บทที่ 2
วิธีการทดลอง

ในงานวิจัยนี้มีอุปกรณ์, สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

2.1อุปกรณ์

2.1.1 กล้องจุลทรรศน์ (microscopy) รุ่น Alphaphot - 2 YS2 บริษัท Nikon ประเทศญี่ปุ่น

2.1.2 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography) รุ่น 163 พร้อมเครื่องตรวจวัดแบบ Flame - Ionization Detector (FID) บริษัท Hitachi ประเทศญี่ปุ่น

2.1.3 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิแบบหมุน (incubator shaker) รุ่น RC - TK บริษัท Infors ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

2.1.4 เครื่องเขย่าผสม (vortex mixer) รุ่น Vortex - Genie No.2 บริษัท Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.5 เครื่องควบคุมระบบน้ำหล่อเย็น (circulation type handy cooler) รุ่น TRL - 108 บริษัท Thomas Kagaku ประเทศญี่ปุ่น

2.1.6 เครื่องชั่งแบบละเอียด (electronic balance) รุ่น FX - 180 บริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น

2.1.7 เครื่องชั่งแบบหยาบ (electronic balance) รุ่น FX - 3000 บริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น

2.1.8 เครื่องทำน้ำบริสุทธิ์ รุ่น Elgastat UHQ II บริษัท Elga ประเทศอังกฤษ

2.1.9 เครื่องปั่นหมุนเหวี่ยง (refrigerated centrifuge) รุ่น KR - 20000T บริษัท Kubota Corporation ประเทศญี่ปุ่น

2.1.10 เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH meter) รุ่น HI 8424 บริษัท Hanna Instruments ประเทศอิตาลี

2.1.11 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Spectronic - 21 บริษัท Bauch & Lomb ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.12 เครื่องวัดปริมาตรแก๊ส

2.1.13 เครื่องวิเคราะห์ผล (computer integrater) รุ่น C - R4A Cromatopac บริษัท Shimazu ประเทศญี่ปุ่น

2.1.14 เครื่องอัดอากาศ (air compressor) รุ่น PO - 0.4 บริษัท Hitachi ประเทศญี่ปุ่น

2.1.15 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (incubator) รุ่น MIR 152 บริษัท Sanyo Electronic ประเทศญี่ปุ่น

2.1.16 ตู้ปลอดเชื้อ (tarminar flow hood) รุ่น NK System Clean Bench ประเทศญี่ปุ่น

2.1.17 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบแห้ง (hot air oven) รุ่น Contherm series five บริษัท Contherm Scientific ประเทศนิวซีแลนด์

2.1.18 ตู้อบไมโครเวฟ (microwave oven) รุ่น MIR - 6650 บริษัท Hitachi ประเทศญี่ปุ่น

2.1.19 ตู้อบแห้ง (oven) รุ่น UL - 80 บริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน

2.1.20 ถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร (รูปที่ ฉ - 1)

2.1.21 ถังหมัก (bioreactor) ขนาด 3 ลิตร รุ่น Z 61101C006 บริษัท Applikon Dependable Instruments ประเทศฮอลแลนด์

2.1.22 ถังหมักทรงสูง (tower fermentor) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 เซนติเมตร ความสูง 40 เซนติเมตร ความจุ 0.45 ลิตร (รูปที่ ฉ - 2)

2.1.23 แผ่นนับเม็ดเลือดแดง (haemacytometer) Neubauer Bright Line บริษัท Boeco ประเทศเยอรมัน

2.1.24 เพริสตาลติกปั๊ม (peristaltic pump) รุ่น Eyela SMP - 23 บริษัท Tokyo Rikakikai ประเทศญี่ปุ่น

2.1.25 เพริสตาลติกปั๊ม (peristaltic pump) รุ่น P - 3 บริษัท Phamacia Fine Chemical ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.1.26 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave) รุ่น HA - 26 บริษัท Hirayama Manufacturing Corporation ประเทศญี่ปุ่น

2.2สารเคมี

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิตหรือจำหน่าย	
2.2.1 กรด3,5ไดไนโตรซาลิไซลิก	SIGMA	ประเทศสหรัฐอเมริกา
2.2.2 กรดไฮโดรคลอริก	MERCK	ประเทศเยอรมัน
2.2.3 กากน้ำตาล	โรงงานน้ำตาลมิตรผล	ประเทศไทย
2.2.4 แคลเซียมคลอไรด์	MERCK	ประเทศเยอรมัน
2.2.5 โซเดียมอัลจิเนต	NAKARAI CHEMICALS	ประเทศญี่ปุ่น
2.2.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์	MERCK	ประเทศเยอรมัน
2.2.7 เดรกซ์โทรส (กลูโคส)	Commercial grade	ประเทศไทย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.8 เปปโตน	DIFCO	ประเทศสหรัฐอเมริกา
2.2.9 โพแทสเซียมซัลเฟต	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี
2.2.10 โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต	MERCK	ประเทศเยอรมัน
2.2.11 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี
2.2.12 โพรพานอล	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี
2.2.13 วุ้นผง	พัฒนสินเอ็นเตอร์ไพรส์	ประเทศไทย
2.2.14 สารสกัดจากยีสต์	IBGE	ประเทศไทย
2.2.15 อะดีคานอล	MARUBISHI	ประเทศญี่ปุ่น
2.2.16 เอทานอลบริสุทธิ์ (99.8%)	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี
2.2.17 แอมโมเนียมซัลเฟต	CARLO ERBA	ประเทศอิตาลี

หมายเหตุ IBGE = สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ และการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดลองเป็นยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แยกได้จากน้ำหมักโรงงานสุรา กรมสรรพสามิต เก็บรักษาโดยถ่ายเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ใช้ในการทดลองโดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) ลาก (streak) ลงบนอาหารแข็งลาดเอียง (YM slant) (ภาคผนวก ก - 1.1) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บเชื้อในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลล์ยีสต์

2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารแข็งลาดเอียงบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อลงอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (ภาคผนวก ก - 1.2) โดยเติมน้ำขจัดไอออนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในอาหารแข็งลาดเอียงซึ่งมีเซลล์ยีสต์เจริญอยู่บนผิวหน้าของอาหาร จากนั้นปิเปตเซลล์แขวนลอยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ (erlenmayer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีการวิเคราะห์ข้อ 2.6.1 เพื่อหาระยะเวลาที่เชื้อเจริญอยู่ในระยะกึ่งกลางของจำนวนเซลล์ที่ผลิตได้ทั้งหมด (mid – population density)

2.4.2 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลล์ในการหมักแบบขวดเขย่า

ปิเปตหัวเชื้อจากข้อ 2.4.1 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารสูตร A (ภาคผนวก ก - 2.2) ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 22.5 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนเครื่อง

เขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาทีเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา12 ชั่วโมงนำตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.4.3 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลล์ในถังหมักขนาด 3 ลิตรแบบแบช

ถ่ายหัวเชื้อจากข้อ 2.4.1 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในถังหมักขนาด 3 ลิตร ที่บรรจุอาหารสูตร A (ภาคผนวก ก - 2.2) ปริมาตร 1.35 ลิตร ควบคุมภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 800 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 VVM และใช้สารอะดีคานอลละลายในน้ำขจัดไอออนอัตราส่วน 5:15 (ปริมาตร : ปริมาตร) เป็นสารกำจัดฟอง (antifoam) เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.4.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลล์แบบต่อเนื่องพร้อมถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร

ถ่ายหัวเชื้อจากข้อ 2.4.1 ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ลงในถังหมักขนาด 3 ลิตร ที่บรรจุอาหารสูตร A ปริมาตร 1.08 ลิตร ควบคุมภาวะการหมักเช่นเดียวกับข้อ 2.4.3 จนเชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด จึงมีการเติมอาหารสูตร B (ภาคผนวก ก - 2.3) เข้าสู่ถังหมักพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักออกจากถังด้วยอัตราที่เท่ากันเข้าสู่ถังตกตะกอนปริมาตร 2 ลิตร (ดังรูปที่ ฉ - 3) เก็บตัวอย่างน้ำหมักนำตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.5 การหมักเอทานอลจากกากน้ำตาล

2.5.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

2.5.2 การหมักเอทานอลในระดับขวดแบบ static culture

ปิเปตหัวเชื้อจากข้อ 2.5.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารสูตร C (ภาคผนวก ก - 3.2) ที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วทรงกระบอก ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยกระเปาะแก้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยไม่เขย่าขวด (static culture) เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างน้ำหมักมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณ เอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.5.3 การหมักเอทานอลในระดับถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร แบบแบช

ถ่ายหัวเชื้อจากข้อ 2.5.1 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ลงในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร ที่บรรจุอาหารอาหารสูตร C (ภาคผนวก ก - 3.2) ปริมาตร 0.405 ลิตร เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.5.4 การหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องระบบเซลล์อิสระในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร พร้อมถังตกตะกอนขนาด 2 ลิตร โดยใช้ระบบเวียนกลับเซลล์ยีสต์

ถ่ายหัวเชื้อจากข้อ 2.5.1 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ลงในถังหมักทรงสูงขนาด 0.45 ลิตร ที่บรรจุอาหารอาหารสูตร C ปริมาตร 0.405 ลิตร ทำการหมักจนเชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด จึงมีการเติมอาหารอาหารสูตร D (ภาคผนวก ก - 3.3) และเซลล์ยีสต์จากถังตกตะกอนในข้อ 2.4.4 เข้าสู่ถังหมักพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักออกจากถังด้วยอัตราที่เท่ากันเข้าสู่ถังตกตะกอนปริมาตร 2 ลิตร (ดังรูปที่ ฉ - 4) เก็บตัวอย่างน้ำหมักนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.5.5 การตรึงเซลล์ยีสต์ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตและการขึ้นรูป

นำเซลล์ยีสต์จากถังตกตะกอนในข้อ 2.4.4 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเข้มข้น 4 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ภาคผนวก ข - 3) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ด้วยวิธีการปลอดจากเชื้อ จะได้เซลล์ยีสต์ผสมเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเข้มข้น 2 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร นำเจลที่เตรียมได้ ขึ้นรูปโดยปั๊มผ่านเข็มฉีดยาลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ภาคผนวก ข - 4) ปริมาตร 0.45 ลิตร ที่บรรจุอยู่ในถังหมักทรงสูง ขนาด 0.45 ลิตร นับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์ (ข้อ 2.6.2) ต่อน้ำหนักของเจล และวัดขนาดของเม็ดตรึงเซลล์ที่เตรียมได้

2.5.6 การหมักเอทานอลแบบต่อเนื่องระบบตรึงเซลล์ยีสต์ในถังหมักทรงสูงขนาด0.45 ลิตร

นำถังหมักซึ่งบรรจุด้วยเม็ดตรึงเซลล์ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เตรียมได้จากข้อ 2.5.5 เติมอาหารสูตร E (ภาคผนวก ก - 3.4) เข้าสู่ถังหมักพร้อมทั้งปล่อยน้ำหมักออกจากถังด้วยอัตราที่เท่ากัน (ดังรูปที่ ฉ - 5) เก็บตัวอย่างน้ำหมักนำมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ข้อ 2.6.1) ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหลือ (ข้อ 2.6.3) และปริมาณเอทานอล (ข้อ 2.6.4)

2.6 วิธีวิเคราะห์

2.6.1 การวิเคราะห์การเจริญของเซลล์ยีสต์โดยหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำน้ำหมักปริมาตร 10 มิลลิลิตรมาปั่นแยกเซลล์ให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา10 นาที แยกส่วนน้ำทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลซูโครสและปริมาณเอทานอลต่อไป ส่วนกากนำมาล้างโดยเติมน้ำขจัดไอออนปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปั่นด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนน้ำทิ้ง นำส่วนกากมาล้างโดยวิธีเดิมอีกครั้ง นำเซลล์ที่ได้ใส่ในกระทงอะลูมินัมฟอยล์ (aluminum foil) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิคเคเตอร์ (desiccator) ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งแบบละเอียด หักน้ำหนักของกระทง

อะลูมินัมฟอยล์ออกจะได้น้ำหนักเซลล์แห้งรวมกับตะกอนกากน้ำตาลหักน้ำหนักตะกอนในอาหารกากน้ำตาล(ก่อนเติมเชื้อยีสต์)ออกแล้วคิดน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้เป็นกรัมต่อลิตร

2.6.2 การนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์

เตรียมแผ่นนับเชื้อให้สะอาด แล้ววางแผ่นแก้วปิด (cover slip) บนแผ่นนับเชื้อให้เรียบร้อยใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดน้ำหมักหยดที่ขอบของแผ่นแก้วปิดทั้งสองข้างพยายามอย่าให้มีฟองอากาศและอย่าให้น้ำหมักที่หยดล้นลงไปในช่องของแผ่นนับเชื้อทั้ง 2 ข้างนับจำนวนเซลล์ยีสต์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ปรับโฟกัสให้เห็นตารางเล็กๆในแผ่นนับเชื้อ ซึ่ง 1 ช่องมีตารางเล็กๆภายในอีก 16 ช่อง ให้นับทั้งหมด 5 ช่องอาจนับในแนวแทยงมุมก็ได้ ถ้าหากมีเซลล์ของยีสต์อยู่คาบเส้นระหว่างช่อง (คือเส้นทั้ง 3 เส้นขนานกัน) ให้นับในแนวตั้งฉากมุมใดมุมหนึ่งทั้ง 5 ช่องเหมือนกัน คำนวณจำนวนเซลล์ยีสต์ที่ได้ ดูวิธีคำนวณในภาคผนวก ง - 1

2.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลซูโครสโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก

ปิเปตตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากข้อ 2.6.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.2 นอร์มัล (ภาคผนวก ข - 1) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำสารละลายตัวอย่างไปเจือจางจนมีความเข้มข้นที่เหมาะสม ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (ภาคผนวก ข - 2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้น้ำขจัดไอออนเป็นตัวเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณน้ำตาลซูโครสได้จากกราฟมาตรฐานระหว่างน้ำตาลซูโครสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ในช่วงความเข้มข้น 0 - 2 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ค - 1)

2.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ปิเปตตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากข้อ 2.6.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว เติมสารละลายโพรพานอล (n - propanol) เข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ข - 5) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard) ผสมให้เข้ากันและฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี 1 ไมโครลิตร คำนวณปริมาณเอทานอลจากกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ค - 2) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลสัมบูรณ์ ที่ความเข้มข้น 0-100 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ข - 6) ผลการวิเคราะห์จะบอกปริมาณเอทานอลโดยน้ำหนักหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Chen, 1990)

ชนิดสารที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ (column): Porapak type Q ขนาด 80 - 100 mesh

ขนาดของคอลัมน์แก้ว : เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 2 มิลลิเมตร ยาว 2 เมตร

อุณหภูมิคอลัมน์ : 190 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิอินเจกเตอร์ (injector): 220 องศาเซลเซียส

ดีเทกเตอร์ (detector): FID (flame - ionize detector)

แก๊สพา (carrier gas): ไนโตรเจน

ความดันเกจ (pressure gauge): 1.2 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย