เอกสารอ้างอิง

การผลิตเอทธิลแอลกอฮอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย มิถุนายน 2520.

เครือวัลย์ รุ่งเรืองพนัสกุล, 2520, การทดลองความสามารถของยีสต์สร้างแอลกอฮอลจากน้ำอ้อย วิชาปัญหาพิเศษ ควบคุมโดย ดร.สุมาลี พิชญางกูร แผนกวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ฉันทนา นันทพงษ์, 2522, กรรมวิธีและสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการผลิตยีสต์สำหรับทำขนมปังในประเทศไทย วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เฉลิม ชาตรีมนตรีชัย, 2522, รายงานเศรษฐกิจธนาคารกรุงไทย, 12(11), 84.

เชิดชัย เชี่ยวธีรกุล, 2518, วารสารอาหาร ปีที่ 7, ฉบับที่ 1, 39.

นิคม ติปะวาโร, 2523, ปฏิบัติการเคมีอาหาร – 2 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

————, 2523, การศึกษาเครื่องหมักแบบคอลัมน์ในการผลิตยีสต์ (Candida utilis) เอทานอล และกรดอะซิติคจากน้ำสับปะรด วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประกาศของกระทรวงสาธารณสุข, 2520, ตารางที่ 9.20 บัญชีวัตถุเจือปนในอาหาร ประกาศของกระทรวงสาธารสุข ที่ 20/2520.

ปราโมทย์ ศิริโรจน์, 2521, การคัดเลือกสายพันธุ์และการเลี้ยงยีสต์ที่มีโปรตีนสูงในน้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภัทรา มณีธวัช, 2520, วารสารน้ำตาล 13(1), 1.

รายงานการสัมนา เรื่องปัญหาอ้อยและน้ำตาลในประเทศไทย ณ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, 11 – 12 ตุลาคม 2520. เกษตรกลางบางเขน จัดโดยสาขาพืชศาสตร์ สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

รายงานกิจกรรมของกรมวิทยาศาสตร์ เรื่องการเก็บน้ำอ้อยเพื่อใช้เป็นเครื่องดื่ม ฉบับที่ 31 หน้า 143.

วีระ สุสังวรกาญจน์, 2522, โครงการผลิตแอลกอฮอลจากวัสดุเกษตร เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการเกี่ยวกับปัญหาแนวทางและแผนงานในการเร่งรัดพัฒนาพลังงานทดแทน ณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 21 – 23 พฤศจิกายน 2522.

สุกัญญา รอดแจ่ม และ อุบล อภิชาตการ, 2514, รายงานผลการฝึกงานในระหว่างปิดภาคฤดูร้อน ณ โรงงานสุราอยุธยา จังหวัดอยุธยา, แผนกวิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Abbott, B.J.; A.I. Laskin; C.J. McCoy, 1973, Appl. Microbiol; 25, 787.

Ahmad, M.; A. Razzaque Chaudhury; and K.U. Ahmad, 1954, Mycologia, 46, 708.

Aiba, A.; Humphrey, A.E., and Millis, N.F., 1965, Biochemical Engineering Academic Press, New York.

Amerine, M.A.; H.W. Berg; and W.V. Cruess, 1967, The Technology of wine making, The AVI Puplishing Co., Westport, Connecticut.

A.O.A.C., 1975, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 12th ed., Washington, D.C.

Bach, H.P., W. Woehrer; and M. Roehr, 1978, Biotech. Bioeng., 20, 799.

Baker, B.P., 1976, Composition, Properties and Uses of Molasses and Related Products, Director Technical Services, United Molasses Trading Co. Ltd., Section I, 54.

Beech, F.W.; and J.G. Carr, 1960, J. Sci. Fd. Agri 11, 35.

Beech, F.W.; and R.R. Davenport, 1970, In Norris, J.R. and D.W. Ribbons, 1971, Method in Microbiology, Vol. 4, New York, Academic Press, 153.

Birkett, H.S.; and J.A. polack. 1978, The Sugar Journal, May, 9.

Bunker, H.J., 1963, Biochemistry of Industrial Micro-organism, Academic Press, New York and London.

Carioca, José O.B.; Scares J.B.; and Thiemann W.H.P., 1978, Biotech. Bioeng. 20, 443.

Concone, B.R.V.; H. Hiss; G. Taralli; M.P.G. Paz; and C.G. Patricio, 1976, J. Ferment. Technol; 54, 420.

Cysewski, G.R.; and Charles R. Wilke, 1976, Biotech. Bioeng., 18, 1297.

de Menezes, T.J.B., 1978, Alcohol Production from Cassava, Cassava Harvesting and Processing. International Development Research Centre and the Centro International de Agriculture Tropical, 41.

Eroshin, V.K.; I.S. Utkin; S.V. Ladynichev; V.V. Samoylov; V.D. Kuvshinnikov; and G.K. skryabin, 1976, Biotech. Bioeng., 18, 289.

Ethiraj, S.; E.R. Suresh; and H. Onkarayya, 1980, J. of the Sc. of Food and Agri., 31(6), 611.

Faparusi, S.I., 1969, American Society for Microbiology, 18(1), 122.

————, 1973, J. Appl. Bact., 36, 559.

————, 1974, J. of Food Sc., 39, 755.

Harris, E.E.; M.I. Hannan and R.R. Marquardt, 1948, Ind. Ing. Chem., 40, 2068.

Hixson, A.W., and E.L. Gaden, 1950, Ind. Eng. Chem., 42(9), 1792.

How to replace imported fuels with your own domestic enegy resources, 1980, Novo Industrias report, January.

Humbert, R.P., 1976, Sugar Y. Azucar, Feb.

Jackson, E.A., 1976, Process Biochem., June, 29.

Kiuchi, K., T. Suzuki; and T. Ohta, 1975, J. Ferment. Technol. 53(6), 386.

————, 1975, J. Ferment. Technol. 53(6), 393.

Kunkee, R.E. and M.A. Amerine, 1970, Yeast in wine making, The Yeast, Vol. 3 Yeast Technology. London and New York, Academic Press.

Levine, D.W.; and C.L. Cooney, 1973, Appl. Microbiol. 26(6), 982.

Lodder, J., 1974, The Yeasts, a taxonomic study. Amsterdum: North Holland Publ. Co.

Magalhaes, M.M. dos A.; M.L.R. Vario; and W. Borzani, 1979, J. Ferment. Technol. 57(6), 534.

McCann, D.J.; R.G.H. Prince, 1978, Alcohol Fuels, A conference held at the Sebel Town House, Sydney, Australia, Organised by Institute of Chemical Engineerings, N.S.W. group, 9 - 11 August, 4 - 22.

Mehta, N.N.; and R.S. Khanna, 1964, Chem. Age. India 15(1), 67.

Milfont Jr., W.N., 1978, Prospects of Cassava Fuel Alcohol in Brazil, Cassava Harvesting and Processing. International Development Research Centre and the Centro International de Agriculture Tropical, 46.

Moo Bae; and B.H. Kim, 1980, Abstract No. F-9.3 - 14 (p), Alcohol production II. VIth International Fermentation Symposium and Vth International Symposium on Yeasts. July 20 - 25, London, Ontario, Canada.

Nagodawhana, 1974, Appl. Microbiol., 28(3), 383.

Okafor, N., 1972, J. Sci. Fd. Agric., 23, 1399.

————, 1975, J. Appl. Bact., 38, 1.

Phaff, H.J., M.W. Miller; and E.M. Mrak, 1968, The Life of Yeasts. Their nature, activity, ecology and relation to mankind. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press.

Peterson, W.H.; J.F. Snell and W.C. Frazier, 1945, Ind. Eng. Chem; 37(1), 30.

Poosaran, Naiyatat, 1980, Alcoholic Fermentation from Cassava Starch, Report to JSPS-NRCT, August.

Prescott, S.C.; and C.G. Dunn, 1959, Industrial Microbiology, 3rd ed., New York. McGraw-Hill Book Co. New York, Toronto London.

Rankine, B.C., 1953, Aust. J. Appl. Sci., 4(4), 590.

————, 1954, Aust. J. Appl. Sci., 5(3), 298.

————, 1955, Aust. J. Appl. Sci., 6(3), 408.

————, 1955, Aust. J. Appl. Sci., 6(3), 421.

Reed, G.; and H.J. Peppler, 1973, Yeast Technology, Wesport, Conn., The AVI Publishing Co. Inc.

Reiser, C.O., 1954, J. Agri. and Food Chem., 2(2), 70.

Rose, A.H. and J.S. Harrison, 1971, The Yeast, Vol. 2, Physiology and Biochemistry of Yeast, London and New York, Academic Press.

————, 1971, The Yeast, Vol. 3, Technology of yeast, London and New York, Academic Press.

Rose, D., 1976, Process Biochem, March, 10.

Shehata A.M. El-Tabey, 1960, Appl. Microbiol. 8, 73.

Spencer-Meade, 1963, Cane Sugar Handbook, 9th ed., John Willey & Sons, Inc., N.Y. London.

Ueda, S.; and Y. Koba, 1980, J. Ferment. Technol., 58(3), 237.

————, 1980, Abstract No. F-93 16(P), Alcohol production II. VIth International Fermentation Symposium and Vth International Symposium on Yeast. July 20 - 25, London, Ontario, Canada.

Underkofler, L.A.; and R. J. Hickey, 1954, Industrial Fermentations, Chemical Publishing Co. Inc.

Vananuvat, P.; and J.E. Kinsella, 1975, J. Food Sci. 40, 336.

Welles, J.B.; and H.W. Blanch, 1976, Bioteche Bioeng., 18, 129.

White, J., 1956, Recent Studies in Yeast and Their significance in industry, S.C.I. Monograph, No.3, Society of Chemical Industry, London W.W.I.

White, J.; and D.J. Munns, 1951, Wallerstein Labs, Commun. 14(46), 199.

Yoshizawa, K., 1978, J. Ferment. Technol. 56(4), 389.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร 1

Yeast extract-malt extract agar (YM agar)

Yeast extract	3	gm.
Malt extract	3	gm.
Peptone	5	gm.
Glucose	10	gm.
Agar	20	gm.
dist. water	1000	ml.

ปรับ pH = 6 เมื่อใช้เลี้ยงเชื้อใน culture slant

ปรับ pH = 4.5 ให้เพิ่ม agar เป็น 30 gm เมื่อใช้แยกเชื้อยีสต์จากผลตาล โดยไม่ให้ bacteria และราอื่นขึ้น แต่ pH 4.5 นี้ยีสต์เจริญได้ดี นึ่งฆ่าเชื้อใน autoclave อุณหภูมิ 121 °ซ. ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

สูตรของ Wickerham (Prescott and Dunn, 1959)

YM Broth ไม่ต้องใส่ Agar

สูตร 2

น้ำตาลทราย	20 กรัม% หรือ	25 กรัม%
$(NH_4)_2SO_4$	0.5	gm.
KH_2PO_4	0.3	gm.
Yeast extract	0.4	gm.
dist. water	1000	ml.

pH = 4.5

ใช้สำหรับคัดเชื้อขั้นต้นเพื่อหาความสามารถของเชื้อในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นแอลกอฮอล์

สูตร 3

$(NH_4)_2SO_4$	0.5	gm.
KH_2PO_4	0.3	gm.
Yeast extract	0.4	gm.
น้ำอ้อย	1000	ml.

pH = 4.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 4

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำอ้อยที่ใส่สารกันเสีย (Preservative)

น้ำอ้อย	500	ml.
agar	20	gm.
Yeast extract	2	gm.
Peptone	3	gm.
dist. water	500	ml.

pH = 6.0

สูตร 5

สูตรอาหารน้ำอ้อยที่มีสภาพสมบูรณ์ คือ มีอาหารเสริมที่ได้ปรับปริมาณให้มีสภาพเหมาะแก่การหมักเอทธานอลได้ปริมาณสูงสุด

$(NH_4)_2SO_4$	0.5	gm.
KH_2PO_4	0.3	gm.
Yeast extract	0.2	gm.
น้ำอ้อย	1000	ml.

pH = 4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 6

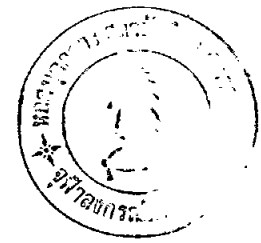
Glucose (Anhydrous)	100	gm.
Yeast extract (Difco)	8.5	gm.
NH_4Cl	1.32	gm.
$MgSO_4.7H_2O$	0.11	gm.
$CaCl_2$	0.06	gm.
Antifoam (General Electric AF 60)	0.2	ml.
Tap water to	1	liter

หมายเหตุ Cysewski และ Wilke (1976) ใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอทธานอลและการสร้างเซลล์ของยีสต์ Saccharomyces cerevisae ATCC 4126 ศึกษาการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 7

KH_2PO_4	1.0	gm.
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	gm.
NH_4Cl	0.8	gm.
$FeSO_4$	16	mg.
$CaCl_2.2H_2O$	0.66	mg.
$ZnSO_4.6H_2O$	0.18	mg.
$CuSO_4.5H_2O$	0.16	mg.
$CoCl_2.6H_2O$	0.18	mg.
$MnSO_4.4H_2O$	0.15	mg.
C_2H_5OH	10.0	ml.
Biotin	0.1	mg.
dist. water	1000	ml.



หมายเหตุ Eroshin และผู้ร่วมงาน (1976) ใช้ศึกษาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ Saccharomyces cerevisiae TBPM Strain 14 (Academy of Science, U.S.S.R.) โดยศึกษาในถังหมัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตร 8

Glucose	250	gm.
$(NH_4)_2SO_4$	45	gm.
KH_2PO_4	7	gm.
KCl	5.75	gm.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	5	gm.
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	0.5	gm.
$(NH_4)_2Fe_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O$	0.1	gm.
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1	gm.
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	10	mg.
Myo-Inositol	0.5	gm.
Ca-pantothenate	13	mg.
biotin	0.75	mg.
Yeast extract	0.5	gm.
dist. water	1000	ml.

หมายเหตุ Bach, Woehrer และ Roehr (1978) ศึกษาการวัดเอทธานอลในระหว่างการเลี้ยงยีสต์ Saccharomyces serevisae ในถังหมักที่มีการให้อากาศแบบต่อเนื่อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การใช้เครื่องวัดแอลกอฮอล Ebulliometer

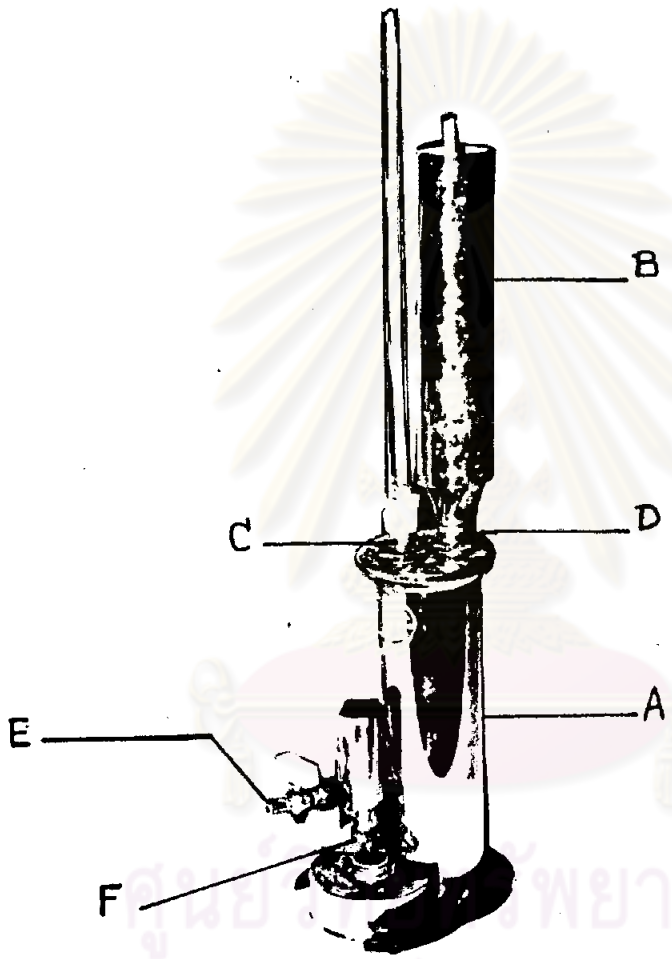
Ebulliometer เป็นเครื่องมือที่ใช้หาปริมาณแอลกอฮอลโดยการหาจุดเดือดแล้วเปิดตารางเทียบของ DUJARDIN, SUCCESSEUR DE SALLERON-PARIS เครื่องมือประกอบด้วยโลหะทรงกระบอก 2 ส่วน A และ B ต่อกัน ทรงกระบอกอันล่าง (A) จะเป็นที่บรรจุสารละลายสำที่ต้องการหาปริมาณแอลกอฮอลโดยบรรจุสารลงในช่อง C และเสียบเทอร์โมมิเตอร์สำหรับอ่านอุณหภูมิไว้ ทรงกระบอกอันบน (B) จะเป็นที่ใส่น้ำหล่อน้ำให้เย็น สวมต่อกับทรงกระบอก A ที่ช่อง D E เป็นก๊อกที่จะเปิดถ่ายสารละลายน้ำสำออกทิ้ง F เป็นปล่องสำหรับรวมเปลวไฟจากตะเกียงซึ่งวางไว้ข้างใต้ปล่องนี้ (ดูรูปที่ 15 หน้า 98)

เมื่อต้องการวัดแอลกอฮอล เปิดจุกที่มีเทอร์โมมิเตอร์เสียบอยู่ออก ใส่น้ำกลั่น 15 มล. ในช่อง C ปิดจุก ซึ่งมีเทอร์โมมิเตอร์เสียบอยู่ปิดให้แน่น ยังไม่ต้องใส่น้ำในกระบอกหล่อน้ำเย็น (B) จุดตะเกียงใต้ปล่อง F อ่านอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำกลั่น ณ จุดที่ปรอทขึ้นคงที่ สมมุติอ่านได้ 99.98 °ซ.

ไขน้ำกลั่นทิ้งโดยเปิดก๊อก E

นำสารละลายที่ต้องการหาเปอร์เซนต์แอลกอฮอลมา 50 มล. ใส่ในช่อง C ปิดจุกที่มีเทอร์โมมิเตอร์เสียบอยู่ให้แน่น เติมน้ำกลั่นลงในกระบอกหล่อน้ำเย็น (B) อ่านอุณหภูมิ ณ จุดที่ปรอทขึ้นคงที่ สมมุติอ่านได้ 95 °ซ.

อ่านเปอร์เซนต์ของสารละลายได้โดยนำตารางมาเทียบ โดยตั้งอุณหภูมิของจุดเดือดของน้ำกลั่นไว้ที่ 0% แล้วดูว่าจุดเดือดของสารละลายที่ต้องการวัดเปอร์เซนต์แอลกอฮอลตรงกับตัวเลขเท่าไร ก็ทราบเปอร์เซนต์แอลกอฮอลได้ เช่น จุดเดือดน้ำกลั่น 99.98 °ซ. ตั้งให้ตรงกับ 0% แอลกอฮอล แล้วอ่านค่าจุดเดือดของสารละลายสำที่นำมาวัดตรงกับตัวเลขที่เท่าไรสารนั้นก็จะมีเปอร์เซนต์แอลกอฮอลตามค่าที่อ่านได้ เช่น



รูปที่ 15 เครื่องวัดเปอร์เซนต์แอลกอฮอล Ebulliomet

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุดเดือด °ซ.	% แอลกอฮอล
99,98	0
95.6	5
95.0	5.82
94.5	6.54
93.9	7.41
92.4	9.8
91.8	10.9

ค่าบริกซ์ (^{o}Brix) หมายถึงค่าเปอร์เซนต์โดยน้ำหนักของน้ำตาลซูโครสในสารละลายน้ำตาลบริสุทธิ์ แต่ในทางปฏิบัติ หมายถึงค่าน้ำตาลในอ้อยกับสิ่งเจือปน หาได้จากการคั้นน้ำอ้อยครั้งแรก แล้ววัดปริมาณน้ำตาลโดยใช้เครื่องมือ Refractometer ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกระบอก มีตัวเลขบอกภายใน วิธีใช้ หยดสารละลายน้ำตาล 2 – 3 หยด ลงบนแผ่นกระจกของ refractometer แล้วส่องดู refractive index เป็น °B ซึ่งบอกค่าเป็นกรัมของน้ำตาล sucrose ต่อ 100 ml. (Spencer-Meade, 1963 p. 466; หนังสือสัมนาเรื่องปัญหาอ้อยและน้ำตาลในประเทศไทยปี 2520 หน้า 219)

กากน้ำตาล (Molasses) เป็นของเหลวที่หล่อเลี้ยงผลึกน้ำตาล มีลักษณะข้นเหนียว สีน้ำตาลปนดำ แยกจากผลึกน้ำตาลได้โดยการปั่น กากน้ำตาลมี 3 ชนิด คือ blackstrap mollasses เป็นกากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว refinary molasses เป็นกากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวขั้นบริสุทธิ์

และ invert หรือ highest molasses เป็นกากน้ำตาลที่ได้จากการทำให้ inverted cane juice ข้นขึ้นโดยการระเหย (ภัทรา มณีรัวัช, 2520)

การวิเคราะห์ปริมาณรีดิวซิ่งชูการ์

(Determination of Reducing Sugar)

ในการวิเคราะห์น้ำตาลในน้ำอ้อยและในน้ำส่าที่เกิดจากการหมักน้ำอ้อย แสดงปริมาณน้ำตาลเป็นร้อยละน้ำหนักต่อปริมาณของ invertesugar โดยการ titrate กับ Fehling sol^{n} ดังนั้นก่อนทำการวิเคราะห์ จะต้องหา Factor สำหรับ Fehling sol^{n} ที่จะใช้ก่อน การหา Factor ของ Fehling sol^{n} (Lane Eynon General Volumetric Method)

การเตรียมสารละลายและสารเคมีที่ใช้

1. สารละลาย Fehling A (Copper Sulfate solution) ละลาย $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 62.278 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร กรองด้วยใยแอสเบสทอส (asbestos)

2. สารละลาย Fehling B (Alkaline tartrate solution ละลาย Rochelle Salt (Potassium-Sodium tartrate KNa $C_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) 346 กรัม และ Sodium hydroxide (NaOH) 100 กรัม ด้วยน้ำกลั่นทำให้ได้ปริมาณ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 วัน กรองด้วยใยแอสเบสทอส

3. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.5% น้ำหนักต่อปริมาตร ละลายน้ำตาลซูโครสประมาณ 0.5 กรัม ชั่งอย่าง accurate ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 มล. เติม HCl conc 1 มล. ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อ hydrolyse เติมน้ำลงไป

ครึ่งหนึ่ง เติม NaOH dil ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัสจนเป็นกลาง แล้วทำให้เป็นกรดเล็กน้อยด้วย HCl dil เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มล. เขย่า

4. เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาอินเวิร์ทชูการ์ วิธีเตรียมดูดสารละลายตัวอย่างมาเติมกรดไฮโดรคลอริค 1 นอร์มอล 15 มล. เติมน้ำกลั่น 150 มล. ต้มเดือด 2 นาที ทำให้เย็น เติมฟีนอลทาลีน 1 หยด ไตเตรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% จนได้สารละลายสีชมพู เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 200 มล. เรียกสารละลายนี้ว่าสารละลายน้ำตาล

5. สารละลายเมทธิลลีนบลูในน้ำ 1% น้ำหนักต่อปริมาตร

6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริค 1 นอร์มอล

7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10% น้ำหนักต่อปริมาตร

8. สารละลายฟีนอลทาลีน 1% น้ำหนักต่อปริมาตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. หา Factor ของ Fehling solution

ไปเปตสารละลาย Fehling A และ B อย่างละ 5 มล. ใส่ฟลาสขนาด 250 มล. โดยผสมกันแล้วใช้ทันที ดูดสารละลายกลูโกสมาตรฐาน 0.5% ปริมาตร 8 มล. สารละลายกลูโกสมาตรฐานอีกส่วนหนึ่งบรรจุในบิวเรตขนาด 25 มล. วางฟลาสบนตะแกรงลวด (Wire-gauze) บนตะเกียงบุนเซ่น ต้มให้เดือด จับเวลานับจากเริ่มเดือด 2 นาที หยดเมทธิลลีนบลูเป็นอินดิเคเตอร์ 3 หยด ไตเตรตด้วยกลูโคสมาตรฐาน จนกระทั่งสีน้ำเงินของเมทธิลลีนบลูเปลี่ยนไปเป็นตะกอนสีแดงอิฐของคิวปรัสออกไซด์ (Cu_2O) โดยดูจากสีของฟอง และระยะเวลาการไตเตรตต้องไม่เกิน 3 นาที เพราะน้ำตาลจะไหม้ทำให้ได้ผลผิดพลาด จดปริมาณสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ใช้ทั้งหมด ทำการทำลองซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง ค่าปริมาตรสารละลายกลูโคสที่ใช้ไปแต่ละครั้งต้องไม่ต่างกัน $\pm$ 0.2 มล.

การคำนวณ จากซูโครสที่ใช้จะถูก hydrolyse ด้วย HCl conc จะได้ monosaccharide ดังสมการ

$$C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow{\widehat{H_2O}} 2C_6H_{12}O_6$$

342.296 กรัม 360.312 กรัม

monosaccharide ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ Fehling sol^{n}

น้ำหนักซูโครสที่ใช้	0.5003 กรัม
ปริมาตรสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ใช้	10.2 มล.
Fehling sol^{n} 10 มล. ≡ sucrose sol^{n}	10.2 มล.
ใน 100 มล. มี Sucrose	0.5003 กรัม
ใน 10 มล. มี Sucrose	$\frac{0.5003 \times 10.2}{100}$ กรัม

จากปฏิกิริยาข้างบนซูโครส 342.296 กรัม เปลี่ยนเป็นโมโนแซคคาไรด์

= 360.312 กรัม

เพราะฉะนั้น ซูโครส $\frac{0.5003 \times 10.2}{100}$ กรัม เปลี่ยนเป็นโมโนแซคคาไรด์

$$= \frac{360.312 \times 0.5003 \times 10.2}{342.296 \times 100} \text{ กรัม}$$

= 0.0536 กรัม

เพราะฉะนั้น Factor สำหรับ Fehling sol^{n} = 0.0536

2. การหาปริมาณน้ำตาลในสารละลายตัวอย่าง ไปเปตสารละลาย Fehling A และ B อย่างละ 5 มล. เติมสารละลายน้ำตาล 15 มล. ต้มเดือด 2 นาที เติมเมทธิลลีนบลู 3 หยด ไตเตรตต่อด้วยสารละลายน้ำตาลจนสีน้ำเงินของเมทธิลลีนบลูเปลี่ยนเป็นตะกอนสีแดงอิฐของ Cu_2O จดปริมาณของสารละลายน้ำตาล

ที่ใช้ทั้งหมดเป็นค่า Titer (ค่า Titer ควรอยู่ระหว่าง 15 – 50 มล.)

การคำนวณ

ดูดสารละลายตัวอย่าง = 5 มล.

Factor ของ Fehling sol^{n} = 0.0536

Titer = 19.5 มล.

10 มล. ของ Fehling sol^{n} ≡ สารละลายน้ำตาล = 19.5 มล.

สารละลายน้ำตาล 19.5 มล. มีอินเวิร์ทชูการ์ = 0.0536 กรัม

" 200 มล. " = $\frac{0.0536 \times 200}{19.5}$ กรัม

= 0.54974 กรัม

สารละลายตัวอย่าง 5 มล. มีอินเวิร์ทชูการ์ = 0.54974 กรัม

" 100 มล. " = $\frac{0.54974 \times 100}{5}$ กรัม

= 10.99 กรัม

เพราะฉะนั้นเปอร์เซนต์ invert sugar per

total volume = 10.99

หรือ เปอร์เซนต์ invert sugar

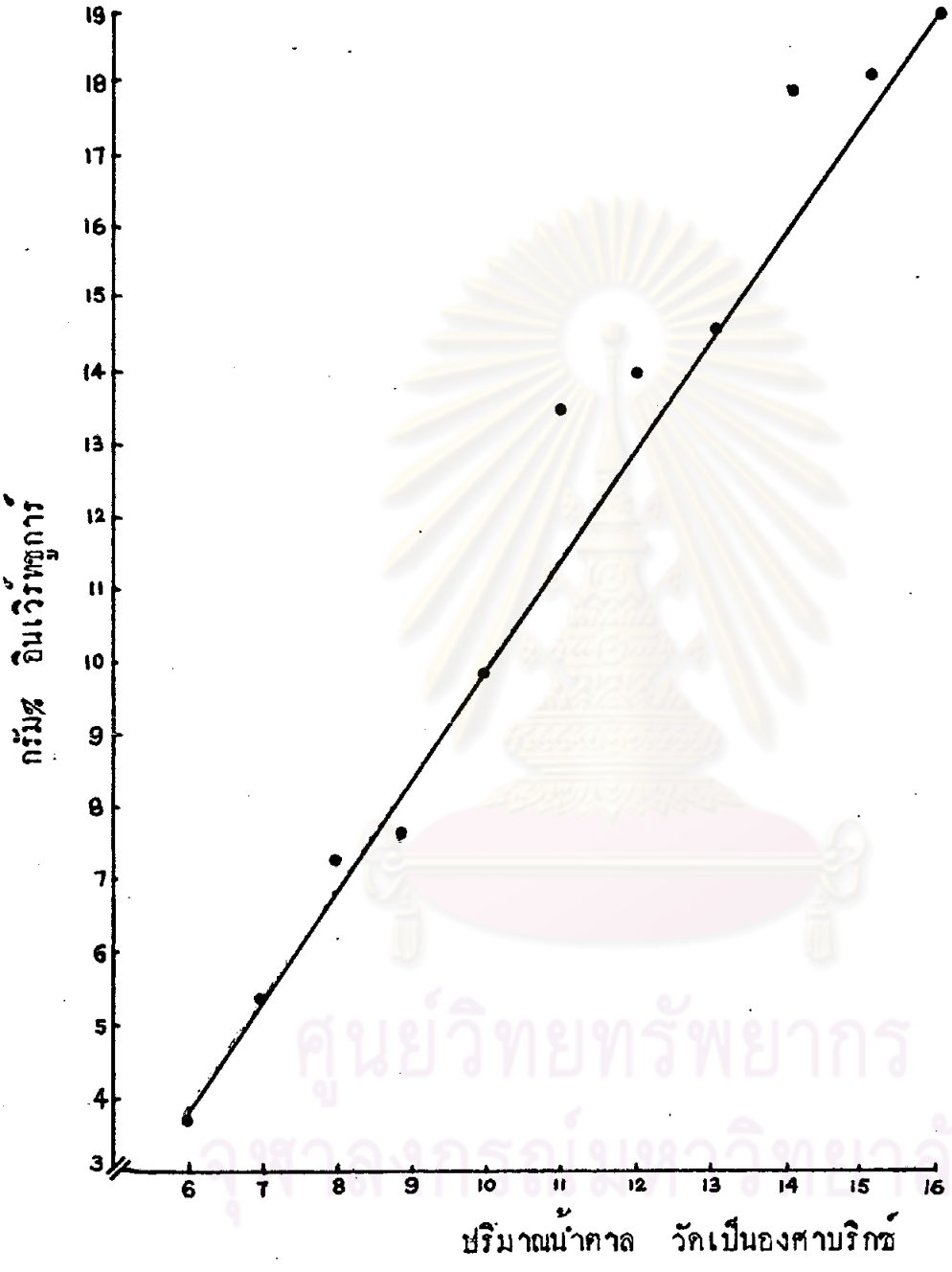
$$= \frac{\text{Factor ของ Fehling sol}^{n} \times \text{สารละลายน้ำตาลที่เตรียม} \times 100}{\text{ปริมาณน้ำตาลตัวอย่างที่ใช้} \times \text{Titer}}$$

(นิคม ศิปะวาโร, 2523; สุกัญญาและอุบล, 2514; AOAC, 1975)

ตารางที่ 8 แสดงค่าสัมพันธ์ระหว่างองศาบริกซ์กับปริมาณกรัมเปอร์เซนต์ของน้ำตาลอินเวิร์ทชูการ์ในน้ำอ้อย คำนวณเมื่อไตเตรตกับสารละลายเฟลิงห์

องศาบริกซ์	กรัมเปอร์เซนต์อินเวิร์ทชูการ์
16	19.0
15	18.08
14	18.04
13	14.64
12	13.9
11	13.7
10	9.82
9	7.66
8	7.49
7	5.5
6	3.95

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 แสดงเส้นกราฟมาตรฐานของปริมาณน้ำตาลวัดเป็นองศาบริกซ์กับปริมาณกรัม เปอร์เซนต์อินเวิร์ทชูการ์ เมื่อไตเตรทกับสารละลายเฟลิงค์

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณเปอร์เซนต์เอทธานอลของสายพันธุ์ยีสต์ คัดโดยหมักในน้ำตาลซูโครส 20 กรัม% (18°บริกซ์) เพิ่มอาหารเสริมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.3 กรัม ยีสต์เอกซ์-แทรก 0.4 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร pH 4.5 ปรับการหมุน 100 rpm ที่อุณหภูมิ 26°ซ. ภายหลังการหมัก 7 วัน

เปอร์เซนต์เอทธานอลที่ได้จากการหมัก 20 กรัม% ซูโครส ปรับการหมุน 100 rpm ที่ 26°ซ.		ระหัสชื่อเชื้อ
ต่ำกว่า	3	A_{10} B_8 B_9 C_1 C_2 S_{10}
	3 - 3.9	A_2 A_5 A_7 A_8 B_1 B_2 B_6 B_7 B_{10}
	4 - 4.9	A_1 A_6 A_9 B_3 B_4 B_5 S_{90}
	5 - 5.9	A_3 A_4
	6 - 6.9	-

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณเปอร์เซนต์เอทธานอลของสายพันธุ์ยีสต์ คัดโดยหมักในน้ำตาลซูโครส 25 กรัม% (21 บริกซ์) เพิ่มอาหารเสริมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัม โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.3 กรัม ยีสต์เอกซ์แทรก 0.4 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร pH 4.5 ปรับการหมุน 80 rpm ที่อุณหภูมิ 26 °ซ. ภายหลังการหมัก 7 วัน

เปอร์เซนต์เอทธานอลที่ได้จากการหมัก 25 กรัม% ปรับการหมุน 80 rpm ที่อุณหภูมิ 26 °ซ.		ระหัสชื่อเชื้อ
ต่ำกว่า	3	B_5 B_{10} S_{10}
	3 - 3.9	B_7
	4 - 4.9	B_2 B_9
	5 - 5.9	B_1 B_3 S_{90}
	6 - 6.9	B_8 C_1 C_2
	7 - 7.9	A_9 B_4 B_6
	8 - 8.9	A_7 A_8 A_{10}
	9 - 12	A_1 A_2 A_3 A_4 A_5 A_6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณเปอร์เซนต์เอทธานอลของสายพันธุ์ยีสต์ คัดโดยหมักในน้ำตาลซูโครส 25 กรัม% (21 °บริกซ์) เพิ่มอาหารเสริมแอมโมเนียม-ซัลเฟต 0.5 กรัม โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.3 กรัม ยีสเอกซ์แทรก 0.4 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร pH 4.5 ปรับการหมุน 80 rpm ที่อุณหภูมิ 28 °ซ. ภายหลังการหมัก 7 วัน

เปอร์เซนต์เอทธานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลซูโครส 25 กรัม% ปรับการหมุน 80 rpm ที่อุณหภูมิ 28 °ซ.		ระหัสชื่อเชื้อ
ต่ำกว่า	3	B_2 B_3
	3 - 3.9	B_1
	4 - 4.9	C_1 C_2
	5 - 5.9	B_4 B_6 B_9 S_{10}
	6 - 6.9	A_{10} B_5 B_{10} S_{90}
	7 - 7.9	A_1 A_9 B_7 B_8
	8 - 8.9	A_2 A_5 A_6 A_7 A_8
	9 - 12	A_3 A_4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงรายละเอียดส่วนประกอบของกากน้ำตาล (Spencer-Meade, 1963)

Approximate Composition of Cane Molasses

(Percentage weight of molasses)

Main Constituents	Components		Normal Percentage Range
Water			17-25
Sugars	Sucrose		30-40
	Glucose (dextrose)		4-9
	Fructose (levulose)		5-12
	Other reducing substances (as invert)		1-4
	Total reducing substances (as invert)		10-25
Other carbohydrates	Gums, starch, pentosans, also traces of hexitols; myoinositol, d-mannitol, and uronic acids (MeO, 2.0-3.0)		2-5
Ash	As carbonates		7-15
		Percent of Ash	
	Bases: K_2O	30-50	
	CaO	7-15	
	MgO	2-14	
	Na_2O	0.3-9	
	R_2O_3 (Fe)	0.4-2.7	
	Acids: SO_3	7-27	
	Cl	12-20	
	P_2O_5	0.5-2.5	
	SiO_2 and insol.		
Nitrogenous compounds	"Crude protein" (as N x 6.25)		2.5-4.5
	True protein		0.5-1.5
	Amino acids, principally aspartic and glutamic acids, including some pyrrolidine carboxylic acid		0.3-0.5
	Unidentified nitrogenous componente		1.5-3.0
Non-nitrogenous acids	Aconitic acid (1-5%), citric, malic, oxalic, glycolic		1.5-6.0
	Mesaconic, succinic, fumaric, tartaric		0.5-1.5
Wax, sterols, and Phosphatides			
Vitamins	Vitamin A, biotin, niacin, pantothenic acid, riboflavin, thiamine		Varying amounts

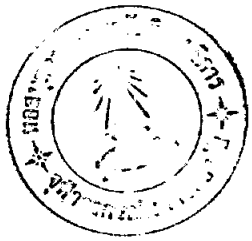
ตารางที่ 13 แสดงรายละเอียดสารประกอบต่าง ๆ ในน้ำอ้อย (Spence-Meade, 1963)

Composition of Sugar Cane and of Juice Solids

Approximate ranges of normal concentrations of the principal constituents in extracted raw juice solids

Constituent	Percent	
Water	73-76	
Solids	24-27	
Fiber (dry)	11-16	
Soluble solids	10-16	
Juice constituents		Percent of Soluble Solids
Sugars	75-92	
Sucrose		70-38
Glucose		2-4
Frutose		2-4
Salts	3.0-7.5	
Of inorganic acids		1.5-4.5
Of organic acids		1.0-3.0
Free organic acids	0.5-2.5	
Carboxylic acids		0.1-0.5
Amino acids		0.5-2.0
Other organic non-sugar		
Protein		0.5-0.6
Starch		0.001-0.050
Gums		0.30-0.15
Wax, fats, phosphatides		0.50-0.15
Unidentified non-sugars		3.0-5.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ประวัติ

นางสาวสมศรี ศิริพิทยางกูร เกิดจังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาขั้นปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เข้าศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2520 โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากคณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัจจุบัน อาจารย์ประจำระดับ 4 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย