาณน้อย ทั้งนี้เนื่องจากอยู่ในช่วงของการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ ดังนั้น การใช้น้ำตาลและการหมักแอลกอฮอล์จึงมีน้อยมาก ส่วนในชั่วโมงการหมักที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 16 พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของเซลยีสต์อย่างรวดเร็ว เซลยีสต์เข้าสู่ช่วงของการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (Log phase) จึงทำให้มีการใช้น้ำตาลสูง แต่ยังไม่มีการหมักแอลกอฮอล์มากนัก และเกิดกรดขึ้นเล็กน้อย ทำให้พีเอชลดลงจาก 5.2 เหลือ 4.7 ในชั่วโมงที่ 16 และในช่วงของการหมักชั่วโมงที่ 16 ถึงชั่วโมงที่ 28 พบว่าอัตราการเพิ่มของเซลยีสต์เริ่มคงที่ เข้าสู่ช่วง stationary phase การหมักแอลกอฮอล์เริ่มมีมากขึ้น หลังจากชั่วโมงที่ 28 ซึ่งเป็นช่วงสุดท้ายของการหมัก พบว่ามีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในน้ำหมักร้อยละ 7.5 อัตราการตายของเซลยีสต์มีมากกว่าอัตราการเกิด ทำให้จำนวนเซลยีสต์ลดลง การใช้น้ำตาลน้อยลงและการหมักแอลกอฮอล์ช้าลงมาก

สำหรับผลของการศึกษาจำนวนเซลแบคทีเรียในระหว่างช่วงเวลาต่าง ๆ ของการหมักแสดงอยู่ในตารางที่ 4 พบว่า เชื้อแบคทีเรียมีการปนเปื้อนเข้ามาในการหมักตั้งแต่เริ่มต้นการหมัก ในปริมาณที่น้อยต่อจากนั้นจะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อย ๆ จนสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก หลังจากนั้นชั่วโมงที่ 16, 20 เชื้อแบคทีเรียที่สำรวจพบมีปริมาณมากเช่นกัน แต่ไม่สามารถนับจำนวนได้ เพราะมีลักษณะการเจริญกระจายเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนชั่วโมงที่ 24 พบเชื้อที่ปนเปื้อนมากเช่นกัน แต่ลักษณะเชื้อที่พบเป็นเชื้อที่เจริญน้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13411

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของน้ำส่า และเซลยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90

ชั่วโมง	จำนวนเซลยีสต์ (10^7 เซลต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	พีเอช
0	0.72	15.81	0.0	5.2
4	0.95	15.43	0.1	5.2
8	5.31	14.52	0.7	5.1
12	7.0	12.46	1.5	5.0
16	10.3	10.61	3.4	4.7
20	14.2	9.48	5.5	5.1
24	14.3	8.45	0.1	5.1
28	15.2	6.93	7.5	5.0
32	13.41	5.67	7.8	5.1
36	11.8	4.84	7.8	5.1

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 จำนวนเซลของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerrevisiae* Sc - 90

ชั่วโมง	ปริมาณเซลแบคทีเรีย (เซลต่อมิลลิลิตร x 10^6)
0	1.64
4	6.2
8	6.4
12	15.4
16	Nc.sp
20	Nc.sp.
24	
28	11 x 10^7
32	Nc.
36	Nc.

Nc.sp. = ไม่สามารถนับจำนวนเชื้อได้ โดยเชื้อมีลักษณะเป็นแผ่นเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

Nc. = เชื้อมีจำนวนมากกว่า 300 โคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในช่วงต้นของการหมักแต่กลับเพิ่มจำนวนขึ้นมากในชั่วโมงที่ 24 นี้จนไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ และคงสภาพนี้ในชั่วโมงที่ 28, 32, 36 หรือจนสิ้นสุดการหมัก จากกรณีนี้สามารถอธิบายได้ว่า เชื้อตัวนี้มีความสามารถในการต้านทานสภาพที่มีแอลกอฮอล์จากการหมักได้ดีพอสมควร

2. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่พบในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

เชื้อแบคทีเรียที่พบในระหว่างการหมัก แสดงอยู่ในตารางที่ 5 พบว่ามีเชื้อที่เจริญขึ้นมาในแต่ละช่วงเวลาแตกต่างกัน แต่เท่าที่พบส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก ดังนั้นจึงทำการแยกแบคทีเรียตามลักษณะรูปร่างของเซลได้ออกเป็น 5 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยที่กลุ่ม 1 เซลมีลักษณะเป็นท่อนต่อกันเป็นเส้นสายยาว กลุ่มที่ 2 เซลมีลักษณะเป็นท่อน และมีสปอร์อยู่ด้านเดียว กลุ่มที่ 3 เซลมีรูปไข่ กลุ่มที่ 4 เซลมีลักษณะกรมอยู่กันเป็นคู่ และกลุ่มที่ 5 เซลมีลักษณะเป็นท่อน มีสปอร์ที่หัวและท้ายเซล

กลุ่มที่สำรวจพบมากที่สุด คือกลุ่มที่ 3 ซึ่งพบเชื้อตัวนี้เจริญเด่นในชั่วโมงที่ 4, 8, 16 ของการหมัก แสดงว่าเป็นเชื้อที่สามารถทนต่อสภาพการหมักได้ดี ทั้งสภาพที่มีแอลกอฮอล์ต่ำ และแอลกอฮอล์ปานกลางของการหมักได้

ข้อสังเกตอีกอย่างคือ เชื้อที่พบจากการสำรวจส่วนใหญ่แล้ว เป็นเชื้อแกรมบวก มีเชื้อที่สร้างกรดอยู่ตัวเดียว คือในชั่วโมงที่ 8 เชื้อดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่มที่ 4 นั่นเอง

3. ผลของการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากไม้เคี่ยม

ผลของการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ด้วยสารสกัดจากไม้เคี่ยม แสดงในตารางที่ 7 พบว่าสารสกัดจากไม้เคี่ยมให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียได้มากกว่าเชื้อยีสต์ ซึ่งแสดงว่าการใช้สารสกัดในการยับยั้งมีผลต่อยีสต์ด้วย แต่ไม่มากเหมือนที่มีผลต่อแบคทีเรีย ถ้าหากนำสารสกัดดังกล่าวใส่ในถังหมักแล้ว อาจจะมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักได้ โดยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนการหมักในปริมาณมาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์และเซลยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียที่พบในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ด้วยกากน้ำตาล

เชื้อ	สีแกรม	ลักษณะเชื้อ
0	+	เป็นท่อนต่อเป็นเส้นสายยาว
4.1	+	เป็นท่อน มีสปอร์ด้านเดียว
4.2	+	รูปไข่ (Oval shape)
8.1*	+	กลม (Cocci) อยู่เป็นคู่
8.1 sp	+	เป็นแท่ง มีสปอร์ด้านเดียว
8.2	+	รูปไข่ (Oval shape)
8.3	+	กลม (Cocci) อยู่เป็นคู่
8.4	+	รูปไข่
12	+	เป็นท่อน มีสปอร์หัว-ท้าย
16.1	+	เป็นท่อน ต่อเป็นเส้นสาย
16.2	+	รูปไข่
26	+	เป็นท่อน มีสปอร์หัว-ท้าย
32	+	รูปไข่

หมายเหตุ : 8.1* แบคทีเรียที่สร้างกรก

8.1 sp แบคทีเรียที่แพร่กระจาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 กลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

กลุ่มที่	สีแกรม	ลักษณะเชื้อ
1	+	เป็นท่อน ต่อกันเป็นเส้นสายยาว
2	+	เป็นท่อน มีสปอร์อยู่ด้านเดียว
3	+	รูปไข่
4	+	กลม อยู่เป็นคู่
5	+	เป็นท่อน มีสปอร์หัว-ท้าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ผลของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

เชื้อ	ผลของการยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	น้ำกลั่น	สารสกัด	แอลกอฮอล์
yeast	-	13.6	10.15
0.1	-	13.7	9.0
4.1	-	15.0	9.3
4.2	-	12.5	9.0
8.1 *	-	13.7	10.3
8.1 sp	-	14.3	13.1
8.2	-	15.0	12.5
8.3	-	11.0	9.7
8.4	-	14.3	10.25
12.1	-	13.5	10.5
16.1	-	13	9.3
16.2	-	12.3	10.0
26.1	-	12.7	10.5
32.1	-	14.95	9.25

หมายเหตุ: ขนาด Disc มีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มิลลิเมตร

8.1* แบคทีเรียที่สร้างกรด

8.1sp แบคทีเรียที่แผกระจาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 8 แสดงผลการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 กลุ่มที่พบ ด้วยสารสกัดจากไม้เคี่ยม พบว่า เชื้อที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดมากที่สุด คือกลุ่มที่ 2 และ 4 ตามลำดับ โดยในกลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อพบน้อยที่สุดในช่วงหลังของการหมัก แต่พบเด่นในช่วงต้น โดยเฉพาะในชั่วโมงที่ 4 ของการหมัก ส่วนเชื้อกลุ่มที่ 4 เป็นเชื้อกลุ่มที่สร้างกรดในขณะหมักซึ่พบในชั่วโมงที่ 8

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ในปริมาณที่ดีพอสมควร และมีผลยับยั้งได้ดีกว่าแอลกอฮอล์ ซึ่งแสดงว่าถ้าไม่เติมสารสกัดในการหมัก เชื้อตัวนี้สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีแอลกอฮอล์ขณะหนึ่ง แต่ถ้าขณะนั้นมีการเติมสารสกัด เชื้อตัวดังกล่าวไม่สามารถเจริญได้ในช่วงเวลานั้น เมื่อเวลาผ่านไปแอลกอฮอล์มีปริมาณมากขึ้น เชื้อก็ไม่สามารถเจริญได้อีกต่อไป

4. ผลการทดสอบการเติมเนื้อไม้และสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล

การหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลโดยปรับให้น้ำตาลเริ่มต้นมีความเข้มข้นร้อยละ 18.53 พีเอช 5.2 และมีจำนวนเซลยีสต์เริ่มต้น 0.24×10^7 เซลต่อมิลลิลิตร ทำการหมักด้วยเชื้อ <u>Saccharomyces cerevisiae</u> Sc-90 เป็นเวลา 28 ชั่วโมง ผลของการหมักแสดงในตารางที่ 9 และ 10 พบว่า ในกรณีของการเติมเนื้อไม้ในปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมักส่งผลทำให้เซลยีสต์มีปริมาณสูงสุด และแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักสูงสุดด้วยเช่นกัน ส่วนการเติมเนื้อไม้ในปริมาณร้อยละ 1.5, 2.0 และ 2.5 ทำให้ได้จำนวนเซลยีสต์และแอลกอฮอล์ในน้ำส่าในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้แล้ว ค่าความแตกต่างของพีเอชในระหว่างการเติมเชื้อไม้ปริมาณต่าง ๆ มีน้อยมาก

เปรียบเทียบผลการหมักโดยไม่เติมสารใดเลยกับการหมักโดยเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 พบว่า การหมักโดยไม่เติมสารใดเลยให้ผลของความเข้มข้นแอลกอฮอล์ จำนวนเซลยีสต์ และพีเอช สูงกว่า แต่มีผลของน้ำตาลที่ถูกใช้ไปต่ำกว่าการหมักที่เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาล

กลุ่มที่	ผลการยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	น้ำกลั่น	สารสกัด	แอลกอฮอล
1	-	13.3	9.7
2	-	15.0	9.3
3	-	13.8	10.2
4	-	14.0	10.0
5	-	13.5	11.3

หมายเหตุ : Disc มีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 7 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ผลของการเติมเนื้อไม้เคี่ยมในปริมาณต่าง ๆ ต่อผลของการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisise* Sc-90 ในชั่วโมงที่ 28

ปริมาณเนื้อไม้ (ร้อยละ)	จำนวนเซลยีสต์ (10^7 เซลล์/มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	พีเอช
Control	12.72	5.73	7.4	5.2
0.5	6.32	5.53	6.9	4.9
1.0	6.28	5.11	7.0	4.9
1.5	6.89	4.83	7.1	5.0
2.0	6.94	4.93	7.1	5.0
2.5	6.92	4.88	7.1	5.0
5.0	7.01	4.63	7.2	5.0
ชั่วโมงที่ 0	0.24	18.53	-	5.2

หมายเหตุ : 1. เติมเนื้อไม้ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก (ปริมาณเนื้อไม้ต่อน้ำส่า คิดเป็นน้ำหนักต่อปริมาตร)

2. Control = การหมักโดยไม่เติมสารชนิดใดเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ผลการเติมสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90 ในชั่วโมงที่ 28

ปริมาณสารสกัด (ร้อยละ)	จำนวนเซลยีสต์ (เซลต่อมิลลิลิตร x 10^7)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	พีเอช
Control	12.72	5.73	7.4	5.2
0.2	5.74	7.6	7.1	4.9
0.5	8.15	5.79	7.2	5.0
1.0	9.65	5.64	7.7	5.1
1.5	9.63	5.19	7.9	5.1
2.0	8.42	6.50	7.7	5.0
2.5	7.75	7.79	7.7	5.0
3.0	2.61	8.21	6.5	5.1
5.0	0.55	9.24	6.1	5.0
ชั่วโมง 0	0.24	18.53	-	5.2

หมายเหตุ : 1. เติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก (ปริมาณสารสกัดต่อน้ำส่าคิดเป็นปริมาตรต่อปริมาตร)

2. Control= การหมักโดยไม่เติมสารชนิดใดเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนกรณีของการเติมสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก พบว่า การเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.5 ให้ผลความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงสุด แต่พบว่าสารสกัดที่ใช้ในปริมาณร้อยละ 1.0 กลับให้ผลของปริมาณเซลยีสต์สูงกว่าที่ใช้สารสกัดร้อยละ 1.5

การเติมสารสกัดมากกว่าร้อยละ 2.5 ขึ้นไป มีผลในการยับยั้งเซลยีสต์อย่างรวดเร็ว การเติมสารสกัดในประมาณร้อยละ 5 ของน้ำส่า ทำให้จำนวนเซลยีสต์ลดลงจนใกล้เคียงกับจำนวนเซลเริ่มต้น แต่ยังมีการใช้น้ำตาลและมีการหมักอยู่บ้าง ส่วนความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในน้ำส่าลดลงมาก

เมื่อเปรียบเทียบผลการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย กับการหมักโดยเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.5 พบว่าการหมักโดยเติมสารสกัดมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงกว่า มีการใช้น้ำตาลมากกว่า แต่การหมักโดยไม่เติมสารใดเลยมีจำนวนเซลยีสต์สูงกว่า

5. ผลการเติมเนื้อไม้และสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่เวลาที่เหมาะสมต่อการหมัก

ผลการหมักของแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่เติมเนื้อไม้และสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่เวลาต่าง ๆ โดยที่ปริมาณเนื้อไม้และสารสกัดที่ใช้ได้จากการทดสอบในข้อ 4 คือ ใช้เนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 และสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 เนื่องจากมีการผลิตแอลกอฮอล์, จำนวนเซลยีสต์และการใช้น้ำตาลสูงสุด มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 18.53 พีเอช 5.1 และมีจำนวนเซลยีสต์เริ่มต้น 0.53×10^7 เซลต่อมิลลิลิตร แสดงอยู่ในตารางที่ 11 และ 12 ตามลำดับ

ในกรณีของการเติมเนื้อไม้ การเติมในชั่วโมงที่ 8 ทำให้ได้ปริมาณเซลยีสต์และแอลกอฮอล์สูงสุด ส่วนที่เติมลงไปในชั่วโมงที่ 16 และ 24 ให้ผลรองลงมา สำหรับน้ำตาลที่ถูกใช้ไปในระหว่างการหมักพบว่าน้ำตาลที่เติมเนื้อไม้ที่เวลา 24 ชั่วโมง ถูกใช้ไปมากที่สุด รองลงมาได้แก่ช่วงเวลาที่ 8 และ 16

ในการเปรียบเทียบการหมักในน้ำหมักที่ไม่เติมสารใดเลยกับน้ำหมักที่เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก พบว่าในน้ำหมักที่ไม่เติมสารใดเลยมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางที่ 11</u> ผลการเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ที่เวลาต่าง ๆ ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90 ในชั่วโมงที่ 28

ชั่วโมงที่เติมเนื้อไม้	ปริมาณเซลยีสต์ (เซลต่อมิลลิลิตร x 10^7)	ปริมาณน้ำตาล (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	พีเอช
Control	9.0	9.54	6.8	5.1
8	7.5	9.21	6.5	5.0
16	5.25	9.21	6.2	4.9
24	4.75	8.86	6.2	4.9
ชั่วโมงที่ 0	0.53	18.53	-	5.1

หมายเหตุ : Control= การหมักโดยไม่เติมสารใดเลย, เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ผลการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ต่อการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Se - 90 ในชั่วโมงที่ 28

ชั่วโมงที่เติมสารสกัด	ปริมาณเซลยีสต์ (เซลต่อมิลลิลิตร x 10^7)	ปริมาณน้ำตาล (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	พีเอช
Control	9.0	9.54	6.8	5.1
8	6.3	9.75	6.8	5.0
16	4.7	10.74	6.6	4.9
24	6.3	9.75	6.9	5.0
ชั่วโมงที่ 0	0.53	18.53	-	5.1

หมายเหตุ : Control = การหมักโดยไม่เติมสารใดเลย
เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ของน้ำส่า (ปริมาตรต่อปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และจำนวนเซลยีสต์สูงกว่า แต่ในน้ำหมักที่เติมเนื้อไม้นั้นปริมาณน้ำตาลกลับถูกใช้ไปมากกว่าในน้ำหมักที่ไม่เติมสารใดเลย

ในกรณีของการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่เวลาต่าง ๆ พบว่า การเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 และ 24 ให้ผลของความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ จำนวนเซลยีสต์ และน้ำตาลที่ถูกใช้ไปในระหว่างการหมักสูงสุด ส่วนการเติมสารสกัดใดชั่วโมงที่ 16 ให้ผลของการหมักต่ำที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบการหมักในน้ำหมักที่ไม่เติมสารใดเลยกับการหมักโดยเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 และ 24 พบว่า การหมักโดยไม่เติมสารใดเลยให้ผลของน้ำตาลที่ถูกใช้ไป และจำนวนเซลยีสต์สูงกว่า ส่วนปริมาณความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ให้ผลใกล้เคียงกัน

6. ผลของการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมัก ที่เติมเนื้อไม้และสารสกัดจากไม้เคี่ยมในเวลาและปริมาณที่เหมาะสม

โดยเตรียมกากน้ำตาลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นร้อยละ 15.72 พีเอช 5.2 และมีจำนวนเซลยีสต์เริ่มต้น 0.68×10^7 เซลต่อมิลลิลิตร ทำการหมักเป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 และสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก ผลของการหมักในช่วงต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 13, 14, 15, 16

ในชั่วโมงการหมักที่ 0 ถึง 8 ผลการหมักของทั้งสามถังมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ที่ชั่วโมงที่ 8 จำนวนเซลยีสต์เพิ่มมากขึ้นจากชั่วโมงที่ 4 ถึงประมาณ 5 เท่า แต่ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ และปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นไม่มากนัก ส่วนค่าพีเอชไม่เปลี่ยนแปลง

ในชั่วโมงที่ 8 ถึง 24 หลังจากเติมเนื้อไม้และสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 พบว่าการเติมสารสกัดทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ตั้งแต่เริ่มต้นในชั่วโมงที่ 8 จนถึงชั่วโมงที่ 24 จากนั้น อัตราการเพิ่มของแอลกอฮอล์จึงลดลงเล็กน้อย ส่วนการเติมเนื้อไม้และไม่เติมสารใดเลยนั้นมีอัตราการเพิ่มของปริมาณแอลกอฮอล์ในชั่วโมงที่ 8 ถึง 24 ค่อนข้างคงที่ นอกจากนี้ยังพบว่าหลังจากเติมสารสกัดและเนื้อไม้ในชั่วโมงที่ 8 แล้วทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์ต่ำกว่าในถังที่ไม่เติมสารใดเลย ส่วนพีเอชของทั้งสามถังลดลงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ผลการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisise Sc - 90

ชั่วโมงของการหมัก	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)		
	Control	เนื้อไม้ 1)	สารสกัด 2)
0	-	-	-
4	1.0	1.1	1.1
8	1.7	1.7	1.7
12	3.1	2.8	4.0
16	4.2	3.9	4.9
20	5.0	5.0	5.7
24	6.2	6.0	6.5
28	7.1	7.0	7.3
32	8.1	7.9	7.9
36	8.5	8.1	8.3

หมายเหตุ : 1. เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก

2. เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ผลการเปลี่ยนแปลงของเซลยีสต์ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90

ชั่วโมงของการหมัก	จำนวนเซลยีสต์ (10^7 เซลต่อมิลลิเมตร)		
	Control	เนื้อไม้ 1)	สารสกัด 2)
0	0.68	0.76	0.92
4	0.95	1.25	1.57
8	5.95	4.50	5.82
12	6.90	5.03	5.74
16	10.70	9.01	9.01
20	14.10	7.75	7.12
24	14.30	8.90	9.21
28	15.11	7.68	9.23
32	13.35	7.11	6.68
36	11.78	5.82	5.93

หมายเหตุ : 1. เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก
2. เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลในน้ำส่า ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae Sc - 90

ชั่วโมงของการหมัก	ปริมาณน้ำตาล (ร้อยละ)		
	Control	เนื้อไม้ 1)	สารสกัด 2)
0	15.72	15.72	15.72
4	15.24	15.27	15.25
8	14.98	15.18	15.26
12	12.36	12.25	12.54
16	10.61	10.69	11.42
20	9.52	9.68	10.22
24	8.41	7.92	9.38
28	6.94	7.22	7.87
32	5.63	6.11	7.14
36	4.81	5.12	5.72

หมายเหตุ : 1. เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก
2. เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 ผลการเปลี่ยนแปลงของพีเอชในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerrvisiae* Sc - 90

ชั่วโมงของการหมัก	พีเอช		
	Control	เนื้อไม้ 1)	สารสกัด 2)
0	5.2	5.2	5.2
4	5.2	5.2	5.2
8	5.1	5.2	5.2
12	5.1	5.1	5.1
16	4.7	4.8	4.8
20	5.1	5.1	5.1
24	5.1	5.2	5.1
28	5.2	5.1	5.1
32	5.0	5.0	5.1
36	5.1	5.1	5.2

หมายเหตุ : 1. เติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก
2. เติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

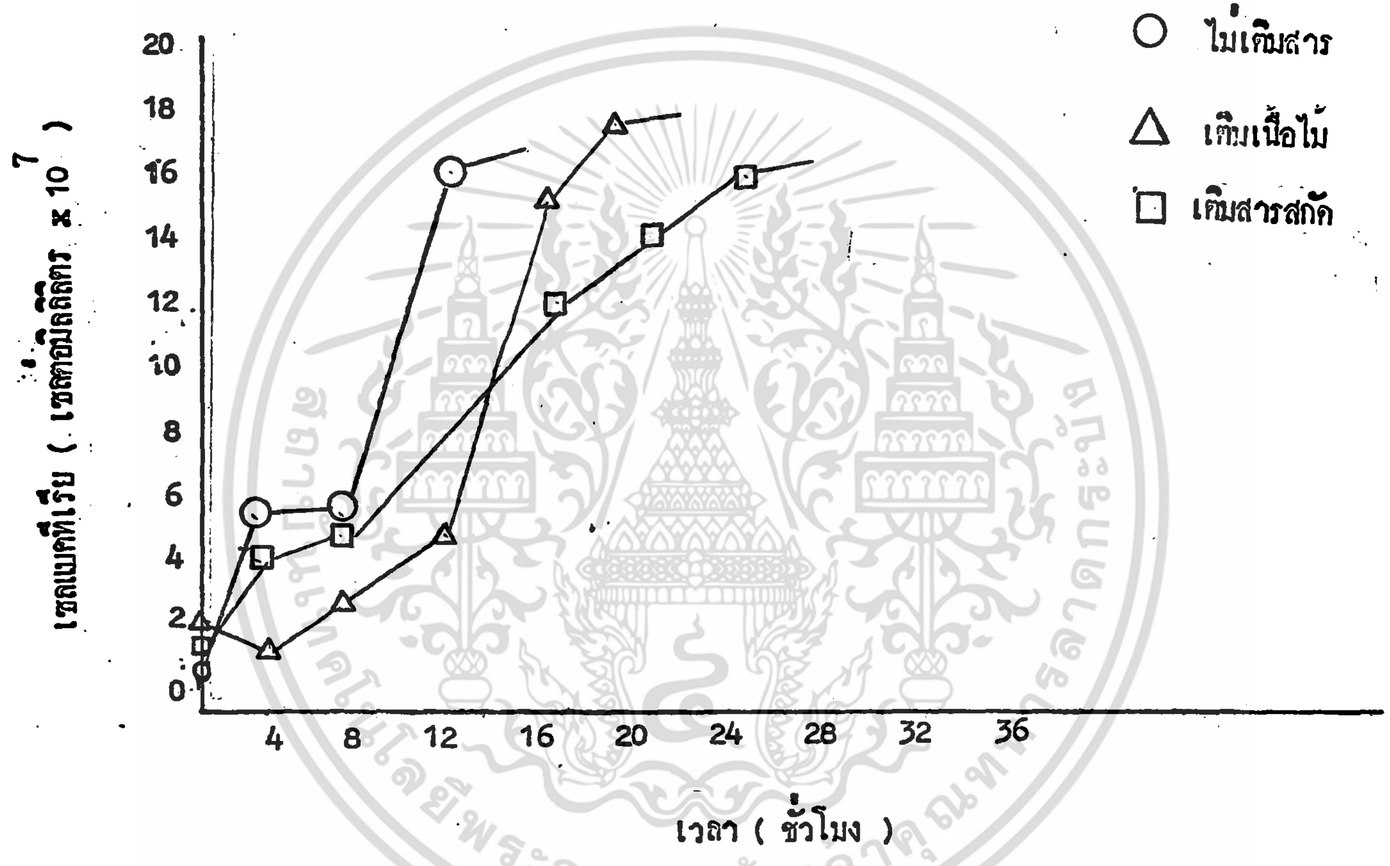
ชั่วโมงที่ 16 และกลับเพิ่มขึ้นมาอีกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 20 สำหรับการใช้น้ำตาลพบว่าในชั่วโมงที่ 8 - 24 ของการเติมสารสกัด มีการใช้น้ำตาลน้อยที่สุด ส่วนการเติมเนื้อไม้และไม่เติมสารมีการใช้น้ำตาลใกล้เคียงกัน

ในชั่วโมงการหมักที่ 24 ถึง 28 อัตราการเพิ่มของแอลกอฮอล์ของถังที่เติมสารสกัดลดลงเล็กน้อย ส่วนอัตราการหมักของถังที่เติมเนื้อไม้ และถังที่ไม่เติมสารชนิดใดยังคงคงที่ จนกระทั่งชั่วโมงที่ 32 อัตราการหมักของทั้งสามถังจึงลดลง

ในชั่วโมงที่ 36 ของการหมัก การหมักในถังที่ไม่เติมสารชนิดใดมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด รองลงมาคือถังที่เติมสารสกัดและถังที่เติมเนื้อไม้ตามลำดับ ส่วนการใช้น้ำตาล พบว่าในถังที่ไม่เติมสารชนิดใด มีการใช้น้ำตาลสูงสุดรองลงมาคือ ถังที่เติมสารสกัดและถังที่เติมเนื้อไม้ตามลำดับ

สำหรับผลของปริมาณแบคทีเรียในระหว่างการหมักที่เติมสารสกัดร้อยละ 1.5 และเนื้อไม้ร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมักเปรียบเทียบกับการหมักที่ไม่เติมสารใดเลย แสดงอยู่ในภาพที่ 2 พบว่า จากการทดลอง พบว่า การเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้ และมีผลยับยั้งได้นานและดีกว่าการเติมเนื้อไม้ในการหมัก จากการสำรวจเชื้อเมื่อการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง หรือ 4 ชั่วโมงหลังเติมสารสกัดและเนื้อไม้ พบว่า เชื้อแบคทีเรียมีปริมาณน้อยละในถังที่เติมสารสกัดและในถังที่เติมเนื้อไม้ แต่ในถังที่เติมเนื้อไม้มีปริมาณเชื้อมากกว่า เชื้อที่พบในถังเติมสารสกัดน้อยกว่าถังที่ไม่เติมสารใด ๆ และในชั่วโมงที่ 16, 20 ของการหมัก ยังคงพบเชื้อที่ปนเปื้อนแต่มีในปริมาณที่น้อยในถังที่เติมสารสกัด ส่วนถังที่เติมเนื้อไม้เชื้อเริ่มมีปริมาณมากขึ้นในชั่วโมงที่ 20 และ 24 ตามลำดับ ในถังที่เติมสารสกัดเชื้อเริ่มมากในชั่วโมงที่ 28 ของการหมัก และในชั่วโมงต่อ ๆ มาคือ ชั่วโมงที่ 24 ของถังที่ไม่เติมสารใด ๆ และถังที่เติมเนื้อไม้ เชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในช่วงนี้เป็นเชื้อที่ไม่ค่อยมีปริมาณมากนักในชั่วโมงต้น ๆ ของการหมัก แต่จะพบในปริมาณมากในชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไปจนสิ้นสุดการหมัก ลักษณะเชื้อดังกล่าวคือเป็นโคโลนีเล็ก ๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1 มิลลิเมตร โปร่งแสง ส่วนในถังหมักที่เติมสารสกัด เชื้อตัวนี้สามารถปนเปื้อนได้ในชั่วโมงที่ 28 เป็นต้นไป แสดงว่าสารสกัดมีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการหมักแอลกอฮอล์

ต่อการยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ด้วย เพราะในขณะเดียวกันนี้ พบเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ในถังที่ไม่เติมสารใด ๆ และเติมเนื้อไม้ เมื่อเป็นเช่นนี้ แสดงว่าเชื้อชนิดนี้สามารถทนแอลกอฮอล์ในระยะการหมัก 24 ชั่วโมงได้แต่ไม่สามารถทนสารสกัดได้ จึงไม่มีการเจริญเติบโตในชั่วโมงที่ 24 ในถังหมักที่เติมสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ทำให้ทราบว่าเซลยีสต์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 8 ซึ่งมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นถึงประมาณ 5 เท่าของชั่วโมงที่ 4 และมีอัตราการผลิตแอลกอฮอล์สูงในชั่วโมงที่ 16 ถึง 28 หลังจากนั้น เซลยีสต์เริ่มตายเนื่องจากความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในน้ำหมักมีสูงขึ้น เป็นผลให้อัตราการผลิตแอลกอฮอล์คงที่และเริ่มลดลง ส่วนเซลแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 และสร้างกรดอย่างมากในชั่วโมงที่ 16 ทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลงจนสังเกตได้ชัดเจน

จากผลที่ได้นี้ สามารถนำไปใช้กำหนดวิธีการในการทดลองขั้นต่อไป โดยกำหนดการเติมเนื้อไม้ และสารสกัดจากไม้เคี่ยมในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก เนื่องจากในชั่วโมงที่ 8 เซลยีสต์เข้าสู่ช่วงของการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ ในขณะที่เซลแบคทีเรียอยู่ในระหว่างการปรับตัว เป็นผลให้ สารสกัดจากไม้เคี่ยมและเนื้อไม้มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลแบคทีเรียมากกว่าเซลยีสต์ และในการทดลองจะสิ้นสุดการหมักในชั่วโมงที่ 28 เพราะว่าหลังจากชั่วโมงที่ 28 อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของเซลยีสต์จะช้าลงและเซลเริ่มตาย การทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักจึงควรที่จะอยู่ในระหว่างชั่วโมงที่ 8 ถึง 28

จากผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียกลุ่มที่สำรวจพบมากที่สุดมีรูปลักษณะเป็นท่อน มีสปอร์หัวและท้ายติดสีแกรมบวกเจริญที่ชั่วโมง 4, 8, 16 ซึ่งแสดงว่าสามารถทนต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ได้ปานกลาง เชื้อแบคทีเรียที่พบในชั่วโมงที่ 8 พบว่าเป็นเชื้อที่สร้างกรด ซึ่งเป็นผลให้ค่าพีเอชลดต่ำลงในชั่วโมงที่ 16 ซึ่งถ้าหากเชื้อตัวนี้เจริญเติบโตมาก จะแย่งอาหารจากเซลยีสต์และสร้างกรดในน้ำหมัก ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ เป็นผลให้ประสิทธิภาพการผลิตลดลง

จากผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้และเชื้อยีสต์ด้วยสารสกัดจากไม้เคี่ยม โดยเปรียบเทียบกับการยับยั้งด้วยแอลกอฮอล์เพื่อทดสอบว่าการยับยั้งเกิดขึ้นจากสารสกัดหรือจากแอลกอฮอล์ เนื่องจากใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายของสารสกัดจากไม้เคี่ยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลที่ได้พบว่า การใช้สารสกัดจากไม้เคี่ยมมีผลการยับยั้งเซลแบคทีเรียและยีสต์สูงกว่าการใช้แอลกอฮอล์ แสดงว่าสารสกัดจากไม้เคี่ยมมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลแบคทีเรียและยีสต์จริง โดยพบว่ามีผลในการยับยั้งแบคทีเรียมากกว่ายีสต์ ซึ่งกลุ่มของแบคทีเรียที่ถูกยับยั้งสูงมี 2 กลุ่มคือ กลุ่มแบคทีเรียที่เกิดในช่วงต้นของการหมักซึ่งมีการสร้างกรดและกลุ่มแบคทีเรียที่เกิดในช่วงท้ายของการหมัก

จากผลการทดสอบการเติมเนื้อไม้และสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ ทำให้ทราบว่ากรณีการเติมเนื้อไม้จะให้ผลการหมักที่ไม่แน่นอน อาจเนื่องมาจากแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นจากการหมัก สกัดสารแทนนินจากเนื้อไม้ได้ไม่ดีพอและไม่แน่นอน ปริมาณเนื้อไม้ร้อยละ 5 เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการเติมมากที่สุด เนื่องจากให้ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ จำนวนเซลยีสต์และการใช้น้ำตาลสูงสุด ส่วนกรณีการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมพบว่า การเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.0 กับ 1.5 มีจำนวนเซลยีสต์สูงสุดแต่ต่ำกว่าการหมักโดยไม่เติมสารอะไรเลย ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดมีผลในการยับยั้งเซลยีสต์ส่วนหนึ่งด้วย และพบว่าการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงกว่าการเติมปริมาณร้อยละ 1.0 แสดงว่าการเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.5 ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียสูงกว่า การเติมปริมาณร้อยละ 1.0 ในขณะที่ผลการยับยั้งยีสต์มีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนการที่ปริมาณแอลกอฮอล์ของการเติมสารสกัดร้อยละ 1.5 สูงกว่าการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย ทั้ง ๆ ที่ การเติมสารสกัดมีจำนวนเซลและการใช้น้ำตาลต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากสารสกัดที่เติมในปริมาณร้อยละ 1.5 อาจมีผลในการคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธ์ของยีสต์ เป็นผลให้ยีสต์ส่วนที่อ่อนแอและมีประสิทธิภาพการหมักต่ำถูกยับยั้ง ส่วนยีสต์ที่ไม่ถูกยับยั้งน่าจะเป็นยีสต์ที่ให้ประสิทธิภาพการหมักสูง ขณะที่มีการใช้น้ำตาลน้อย อนึ่ง การใช้สารสกัดในปริมาณที่เกินร้อยละ 2.5 มีผลในการยับยั้งยีสต์อย่างรวดเร็ว และเมื่อเติมสารสกัดปริมาณสูงถึงร้อยละ 5 แทบจะมีผลยับยั้งยีสต์ในการหมักทั้งหมด จากผลที่ได้นี้จึงเลือกการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 และเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 เพื่อใช้ในการทดสอบหาผลการเติมที่เวลาต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการเติมเนื้อไม้และสารสกัดจากไม้เคี่ยมที่เวลาต่าง ๆ กัน ทำให้ทราบว่า กรณีการเติมเนื้อไม้ การเติมเนื้อไม้ในชั่วโมงที่ 8 ให้ผลการหมักดีที่สุด คือให้ปริมาณแอลกอฮอล์และจำนวนเซลสูงสุด รองลงมาคือการเติมในชั่วโมงที่ 16 และ 24 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากการเติมเนื้อไม้ในชั่วโมงที่ 8 จะมีเวลาให้น้ำส่าและแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นสกัดสารแทนนินออกจากเนื้อไม้ได้นานและมากกว่า ทำให้มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าการเติมในชั่วโมงที่ 16 และ 24 แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการหมักโดยไม่เติมสารใดแล้วพบว่าการหมักโดยเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในเวลาชั่วโมงที่ 8 ยังให้ผลการหมักที่ไม่ดีพอ

ส่วนกรณีการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยม พบว่า การเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 และ 24 ให้ผลการหมักดีที่สุด คือ มีจำนวนเซลการใช้น้ำตาลและปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด เนื่องจากมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่พบว่ามีการเจริญอย่างมากในชั่วโมงที่ 8 และ 24 ได้สูง และสามารถอธิบายได้ว่าสารสกัดมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีภายในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการเติมสารสกัด หลังจากนั้นจะให้ผลไม่ดีเท่าที่ควร สังเกตได้จากการเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในชั่วโมงที่ 24 ได้น้อย ส่วนการเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 16 ซึ่งมีแบคทีเรียเกิดขึ้นน้อย สารสกัดจะมีผลต่อการยับยั้งเซลยีสต์มากกว่าการเติมในชั่วโมงที่ 8 และ 24 อธิบายได้ว่าการเติมสารสกัดในระหว่างการหมักเหมาะสมที่จะเติมขณะที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเกิดขึ้นมาก ถ้าหากมีแบคทีเรียปนเปื้อนน้อย สารสกัดจะมีผลในการยับยั้งเซลยีสต์สูง ทำให้ผลการหมักตกต่ำลง

เมื่อเปรียบเทียบผลการหมักระหว่างการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 และ 24 กับการหมักโดยไม่เติมสารใดเลยในชั่วโมงที่ 28 ผลที่ได้จะยืนยันข้อสันนิษฐานเดิมที่ว่า การเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 จะมีผลต่อการคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ ทำให้สามารถให้ปริมาณแอลกอฮอล์ได้สูงเท่ากับการหมักโดยไม่เติมสาร ในขณะที่มีการใช้น้ำตาล และมีจำนวนเซลต่ำกว่าการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย

จากผลนี้จึงเลือกการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมในชั่วโมงที่ 8 เพื่อใช้ในการทดลองในขั้นต่อไป สาเหตุที่เลือกการเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 8 เนื่องจากในการทดลองทำการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียง 28 ชั่วโมง การเติมสารสกัดในชั่วโมงที่ 24 จึงมีผลต่อการหมักไม่มากนัก และเมื่อพิจารณาดูจากการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียที่เจริญในชั่วโมงที่ 8 เป็นเชื้อที่สร้างกรด ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในชั่วโมงที่ 24 ไม่พบการสร้างกรด การเติมสารสกัดเพื่อยับยั้งแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 8 จึงมีความสำคัญมากกว่า

จากผลการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมัก โดยการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 1.5 และเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 กับการหมักโดยไม่เติมสารใด ๆ เลย พบว่ากรณีการเติมเนื้อไม้มีผลในการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้อยโดยมีผลในการยับยั้งเซลยีสต์เล็กน้อย ทำให้ประสิทธิภาพการหมักต่ำกว่าการหมักที่ไม่เติมสารใดเลย ส่วนกรณีการหมักที่เติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมพบว่า ภายหลังจากเติมสารสกัด 4 ชั่วโมง ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่การใช้น้ำตาลและจำนวนเซลที่ต่ำกว่าการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย และหลังจากการเติมสารสกัดผ่านไป 20 ชั่วโมง อัตราการผลิตแอลกอฮอล์จะลดต่ำลง และจำนวนเซลยีสต์จะลดลงอย่างรวดเร็วด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดมีผลต่อการหมักไม่เกิน 24 ชั่วโมง หลังจากการเติม และการเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.5 ทำให้เกิดการคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ ทำให้ได้ยีสต์ที่มีการผลิตแอลกอฮอล์รวดเร็วในขณะที่มีการใช้น้ำตาล และมีจำนวนเซลน้อยกว่ายีสต์ตัวเดิม แต่ไม่สามารถทนต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงได้ สังเกตได้จากชั่วโมงที่ 28 เมื่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงถึงร้อยละ 7.3 แล้ว เซลยีสต์ในถังหมักที่เติมสารสกัดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่เซลยีสต์ในถังหมักที่ไม่เติมสารใดเลยยังคงมีจำนวนคงที่ และพบว่าเมื่อเปรียบเทียบการหมักโดยเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมกับการหมักโดยไม่เติมอะไรเลย พบว่า การหมักโดยเติมสารสกัดให้ผลดีกว่าในชั่วโมงที่ 28 และให้ผลต่ำกว่าในชั่วโมงที่ 36

จึงอาจกล่าวได้ว่า การเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 มีผลในการช่วยลดระยะเวลาในการหมักให้สั้นลง มีอัตราการผลิตแอลกอฮอล์รวดเร็วและสูงขึ้น ในขณะที่มีการใช้น้ำตาลน้อยลงกว่าการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่พบในระหว่างการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลสามารถจำแนกเชื้อแบคทีเรียได้เป็น 5 กลุ่ม เชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่มีบทบาททำให้ประสิทธิภาพการหมักลดลงคือ เชื้อแบคทีเรียที่เจริญในชั่วโมงที่ 8 ซึ่งมีการสร้างกรดและเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในชั่วโมงที่ 24 ซึ่งไม่พบการสร้างกรด

ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อยีสต์และแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากไม้เคี่ยม ปรากฏว่า สารสกัดจากไม้เคี่ยมมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเชื้อยีสต์ โดยมีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีสองกลุ่มคือ กลุ่มที่เกิดขึ้นในชั่วโมงที่ 8 ซึ่งพบการสร้างกรดและกลุ่มที่เกิดขึ้นในช่วงท้ายของการหมัก

ในการทดสอบการเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมและเนื้อไม้ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* Sc - 90 เพื่อหาปริมาณและเวลาที่เหมาะสม ปรากฏว่ากรณีการเติมเนื้อไม้ปริมาณร้อยละ 5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมักให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด แต่ยังต่ำกว่าการหมักโดยไม่เติมสารใดเลย ส่วนกรณีการเติมสารสกัดในปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับการหมักโดยไม่เติมสารอะไรเลย ในขณะที่การหมักโดยเติมสารสกัดจากไม้เคี่ยมมีจำนวนเซลและการใช้น้ำตาลต่ำกว่าการผลิตโดยไม่เติมสารอะไรเลย

ระหว่างการเติมสารสกัดปริมาณร้อยละ 1.5 ในชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก อาจมีผลในการคัดเลือกและปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ ทำให้ได้ยีสต์ที่มีลักษณะมีอัตราการผลิตแอลกอฮอล์ที่รดวเร็ว มีการใช้น้ำตาลน้อยลง และไม่สามารถทนความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ได้สูง และพบว่าการเติมสารสกัดในการหมักจะให้ผลดี ถ้าเติมในช่วงที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนมาก และผลของสารสกัดมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีภายในเวลาหลังจากเติม 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จำลอง เพ็งคล้าย. 2526. ไม้มีค่าทางเศรษฐกิจของไทย. กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ.

จรูญ คำนวนตา. 2523. อุปสรรคบางประการในช่วงการหมักแอลกอฮอล์. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย 1(1) : 2-13.

ณรงค์ โฑฌานนท์. 2523. ไม้เนื้อแข็งของประเทศไทย. กองวิจัยผลผลิต กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ.

ณัฐศิษฎ์ ไทยตระกูล. 2523. บทบาทของแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. 2525. การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์ เอกสารประกอบการอบรมภาคฤดูร้อน ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง วิทยาเขตกำแพงแสน.

มุรินทร์ ริมคีรี. 2529. ผลของสารสกัดจากไม้เคี่ยมต่อจุลินทรีย์ในการหมักไวน์สับปะรด ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, จรูญ คำนวนตา. การเพิ่มประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย 2(2) : 124 - 137.

พูนสุข ประเสริฐสรรภ. 2526. เทคโนโลยีการหมัก. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ลูกจันทร์ ภัครัชสินธุ์. 2522. อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดาวัลย์ บุญรัตนกรกิจ. 2521. ชื่อสมุนไพรและประโยชน์. แผนกวิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิเชียร ยงมานิตชัย, ดร.จรูญ คำนวนตา, ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, บัญชา เข็มทอง, บุญช่วย เข็มทอง การปรับปรุงขบวนการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย : 3(2) : 207 -216

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

AOAC. 1975. Official method of analysis. 12th ed. Washington, D.C. : Assoc. officer Agric. Chemists.

Faparusi, S. I. and O. Bassir. 1972 a. Effect of extracts of the bark of Saccoglottis gabonensis on the microflora of palm wine. Appl. Microbiology. 24 : 853-856.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. การหาปริมาณน้ำตาลในน้ำส่าและในกากน้ำตาล

สารเคมี

- Fehling Solution A

ละลาย Copper sulphate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 34.634 กรัม ในน้ำ 500 มล. ปรับปริมาตรโดยใช้ Volumetric Flask

- Fehling Solution B

ละลาย Sodium - potassium tartrate 173 กรัม และ NaOH 50 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยใช้ Volumetric Flask

- HCl 37%, 23 %
- NaOH 40 %, 20 %
- Methylene Blue 1 %

วิธีการ

ก. Standardize Fehling Solution

1. ชั่ง Sucrose ประมาณ 0.5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดใส่ใน Volumetric flask 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร 37% HCl 1 มิลลิลิตร
2. Hydrolyze ที่อุณหภูมิ 70° ซ 10-15 นาที
3. เติมน้ำกลั่น แล้วทำให้เป็น Slightly acid โดยเติม, 40 % NaOH มิลลิลิตร
4. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. Titrateกับ Fehling A (5 มิลลิลิตร) + B(5 มิลลิลิตร) บน Hot Plate ใช้ Methylene Blue เป็น Indicator
6. คำนวนค่า Factor จากสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Factor Fehling Solution} = \frac{(360.312)X.Y}{342.296X100}$$

X = น้ำหนักของ Sucrose

Y = มิลลิลิตรของ Sucrose ที่ใช้ไตเตรท

ข. วิธีการหาปริมาณน้ำตาลในกากน้ำตาล

1. ชั่งกากน้ำตาลประมาณ 24 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียด นำมาละลายและปรับปริมาตรด้วย Volumetric flask 250 มิลลิลิตร

2. ดูดตัวอย่าง ข้อ 1 มา 10 มิลลิลิตร เจือจางให้มีปริมาตร 250 มิลลิลิตร โดยใช้ Volumetric Flasls

3. ดูดตัวอย่างข้อ 2 มา 24 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 37% HCl จำนวน 20% ของตัวอย่าง

4. ไฮโดรไลซ์ ที่ 70° ซ 10-15 นาที

5. เติมน้ำกลั่น แล้วปรับให้เป็นกรดเล็กน้อย โดยเติม 40% NaOH ลงไป แล้วจึงปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

6. ไตเตรทกับ Fehling Solution (A+B) 10 ml บน hot plate โดยใช้ Methylene blue เป็น indicator

7. คำนวนปริมาณน้ำตาลจากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำตาลในกากน้ำตาล} = \frac{\text{Factor X 250 X 250 X 100}}{\text{X X Y X 24 X 10}} \%$$

X = น้ำหนักของกากน้ำตาล กรัม

Y = มิลลิลิตรของกากน้ำตาลที่ใช้ในการไตเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. วิธีการหาปริมาณน้ำตาลในน้ำส่า

1. ดูดตัวอย่างน้ำส่า X มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติม 20% HCL จำนวน 20% ของน้ำส่า ตัวอย่างที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ เตรียมได้ดังนี้

น้ำส่า ปริมาณน้ำตาล	15% ขึ้นไป	ใช้ตัวอย่าง	2 มิลลิลิตร	เติม 20% HCL	0.4 มิลลิลิตร
" "	" 10% ลงไป	"	5 "	" HCL	1.0 "

2. ไฮโดรไลซ์ ที่ 70° ซ 10-15 นาที

3. เติมน้ำกลั่น แล้วทำให้เป็นกรดเล็กน้อยโดยเติม 20% NaOH แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. ไตเตรทกับ Fehling Solution (A+B) 10 มิลลิลิตร บน hot plate โดยใช้ Methylene blue เป็น indicator

5. คำนวนปริมาณน้ำตาลจากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำตาลในน้ำส่า} = \frac{\text{Factor} \times 100 \times 100}{(X).(Y)}$$

X = มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำส่า

Y = มิลลิลิตรของน้ำส่าที่ใช้ Titrote

2. <u>การนับจำนวนเซลยีสต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์</u>

<u>อุปกรณ์,สารเคมี</u>

- กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า
- สไลด์สำหรับตรวจนับเซล
- Methylene blue 0.2 %

<u>วิธีการ</u>

1. เช็ดทำความสะอาดสไลด์และกระจกปิดสไลด์
2. วางสไลด์บนโต๊ะปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เจือจางน้ำส่าด้วย Methylene blue ตามต้องการ

4. ใช้หลอดแก้วปลายแหลมดูดน้ำส่าจากข้อ 3 นำไปแตะใส่สไลด์ให้ตัวอย่างซึมเข้าไปในบริเวณช่องที่มีตาราง

5. ตรวจนับเซลด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า โดยสุ่มนับอย่างน้อย 10 ช่องใหญ่ จำนวนเซลที่นับไม่ควรน้อยกว่า 30 เซลต่อ 10 ช่อง และไม่ควรมากกว่า 300 เซล ต่อ 10 ช่องใหญ่

6. คำนวนหาจำนวนเซลจากสูตร

$$\text{จำนวนเซล} = \frac{\text{จำนวนเซลที่นับได้} \times \text{ความเจือจาง}}{\text{จำนวนช่องที่นับ} \times 4} \times 10^{6} \text{ เซล/มล.}$$

3. <u>การหาปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอีมูลิโอมิเตอร์</u>

<u>อุปกรณ์, สารเคมี</u>

- อีบูลิโอมิเตอร์
- แอลกอฮอล์ใช้จุดตะเกียง
- น้ำกลั่น
- แผ่นเสกลสำหรับอ่านค่าปริมาณแอลกอฮอล์

<u>วิธีการ</u>

1. ตวงน้ำกลั่น 10 มิลลิเมตร ใส่ในเครื่องเสียบเทอร์โมมิเตอร์เข้ากับเครื่อง ไม่ต้องเติมน้ำหล่อเย็นในคอนเดนเซอร์ จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ต้มน้ำกลั่นจนเดือด อ่านค่าอุณหภูมิที่คงที่จากเทอร์โมมิเตอร์ นำมาใช้ปรับแผ่นเสกลเพื่อใช้อ่านค่าแอลกอฮอล์ต่อไป

2. หาอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำส่า โดยตวงน้ำส่า 50 มล. ใส่ในเครื่อง เสียบเทอร์โมมิเตอร์เข้ากับเครื่อง เติมน้ำหล่อเย็นในคอนเดนเซอร์ ต้มน้ำส่าด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์จนอุณหภูมิสูงขึ้นแล้วหยุดคงที่ อ่านอุณหภูมิแล้วนำมาเทียบบนเสกล อ่านค่าปริมาณแอลกอฮอล์

หมายเหตุ อีมูลิโอมิเตอร์ เหมาะกับการใช้หาแอลกอฮอล์ในสารละลายที่มีแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. <u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u> มีส่วนประกอบดังนี้

4.1 Modify My. Agar มีส่วนประกอบดังนี้

ยีสต์สกัด	3.0	กรัม	
มอลท์สกัด	3.0	"	
เปปโตน	5.0	"	
กากน้ำตาล	40.0	"	(น้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 2%)
วุ้น	15.0	"	
แคลเซียมคาร์บอเนต	15.0	"	
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.5	"	
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร	

ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ในน้ำกลั่น แล้วปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.8-7.0 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้