



รายงานการวิจัยนักศึกษาระดับปริญญาตรี

เรื่อง

การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเอทานอลในอาหารสังเคราะห์
และอาหารที่ใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนโดยยีสต์ทนอุณหภูมิสูง

Comparative Study on Ethanol Production in Synthetic
Medium and Sugarcane Juice as a Carbon Source by
Thermotolerant Yeasts

จิรนนท์	สำโรงพล
พรสุดา	แก่นนาคำ
พัชรินทร์	บุญลิตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปี 2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปีงบประมาณ 2559)

คณะกรรมการสอบได้พิจารณาโครงการฉบับนี้แล้ว เห็นควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(อาจารย์กุสุมาวดี ฐานเจริญ)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ยุวดี อินสำราญ)

.....กรรมการ
(อาจารย์วิลาวัลย์ บุญยศุภา)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอนุมัติให้โครงการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

.....
(อาจารย์วรชาติ โตแก้ว)

ประธานหลักสูตรชีววิทยา

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานิตย์ อัญญาโพธิ์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาของอาจารย์กุสุมาวดี ฐานเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักของงานวิจัย อาจารย์ ดร. ยุวดี อินสำราญ และอาจารย์วิลาวัลย์ บุญย์ศุภา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการกระทำของงานวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนเป็นผู้ตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ กลุ่มของข้าพเจ้าขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยระดับอุดมศึกษา สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน ประจำปีงบประมาณ 2558 และทุนอุดหนุนการวิจัยของนักศึกษาระดับปริญญาตรี ประเภทงานวิจัยตามพันธกิจ และอัตลักษณ์ของมหาวิทยาลัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ในการสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยครั้งนี้ จนกระทั่งงานวิจัยสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่ได้กรุณาให้ความรู้ และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ตลอดหลักสูตรการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่อำนวยความสะดวก สถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมีตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย

ขอขอบคุณรุ่นพี่ และเพื่อนในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม สำหรับคำปรึกษา กำลังใจ และความช่วยเหลือที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณพ่อ และคุณแม่ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อ คอยเป็นกำลังใจ และอยู่เคียงข้างตลอดมา

คณะผู้วิจัย

เมษายน 2559

ชื่อเรื่อง	การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเอทานอลในอาหารสังเคราะห์และอาหารที่ใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนโดยยีสต์อุณหภูมิสูง
ผู้วิจัย	นางสาวจิรานันท์ สำโรงพล นางสาวพรสุดา แก่นนาคำ นางสาวพัชรินทร์ บุญลิต
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์กุสุมาวดี ฐานเจริญ อาจารย์ ดร. ยุวดี อินสำราญ อาจารย์วิลาวัลย์ บุญย์ศุภา
สถาบัน	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปีที่พิมพ์	2559

บทคัดย่อ

ยีสต์จำนวน 15 ไอโซเลต ผ่านการคัดเลือกความสามารถในการทนอุณหภูมิสูง และการสร้างแก๊สสูงสุดในหลอดดักแก๊สโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ทำการเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลของยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลในอาหารสังเคราะห์ และอาหารหมักที่มีน้ำอ้อยเป็นองค์ประกอบโดยมีความหวานของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 18 องศาบริกซ์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ รหัส BRMU 29, BRMU19 และ BRMU08 ให้เอทานอลเท่ากับ 11.96 ,11.69 และ 11.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในอาหารสังเคราะห์ซึ่งสอดคล้องกับผลได้เอทานอลในอาหารหมักที่มีน้ำอ้อย โดยมีค่าเท่ากับ 7.08, 7.05 และ 6.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การแปรผันอุณหภูมิในการผลิตเอทานอลในอาหารหมักที่มีน้ำอ้อย ผลการทดลอง พบว่า เชื้อรหัส BRMU29 ให้ผลได้เอทานอลสูงสุด 6.67 (ที่เวลา 36 ชั่วโมง) , 6.67(ที่เวลา 48 ชั่วโมง) และ 6.61 เปอร์เซ็นต์ (ที่เวลา 60 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 37,40 และ 45 องศาเซลเซียส ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ทำให้ทราบศักยภาพของยีสต์ทนอุณหภูมิสูงในการเป็นศักยภาพของการเป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตเอทานอลในน้ำอ้อยที่มีอย่างแพร่หลายในท้องถิ่น และสามารถประยุกต์ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นสับสเตรท

คำสำคัญ : การหมัก, น้ำอ้อย, ยีสต์ทนอุณหภูมิสูง, เอทานอล, อาหารสังเคราะห์

Title	Comparative Study on Ethanol Production in Synthetic Medium and Sugarcane Juice as a Carbon Source by Thermotolerant Yeasts	
Author	Jiranan	Samrongphon
	Pornsuda	Gannakum
	Patchareeporn	Boonlit
Advisor	Kusumawadee	Thancharoen
	Dr.Yuwadee	Insumran
	Wilawan	Boonsupa
Institutue	Rajabhat Maha Sarakham University	
Year	2016	

Abstract

In order to obtain culture of fifteen isolates with have the highest temperature tolerance and can produce high gas ability in Durham tube based on liquid medium. The producer of screening of ethanol-yeast strains compare ethanol ability in synthetic medium and sugarcane juice fermentation medium used initial sugar 18 °brix incubated 37 °C for 48 hour. All three isolates were BRMU 29 ,BRMU 19 and BRMU08 able to ethanol 11.96 ,11.69 and 11.25 %(w/v), respectively in synthetic medium related ethanol yiled 7.28, 7.05 and 6.89 % (w/v) in sugarcane juice fermentation medium by BRMU 29, BRMU 19 and BRMU 08 ,respectively. Variable high temperature fermentation in sugarcane juice fermentation medium exhibited BRMU 29 have highest ethanol yield were 6.67 % (36 hour), 6.67 (48 hour) and 6.61 % (60 hour) at 37, 40 and 45 °C respectively. The results suggest that the use of potential thermotolerant yeasts for ethanol production using sugarcane juice to be widespread in local and make practical use agriculture residue as substrate.

Keywords: Fermentation, Sugarcane juice, Thermotolerant Yeasts, Synthetic Medium, Ethanol

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อ.....	ข
ABSTRACT.....	ค
สารบัญเรื่อง.....	ง
สารบัญภาพ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
ประเภทของเอทานอล.....	6
กระบวนการผลิตเอทานอล.....	7
วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล.....	8
ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของยีสต์ในระหว่างกระบวนการหมัก.....	11
เมแทบอลิซึมและปฏิกิริยาชีวเคมีของยีสต์ในการผลิตเอทานอล.....	12
ยีสต์ทนอุณหภูมิสูง.....	13
อ้อย.....	15
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	21
อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	21
วิธีการดำเนินการทดลอง.....	22
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	24
ยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอล.....	24
การผลิตเอทานอลในอาหารสังเคราะห์.....	30
การผลิตเอทานอลในน้ำอ้อย.....	33
การแปรผันอุณหภูมิ และระยะเวลาที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลในน้ำอ้อย.....	35
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง.....	42
บรรณานุกรม.....	44
ภาคผนวก.....	47
ประวัติผู้วิจัย.....	69

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 โครงสร้างของเอทานอลแบบโซ่ตรง ประกอบด้วยโมเลกุลของไฮดรอกไซด์ ที่ยึดเหนี่ยวกับอะตอมของคาร์บอน (C).....	7
2-2 กระบวนการหมักในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	7
2-3 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคส.....	8
2-4 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลกลูโคส.....	9
2-5 การหมักเอทานอลจากเซลลูโลส.....	10
2-6 สรุปการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตร.....	10
2-7 กระบวนการผลิตเอทานอลในเซลล์ของยีสต์.....	12
2-8 การใช้ประโยชน์จากอ้อยในด้านต่างๆ.....	17
4-2 ปริมาณเอทานอล และน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักในอาหารสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	30
4-4 ปริมาณเอทานอล และน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักในอาหารที่มีน้ำอ้อย ที่อุณหภูมิ 37 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	33
4-8 ปริมาณน้ำตาล เอทานอล และค่าการดูดกลืนแสงในอาหารที่มีน้ำอ้อย เป็นสับสเตอร์ท อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	38
4-9 ปริมาณน้ำตาล เอทานอล และค่าการดูดกลืนแสงในอาหารที่มีน้ำอ้อย เป็นสับสเตอร์ท อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	38
4-10 ปริมาณน้ำตาล เอทานอล และค่าการดูดกลืนแสงในอาหารที่มีน้ำอ้อย เป็นสับสเตอร์ท อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	39
4-11 เปรียบเทียบการแปรผันอุณหภูมิและระยะเวลาในการผลิตเอทานอลในอาหารที่มี น้ำอ้อยเป็นองค์ประกอบ.....	40
4.12 สัณฐานวิทยาของเชื้อราหีส BRMU08, BRMU19 และ BRMU29 (ก-ค) โคโลนี ที่เจริญบนอาหารแข็ง YM Agar (ง-ฉ) รูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100X.....	41

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 สายพันธุ์ยีสต์ทนร้อนที่มีความสามารถในการหมักเอทานอลที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส.....	14
2-2 องค์ประกอบของน้ำอ้อยที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	18
4-1 สัณฐานวิทยา การสร้างแก๊ส และการตกตะกอนของยีสต์ที่คัดเลือกได้.....	25
4.3 ปริมาณเอทานอล และการใช้น้ำตาลในอาหารสังเคราะห์ที่มีกลูโคสเป็น สับสเตรทของยีสต์ทนอุณหภูมิสูง	31
4-5 พารามิเตอร์จากหมักเอทานอลในน้ำอ้อย บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	35
4-6 พารามิเตอร์จากหมักเอทานอลในน้ำอ้อย บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....	36
4-7 พารามิเตอร์จากหมักเอทานอลในน้ำอ้อย บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	37
ตารางภาคผนวกที่	
จ-1 ข้อมูลดิบปริมาณเอทานอล และการใช้น้ำตาลในอาหารสังเคราะห์ที่มีกลูโคสเป็น สับสเตรทของยีสต์ทนอุณหภูมิสูง (น้ำตาลเริ่มต้น 180 กรัมต่อลิตร).....	58
จ-2 ข้อมูลดิบปริมาณเอทานอล และการใช้น้ำตาลในอาหารน้ำอ้อยเป็นสับสเตรท ของยีสต์ทนอุณหภูมิสูง (น้ำตาลเริ่มต้น 112.91 กรัมต่อลิตร).....	59
จ-3 ข้อมูลดิบปริมาณเอทานอลในอาหารน้ำอ้อยโดยหมัก ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ปริมาณน้ำอ้อยเริ่มต้น109).....	60
จ-4 ข้อมูลดิบปริมาณเอทานอลในอาหารน้ำอ้อยโดยหมัก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ปริมาณน้ำอ้อยเริ่มต้น109).....	63
จ-5 ข้อมูลดิบปริมาณเอทานอลในอาหารน้ำอ้อยโดยหมัก ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (ปริมาณน้ำอ้อยเริ่มต้น109).....	66

