สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบาญ	ซ
สารบาญตาราง	ญ
สารบาญภาพ	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ในการศึกษา	2
1.3 ประโยชน์ที่จะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 สถานที่	3
1.6 ระยะเวลาการศึกษา	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ข้าวโพดหวาน	4
2.2 รำข้าว	8
2.3 กรดไฟติกและเอนไซม์ไฟเตส	9
2.4 น้ำตาลและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายน้ำตาล	13
2.5 เอทานอล	24
2.6 เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส	28
2.7 อาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอล	28
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	31
3.1 วัตถุดิบ	31
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	31
3.3 สารเคมี	32

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หน้า

3.4 อุปกรณ์ 33

3.5 วิธีการศึกษา 34

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 49

4.1 การศึกษาหาปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส 49

4.2 การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลที่ได้หลังการย่อยเศษของแข็งเหลือทิ้งระหว่างเอนไซม์อะไมเลสเกรดบริสุทธิ์และเกรดการค้า 52

4.3 การศึกษาสัดส่วนเศษของแข็งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋องต่อของเหลวที่เหมาะสม 57

4.4 การศึกษาระดับการผลิตเอทานอลและอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอลและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากทั้งหมด 15 สายพันธุ์ 59

4.5 การศึกษาระดับการผลิตฟอสเฟตไอออนและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากทั้งหมด 12 สายพันธุ์ 71

4.6 การศึกษาผลกระทบของสัดส่วนเศษของแข็งต่อรำข้าวต่างระดับต่อการผลิตเอทานอล อาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอล และฟอสเฟตไอออนของจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือก 80

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 88

5.1 สรุปผลการทดลอง 88

5.2 ข้อเสนอแนะ 89

เอกสารอ้างอิง 90

ภาคผนวก 102

ภาคผนวก ก การเตรียม Culture stock และอาหารเลี้ยงเชื้อ 103

ภาคผนวก ข วิธีการเตรียมสารเคมี 112

ภาคผนวก ค เส้นโค้งมาตรฐาน 115

ภาคผนวก ง การคำนวณคะแนนประสิทธิภาพการสกัดน้ำตาล 119

ภาคผนวก จ ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส 121

ประวัติผู้เขียน 124

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบาญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	ราคาข้าวโพดหวานตลาดสี่มุมเมือง กรุงเทพฯ ณ วันที่ 5 มิถุนายน พ.ศ.2552	5
2.2	องค์ประกอบของรำในหน่วยร้อยละของน้ำหนักแห้ง	8
2.3	จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตส	12
2.4	ลักษณะสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาผลิตเอทานอล	26
3.1	อาหารเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อจุลินทรีย์	35
3.2	อาหารเลี้ยงกล้าเชื้อและระยะเวลาเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสามารถผลิตฟอสเฟตไอออน	37
4.1	ผลกระทบของความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกที่ใช้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส	50
4.2	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดของเศษของแข็งเหลือทิ้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสเกรดบริสุทธิ์และเกรดการค้า	53
4.3	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดของแป้งข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสเกรดบริสุทธิ์และเกรดการค้า	54
4.4	ความเข้มข้นน้ำตาลของเศษของแข็งเหลือทิ้งต่อน้ำกลั่น	58
4.5	ความเข้มข้นน้ำตาลของเศษของแข็งเหลือทิ้งต่ออะซิเตตบัฟเฟอร์	59
4.6	ความเข้มข้นและอัตราการผลิตอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอลที่จุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์ผลิตได้ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	70
4.7	ความเข้มข้นฟอสเฟตไอออนที่จุลินทรีย์ 12 สายพันธุ์ผลิตได้	79
4.8	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ที่จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ผลิตได้ใน 5 สัดส่วนอาหาร	81
4.9	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ใน 5 สัดส่วนอาหาร ที่เวลาเริ่มต้น	82
4.10	ความเข้มข้นอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอล (มิลลิโมล่าร์ต่อวัน) ที่จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ผลิตได้ใน 5 สัดส่วนอาหาร	84
4.11	ความเข้มข้นฟอสเฟตไอออน (มิลลิโมล่าร์) ที่จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ผลิตได้ใน 5 สัดส่วนอาหาร	86

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง **หน้า**

4.12	ความเข้มข้นฟอสเฟตไอออน (มิลลิโมล่าร์ต่อวัน) ที่จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ ผลิตได้ใน 5 สัดส่วนอาหาร	87
ก1	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดของกากน้ำตาลเข้มข้น	111

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบาญภาพ

ภาพ		หน้า
2.1	การใช้ประโยชน์จากข้าวโพดหวานในกระบวนการแปรรูปข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋อง	6
2.2	โซเดียมไฟเตต	9
2.3	โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลกลูโคส	14
2.4	โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลไซโลส	14
2.5	โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลอะราบิโนส	15
2.6	โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลไรโบส	16
2.7	โครงสร้างเซลลูโลส	16
2.8	พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่ง (ก) β–*D*-(1, 4) (ข) α–*D*-(1, 4)	17
2.9	โครงสร้างเฮมิเซลลูโลส	18
2.10	โครงสร้างเซลลูเลส	19
2.11	การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสทั้ง 4 กลุ่ม	20
2.12	โครงสร้างไซลาเนส	21
2.13	ผลผลิตการย่อยสลายแป้งด้วยอะไมเลสทั้ง 3 ชนิด	22
2.14	โครงสร้างอัลฟ่าอะไมเลส	23
2.15	โครงสร้างเบต้าอะไมเลส	24
2.16	การผลิตเอทานอลจากไพรูเวตโดยใช้เอนไซม์ไพรูเวตฟอร์เมตไลเอส	27
2.17	การผลิตเอทานอลจากไพรูเวตโดยใช้เอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส	28
2.18	การผลิต PAC และสารผลิตภัณฑ์ข้างเคียงจากเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส	29
3.1	การถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique)	36
3.2	การเติมหัวเชื้อ 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร	36
3.3	เศษของแข็งเหลือทิ้งที่ย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (ก) เกรดบริสุทธิ์ (ข) เกรดการค้า	39
3.4	เศษของแข็งเหลือทิ้งต่อน้ำกลั่นสัดส่วนต่างๆ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส	40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ **หน้า**

3.5	เศษของแข็งเหลือทิ้งต่ออะซิเตตบัฟเฟอร์สัดส่วนต่างๆ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างผสมกลูคาเนส เพนโทซาเนส เฮมิเซลลูเลส และอะไมเลส	40
3.6	ตัวอย่างแหล่งอาหารคาร์บอนผสมรำข้าว 5 ระดับสัดส่วน (100:0, 25:75, 50:50, 75:25 และ 0:100)	43
3.7	ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจากขวดเพาะเลี้ยงเชื้อ ณ เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	44
3.8	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์	45
3.9	การทำให้ให้ผนังเซลล์จุลินทรีย์เกิดรูรั่ว	46
4.1	ตัวอย่างควบคุมที่เติมน้ำกลั่นแทนกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเพื่อทดลองยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์อะไมเลส	49
4.2	ผลกระทบของการเติม (ก) น้ำและ (ข) กรดซัลฟิวริกปริมาตร 0.1 – 5.0 มิลลิลิตร ต่อการผลิตน้ำตาลกลูโคสในขวดทดลองที่มีสารผสมแป้งข้าวโพดร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเอนไซม์อะไมเลสเกรดการค้า 1 มิลลิลิตร	51
4.3	เจลแป้งข้าวโพดหลังการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส ณ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	52
4.4	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อย (ก) เศษของแข็งเหลือทิ้ง (ข) แป้งข้าวโพดด้วยเอนไซม์อะไมเลสบริสุทธิ์และเอนไซม์อะไมเลสเกรดการค้าในช่วงสัดส่วนร้อยละ 5.0 – 12.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	55
4.5	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดต่อวัตถุดิบ 100 กรัม หลังการย่อย (ก) เศษของแข็งเหลือทิ้ง (ข) แป้งข้าวโพดด้วยเอนไซม์อะไมเลสบริสุทธิ์และเอนไซม์อะไมเลสเกรดการค้าในช่วงสัดส่วนร้อยละ 5.0 - 12.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	56
4.6	เศษของแข็งเหลือทิ้งต่อน้ำกลั่นที่สัดส่วนร้อยละ 15.0 – 50.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร	57
4.7	ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครสที่เวลา 0 ชั่วโมง	60
4.8	ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครสที่เวลา 48 ชั่วโมง	61
4.9	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	61
4.10	ความเข้มข้นเอทานอลที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	63
4.11	ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	64
4.12	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เปียกที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600) ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	64

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ **หน้า**

4.13	ค่าความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ที่ physiological pH (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	65
4.14	ความเข้มข้นของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	66
4.15	ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	67
4.16	ความสามารถในการผลิตอาร์-ฟีนิลแอซีติลคาร์บินอล (มิลลิโมล่าร์ต่อวัน) จากเซลล์รวมของจุลินทรีย์ 15 สายพันธุ์ ด้วยวิธีการคาร์โบไลเกส	69
4.17	ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ณ เวลาเริ่มต้น	71
4.18	ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครสที่เวลาสุดท้าย	72
4.19	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	72
4.20	ความเข้มข้นมวลชีวภาพแห้งที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	73
4.21	ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เปียกที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600) ที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	74
4.22	ค่าความเข้มข้นโปรตีนที่ละลายน้ำได้ที่ physiological pH (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	75
4.23	ความเข้มข้นของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	76
4.24	ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสุดท้าย	77
4.25	ค่าความเข้มข้นฟอสเฟตไอออน (มิลลิโมล่าร์ต่อวัน)	78
ก1	ตัวอย่าง working culture stock ของ *C. utilis* TISTR 5198	108
ก2	อาหารเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum media) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร	108
ค1	เส้นโค้งมาตรฐานสำหรับน้ำตาลซูโครส ช่วงความเข้มข้น 0 – 20 กรัมต่อลิตร ที่ retention time 5.90 – 5.95 นาที	116
ค2	เส้นโค้งมาตรฐานสำหรับน้ำตาลกลูโคส ช่วงความเข้มข้น 0 – 30 กรัมต่อลิตร ที่ retention time 6.90 – 7.05 นาที	116
ค3	เส้นโค้งมาตรฐานสำหรับน้ำตาลฟรุกโตส ช่วงความเข้มข้น 0 – 30 กรัมต่อลิตร ที่ retention time 7.64 – 7.65 นาที	117
ค4	เส้นโค้งมาตรฐานสำหรับเอทานอล ช่วงความเข้มข้น 0 – 50 กรัมต่อลิตร ที่ retention time 16.93 – 17.12 นาที	117

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ **หน้า**

ค5	ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นฟอสเฟตไอออน สำหรับสารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน ช่วง 0 – 3.5 มิลลิโมล่าร์ ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร	118
ค6	ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นโปรตีน สำหรับสารละลายมาตรฐาน albumin bovine fraction V ช่วง 0 – 1.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร	118
จ1	ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร) ที่เวลา 0 และ 48 ชั่วโมง	123

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved