

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า

Ethanol Production from Sweet Potato

by Using The Isolates from Look-Pang

ปียวัฒน์ ราษฎร์เจริญดี

มนัสวี ชมเพ็ญ

วิภาดา ปิยะเสถียรรัตน์



T117175

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน... **117175**
วัน เดือน ปี... **19 ก.ค. 2554**

b.....
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO
BY USING THE ISOLATES FROM LOOK-PANG**



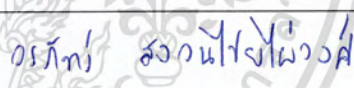


**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACEDEMIC YEAR 2010**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล่า
 Ethanol Production From Sweet Potato By Using The Isolates From Look-Pang
นักศึกษา ปิยวัฒน์ ราษฎร์เจริญดี
 มนต์วี ชมเพ็ญ
 วิภาดา ปิยะเสถียรรัตน์
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการ
 พิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
 ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์	
กรรมการ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ดร.วรภัทร์ สงวนไขยไผ่วงศ์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล่า
ชื่อนักศึกษา	ปิยวัฒน์ ราชภูร์เจริญดี
	มนัสวี ชมเพ็ญ
	วิภาดา ปิยะเสถียรรัตน์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	พ.ศ. 2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

การผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล่าได้แก่ เชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 หมักในสถานะอาหารเหลวในการคัดเลือกเชื้อราพบว่าเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุด 43.81 กรัมต่อลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที และจากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอล จากกระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF) โดยใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 หมักต่ออีก 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 13.87 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบกระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (SSF) โดยเติมเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อ *S.cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.51 กรัมต่อลิตร ในกระบวนการ SHF และ SSF หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที

คำสำคัญ: แป้งมันเทศ, กระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF), กระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (SSF), ลูกแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Ethanol Production from Sweet Potato by Using The Isolates from Look-Pang	
Students	Mr Piyawat	Ladjalearndee
	Miss Manatsawee	Chompen
	Miss Wipada	Piyasathianrat
Degree	Bachelor of Science	
Major Program	Industrial Microbiology	
Academic Year	2010	
Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul	

ABSTRACT

Ethanol production from sweet potato by using the isolates from look-pang including *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Anylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 were carried out liquid state culture. The highest reducing sugar of 2.37 g·l⁻¹ was found when used *A.rouxii* MNT 037 and 6% sweet potato starch medium at 30 °C , 130 rpm and 48 hour fermentation. Separated enzymatic hydrolysis and fermentation (SHF) was then investigated. The cultivation of *A.rouxii* MNT 037 for 48 hour and followed by *S.cerevisiae* YRK 017 for 72 hour. This process resulted 13.87 g·l⁻¹ of ethanol which was more than that produced from simultaneous enzymatic hydrolysis and fermentation (SSF). *A.rouxii* MNT 037 and *S.cerevisiae* YRK 017 were co-cultured for 72 hour and were given 9.51 g·l⁻¹ ethanol concentration. Both SHF and SSF were studied at 30 °C and 130 rpm in shaken flasks.

Keywords : Sweet potato , Ethanol , SHF ,SSF, and Look-pang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำต่างๆ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ผู้จัดทำ ล้วนเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ และ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการสอบโครงการพิเศษ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์อำนวยความสะดวกในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ เจ้าหน้าที่ และเพื่อนๆ สาขาสถิติที่ให้ความช่วยเหลืออธิบายในเรื่องโปรแกรมการคำนวณวิเคราะห์ทางสถิติ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพและจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมทุกคน ที่ๆ ปรียัญญาโท ที่คอยแนะนำให้คำปรึกษา และน้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น รวมทั้งกำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ สำคัญที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และทุกคนในครอบครัวของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนับได้ว่าเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่ง

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงการพิเศษนี้

ปิยวัฒน์ ราชฤทธิ์เจริญดี

มนัสวี ชมเพ็ญ

วิภาดา ปิยะเสถียรรัตน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การทดลอง	2
1.3 ขอบเขตการทดลอง	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎี และ หลักการ	3
2.1 เอทานอล	3
2.1.1 การใช้ประโยชน์จากเอทานอล	4
2.1.2 การหมักเอทานอล	5
2.1.3 การเตรียมน้ำตาลเพื่อการหมักเอทานอล	7
2.1.4 กระบวนการหมักเอทานอล	9
2.1.4.1 การทำงานของยีสต์ในขบวนการผลิตเอทานอล	10
2.1.5 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์ในขบวนการหมัก	11
2.1.5.1 องค์ประกอบที่สำคัญ	11
2.1.5.2 ปัจจัยแวดล้อมอื่นระหว่างการผลิต	12
2.2 มันเทศ	13
2.3 จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้ง	16
2.3.1 ราที่พบในลูกแป้ง	16
2.3.1.1 <i>Aspergillus oryzae</i>	16
2.3.1.2 <i>Amylomyces rouxii</i>	17
2.3.1.3 <i>Rhizopus oryzae</i>	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.2 ยีสต์ที่พบในลูกแป้ง	19
2.3.2.1 ยีสต์	19
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	24
3.1 วัสดุอุปกรณ์	24
3.1.1 จุลินทรีย์	24
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	24
3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	24
3.2 วิธีการทดลอง	25
3.2.1 การเตรียมสารละลายสปอร์ (Spore suspension)	25
3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อ (starter) เพื่อใช้ในการหมัก	25
3.2.3 การเตรียมแป้งมันเทศ	25
3.2.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งมันเทศให้เป็นน้ำตาลของเชื้อรา	25
3.2.5 ศึกษาการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลของเชื้อราที่คัดเลือกได้	26
3.2.6 ศึกษาการใช้เชื้อราและเชื้อยีสต์หมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้กระบวนการ SHF และ SFF	26
3.2.6.1 กระบวนการ SHF	26
3.2.6.2 กระบวนการ SSF	27
3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	28
4.1 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูง	28
4.2 ผลความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037	29
4.3 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 และเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 โดย กระบวนการย่อยแยกจากการหมัก (Separate Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF) และ กระบวนการย่อยกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)	31
4.3.1 กระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (Separate Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF)	31
4.3.2 กระบวนการย่อยสลายกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)	32
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก ก	40
ภาคผนวก ข	42
ภาคผนวก ค	54
ภาคผนวก ง	66
ภาคผนวก จ	78

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงเนื้อที่ปลูก ผลผลิต และผลผลิตเฉลี่ยของมันเทศใน 10 จังหวัด ที่ปลูกมากที่สุดในปี พ.ศ. 2515	15
ตารางที่ 2.2 แสดงเนื้อที่ปลูก ผลผลิตของมันเทศในภาคต่างๆของประเทศไทยใน ปี พ.ศ. 2515	15
ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะ เขย่าที่ 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	28
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆและระยะเวลา หมักที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล	30
ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากระบวนการหมัก แบบ SHF และกระบวนการหมักแบบ SSF	33
ตารางที่ ง-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อราแต่ละชนิดที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง	66
ตารางที่ ง-2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร) ของเชื้อราแต่ละชนิด ที่เลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	66
ตารางที่ ง-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 0 ชั่วโมง	67
ตารางที่ ง-4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 0 ชั่วโมง	67
ตารางที่ ง-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของ แป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	68
ตารางที่ ง-6 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของ แป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง	68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ ง-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง	69
ตารางที่ ง-8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง	69
ตารางที่ ง-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง	70
ตารางที่ ง-10 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง	70
ตารางที่ ง-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง	71
ตารางที่ ง-12 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง	71
ตารางที่ ง-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อ <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง	72
ตารางที่ ง-14 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง	72
ตารางที่ ง-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ ง-16 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการผลิตเอทานอล แบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	73
ตารางที่ ง-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	74
ตารางที่ ง-18 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	74
ตารางที่ ง-19 แสดงสัดส่วนพื้นที่ของเอทานอลต่อโพรพานอลที่ได้โดยใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	75
ตารางที่ ง-20 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	75
ตารางที่ ง-21 แสดงสัดส่วนพื้นที่ของเอทานอลต่อโพรพานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	76
ตารางที่ ง-22 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	76
ตารางที่ ง-23 แสดงอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	77
ตารางที่ ง-24 แสดงอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา <i>A.rouxii</i> MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S.cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่จ-1 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด <i>A. rouxii</i> MNT 037, <i>A. oryzae</i> MNT 029 , <i>R.oryzae</i> MNT 029 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล ระยะเวลา 3 วัน	78
ตารางที่ จ-2 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 0 ชั่วโมง	79
ตารางที่ จ-3 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	80
ตารางที่จ-4 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	81
ตารางที่จ-5 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	83
ตารางที่ จ-6 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 96 ชั่วโมง	84
ตารางที่ จ-7 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	85
ตารางที่ จ-8 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง	87

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
<p>ตารางที่ จ-9 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง</p>	88
<p>ตารางที่ จ-10 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง</p>	89
<p>ตารางที่ จ-11 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง</p>	91
<p>ตารางที่ จ-12 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง</p>	92
<p>ตารางที่ จ-13 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา <i>A. rouxii</i> MNT 037 และ เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง</p>	93

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างเคมีของเอทานอล	3
2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบหัวมันสำปะหลังสด	6
2.3 โครงสร้างอะไมโลส	8
2.4 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน	8
2.5 สมการการเปลี่ยนแป้งเป็นเอทานอล	10
2.6 สมการ (2) สภาพการหมักที่ไม่มีออกซิเจน สมการที่ (3) สภาพการหมักที่มีออกซิเจน	10
2.7 มันเทศ	14
2.8 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp.	17
2.9 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ <i>Amylomyces</i> sp.	18
2.10 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ <i>Rhizopus</i> sp.	19
2.11 ลักษณะของเชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
2.12 ลักษณะของเชื้อ <i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	21
4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้รา <i>Rhizopus oryzae</i> MNT 006 , <i>Aspergillus oryzae</i> MNT 029 , <i>Amylomyces rouxii</i> MNT 037 หมักแป้งมันเทศในสถานะอาหารเหลว เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	29
4.2 แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น จากการ หมักของเชื้อ <i>A. rouxii</i> MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน	31
4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก แบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)	34
4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมัก แบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)	35
ข-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสวัดด้วยวิธี Somogyi-Nelson ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร	43
ข-2 แผนภาพวิธีเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล	46
ข-3 กราฟเอทานอลมาตรฐานวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี	47
ข-4 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 4 และ พื้นที่ใต้กราฟของ	48

โพรพานอลจาก โครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปที่	หน้า
ข-5 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 4 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	48
ข-6 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 6 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	49
ข-7 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 6 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	49
ข-8 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 8 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	50
ข-9 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 8 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	50
ข-10 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 10 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	51
ข-11 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 10 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	51
ข-12 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 12 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	52
ข-13 แสดงพื้นที่ได้กราฟของเอทานอลร้อยละ 12 และพื้นที่ได้กราฟของ โพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	52
ค-1 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	54
ค-2 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	55
ค-3 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปที่	หน้า
<p>ค-4 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	57
<p>ค-5 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	58
<p>ค-6 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	59
<p>ค-7 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	60
<p>ค-8 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	61
<p>ค-9 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	62
<p>ค-10 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	63
<p>ค-11 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	64
<p>ค-12 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลอง ชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i></p>	65

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันได้มีความต้องการในการใช้เชื้อเพลิงและพลังงานเพิ่มมากขึ้น รวมไปถึงน้ำมัน ซึ่งในปัจจุบันน้ำมันกำลังเป็นที่ขาดแคลนเป็นอย่างมาก ทำให้ต้องค้นคว้าหาพลังงานอย่างอื่นมาทดแทน เชื้อเพลิงเอทานอลถือเป็นพลังงานหมุนเวียน (Renewable Energy) ประเภทหนึ่ง ซึ่งสามารถนำพืชมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ไม่มีวันหมด จึงสามารถใช้เป็นพลังงานทดแทนสำหรับลดการใช้เชื้อเพลิงที่ได้มาจากฟอสซิลได้ การใช้เชื้อเพลิงเอทานอลมีอัตราเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั่วโลก โดยสามารถใช้เป็นส่วนผสมกับน้ำมันเบนซินในอัตราส่วนต่างๆ ซึ่งเราเรียกว่าน้ำมันแก๊สโซฮอล์ หรือผสมกับน้ำมันดีเซลก็จะได้เป็นน้ำมันดีโซฮอล์ เชื้อเพลิงเอทานอลสามารถผลิตได้จากพืชที่ปลูกในประเทศ เช่น อ้อย กากน้ำตาล มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวฟ่าง และข้าวฟ่างหวาน ซึ่งหาได้ง่ายและมีการเพาะปลูกเป็นจำนวนมากในประเทศ

มันเทศ (*Ipomoea batatas* Lam.) เป็นผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่งมีองค์ประกอบของแป้งสูง องค์ประกอบภายในของมันเทศจะมีความชื้นร้อยละ 75.2 โปรตีน 0.6 กรัม ไขมัน 0.1 กรัม คาร์โบไฮเดรต 22.5 กรัม เส้นใย 0.6 กรัม เถ้า 0.8 กรัม แคลเซียม 98 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 46 มิลลิกรัม วิตามินบี1 0.09 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 0.02 มิลลิกรัม วิตามินบี 3 หรือไนอาซิน (Niacin) 0.5 มิลลิกรัม และคาร์บอน 34 มิลลิกรัม มันเทศเป็นผลผลิตที่หาได้ไม่ยาก สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี การนำมันเทศมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล จะต้องนำแป้งมาย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อน จากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการหมักน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม amylolytic fungi เช่น *Amylomyces rouxii* , *Aspergillus oryzae* , *Rhizopus oryzae* สำหรับเชื้อยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีความสามารถในการหมักเอทานอลได้สูง จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้นำลูกแป้งเห็ดจากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทยมาคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง และคัดแยกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักเอทานอลได้สูง โครงการพิเศษจึงมีความสนใจที่จะนำเชื้อที่แยกได้เหล่านั้นมาใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศเพื่อใช้เป็นพลังงานทางเลือกใหม่อีกชนิดหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1). เพื่อศึกษาการนำมันเทศซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน
- 2). เพื่อศึกษาศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ดในการผลิตเอทานอล

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

นำเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ดในประเทศไทยและมีบทบาทในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง เช่น *Amylomyces rouxii* , *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oryzae* มาย่อยแป้งมันเทศ โดยคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการย่อยแป้งมันเทศเป็นน้ำตาลได้สูงมาใช้ต่อไป โดยนำแป้งที่ผ่านการย่อยแล้วมาหมักต่อด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ดในประเทศไทย และมีความสามารถในการหมักเอทานอลได้สูง และนำมาวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

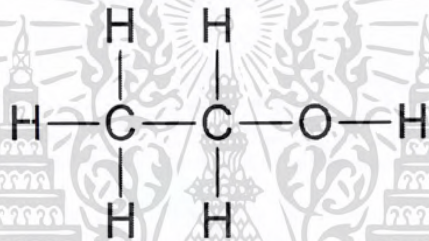
- 1). สามารถนำมันเทศซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอลได้
- 2). ทำให้รู้บทบาทของเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ดในการผลิตเอทานอลจากมันเทศ
- 3). สามารถผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงาน โดยใช้กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นพลังงานอีกทางเลือกหนึ่ง

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 เอทานอล(ยูทริกส์, 2551)

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล C_2H_5OH แสดงดังรูปที่ 2.1 มีน้ำหนักโมเลกุล 46.07 จุดเดือดประมาณ 78 องศาเซลเซียส เป็นของเหลวใสที่ไม่มีสี ติดไฟง่าย ในเปลวไฟสีน้ำเงินไม่มีควัน โดยปกติสามารถรวมตัวกับน้ำ อีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์มได้ ทุกส่วน เอทานอลเกิดจากการหมักของพืชเพื่อเปลี่ยนแป้งจากพืชเป็นน้ำตาลแล้วเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์



รูปที่ 2.1 โครงสร้างเคมีของเอทานอล

ที่มา :Wikipedia® (2008)

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอลสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ (คณะกรรมการพลังงาน, 2545) ดังนี้

- 1). วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ผลผลิตทางการเกษตรพวกธัญพืช เช่น ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น
- 2). วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล บีทรูท ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น
- 3). วัตถุดิบประเภทเส้นใย ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ข้าวฟ่าง ชานอ้อย ชังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาษ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้จะมีวัตถุดิบอยู่หลายชนิดที่สามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้ แต่จะมีเพียงไม่กี่ชนิดที่มีความเหมาะสมในการผลิตเป็นเอทานอล โดยมีหลักเกณฑ์ที่ควรพิจารณาคือ

- วัตถุดิบมีในปริมาณเพียงพอสำหรับป้อนสู่โรงงานได้ตลอดปี หาได้ง่าย ราคาถูก
- สามารถผลิตเอทานอลต่อหน่วยของวัตถุดิบและต่อหน่วยของพื้นที่เพาะปลูกได้ในปริมาณ

สูง

โดยวัตถุดิบประเภทแป้งและเซลลูโลสจะถูกย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้กลายเป็นน้ำตาลก่อน แต่วัตถุดิบประเภทที่เป็นน้ำตาลอยู่แล้วสามารถนำไปใช้หมักได้เลย ระยะเวลาในการหมักเพื่อให้ได้เอทานอลประมาณ 48 ชั่วโมงจะได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้มีหลายชนิด แต่ยีสต์ก็ถูกนำมาใช้ผลิตเอทานอลอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถเจริญเติบโตได้เร็วและมีปริมาณมาก แต่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ *Zymomonas mobilis* มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ดีกว่ายีสต์ (Rogers และคณะ, 1979) เช่น ระยะเวลาในการหมักสั้นกว่า 3-4 เท่าเมื่อใช้น้ำตาลเท่ากัน ให้ผลเอทานอลใกล้เคียงกับยีสต์ แต่ข้อดีของยีสต์ก็คือมีคือแบคทีเรียชนิดนี้ใช้น้ำตาลได้จำกัดคือใช้ได้ 3 ชนิดคือ กลูโคส ฟรุกโตส และ ซูโครส

2.1.1 การใช้ประโยชน์จากเอทานอล (<http://www.vcharkarn.com>, 2008)

สารประกอบเอทานอลเป็นวัสดุใสไม่มีสีติดไฟได้เป็นสารเคมีอินทรีย์ที่หมักได้จากพืชในกลุ่มแป้งหรือน้ำตาลเอทานอลเป็นที่รู้จักกันในชื่อทั่วไปว่าเอทิลแอลกอฮอล์มีผสมอยู่ในสุราหรือเครื่องดื่มที่ผสมแอลกอฮอล์ทุกชนิดที่ใช้บริโภคเอทานอลมีลักษณะและโครงสร้างเคมีคล้ายกับสารเคมีอินทรีย์อีกชนิดหนึ่งคือเมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์แต่เมทานอลสกัดจากขบวนการกลั่นวัสดุปิโตรเคมีและเป็นวัสดุที่มีพิษเมื่อนำมาบริโภคส่วนใหญ่ใช้ในอุตสาหกรรมที่ผลิตภัณฑ์ไม่นำมาบริโภค หรือ มาใช้โดยตรงกับมนุษย์ หรือสัตว์มีปริมาณเอทานอลส่วนน้อย ได้จากการสังเคราะห์โดยขบวนการเคมีเอทานอลในทางเคมีเป็นกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH ประกอบด้วยคาร์บอนไฮโดรเจนและออกซิเจนเป็นไฮดรอกซิลกรุปที่ฟของไฮโดรคาร์บอนเกิดจากการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วย hydroxyl- group (OH) เอทานอลบริสุทธิ์ (anhydrous) มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซลเซียส คุณสมบัติของเอทานอลใช้เป็นสารเพิ่มออกเทนในน้ำมันแก๊สโซลีนได้ทำให้มีการใช้ผสมแก๊สโซลีนอย่างแพร่หลายแทนสารผสมที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งมีการค้นพบว่าเป็นสารที่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อมีการรั่วไหลออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะ และเคยมีกรณีปนเปื้อนในน้ำดื่มในสหรัฐอเมริกาและหากมีการห้ามใช้สาร MTBE ผสมในเชื้อเพลิงจะทำให้มีความต้องการใช้เอทานอลเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การหมักเอทานอล (<http://www.Neutron.rmutphysics.com>,2009)

เอทานอลผลิตได้จากพืชมีชั้นตอขบวนการในการผลิตโดยการย่อยตามที่แสดงในรูปที่ 2.2 เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากพืชเช่นมันสำปะหลังอ้อยและกากน้ำตาลในกระบวนการผลิตหากใช้วัตถุดิบประเภทแป้งและเซลลูโลสจะต้องนำมาย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนโดยการใช้กรดเชื้อราหรือเอนไซม์ ส่วนวัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลสามารถนำมาหมักกับเชื้อยีสต์ได้โดยตรงใช้เวลาในการหมักประมาณ 2-3 วันกรณีเป็นการหมักแบบถึงหมักหากหมักแบบต่อเนื่องจะใช้เวลาราว 36 ชั่วโมงจะได้แอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 8-12 โดยปริมาตรจากนั้นต้องนำไปกลั่นแยกแบบลำดับส่วนจะได้แอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตรในกรณีที่ต้องนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงที่จะใช้ในรถยนต์ในรูปแบบแก๊สโซฮอล์และดีโซฮอล์จะต้องแยกส่วนน้ำออกจากเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์มากกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์โดยวิธีการกลั่นกับสารตัวที่สามหรือแยกด้วยเครื่องโมเลกุลลูซิฟ (molecular sieve) หรือเครื่องแยกระบบเมมเบรน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบหัวมันสำปะหลังสด

ที่มา : <http://www.as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf> (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การเตรียมน้ำตาลเพื่อการหมักเอทานอล

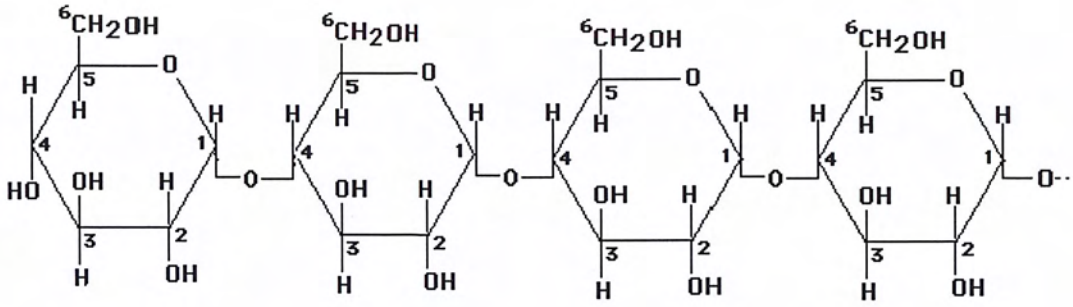
เนื่องจากสารตั้งต้นที่ใช้ในการหมักคือแป้งจึงต้องทำการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลเพื่อให้ยีสต์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในการที่จะผลิตเอทานอลออกมา โดยที่แป้งนั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ข้าวโพด ข้าว และ ข้าวสาลี ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งนอกจากจะนำแป้งมาใช้ประโยชน์โดยตรง ยังนำแป้งมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตน้ำตาลกลูโคส เดรกโทส และน้ำตาลฟรุกโตสเป็นต้น (Nigam และ Singh , 1995) การย่อยแป้งด้วยกรดนั้นต้องทำปฏิกิริยากับความร้อนสูง ซึ่งประสิทธิภาพในการย่อยนั้นขึ้นกับความเข้มข้นของกรด เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย ทั้งนี้ยังก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการ เช่น เกิดสารเฟอร์ฟูรอล ดังนั้นในปัจจุบันการย่อยแป้งด้วยกรดจึงถูกแทนที่ด้วยการใช้เอนไซม์เพราะใช้สภาวะที่ไม่รุนแรงการเกิดปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อผลิตภัณฑ์ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาได้ง่าย ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง รวมทั้งไม่ต้องการอุปกรณ์ที่ทนทานต่อการกัดกร่อนสูงเหมือนกับการใช้กรด(พัคตร์ประไพ, 2546)

องค์ประกอบของแป้ง แป้งประกอบด้วยโพลีเมอร์พื้นฐาน 2 ชนิด คือ อะไมโลส และอะไมโลเพคติน โดยอะไมโลสนั้นเป็นโพลีเมอร์เชิงเส้น ที่ประกอบด้วยกลูโคสไม่เกิน 6,000 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ดังรูปที่ 2.3 ส่วนอะไมโลเพคตินเป็นโพลีเมอร์เชิงกิ่งที่ประกอบด้วยโพลีเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส 10-60 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก และโพลีเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส 15-45 หน่วย ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ แอลฟา- 1,6 กลูโคซิดิกดังรูปที่ 2.4 (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2543)

กลไกการย่อยแป้งนั้นประกอบด้วยสามขั้นตอน ดังนี้

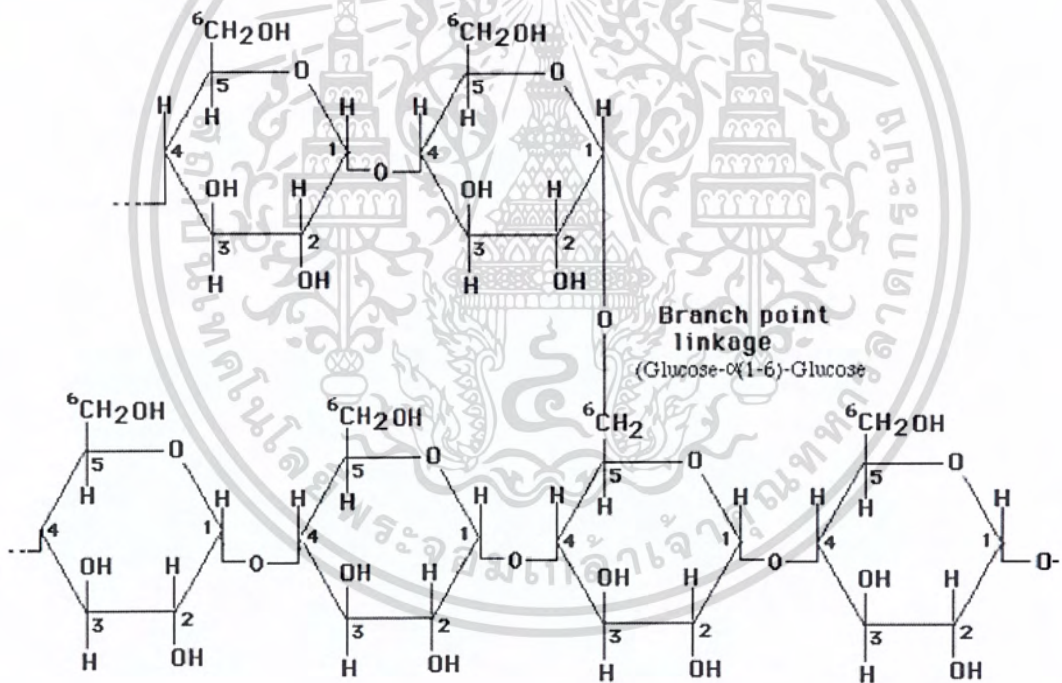
1. การเจลาติไนเซชัน(Gelatinization) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ทำให้เม็ดแป้งพองตัว โดยเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำขณะที่ได้รับความร้อนทำให้เม็ดแป้งพองตัว เรียกอุณหภูมิช่วงนี้ว่า อุณหภูมิการเกิดเจล (gelatinization temperature)
2. การเกิดลิกูอแฟคชัน(Liquefaction) เป็นขั้นตอนการลดความหนืดของแป้งเมื่อเกิดเจล โดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่มของลูก โห้กลูโคส ทำให้แยกเป็นสายสั้น มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลงและความหนืดก็ลดลง กว่า 30ปีที่ผ่านมาการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแทนการย่อยที่อุณหภูมิ 140องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า (Douglas and Mitchinson, 1997)
3. การเกิดแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification) เป็นขั้นตอนการย่อยแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาล ภายหลังการย่อยจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ หรือน้ำตาลโมเลกุลที่สูงกว่า โดยผลผลิตที่ได้ก็คือ กลูโคส มอลโตส หรือ มอลโตไตรโอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 โครงสร้างอะไมโลส

ที่มา : Chaplin (2001)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของอะไมโลเพกติน

ที่มา : Chaplin (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง แหล่งของเอนไซม์สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดด้วยกัน เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งนั้นแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

1. *endoamylase* เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายในโมเลกุลของแป้ง จะตัดพันธะ แอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ระหว่างโมเลกุลของกลูโคส ภายในส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส และและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำงานของแอลฟาอะไมเลส คือ โอลิโกแซคคาไรด์และ แอลฟา-ลิมิตเดกทรินต์

2. *exoamylase* เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะ ที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะ แอลฟา-1,4 และ แอลฟา-1,6 กลูโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ กลูโคอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และ แอลฟา-กลูโคซิเดส ซึ่งการทำงานจะตัดโมเลกุลที่ตำแหน่งปลายของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน ดังนั้นผลผลิตที่ได้จะเป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียวเมื่อใช้กลูโคอะไมเลส และ แอลฟา-กลูโคซิเดส หรือได้ มอลโตส และ เบต้า-limit-dextrin เมื่อใช้เบต้าอะไมเลส

3. *debranching enzyme* เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะ แอลฟา-1,6 กลูโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ไอโซอะไมเลส และ พูลูแลนเนสการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้โดยการย่อยพันธะกิ่งของอะไมโลเพคติน หรือการย่อยพันธะ แอลฟา-1,6 กลูโคซิดิก ในพูลูแลน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นโพลีแซคคาไรด์

4. *transferase* เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ใช้หรือจับ แอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ของ donor molecule และเป็นส่วนของ donor เพื่อเป็น glycosidic acceptor ซึ่งเป็นการสร้างพันธะกลูโคซิดิกใหม่ เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ *amylomaltase* และ *cyclodextrin-glucosyltransferase (CGTase)* ซึ่งจะใช้ในการผลิตไซโคลเดกทริน โดยการสร้าง cyclic oligosaccharide ที่มีกลูโคส 7-8 หน่วย

2.1.4 กระบวนการหมักเอทานอล(ยุทธศักดิ์, 2551)

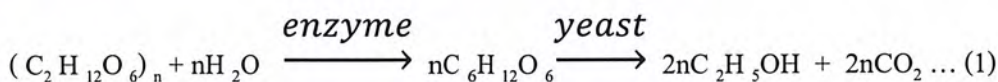
การหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์มีองค์ประกอบที่ต้องมีความเข้าใจและจัดการให้มีความสมดุลย์2ส่วนคือ

- 1) ลักษณะเฉพาะและคุณสมบัติของยีสต์
- 2) จัดการให้มีปัจจัยที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์

การหมักเอทานอลส่วนมากใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้สูงและสามารถทนสภาพแวดล้อมที่มีเอทานอลได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่นการทำงานของยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลเกิดขึ้นในระดับเซลล์และปลดปล่อยเอทานอลออกมาภายนอกเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามทฤษฎีการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ 51.1 เปอร์เซ็นต์และส่วนที่เหลือ 48.9 เปอร์เซ็นต์เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ตามสมการ (1)



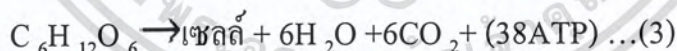
รูปที่ 2.5 สมการการเปลี่ยนแปลงเป็นเอทานอล

ที่มา : <http://www.as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf>

ในทางปฏิบัติมีน้ำตาลเพียงประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่เปลี่ยนเป็นเอทานอลส่วนที่เหลือยีสต์จะใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างสารอินทรีย์แก่คาร์บอนไดออกไซด์ 46.5 อะซิตัลดีไฮด์ 0.3 กรดอะซิติก 0.25 กลีเซอริน 3.0 กรดแลกติกกรดซัลฟิสิกฟูเซลอยด์ 0.25-0.50 และเฟอฟูรอลอีกเล็กน้อย

2.1.4.1 การทำงานของยีสต์ในขบวนการผลิตเอทานอล (<http://variety.teenee.com,2550>)

การทำงานของยีสต์ในการหมักเอทานอลเกิดขึ้นสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำยีสต์จะใช้กลูโคสส่วนใหญ่ในการผลิตเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์และได้พลังงานในรูป ATP ขั้นตอนนี้เรียกว่า ethanol fermentataion ดังแสดงในสมการ (2) ส่วนในสภาวะที่มีออกซิเจนยีสต์จะใช้กลูโคสส่วนใหญ่เพื่อการเจริญผลิตเซลล์และพลังงานในรูป ATP เรียกขั้นตอนนี้ว่าการหายใจ respiration ตามสมการ (3)



รูปที่ 2.6 สมการ(2)สภาวะการหมักที่ไม่มีออกซิเจน

สมการที่(3) สภาวะการหมักที่มีออกซิเจน

ที่มา : <http://www.as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการทำงานของยีสต์ในขบวนการหมัก(ยุทธศักดิ์, 2551)

เพื่อให้มีประสิทธิภาพการหมักสูงสุดและได้ปริมาณเอทานอลสูงจำเป็นต้องมีปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ในการหมักเอทานอลมีองค์ประกอบที่เป็นส่วนปัจจัยสำคัญและองค์ประกอบด้านสภาพแวดล้อมอื่นๆ

2.1.5.1 องค์ประกอบที่สำคัญ มีดังนี้

- ปริมาณคาร์บอน

ในการหมักยีสต์จะใช้คาร์บอนจาก

1. น้ำตาลกลูโคสและฟรักโทสใช้หมักได้ดีเท่ากัน โดยปกติแหล่งน้ำตาลที่หาได้ง่ายได้จากกากน้ำตาลน้ำอ้อยข้าวฟ่างหวานและชูการ์บีท
2. เป็นน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์เช่นจากแป้งมันชนิดต่างๆรวมทั้งมันสำปะหลังข้าวโพดและธัญพืชต่างๆ
3. เป็นน้ำตาลที่ย่อยได้จากเซลลูโลสด้วยขบวนการจุลชีวเคมีหรือขบวนการเคมี เช่นจากกระดาษ ใบจากต้นพืชและชีเลื่อย ซึ่งในปัจจุบันยังอยู่ในขั้นพัฒนาให้มีต้นทุนต่ำลง

- ปริมาณไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์และเป็นสับสเตรทสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นนับว่าเป็นส่วนสำคัญที่กระตุ้นการหมักหรือการผลิตแอลกอฮอล์ (เอทานอล) โดยในตัวของยีสต์จะมีปริมาณไนโตรเจนประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง โดยส่วนใหญ่ยีสต์จะสามารถใช้ในโตรเจนในรูปแอมโมเนียมไอออนได้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลนิยมใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เป็นแหล่งให้ธาตุไนโตรเจนและให้ซัลเฟอร์ไปพร้อมกัน (สำหรับยีสต์บางชนิดอาจใช้ในโตรเจนในรูปกรดอะมิโน)

- ปริมาณซัลเฟอร์

ซัลเฟอร์เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเซลล์ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ 0.4 เปอร์เซ็นต์แหล่งซัลเฟอร์ที่ยีสต์ใช้ได้คือ

กรดอะมิโนเมทไทโอนีน

เกลือซัลเฟตในรูปแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีราคาถูกและเป็นแหล่งไนโตรเจนไปพร้อมกัน

- ปริมาณธาตุที่จำเป็นอื่นๆธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและการทำงานของยีสต์คือ

แมกนีเซียม

แคลเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินในการเจริญได้แก่ ไบโอดีน กรดแพนโทเทนนิตไทอะมีนกรดนิโคตินิกและไพรีดอกซินในปริมาณเล็กน้อย

2.1.5.2 ปัจจัยแวดล้อมอื่นระหว่างการหมัก

การหมักเชิงอุตสาหกรรมต้องมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมในการหมักทุกขั้นตอนเพื่อให้มีประสิทธิภาพการหมักสูงสุด ทั้งนี้ต้องมีความสอดคล้องกับคุณลักษณะประจำสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ด้วย

- ความเข้มข้นของน้ำตาล

ในสภาพการหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะช่วยลดการปนเปื้อนเชื้ออื่นได้ดีแต่น้ำตาลสูงจะยับยั้งการเจริญและการหมักเอทานอลและคุณสมบัตินี้เป็นลักษณะประจำสายพันธุ์ของยีสต์เมื่อเทียบกับกับกรณีความเข้มข้นเอทานอลจะมีผลยับยั้งการหมักรุนแรงกว่าแต่หากมีภาวะทั้งน้ำตาลเข้มข้นและเอทานอลสูงจะยิ่งเสริมกัน ให้มีลักษณะยับยั้งการหมักรุนแรงขึ้น

- ระดับอุณหภูมิ

ในการหมักของยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางในช่วง 25-30 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิต่ำสุดที่จะทนได้คือ 5-10 องศาเซลเซียสในสภาพที่อาหารอุดมสมบูรณ์ยีสต์จะทนอุณหภูมิสูงได้ดีและจะหยุดเจริญเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 0 และเกินกว่า 40 องศาเซลเซียสการควบคุมอุณหภูมิในการหมักเชิงอุตสาหกรรมเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อประสิทธิภาพการหมักที่ดีและจำเป็นต้องมีระบบหล่อเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิในถังหมัก

- ค่าพีเอช

ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้ดีในสภาพการหมักเอทานอลจากน้ำตาลที่ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 2.4-8.6 โดยมีค่าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 4.5 ซึ่งในสภาพเป็นกรดอ่อนนี้สามารถช่วยควบคุมการปนเปื้อนแบคทีเรียได้ดีการหมักเอทานอลจากซูโครสมิความไวต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชมากกว่าการใช้กลูโคส

- ความเข้มข้นของเอทานอล

ในสภาพที่มีเอทานอลสูงการเจริญและการหมักยีสต์จะถูกยับยั้งเพราะเอทานอลมีผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซลล์เมื่อเปอร์เซ็นต์เอทานอลมากกว่า 1 โดยน้ำหนักมีผลทำให้การเจริญลดลงและจะหยุดลงเมื่อมีเอทานอล 4.7-7.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจนถึงเอทานอลความเข้มข้น 14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักการที่ยีสต์ไม่เจริญทำให้อัตราการหมักลดลงด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ทนเอทานอลมากที่สุดและในสภาพที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเกี่ยวข้องกับสภาวะฟอสโฟไลปิดที่เชื่อมุ่เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปริมาณออกซิเจน

ในขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อออกซิเจนมีความสำคัญมากเนื่องจากยีสต์มีการเจริญสูงในสภาวะที่มีออกซิเจนมากแต่จะมีผลให้การหมักลดลงออกซิเจนส่งเสริมให้การออกซิเดชันสมบูรณ์และมีการสร้างคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำออกซิเจนยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีความสำคัญที่ทำให้ยีสต์ทนเอทานอลได้มากขึ้นดังนั้นในสภาวะที่ขาดออกซิเจนยีสต์ไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวได้จึงต้องมีการเติมกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพื่อให้ยีสต์สามารถอยู่รอดได้ยีสต์ใช้ออกซิเจนในการหายใจเพื่อการเจริญเติบโตดังนั้นในกระบวนการหมักอย่างต่อเนื่องควรมีการให้อากาศบ้างในระหว่างการหมักเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ตายลงและยังพบว่าการให้อากาศปริมาณเล็กน้อยทำให้การใช้กลูโคสได้มากขึ้นและช่วยให้ยีสต์มีความทนทานต่อเอทานอลได้ดี

- ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเติบโตของยีสต์ทั้งในภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนที่ความดันบรรยากาศปกติหากมีคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญและการหมักอย่างรุนแรงโดยคาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชันและคาร์บอนไดออกไซด์ ยังมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การขนถ่ายสารเข้าออกเซลล์เปลี่ยนไป

2.2 มันเทศ (<http://www.th.wikipedia.org/wiki/มันเทศ>, 2007)

Kingdom	:	Plantae
Phylum	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Order	:	Solanales
Family	:	Convolvulaceae
Genus	:	<i>Ipomoea</i>
Species	:	<i>I. batatas</i>

มันเทศ(Sweet Potato) เป็นพืชที่เป็นเถาเลื้อยราบไปบนพื้นดินมีรากสะสมอาหารขยายใหญ่เรียกว่าหัว หัวมันเทศมีคุณประโยชน์มาก เพราะใช้เป็นอาหารของมนุษย์ได้เป็นอย่างดี เราใช้มันเทศปรุงอาหารได้ทั้งคาวหวาน อาหารคาวได้แก่ แกงเผ็ด แกงคั่วแกงกะหรี่ และแกงมันมัน เป็นต้น อาหารหวานได้แก่ มันเทศต้มน้ำตาล มันเทศแกงบวด มันเทศทอด มันเทศเชื่อม มันเทศกวน มันเทศฉาบมันเทศรังนกและมันเทศเผา เป็นต้น หัวมันเทศมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง จึงใช้รับประทานแทนข้าวได้ นอกจากเป็นอาหารของมนุษย์แล้วมันเทศยังใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ได้อีกด้วย เช่น เป็นอาหารหมู อาหารวัวและอาหารแพะ เป็นต้นมันเทศใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ทั้งหัว เถา และใบทั้งยังเป็นวัตถุดิบของอุตสาหกรรมได้หลายอย่าง เช่น เอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ทำแป้ง ทำแอลกอฮอล์ทำเหล้า และทำน้ำส้ม มันเทศเป็นพืชอาหารที่มีความสำคัญอันดับที่ ๕ ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวเจ้า ข้าวโพดและมันฝรั่งในประเทศไทยเราแม้จะปลูกมันเทศกันทั่วๆ ไป แต่ไม่ได้มีปริมาณมากเพราะเรามีข้าวเจ้าเป็นอาหารหลักอยู่แล้ว

มันเทศเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตชั้นดีที่ให้พลังงาน โดยไม่ก่อพิษภัยต่อร่างกาย แบบอาหารที่แปรรูปจากแป้งและน้ำตาลอื่น ๆ หัวมันเทศชนิดเนื้อสีเหลือง แสดงว่าเป็นแหล่งเบต้า-แคโรทีนชั้นเยี่ยม กินแล้วได้สารสร้างวิตามินเอ มันเทศจึงมีส่วนช่วยบำรุงสายตา เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้แข็งแรงลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งไข้เจ็บใหญ่บ่อยทั้งหลายได้รวมทั้งมะเร็ง

มันเทศนับว่าเป็นพืชที่เหมาะสมกับดินฟ้าอากาศของประเทศไทยอย่างยิ่งเพราะสามารถเจริญเติบโตได้ดี และให้ผลผลิตของหัวค่อนข้างสูง มันเทศปลูกได้ปีละ 2 ครั้ง คือในฤดูฝนตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนมิถุนายนและอีกครั้งหนึ่งหลังฤดูฝน คือในราวเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายนการปลูกมันเทศเริ่มจากการเตรียมดินไถและพรวน 2-3 ครั้ง เสร็จแล้วขอร่องห่างกันประมาณ 1 เมตรความสูงของร่องประมาณ 50 เซนติเมตรแล้วตัดเถา มันเทศยาวประมาณ 50 เซนติเมตรฝังลงไปบนต้นร่องห่างกันประมาณ 50 เซนติเมตร จากนั้นก็พรวนดินและกำจัดวัชพืชถ้าไม่ได้ปลูกในฤดูฝนก็ต้องคอยรดน้ำ มันเทศจะทอดยอดงอกงาม เมื่อคอยต่อไป 90-150 วัน หัวมันเทศก็จะแก่และขุดได้



รูปที่ 2.7 มันเทศ

ที่มา : <http://www.thaiart.info/archives/6772>

ในปี พ.ศ. 2516 ประเทศต่างๆ ทั่วโลกผลิตมันเทศได้รวมกัน 133 ล้านตัน ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนผลิตได้มากที่สุด คือ ผลิตได้ 111 ล้านตัน บราซิล 2.3 ล้านตันอินโดนีเซีย 2.1 ล้านตัน ญี่ปุ่น 2 ล้านตัน สาธารณรัฐเกาหลี 1.6 ล้านตัน สำหรับประเทศไทยในปีเดียวกันผลิตมันเทศเพียง สองแสนแปดหมื่นตันเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศไทยเรา มันเทศสามารถขึ้นงอกงามได้ทั่วทุกภาค ภาคกลางผลิตมันเทศได้มากที่สุด ภาคเหนือได้น้อยที่สุดผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ประมาณ 1 ตันเศษ จังหวัดนครศรีธรรมราชเป็นจังหวัดที่มีเนื้อที่ปลูกและผลผลิตสูงสุดในประเทศรายละเอียดเกี่ยวกับเนื้อที่ปลูก ผลผลิต ผลผลิตต่อไร่เป็นรายภาคและรายจังหวัด ดังแสดงในตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1แสดงเนื้อที่ปลูก ผลผลิต และผลผลิตเฉลี่ยของมันเทศใน 10 จังหวัด ที่ปลูกมากที่สุดในปี.ศ.2515

อันดับ	จังหวัด	เนื้อที่ปลูก (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตเฉลี่ย (ตัน/ไร่)
1	นครศรีธรรมราช	15,228	18,842	1.243
2	พระนครศรีอยุธยา	8,407	16,524	2000
3	สงขลา	8,300	7,420	0.900
4	นครปฐม	6,911	15,205	2.200
5	เพชรบุรี	6,471	9,705	1.500
6	เชียงใหม่	6,006	9,130	1.520
7	นครสวรรค์	5,947	8,679	1.500
8	ตรัง	5,605	7,220	1.329
9	เลย	5,025	5,070	1.200
10	ปทุมธานี	4,890	6,112	1.250

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2515)

ตารางที่ 2.2 แสดงเนื้อที่ปลูก ผลผลิตของมันเทศในภาคต่างๆของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2515

ภาค	เนื้อที่ปลูก (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)	ผลผลิตเฉลี่ย (ตัน/ไร่)
กลาง	๖๕,๒๑๕	๑๐๕,๘๔๐	๑,๖๐๗
เหนือ	๑๕,๓๑๐	๑๕,๖๖๑	๑,๒๕๓
ตะวันออกเฉียงเหนือ	๓๔,๕๕๔	๔๑,๗๖๒	๑,๒๕๕
ใต้	๔๖,๐๕๕	๕๓,๕๓๑	๑,๑๘๐
รวมทั้งประเทศ	๑๖๕,๑๓๔	๒๒๔,๑๙๔	๑,๓๘๖

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2515)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบภายในของมันเทศจะมีความชื้นร้อยละ 75.2 โปรตีน 0.6 กรัม ไขมัน 0.1 กรัม คาร์โบไฮเดรต 22.5 กรัม เส้นใย 0.6 กรัม เถ้า 0.8 กรัม แคลเซียม 98 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 46 มิลลิกรัม วิตามินบี1 10.09 มิลลิกรัม วิตามินบี2 20.02 มิลลิกรัม วิตามินบี3 หรือไนอาซิน (Niacin) 0.5 มิลลิกรัม และ คาร์บอน 34 มิลลิกรัม

2.3 จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้ง (วิมลลักษณ์, 2549)

2.3.1 ราที่พบในลูกแป้ง

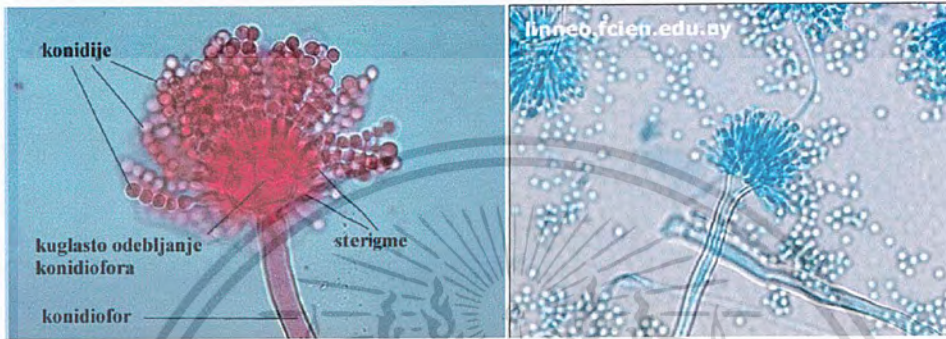
จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักสาโทประกอบด้วยจุลินทรีย์ยูคาริโอตในกลุ่มของฟังไจสองประเภทคือราและยีสต์จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์และสำหรับปฏิกิริยาการหมักซึ่งมีอยู่อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ในวัตถุดิบซึ่งเป็นข้าวปฏิกิริยาในการหมักสาโทจัดเป็น Multiparallel fermentation หมายถึงกระบวนการหมักที่มีหลายปฏิกิริยาและจะเกิดขึ้นพร้อมๆ กันซึ่งแบ่งเป็นสองขั้นตอนหลักตามสภาวะของการหมักและประเภทของจุลินทรีย์เริ่มจากขั้นตอนที่หนึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (Saccharification) โดยราจะสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส (alpha amylase) เบต้าอะไมเลส (beta amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ย่อยโครงสร้างแอลฟาฟอร์ม (α -form) ในโมเลกุลของแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ น้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตามลำดับสภาวะการหมักต้องการอากาศสำหรับการเจริญของรากลุ่มที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมากได้แก่

2.3.1.1 *Aspergillus oryzae* (<http://th.wikipedia.org/wiki/Aspergillus>, 2554)

Domain	:	<i>Eukaryota</i>
Kingdom	:	<i>Fungi</i>
Subkingdom	:	<i>Dikarya</i>
Phylum	:	<i>Ascomycota</i>
Subphylum	:	<i>Pezizomycotina</i>
Class	:	<i>Eurotiomycetes</i>
Subclass	:	<i>Eurotiomycetidae</i>
Order	:	<i>Eurotiales</i>
Family	:	<i>Trichocomaceae</i>
Genus	:	<i>Aspergillus</i>
Scientific name	:	<i>Aspergillusoryzae</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aspergillus เป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการออกซิเจนสูงมากพบในบริเวณที่มีออกซิเจนมากเกือบทั้งหมดโดยทั่วไป เจริญเป็นเส้นใยราบนผิวของอาหารที่มีคาร์บอนมากเช่น กลูโคส อะไมโลส *Aspergillus* พบปนเปื้อนในอาหารที่มีแป้ง เช่นขนมปังและมันฝรั่ง และเจริญบนต้นไม้การผลิตเอนไซม์ในเชื้อ *Aspergillus oryzae* พบว่า มีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) ใซ้ย่อยแป้งให้เป็นเดกซ์ทรินและน้ำตาล จึงใช้เอนไซม์นี้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล เพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ ใช้ในการทำไวน์ เบียร์ และน้ำผลไม้ไซ้



รูปที่ 2.8 ลักษณะและ โครงสร้างของเชื้อ *Aspergillus* sp.

ที่มา :http://www.botanic.hr/praktikum/Aspergillus_sp2.htm(2000)

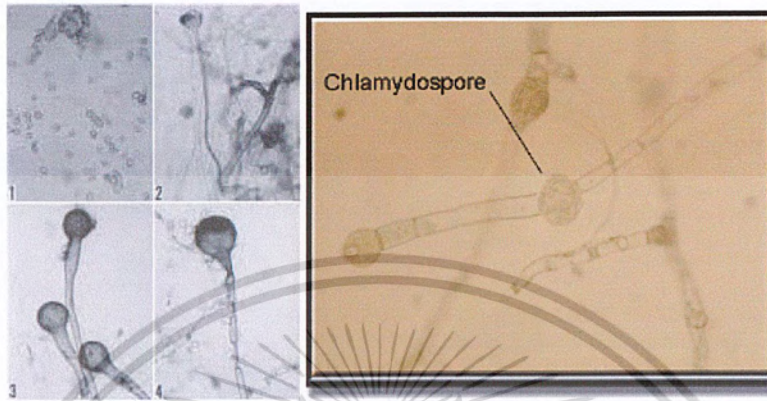
<http://micol.fcien.edu.uy/atlas/Deuteromycetes.htm> (2004)

2.3.1.2 *Amylomyces rouxii*(www2.diw.go.th/sura/สาขาโท/05.doc , 2554)

Kingdom	:	<i>Fungi</i>
Phylum	:	<i>Zygomycota</i>
Class	:	<i>Zygomycetes</i>
Order	:	<i>Mucorales</i>
Family	:	<i>Isotomoidea</i>
Genus	:	<i>Amylomyces</i>
Specific descriptor	:	<i>rouxii</i>
Scientific name	:	<i>Amylomyces rouxii</i>

Amylomyces rouxii มีประสิทธิภาพการสร้างน้ำตาลรีดิวซ์สูงเนื่องจากมีเอนไซม์ glucoamylase และไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโทเป็นที่น่าสังเกตว่ากรดที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวช่วยยับยั้งพวกจุลินทรีย์อื่นที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนได้ที่เรียกว่า Protected Fermentation และมีการสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ได้แก่มอลโต ไตรโอส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(maltotriose) มอลโตส(maltose) กลูโคส (glucose) และน้ำตาลนอนเฟอร์แมนต์ได้แก่ลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrans) และสร้างกรดอินทรีย์และยังได้สารอาหารและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์



รูปที่ 2.9 ลักษณะและ โครงสร้างของเชื้อ *Amylomyces* sp.

ที่มา: <http://indonesiakutercinta.wordpress.com/>

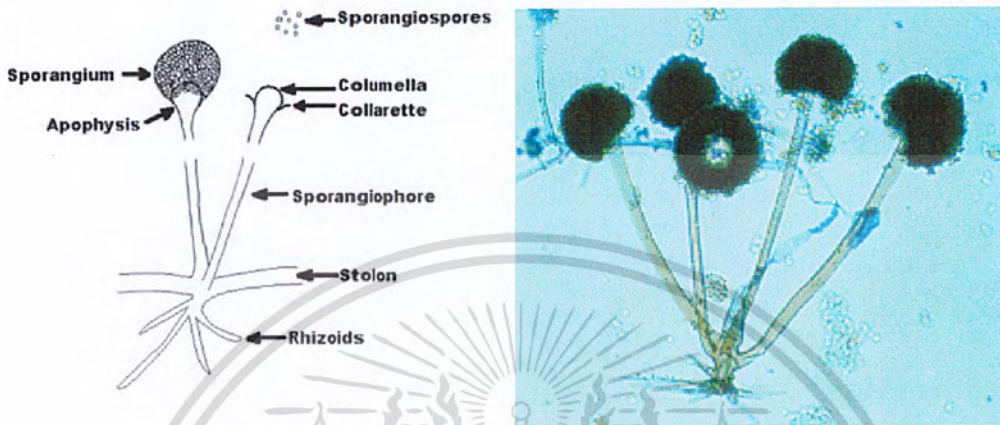
<http://158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/>

2.3.1.3 *Rhizopus oryzae* (www2.diw.go.th/sura/สาขา/05.doc , 2554)

Domain	:	<i>Eukaryota</i>
Kingdom	:	<i>Fungi</i>
Phylum	:	<i>Zygomycota</i>
Subphylum	:	<i>Mucoromycotina</i>
Class	:	<i>Zygomycetes</i>
Order	:	<i>Mucorales</i>
Family	:	<i>Mucoraceae</i>
Genus	:	<i>Rhizopus</i>
Specific descriptor	:	<i>oryzae</i>
Scientific name	:	<i>Rhizopus oryzae</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhizopus oryzae จะสร้างเอนไซม์ที่มีเอนทิวิตีสูงพร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์เช่นกรดฟูมาลิก กรดซิติริกและกรดแลคติกทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโทแต่การไฮโดรไลส์แป้งเกิดไม่สมบูรณ์คือให้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย



รูปที่ 2.10 ลักษณะและ โครงสร้างของเชื้อ *Rhizopus* sp.

ที่มา : <http://www.statemaster.com/encyclopedia/Rhizopus> (2003)

<http://www.mycology.adelaide.edu.au>(2011)

2.3.2 ยีสต์ที่พบในลูกแป้ง

2.3.2.1 ยีสต์ (<http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces> , 2011)

Ascomycetous yeast

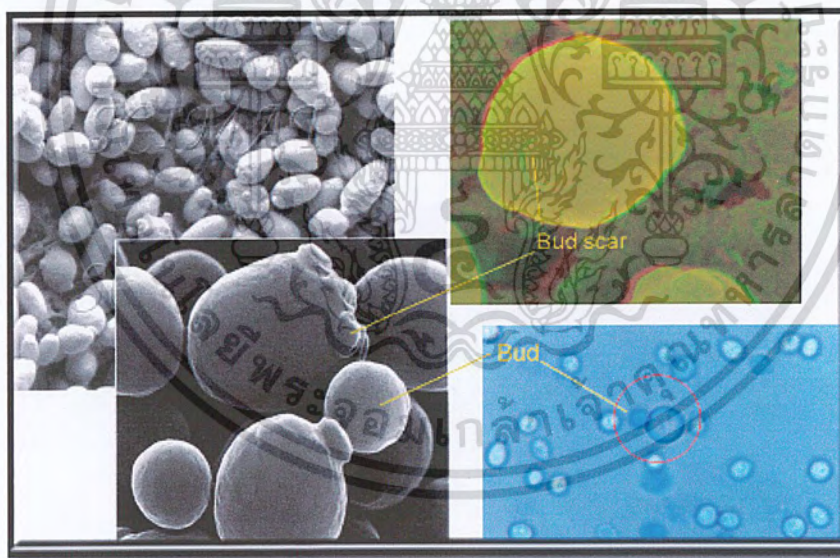
Class	: <i>Ascomycetes</i>
Subclass	: <i>Hemiascomycetidae</i>
Order	: <i>Saccharomycetales</i>
Family	: <i>Saccharomycetaceae</i>
Genus	: <i>Saccharomyces</i>

Family *Saccharomycetaceae* ยีสต์ในกลุ่มนี้ จะทำให้เกิดกระบวนการหมักโดยเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ยีสต์ที่มีความเกี่ยวข้องในกระบวนการหมักจะมีการสร้าง Ascospores แบบอาศัยเพศอยู่ใน Asci ได้แก่ยีสต์สกุล *Saccharomyces* sp. ยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เอกลสารนี้เป็นเอกลสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกลสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากการหมักวัสดุอินทรีย์ด้วยเชื้อยีสต์ 1-2 วัน จะได้กลิ่นแอลกอฮอล์ ยีสต์ในธรรมชาติจะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์เนื่องจากได้แหล่งอาหารจากน้ำตาล โดยจะปรากฏอยู่ที่บริเวณผิวหน้าของวัสดุหมักเป็นฟองที่ลอยเป็นฝ้าอยู่ที่ผิวของน้ำหมักอาจจะเรียกว่า TopYeasts เมื่อการหมักลดลงจะตกตะกอนลง

Class : *Blastomycetes*
 Family : *Cryptococcaceae*
 Genus : *Torulopsis* sp.

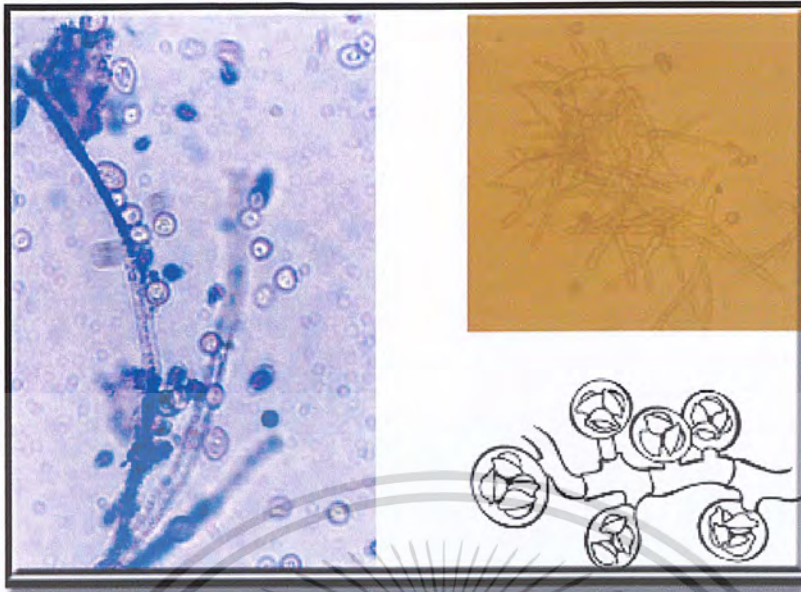
Family Cryptococcaceae จีนัสสำคัญได้แก่ *Torulopsis* sp. โดยทั่วไปมีคุณสมบัติของยีสต์แบบเดียวกับยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ใช้ในการผลิตไวน์ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมในการหมักสาโทเช่นกันเพราะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทนต่อความเป็นกรดทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลและทนต่อระดับแอลกอฮอล์ได้



รูปที่ 2.11 ลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : http://www.pw.ac.th/main/website/sci/7_main.html(2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 ลักษณะของเชื้อ *Saccharomycopsis fibuligera*

ที่มา: [http://158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/\(2009\)](http://158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/(2009))

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jamail และคณะ (2007) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยใช้เซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *Candida tropicalis* ในกรณีที่มีเอนไซม์ α -amylase พบว่า การใช้ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ในการผลิตเอทานอล เมื่อความเข้มข้นของแป้งที่สูงขึ้นทำให้ได้ผลผลิตของเอทานอลสูงขึ้นจนถึง ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 9 ถ้าความเข้มข้นของแป้งสูงกว่านี้ผลผลิตของเอทานอลที่ได้ไม่ได้เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากเอนไซม์กลูโคสไมเลสที่มีในเซลล์ยีสต์ที่ใช้ผลิตมีกิจกรรมสูงที่ความเข้มข้นของแป้งระดับนี้ หรืออาจเนื่องมาจากการยับยั้งแบบย้อนกลับของเอนไซม์อื่นเนื่องมาจากแป้งที่มีความเข้มข้นสูงเกินไป (Ulgen และคณะ ,2002) และได้ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักเอทานอลพบว่า ช่วง 48-72 ชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอลค่อนข้างสูง หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะคงที่

Saba และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เปลือกข้าวที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยปูนขาว และใช้เอนไซม์ย่อยให้ได้น้ำตาล และนำมาหมักเอทานอล จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้กระบวนการหมักแบบ SHF ขั้นตอนในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ใช้เวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมักด้วย Recombinant *E.coli* strain FBR5 ใช้เวลา 19 ชั่วโมง รวมเวลาที่ใช้ทั้งหมดในการหมักเอทานอล 99 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตเอทานอล 9.8 ± 0.05 กรัมต่อลิตรขณะที่ถ้าหมัก โดยกระบวนการ SSF จะใช้เวลาเพียง 53 ชั่วโมง และให้ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทานอล 11.0 ± 1.0 กรัมต่อลิตรซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก จะเห็นได้ว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ใช้เวลาการหมักที่น้อยกว่ากระบวนการ SSF คือ 19 และ 53 ชั่วโมงตามลำดับ

Srichuwong และคณะ (2009) ศึกษากระบวนการหมักโดยระบบ simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ของมันเทศที่มีความเข้มข้นสูงเพื่อใช้ผลิตเอทานอล พบว่า มันเทศถูกบดให้เป็นผงละเอียดมีปริมาณ 304 กรัมต่อลิตรของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ซึ่งมีความหนืดสูง การลดความหนืดทำได้โดยนำผงมันเทศมา pretreatment ด้วยเอนไซม์หลายชนิด เช่น เอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เพื่อทำให้ความหนืดเหมาะสมที่จะนำมาหมักได้ แป้ง ที่ผ่านการ pretreatment จะถูกเปลี่ยนไปเป็น maltodextrins (liquefaction) โดยใช้เอนไซม์ α -amylase ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส พร้อมกับเติมเอนไซม์ glucoamylase และยีสต์ : *Saccharomyces cerevisiae* และเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญของยีสต์ โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เอนไซม์ glucoamylase คือ 1.65 AGU ต่อกรัม ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตคือ 30.2 mM ระยะเวลาการหมักนาน 61.5 ชั่วโมง โดยใช้ response surface methodology (RSM) ปริมาณเอทานอลที่ได้ 16.61% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งมีค่าประมาณ 89.7% ผลผลิตทางทฤษฎี

Nikolic และคณะ (2009) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งข้าวโพดโดยกระบวนการ simultaneous enzymatic saccharification and fermentation (SSF) โดยใช้เซลล์ตรึงของ *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus* พบว่า จากการตรึงเซลล์ Ca - alginate และนำเซลล์ตรึงมาหมักเอทานอลในแป้งข้าวโพด มีการเติมแร่ธาตุบางชนิด เช่น $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ และ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ วิตามิน เช่น Ca-pantothenate, biotin และ myo-inositol โดยแยกเติมและผสมกัน จากการทดลองพบว่า จากการหมักมีความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 10.23 (w/w) ผลผลิตเซลลูโลส 0.53 กรัมต่อกรัม และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล 2.13 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จิรศักดิ์ และคณะ (2554) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกทุเรียน โดยเชื้อยีสต์และเชื้อยีสต์ผสมเปลือกทุเรียนเป็นผลพลอยได้จากการผลิตผลทางการเกษตร จึงมีต้นทุนต่ำ การผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกทุเรียนได้นำมาใช้ในการศึกษาโดยกระบวนการทำให้น้ำตาลแยกจากการหมัก (SHF) และกระบวนการทำให้น้ำตาลพร้อมการหมัก (SSF) ได้ศึกษา การปรับสภาพเปลือกทุเรียน โดย การใช้น้ำกลั่นกรดซัลฟิวริกเจือจางใช้เปลือกทุเรียน 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำสับสเตรตที่ปรับสภาพมาผสมกับเอนไซม์อะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส ไซแลนเนส เซลลูเลส และเพกติเนส น้ำตาลที่ได้นำมาใช้ในการผลิตเอทานอล โดยกระบวนการ SHF และ SSF โดย *S.cerevisiae* และ *C.tropicalis* น้ำตาลที่ได้เท่ากับ 9.34 ถึง 14.52 กรัมต่อลิตรคิดเป็นประสิทธิภาพการแปรรูปน้ำตาลเท่ากับ 62.27 ถึง 96.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับขึ้นกับเวลาและอุณหภูมิ ได้สัมประสิทธิ์การผลิตเอทานอลของเชื้อผสม *S.cerevisiae* และ *C.tropicalis* สูงสุด (96.07 เปอร์เซ็นต์โดยทฤษฎี) การหมักโดย SSF ใช้เวลาน้อยกว่า (16-20 ชั่วโมง) การหมักโดย SHF (48 ชั่วโมง) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตเอทานอลในกระบวนการ SSF 0.939 กรัม เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสูงกว่ากระบวนการหมักแบบ SHF ที่ได้ผลผลิตเอทานอล 0.883 กรัมเปอร์เซ็นต์

จิรศักดิ์ (2554) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแยกจากการหมักและการทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมักจากไขมันสำปะหลังไขมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยการหมักโดย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 *S.cerevisiae* KM1195, *S.cerevisiae* KM7253 และเชื้อยีสต์ผสมระหว่าง *S.cerevisiae*5048 และ *Candida tropicalis*TISTR5045 อุณหภูมิและพีเอชของเอนไซม์เซลลูเลส ไซลานเนส และเพคติเนสได้ถูกศึกษาและทำการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0 การฟัทธิรติเมนต์ของใบโดยใช้กรดเจือจางได้น้ำตาล 0.51 กรัมต่อกรัมเมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีค่าสูงกว่าการฟัทธิรติเมนต์ด้วยด่างเจือจาง และน้ำกลั่นในกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแยกจากการหมัก (SHF) ประกอบด้วยขั้นตอนการทำให้เป็นน้ำตาลและขั้นตอนการหมักแยกกัน ในขณะที่ การทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมัก (SSF) ทั้งสองขั้นตอนเกิดในถังปฏิกรณ์เดียวกัน น้ำตาลจากการย่อยสลายถูกนำมาผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมัก SHF และ การหมัก SSF โดย *S.cerevisiae* KMI195 การทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมักใช้เวลาการผลิตน้อยกว่ากระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแยกจากการหมัก และมีผลผลิตเอทานอลสูงสุด 0.36 และ 0.35 กรัมเปอร์เซ็นต์ โดย SSF และ SHF ตามลำดับ

พนิดา และคณะ (2554) ศึกษาการคัดแยกยีสต์ทนร้อนที่สามารถใช้ไซโลสเพื่อการผลิตเอทานอล วัสดุคอกโคสเป็นวัตถุดิบที่มีอยู่มากมาย ซึ่งมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบเมื่อย่อยสลายจะได้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสตามลำดับ ซึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดเป็นสารตั้งต้นที่ดีในการผลิตเอทานอล กระบวนการในการผลิตเอทานอลที่นิยมใช้ คือ กระบวนการ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ต้องใช้จุลินทรีย์ที่สามารถหมักวัสดุคอกโคสได้ที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อคัดแยกยีสต์ทนร้อนที่มีความสามารถในการใช้ไซโลสในการผลิตเอทานอลได้ ซึ่งจากการทดลองสามารถคัดแยกยีสต์ทนร้อนได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลท และมี 12 ไอโซเลท (60%) ที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสเป็นสารตั้งต้นและเปลี่ยนเป็นเอทานอล ซึ่งยีสต์ทนร้อนไอโซเลท SBK 3-2 สามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดเมื่อเทียบไอโซเลทอื่นๆ (0.43 กรัมต่อลิตร)

ธนภูมิและคณะ (2552) ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลและการหมักเอทานอลในขั้นตอนเดียว โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Rhizopusoryzae* และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการเพาะเลี้ยงแบบ solid state พบว่าการใช้ *R.oryzae* 4 สายพันธุ์ ใช้วัสดุหมักที่มีความชื้นเริ่มต้น 80 % ซึ่งประกอบด้วยมันสำปะหลัง 16 กรัม และซังข้าวโพด 4 กรัม พบว่า *R.oryzae* แต่ละสายพันธุ์สามารถผลิตเอทานอลได้แตกต่างกัน โดยเชื้อ *R.oryzae* TISTR 3165 และ *R.oryzae* TISTR 3523 ผลิตเอทานอลได้สูง การเติม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ KH_2PO_4 มีผลทำให้การผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น ขณะที่การเติมแหล่งไนโตรเจนมีผลทำให้ไม่มีการผลิตเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 จุลินทรีย์

Rhizopus oryzae MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ซึ่งเชื้อราและเชื้อยีสต์เหล่านี้แยกได้ จากลูกแบ่งเหล่านี้ในประเทศไทย (วิมลลักษณ์, 2547) เก็บรักษาเชื้อโดยเชื้อราเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์เลี้ยงบนอาหาร YM Agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อีมาไซโตมิเตอร์
2. กล้องจุลทรรศน์
3. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) ; JULABO
4. เตอบไมโครเวฟ ; MITSUBISHI
5. ตู้เย็น
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
7. หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave) ; TOMY ES-315
8. ตู้อบความร้อน (Hot air oven) ; MEMMERT 600
9. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ; SHIMADZU 1601
10. เครื่องชั่ง ; METLER PG803
11. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ; ISSCO BVT123
12. เครื่องเขย่าอัตโนมัติ (Automatic Shaker) ; GALLENKAMP

3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (Scharlau)
2. แอมโมเนียมซัลเฟต (Scharlau)
3. แมกนีเซียมซัลเฟต (Scharlau)
4. ฟอสเฟตทาร์เตรต
5. คอปเปอร์ซัลเฟต
6. ทวิน 80
7. โซเดียมไฮดรอกไซด์
8. โซเดียมซัลเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. กรดซัลฟูริก
10. กลูโคสแอนไฮดรัส
11. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
12. แคลเซียมคลอไรด์
13. ยีสต์สกัด

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (Spore suspension)

ทำการเลี้ยงเชื้อ *R. oryzae* MNT 006, *A. rouxii* MNT 037 และ *A. oryzae* MNT 029 บน อาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA) (ภาคผนวก ก หัวข้อที่ 3) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์ จากนั้นทำให้สปอร์อยู่ในรูปแขวนลอยโดยการเติมน้ำกลั่นที่ผสมทวิน 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงในหลอดเชื้อปริมาตรหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขี่ยสปอร์ด้วยลูปให้สปอร์กระจายตัว จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ที่ได้เทใส่พลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและทำการตรวจนับจำนวนสปอร์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้จำนวนสปอร์อยู่ในช่วง 1×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 3)

3.2.2 การเตรียมสารแขวนลอยเซลล์ยีสต์ (Cell suspension)

ทำการเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 บน YM Agar (ภาคผนวก ก หัวข้อที่ 2) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำลูปขูดเอาเชื้อจำนวน 2 ลูปใส่ลงในอาหาร YM Broth (ภาคผนวก ก หัวข้อที่ 1) ซึ่งบรรจุใน พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง นำสารละลายเซลล์ยีสต์มานับจำนวนโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้จำนวนเซลล์ 2×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 3) นำมาใช้เป็นหัวเชื้อยีสต์ในการศึกษาต่อไป

3.2.3 การเตรียมแป้งมันเทศ

นำมันเทศมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นบางๆอบในตู้อบ (Tray dryer) อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกว่ามันเทศจะแห้งสนิทจากนั้นนำมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นไฟฟ้า (Blender) แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรกร่อนที่มีขนาดของรู 50 mesh ซึ่งจะได้แป้งมันเทศที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.188 มิลลิเมตรนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.4 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งมันเทศให้เป็นน้ำตาลได้สูง

นำแป้งมันเทศ 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นจากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่เตรียมได้จากหัวเชื้อข้อ 3.2.1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยวิธี Somogyi Nelson (Nelson , 1944 (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 1)) คัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.5 ศึกษาผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด

แปรผันความเข้มข้นของแป้งมันเทศดังนี้ ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 นำหนักโดยปริมาตร โดยนำแป้งมันเทศ 2 4 6 8 และ 10 กรัมใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น ทำการเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.4 ร้อยละ 10 โดยปริมาตรนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง โดยเก็บน้ำหมักที่หมักได้ในแต่ละพลาสติกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 1) คัดเลือกความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่เหมาะสมต่อการหมักและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยแป้งมันเทศเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.6 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่ได้คัดเลือกไว้โดยใช้

กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separated enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF) และกระบวนการย่อยกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

3.2.6.1 กระบวนการ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)

เตรียมความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.5 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมสารแขวนลอยสปอร์จากเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.4 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาหัวข้อ 3.2.5 เมื่อครบกำหนดเติมสารแขวนลอยเซลล์ยีสต์ที่เตรียมไว้จาก 3.2.2 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักต่อเป็นเวลา 3 วัน ที่สภาวะเดิมเก็บปริมาตรน้ำหมักทุก 24 ชั่วโมง โดยนำน้ำหมัก 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยง ที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Gas chromatography(GC) โดยทำการฉีดในสภาวะของก๊าซโครมาโตกราฟี (GC17A Chromatograph shimadzu) ต่อกับเครื่อง Shimadzu ใช้คอลัมน์ DB-WAX (Agilent J&W GC column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร โดยระบบจะทำงานที่อุณหภูมิจาก 60 องศาเซลเซียส ถึง 180 องศาเซลเซียส โดยใช้ฮีเลียมเป็นตัวพาและมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6.2 กระบวนการ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

เตรียมความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรใน ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้จาก 3.2.4 ลงไปปริมาตรร้อยละ 10 และเติมสารแขวนลอยเซลล์ยีสต์ ร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงไปพร้อมกัน นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันทำการเก็บปริมาตรของน้ำหมักทุก 24 ชั่วโมง โดยนำน้ำหมักปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi Nelson (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 1) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 2) เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในกระบวนการ SHF และ SSF

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองในหัวข้อ 3.2.4 , 3.2.5 และ 3.2.6 วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Rang Test (DMRT) มีจำนวนซ้ำ 3 และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ในการวิเคราะห์

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูง

ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลของเชื้อราแต่ละชนิด โดยเลี้ยงบนแป้งมันเทศ เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยนำแป้งมันเทศ 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง อัดไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมสารแขวนลอย สปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037, *Aspergillus oryzae* MNT 029 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการ เก็บส่วนใสที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีการ Somogyi Nelson จากการทดลองพบว่าการใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 26.79 กรัมต่อลิตร ขณะที่ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.17 และ 7.88 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดัง ตารางที่ 4.1 นำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อราทั้งสามชนิดมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้เชื้อราทั้งสามชนิด มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) จึงได้ คัดเลือกเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มาใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลอง ของ ศศิมา และคณะ (2552) โดยศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุน โดยเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ดล่า พบว่าการใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้เชื้อ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029

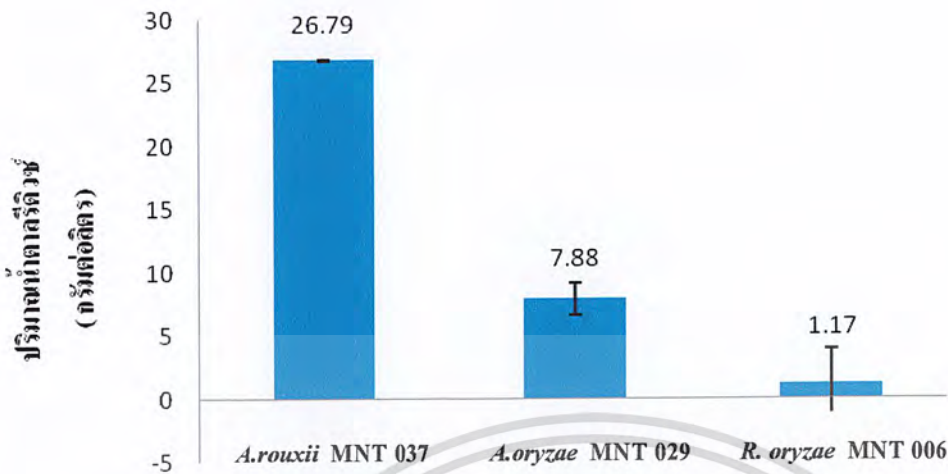
ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะเขย่าที่ 130 รอบ ต่อนาทีที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของเชื้อรา	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
<i>Rhizopus oryzae</i> MNT 006	1.17 ± 0.04^c
<i>Aspergillus oryzae</i> MNT 029	7.88 ± 1.24^b
<i>Amylomyces rouxii</i> MNT 037	26.79 ± 2.72^a

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้เมื่อใช้ราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะอาหารเหลว เขย่า ที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.2 ผลความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037

จากการศึกษาความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร เติงบน เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น จากการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 48 ชั่วโมงของการหมักทุกความเข้มข้นของแป้งมันเทศ เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงตามระยะเวลาการหมัก อาจเนื่องมาจาก เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มีการเจริญมากขึ้น ในขณะที่สับสเตรทจะถูกใช้ไปเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มใส่เชื้อ ทำให้สับสเตรทมีปริมาณลดลง จึงไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 และเมื่อใช้แป้งมันเทศร้อยละ 6 8 และ 10 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลที่สูงสุดคือ 43.81 48.77 และ 56.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้แป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 6 8 และ 10 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.2 และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะของสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 จะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว มีความหนืดเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 ซึ่งจะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว และมีความหนืดสูงซึ่งผลที่ได้จากการทดลองจะสอดคล้องกับการทดลองของ Talisa และคณะ (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อที่แยกได้จาก *Tan-koji* และ *S. cerevisiae* จากการทดลองหัวข้อนี้ จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 6 และหมักโดยใช้ *A. rouxii* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MNT 037 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง มาใช้ในการศึกษาต่อไป Yuwa (2010) ศึกษาการปลดปล่อยน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้ง โดยใช้เชื้อรา 2 ชนิด คือ *Rhizopus* sp.#2Bu และ *Rhizopus* sp.#3Bu ย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังที่สุกแล้ว พบว่า ปริมาณน้ำตาลถูกสร้างขึ้นมาในระยะเวลาต่างๆ ของการย่อยแป้งโดยเอนไซม์จากเชื้อราทั้งสองชนิด น้ำตาลที่สร้างขึ้นมาเชื้อราเหล่านี้ใช้ในการเจริญ และน้ำตาลส่วนที่เหลือจะถูกวิเคราะห์ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ที่หลงเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการทดลองพบว่า เมื่อใช้แป้งตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกมาจะเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเชื้อ *Rhizopus* sp.#3Bu จะใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าเชื้อ *Rhizopus* sp.#2Bu ที่ความเข้มข้นต่างๆของแป้งพบว่าแป้งที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 หมักเป็นเวลา 3 วัน โดยจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 15.55 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆและระยะเวลาหมักที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

ปริมาณความเข้มข้นของแป้งมันเทศ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่เวลา					
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.	120 ชม.
ร้อยละ 2	1.05 ± 0.05 ^c	5.74 ± 3.85 ^a	11.27 ± 0.53 ^c	6.38 ± 0.76 ^c	4.58 ± 3.01 ^c	1.56 ± 0.30 ^c
ร้อยละ 4	1.47 ± 0.01 ^c	5.64 ± 0.62 ^a	25.90 ± 3.34 ^{bc}	14.30 ± 2.60 ^{bc}	10.37 ± 3.05 ^c	5.06 ± 0.02 ^c
ร้อยละ 6	2.59 ± 0.13 ^b	9.28 ± 4.84 ^a	43.81 ± 28.10 ^{ab}	29.76 ± 21.11 ^{ab}	28.98 ± 8.63 ^b	25.30 ± 0.77 ^b
ร้อยละ 8	4.18 ± 0.14 ^a	7.78 ± 1.04 ^a	48.77 ± 3.78 ^{ab}	39.17 ± 0.57 ^a	34.98 ± 7.13 ^{ab}	25.81 ± 0.64 ^b
ร้อยละ 10	4.22 ± 0.15 ^a	6.64 ± 0.19 ^a	56.77 ± 11.08 ^a	47.46 ± 3.04 ^a	44.74 ± 3.53 ^a	57.28 ± 8.83 ^a

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง

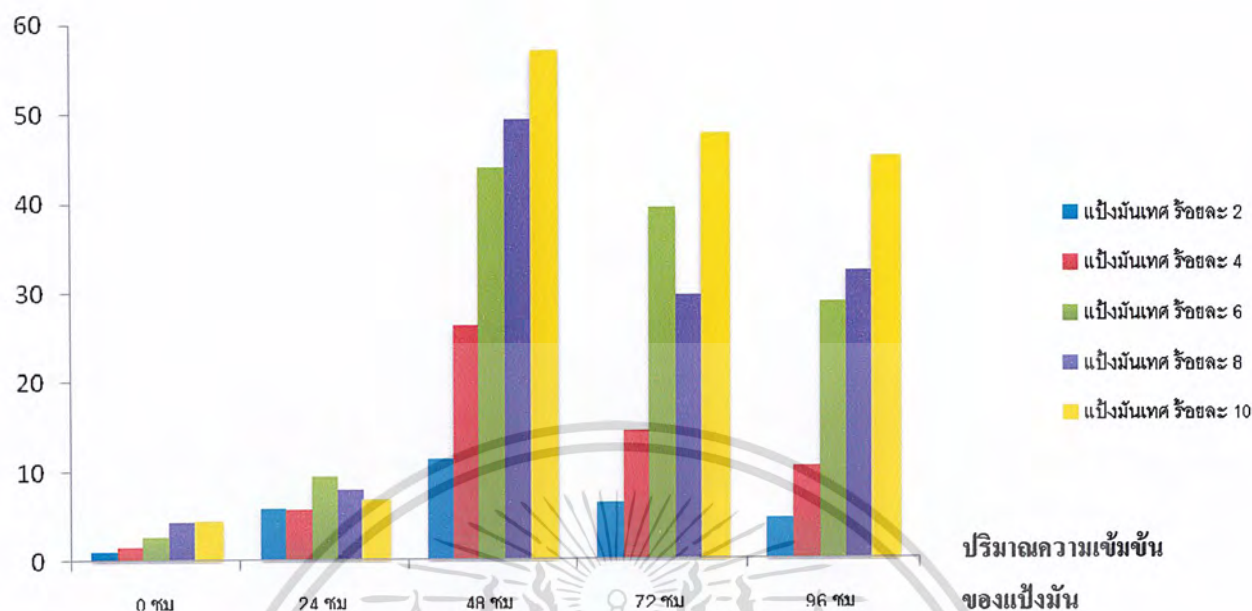
ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ละ 95

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)



รูปที่ 4.2 แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน

4.3 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดย กระบวนการย่อยแยกจากการหมัก (Separated Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF) และ กระบวนการย่อยกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

4.3.1 กระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (Separated Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF)

จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตรหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เซลล์ที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ปริมาตรร้อยละ 10 หมักต่อ 72 ชั่วโมง ที่สภาวะเดิม เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ใช้น้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยของ *A. rouxii* MNT 037 เปลี่ยนไปเป็นเอทานอล เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักที่ระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 กระบวนการย่อยสลายกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เข้าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้น ใน 72 ชั่วโมง ขบวนการหมักจะให้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักที่ 72 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในชั่วโมงที่ 24 และ 48 แสดงดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF พบว่า จากการหมักโดยกระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF โดยพบว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอล 13.81 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 ของการหมักโดยใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมงขณะที่ใช้กระบวนการ SSF ใช้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตรโดยใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Marques และคณะ (2008) ศึกษาการนำตะกอนที่ได้จากกระบวนการผลิตกระดาษมาผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการ SHF และ SSF โดยเชื้อ *Pichia stipitis* พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการ SHF คือ 19.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 179 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล 18.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 48 ชั่วโมง Saha และ Cotta (2006) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากฟางข้าวสาลีที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า การหมักโดยกระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมักแบบ SSF โดยมีปริมาณเอทานอล 18.9 ± 0.9 กรัมต่อลิตร และ 15.1 ± 0.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ กระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF จะเสร็จสมบูรณ์ภายใน 48 ชั่วโมงของการหมักโดยกระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการ SSF หลังจาก 48 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลจะคงที่หรือลดลงเล็กน้อย Saha และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เปลือกข้าวที่ผ่านการบำบัดด้วยปูนขาวและใช้เอนไซม์ย่อยให้เป็นน้ำตาล จากนั้นนำมาหมักเอทานอล จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้กระบวนการหมักแบบ SHF ขั้นตอนในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ย่อยใช้เวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมักด้วย Recombinant *E.coli* strain FRR 5 ใช้เวลาหมัก 19 ชั่วโมง รวมเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 99 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตเอทานอล 9.8 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ขณะที่ใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาเพียง 53 ชั่วโมง และให้ผลผลิตเอทานอล 11.0 ± 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะระยะเวลาที่ใช้หมัก จะเห็นได้ว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ใช้เวลาในการหมักจริงน้อยกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF คือ 19 และ 53 ชั่วโมง ตามลำดับ Yuwa (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อราที่คัดเลือกได้จากลูกแป้งและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า *Rhizopus* sp.#3Bu ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 25.9 จากการใช้แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6 ที่เวลา 72 ชั่วโมง การหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมของ *Rhizopus* sp.#3Bu และ *S. cerevisiae* 5088 โดยเติมเชื้อยีสต์หมักเอทานอลภายหลัง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเติมเชื้อราที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเอทานอลจะได้สูงสุดหลังจากเติมเชื้อราที่ 24 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณเอทานอล 14.36 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) และ กระบวนการหมักแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

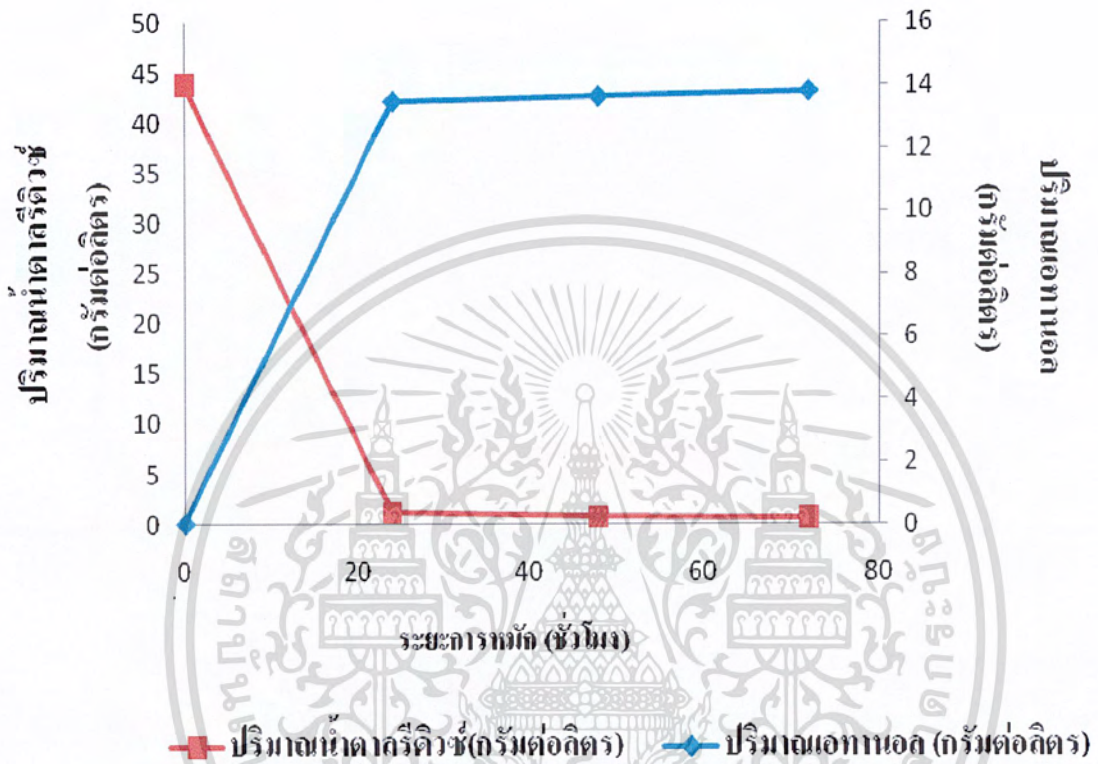
ระยะเวลาหมัก (ชั่วโมง)	กระบวนการหมักแบบ SHF ใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมง			กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง		
	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
24	1.41 ± 0.06^a	13.49 ± 0.22^a	0.55 ± 0.01^a	0.45 ± 0.01^a	8.91 ± 0.10^b	0.36 ± 0.01^b
48	0.73 ± 0.03^b	13.65 ± 0.77^a	0.56 ± 0.03^a	0.42 ± 0.01^b	8.89 ± 0.24^b	0.36 ± 0.01^b
72	0.62 ± 0.02^c	13.81 ± 0.22^a	0.57 ± 0.01^a	0.41 ± 0.02^b	9.51 ± 0.16^a	0.39 ± 0.01^a

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแนวดิ่ง

ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ

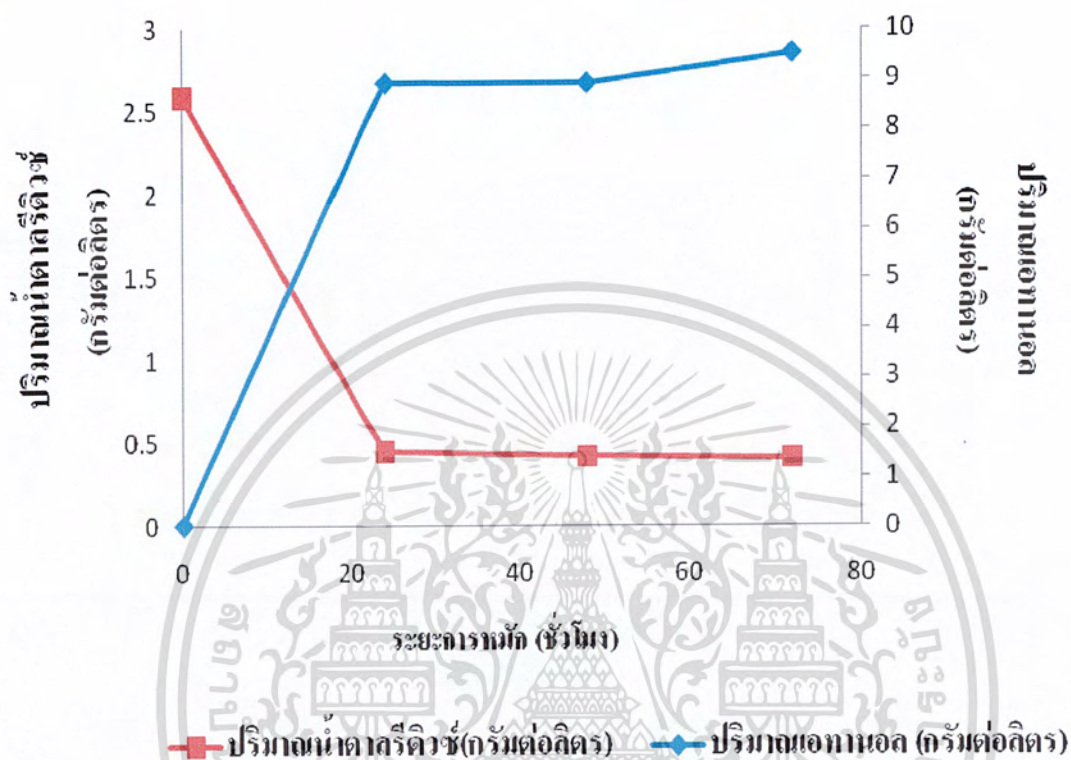
95

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลดีควิซ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบSSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ด ซึ่งประกอบด้วยเชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037 , *Aspergillus oryzae* MNT 029 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 หมักในสภาวะอาหารเหลว จากการทดลองการคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง พบว่าการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด และจากการทดลองหาความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 พบว่า ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 43.81 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอล จากกระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (SHF) โดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักต่ออีก 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอล 13.87 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 120 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบกระบวนการย่อยสลายและการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (SSF) โดยเติมเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 9.51 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมักทั้งหมด 72 ชั่วโมง ในกระบวนการ SHF และ SSF หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาทีเช่นเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองจะเห็นว่าเราควรที่จะเลือกกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF เพราะปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ SSF และ SHF ต่างกันไม่มากนัก โดยกระบวนการ SSF ใช้เวลาในการผลิตที่น้อยกว่ากระบวนการ SHF ถึง 48 ชั่วโมง และ ยังประหยัดพลังงานมากกว่า โดยที่เรา นำเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเห็ด เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 มาใช้ในการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีแปรง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จิรศักดิ์ คงเกียรติจร. 2554. การศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแยกจากการหมักและการย่อยให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมักจากไบโมันสำปะหลัง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. หน้า 314 -321.
- จิรศักดิ์ คงเกียรติจร และณัตติยา จันทวงษา. 2554. การศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกทุเรียนโดยเชื้อยีสต์เดี่ยวและเชื้อยีสต์ผสม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. หน้า 242 – 249.
- พัทธ์ประไพ ประจำเมือง. 2546. เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง. วารสารศูนย์บริการวิชาการ. ปีที่ 11. ฉบับที่ 4. ประจำเดือนตุลาคม-ธันวาคม.
- พนิดา สุริยะพันธ์. 2554. การคัดแยกยีสต์ที่ร้อนที่สามารถใช้ไซโลสเพื่อการผลิตเอทานอล. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. หน้า 400 – 405.
- ยุทธศักดิ์ สุภการี. 2551. สภาพที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเส้นใยปาล์มโดยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 62 หน้า
- วิมลกษณ์ รัตนปรีดากุล. 2549. การศึกษาเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าเปรียบเทียบกับเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตสาโท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Amonpitak, T.Y. 2010. Ethanol production from cassava starch by selected fungi from Tan-Koji and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology*. 9(1), 84-88.
- Chaplin, M. 2001. Production of glucose syrup. [online] Jan17 . Available from [http:// www.sbu.ac.uk/biology/enztech/glucose.html](http://www.sbu.ac.uk/biology/enztech/glucose.html).
- Douglas, W. and Mitchinson, C. 1997. Enzymes involved in the processing of starch to sugars. *Trends in Biotechnology* . 349-352.
- Jamai, L., Ettayebi, K., Yamani, L. and Ettayebi, M. 2007. Production of ethanol from starch by free and immobilized *Candida tropicalis* in the presence of α -amylase. *Bioresource Technology*. 98: 2765-2770.
- Marques, S., Alves, L., Roseiro, J. C and Girio, F.M. 2008. Conversion of recycled paper sludge to ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipitis*. *Biomass and Bioenergy* 32: 400 – 406.
- Nigam, P. and Singh, D. 1995. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Enzyme and Microbial Technology*. 17: 770-778.

- Rogers, P. , Tribe, D. and Lee, J. 1979. Kinetics of alcohol production by *Zymomonas mobilis* at high sugar concentrations. *Biomass and Bioenergy*. 165–170.
- Saha, C. B. and Cotta , M. A. 2006. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. *Biotechnol . Prog .* 22: 449 – 453.
- Saha, C. B. and Cotta , A. M. 2008. Lime pretreatment,enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol.*Biomass and Bioenergy* 32 : 971 – 977.
- [Online]. Available : www.doae.go.th
- [Online]. Available : www.en.wikiprdia.org/
- [Online]. Available : www.as.doa.go.th/fieldcrops/cas/eth/e002.pdf
- [Online]. Available : <http://www.thaiart.info/archives/6772>
- [Online]. Available : www.botanic.hr/praktikum/Aspergillus_sp2.htm
- [Online]. Available : www.micol.fcien.edu.uy/atlas/Deuteromycetes.htm
- [Online]. Available : www.indonesiakutercinta.wordpress.com/
- [Online]. Available : www.158.108.88.131/courseware/charoen/unit4/
- [Online]. Available : www.statemaster.com/encyclopedia/Rhizopus
- [Online]. Available : www.mycology.adelaide.edu.au
- [Online]. Available : www.vcharkarn.com
- [Online]. Available : www.Neutron.rmutphysics.com
- [Online]. Available : www.variety.teenee.com
- [Online]. Available : www.thaiart.info/archives/6772
- [Online]. Available : www.2.diw.go.th/sura/สวโท/05.doc

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth

ประกอบด้วย

- กลูโคส 10 กรัม
- เปปโตน 5 กรัม
- ยีสต์สกัด 3 กรัม
- มอลท์สกัด 3 กรัม

วิธีการเตรียม

1. ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
2. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ YM Agar

ประกอบด้วย

- กลูโคส 10 กรัม
- เปปโตน 5 กรัม
- ยีสต์สกัด 3 กรัม
- มอลท์สกัด 3 กรัม
- วุ้น 15 กรัม

วิธีการเตรียม

1. ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
2. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar)

ประกอบด้วย

- Potato Dextrose Agar 39 กรัม
- น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์

1. วิธีวัดน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi – Nelson (Nelson, 1944)

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)
2. สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent)

วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)

1. ชั่ง $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายคอปเปอร์ เก็บในขวดสีชา
2. จากนั้นละลาย $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 71 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร
3. เติม $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 40 กรัม
4. เติม NaOH 1N ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
5. เติม Na_2SO_4 ปริมาณ 120 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดเป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาเป็นเวลา 2 วัน
6. เมื่อครบกำหนดเวลานำมากรองตะกอนออก
7. จากนั้นนำมาผสมกับสารละลายคอปเปอร์ และเก็บในขวดสีชา

สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent)

1. เติม $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร
2. จากนั้นเติม $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟูริกปริมาตร 21 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บสารละลายในขวดสีชา บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

วิธีวิเคราะห์

1. ทำการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน โดยชั่งน้ำตาลกลูโคสปริมาณ 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทำการเจือจางให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0 50 100 และ 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตรและสารละลายคอปเปอร์ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง

3. จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำไปทำให้เย็น

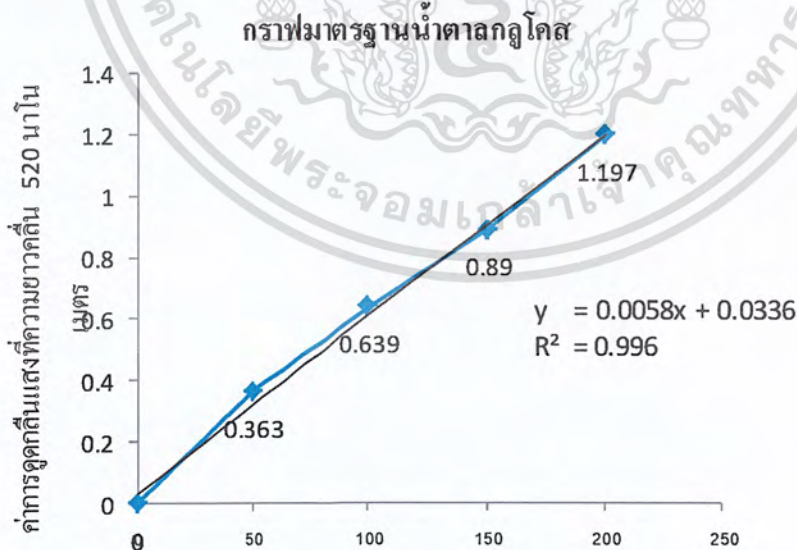
4. เติมสารละลายเนลสันปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที แต่ไม่ควรเกิน 40 นาที

6. จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (รูปที่ ข-1) เพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น } 520 \text{ นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราเจือจาง})}{(\text{ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน}) \times 1000}$$



ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ร้อยละ โดยปริมาตร)

รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสวัดด้วยวิธี Somogyi-Nelson ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC)

เป็นเทคนิคใช้สำหรับแยกสารผสมที่มีคุณสมบัติที่สามารถเป็นแก๊สได้ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส เช่นกัน แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารผสม เช่น ฮีเลียม จะทำหน้าที่เป็นตัวพา (Carrier) สารผสม ส่วนเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) อาจจะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ เมื่อทั้งตัวพาและสารผสมเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์นี้ เฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์จะดึงดูดด้วยแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตตามความเป็นขั้วของสารกับ โมเลกุลในสารผสมทำให้องค์ประกอบในสารผสมถูกพาไปด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน สารผสมก็จะแยกออกจากกัน เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแก๊สนี้มักใช้ในการวิเคราะห์ทั้งคุณภาพและปริมาณในหลายด้าน อาทิเช่น ทางด้านอาหาร ยา ยาฆ่าแมลง น้ำมันหอมระเหย ทางการแพทย์ ปีโตรเลียม และทางสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

องค์ประกอบหลักที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ

1.1 Injector

คือ ส่วนที่สารผสมตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่องมือ และระเหยกลายเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่ column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างระเหยได้แต่ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว เช่น Split, Splitless injector, On column injector เป็นต้น

1.2 Oven

คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุ column และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับวิธีการที่ต้องการวิเคราะห์สารผสม การควบคุมอุณหภูมิของ oven นั้นมี 2 แบบ คือ Isothermal จะใช้อุณหภูมิเดียวตลอดการวิเคราะห์ และแบบ temperature program จะสามารถเปลี่ยนอุณหภูมิได้ในระหว่างการวิเคราะห์ มักจะนิยมใช้กับสารผสมที่มีช่วงของจุดเดือดกว้าง ทำให้ chromatogram ที่ได้มี peak shape ไม่ broad และยังช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์

1.3 Detector

คือ ส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและดูว่าสารตัวอย่างที่สนใจมีปริมาณอยู่เท่าใด มีหลายชนิดตามความเหมาะสมดังนี้

1.3.1 Flame Ionization Detector (FID) เหมาะสำหรับตรวจวัดสารที่มี C-H bonds ในโมเลกุลหรือที่เรียกว่าเป็นสารอินทรีย์ (Organic compounds)

1.3.2 Thermal Conductivity Detector (TCD) มี filament ที่มีการให้กระแสไฟฟ้าคงที่ และจะเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟของ filament ใน reference cell และ sample cell การเปลี่ยนแปลงนี้จะมีความสัมพันธ์กับค่าสัมประสิทธิ์การนำความร้อนของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับค่าสัมประสิทธิ์นำความร้อนของ carrier gas ทำให้ detector ชนิดนี้สามารถตรวจสอบสารได้ทุกชนิดยกเว้นตัวแก๊ส ที่ใช้เป็น carrier gas

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 Nitrogen Phosphorous Detector (NPD) เป็นเครื่องตรวจวัดที่ใช้ตรวจวัดเฉพาะสารอินทรีย์ที่มี nitrogen หรือ phosphorous เป็นองค์ประกอบ โดยสารตัวอย่างจะถูกเผาใน plasma ที่เกิดจากรubidium bead ที่ถูกกระตุ้นด้วย hydrogen และ air ทำให้สารที่มี nitrogen หรือ phosphorous กลายเป็นไอออน

1.3.4 Flame Photometric Detector (FPD) สารที่มี sulfur หรือ phosphorous ในองค์ประกอบเมื่อถูกเผาใน hydrogen/air flame จะให้แสงในช่วงคลื่นเฉพาะ แสงนี้จะผ่าน monochromatic filter ไปยัง photomultiplier tube เพื่อทำการตรวจวัด

1.3.5 Electron Capture Detector (ECD) เป็น detector เฉพาะที่ใช้วัด electrophilic compounds อย่างเช่น halogens, nitrates และ conjugated carbonyls หลักของ detector นี้คือ ^{63}Ni จะเป็นตัวให้อิเล็กตรอน เมื่อมีกระแสไฟฟ้า เมื่อสารที่เป็น electrophilic compounds เข้าไปจับกับอิเล็กตรอน ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของกระแสในการวัด

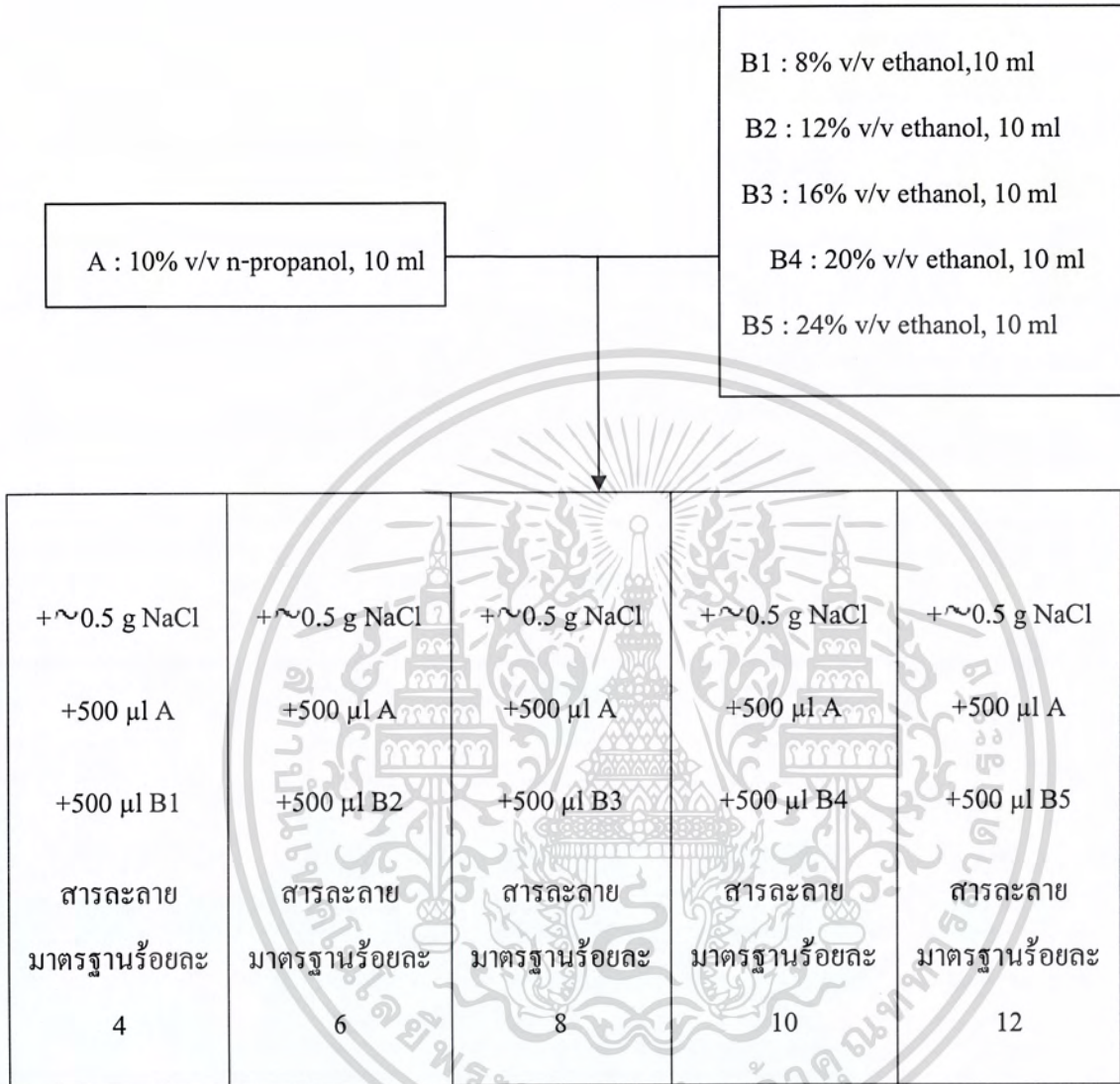
(ที่มา : http://las.perkinelmer.com/local/Thailand/AS_GC.htm)

สำหรับการทดลองนี้ ใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี Shimadzu 17A Chromatograph โดยมีแก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา คอลัมน์ที่ใช้ DB-WAX ยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส และส่วนตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง (Detector) คือชนิด Flame Ionization Detector (FID)

วิธีวิเคราะห์ (Jekel, 2005)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้ โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard)
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4, 6, 8, 10 และ 12 โดยปริมาตร โดยมีวิธีทำดังแผนภาพรูปที่ ข-2
3. ใส่สารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นในขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร วางเซปตัม (septum) ที่ปากขวดโดยคว่ำด้านเทฟลอน (Teflon) ลงติดปากขวด จากนั้นจึงปิดด้วยฝาอะลูมิเนียม
4. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโตกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC-17A Chromatograph, Shimadzu) ต่อกับเครื่อง HSS-4A (Shimadzu) ซึ่งเป็นส่วนที่ตัวอย่างจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป
5. ใช้คอลัมน์ DB-WAX (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 1 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัววัด (detector) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะ โดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

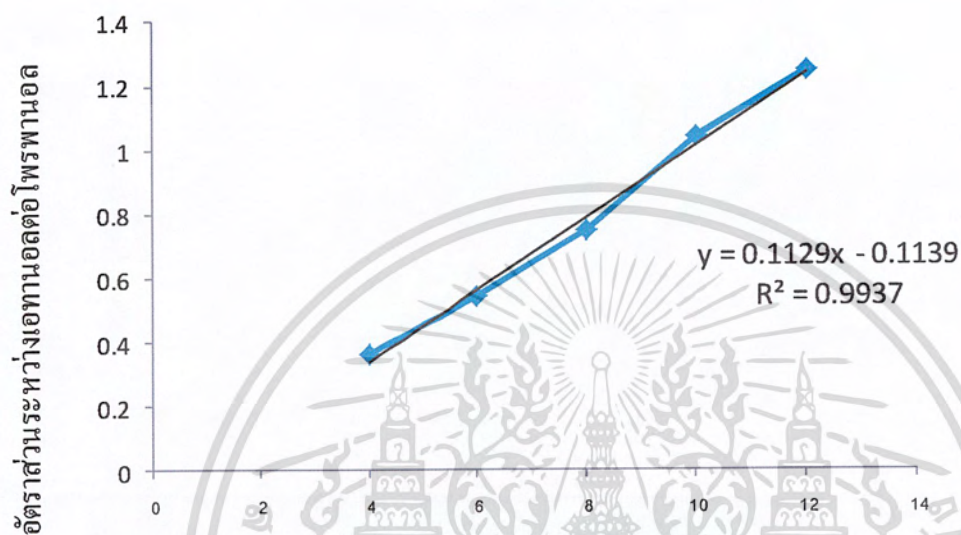


รูปที่ ข-2 แผนภาพวิธีเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

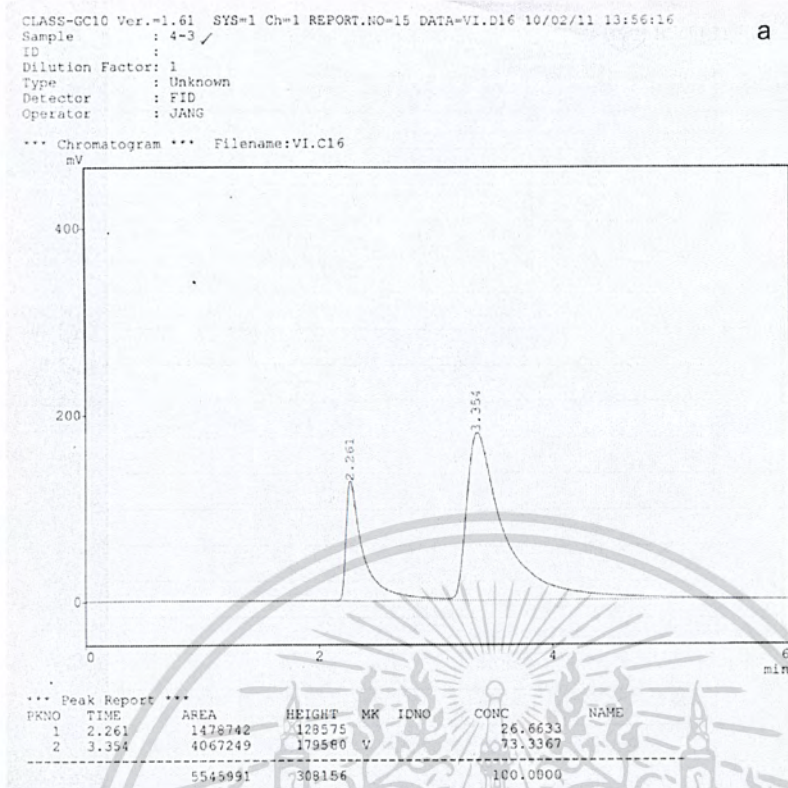
เมื่อนำสารละลายมาตรฐานเอทานอลมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีจะได้กราฟมาตรฐานเอทานอลดังแสดงในรูปที่ ข-3

กราฟเอทานอลมาตรฐาน

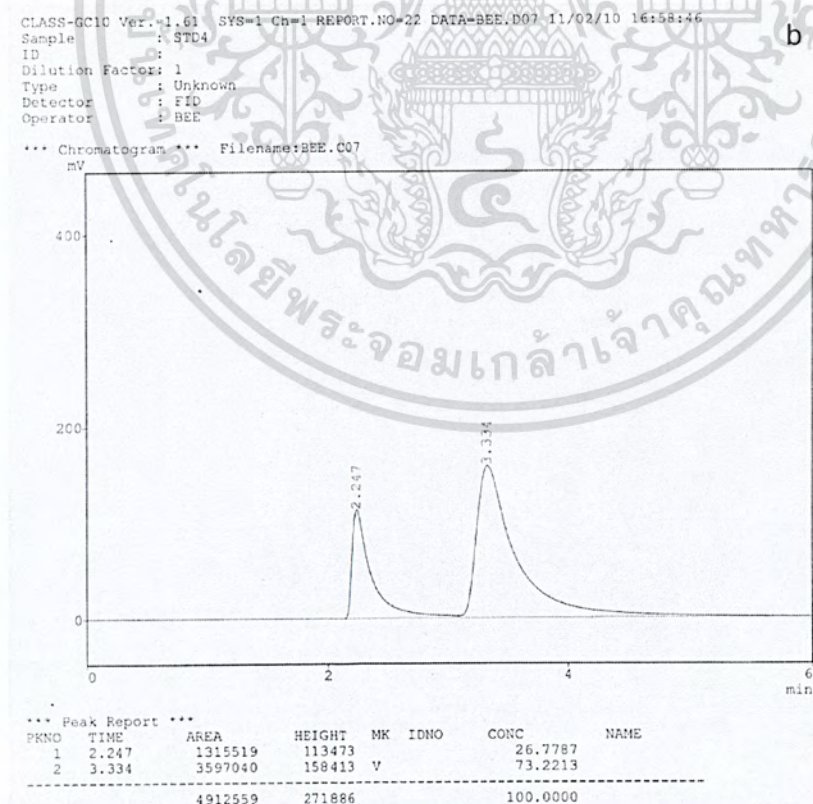


รูปที่ ข-3 กราฟเอทานอลมาตรฐานวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-4 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 4 และ พื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี



รูปที่ ข-5 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 4 และ พื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจาก

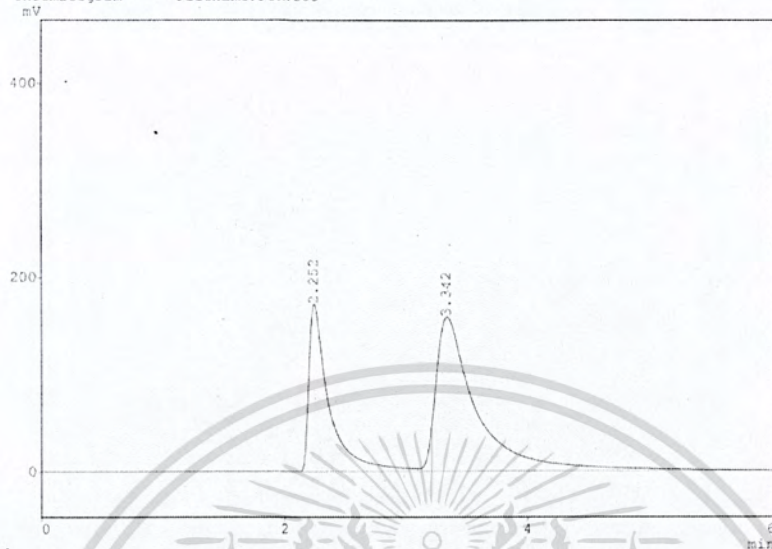
โครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์กับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=8 DATA=POR.D03 11/02/10 13:09:30
 Sample : 6-1
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

C

*** Chromatogram *** Filename:POR.C03



*** Peak Report ***

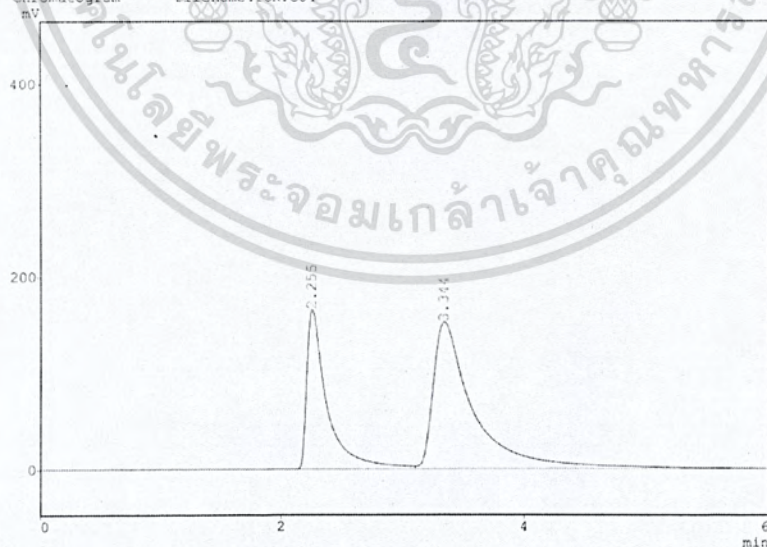
PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.252	1993587	172501			35.2121	
2	3.342	3668068	159131	V		64.7879	
		5661654	331632			100.0000	

รูปที่ ข-6 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 6 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=9 DATA=POR.D04 11/02/10 13:25:38
 Sample : 6-2
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

d

*** Chromatogram *** Filename:POR.C04



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.255	1921433	166183			35.3324	
2	3.344	3516735	152634	V		64.6676	
		5438168	318816			100.0000	

รูปที่ ข-7 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 6 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจาก

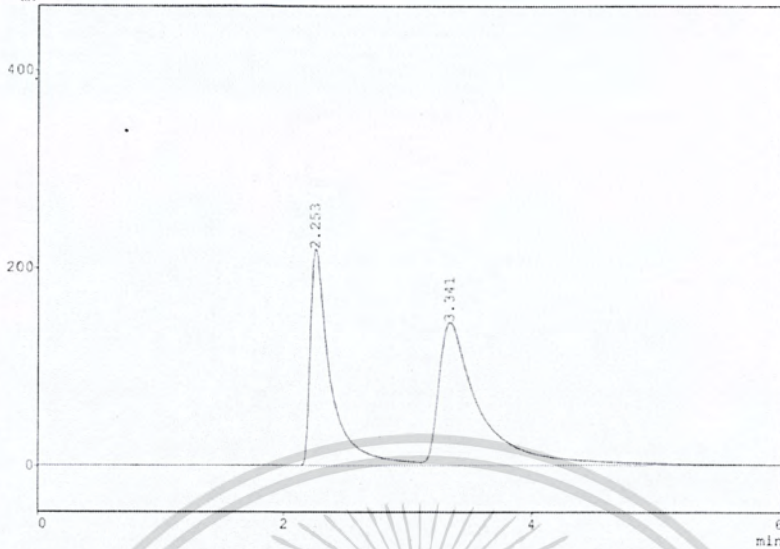
โครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=10 DATA=POR.D05 11/02/10 13:42:34
 Sample : 8-1
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

e

*** Chromatogram *** Filename:POR.C05
 mV



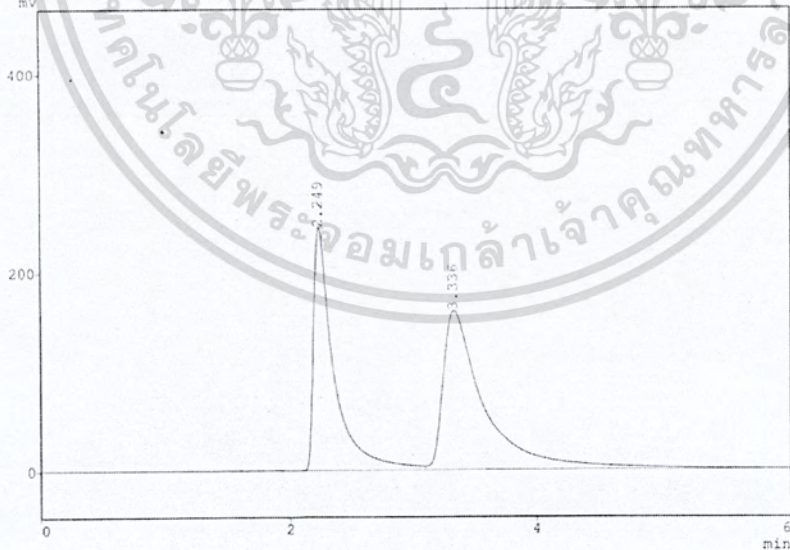
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.253	2509849	219294			42.8183	
2	3.341	3351771	144800	V		57.1816	

รูปที่ ข-8 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 8 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=11 DATA=POR.D06 11/02/10 13:59:32
 Sample : 8-2
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

*** Chromatogram *** Filename:POR.C06
 mV



*** Peak Report ***

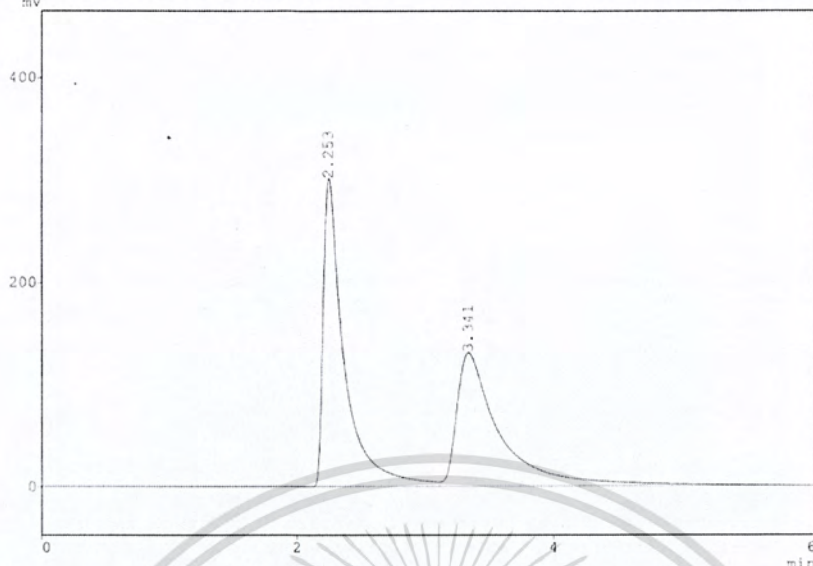
PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.249	2785928	244777			42.9538	
2	3.336	3699934	160130	V		57.0461	

รูปที่ ข-9 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 8 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจาก

โครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*** Chromatogram *** Filename:POR.C07
 mV



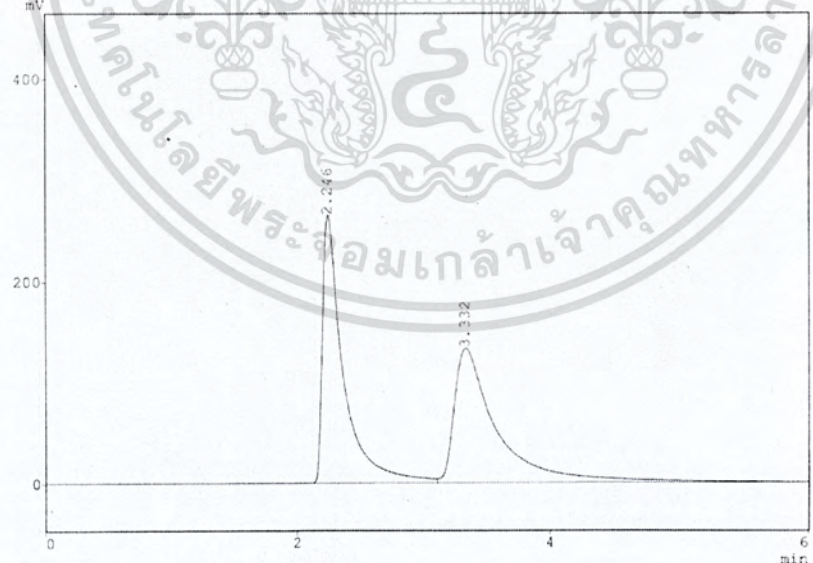
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.253	3409819	301195			52.7142	
2	3.341	3058687	131071	V		47.2858	
		6468505	432266			100.0000	

รูปที่ ข-10 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 10 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=13 DATA=POR.D08 11/02/10 14:30:46
 Sample : 10-2
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

*** Chromatogram *** Filename:POR.C08
 mV



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.246	3013306	265210			49.1853	
2	3.332	3113124	133604	V		50.8146	
		6126430	398814			100.0000	

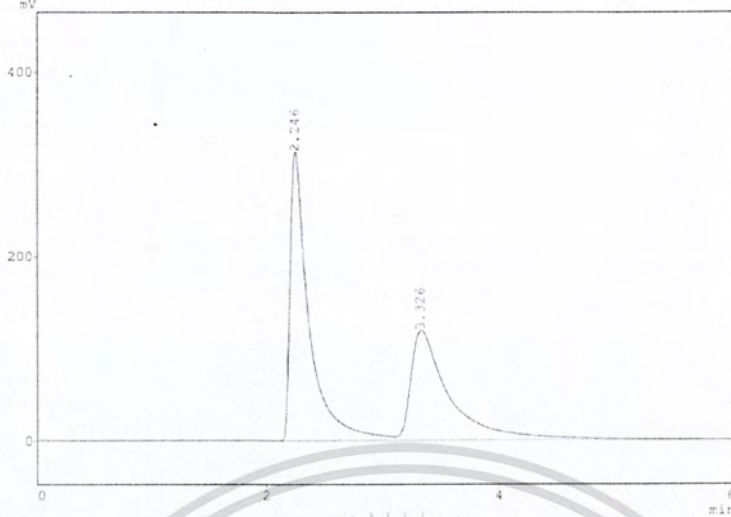
รูปที่ ข-11 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 10 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจาก

โครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์กับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=14 DATA=POR.D09 11/02/10 14:46:20
 Sample : 12-1
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

*** Chromatogram *** Filename:POR.C09



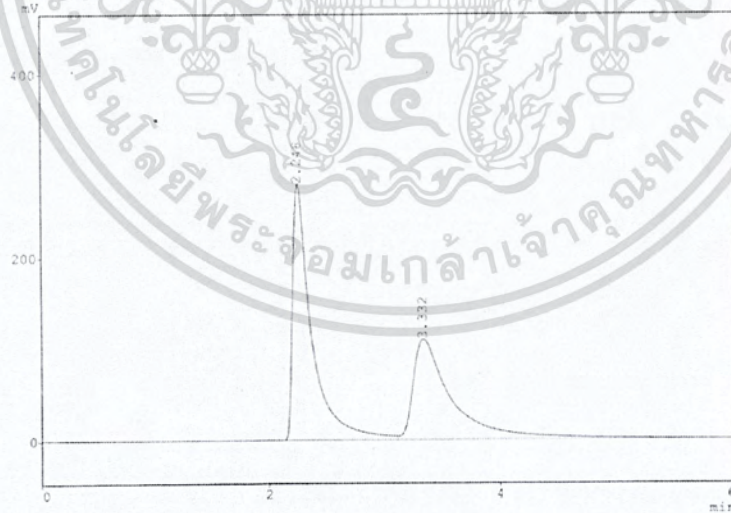
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.246	3545789	313739			55.8052	
2	3.326	2808075	119308	V		44.1948	
		6353864	433047			100.0000	

รูปที่ ข-12 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 12 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

CLASS-GC10 Ver.=1.61 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=15 DATA=POR.D10 11/02/10 15:02:16
 Sample : 12-2
 ID :
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : FID
 Operator : JANG

*** Chromatogram *** Filename:POR.C10



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.248	3171611	280112			55.1250	
2	3.332	2581883	109409	V		44.8750	
		5753494	389521			100.0000	

รูปที่ ข-13 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลร้อยละ 12 และพื้นที่ใต้กราฟของโพรพานอลจากโครมาโตแกรมของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจนับสปอร์โดยใช้ Hemacytometer (Townsend and Lindgren, 1953)

วิธีการ

1. วางกระจกปิดสไลด์ (cover slip) บนฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) ที่ใช้นับสปอร์
2. บรรจุสารละลายสปอร์ที่เจือจางให้เหมาะสมแล้วบนฮีมาไซโตมิเตอร์ด้วยปิเปต
3. นับสปอร์ 5 ช่องบนตำแหน่ง บนซ้าย ล่างซ้าย บนขวา ล่างขวา และตรงกลาง ของช่องใหญ่ด้วย กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า
4. เมื่อนับสปอร์ครบ 5 ช่องแล้วให้นำสปอร์ทั้ง 5 ช่องมารวมกันเพื่อคำนวณตามสูตร

จำนวนสปอร์ทั้งหมด = $5A \times 10^4 \times$ ความเจือจาง

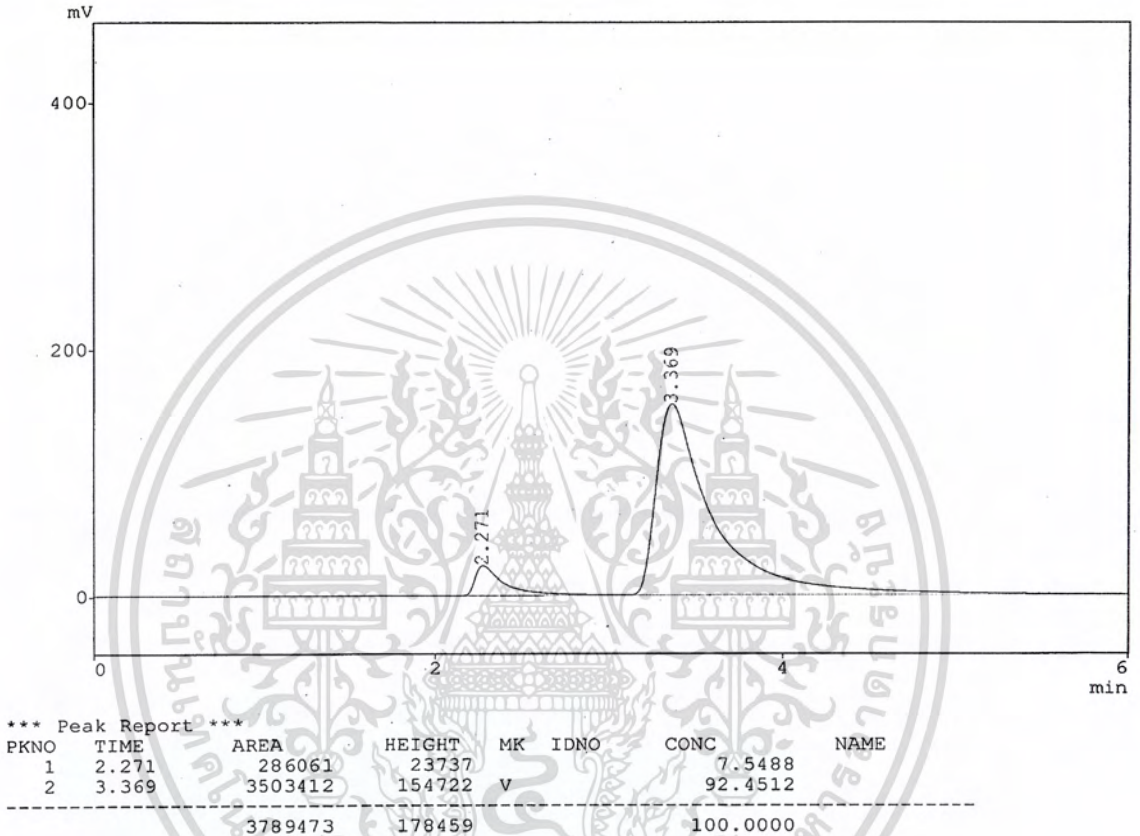
กำหนดให้ A คือ จำนวนสปอร์ที่นับได้จาก 5 ช่อง



ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบของการวิเคราะห์เอทานอล

ตัวอย่างที่ SHF 1.1



รูปที่ ค-1 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

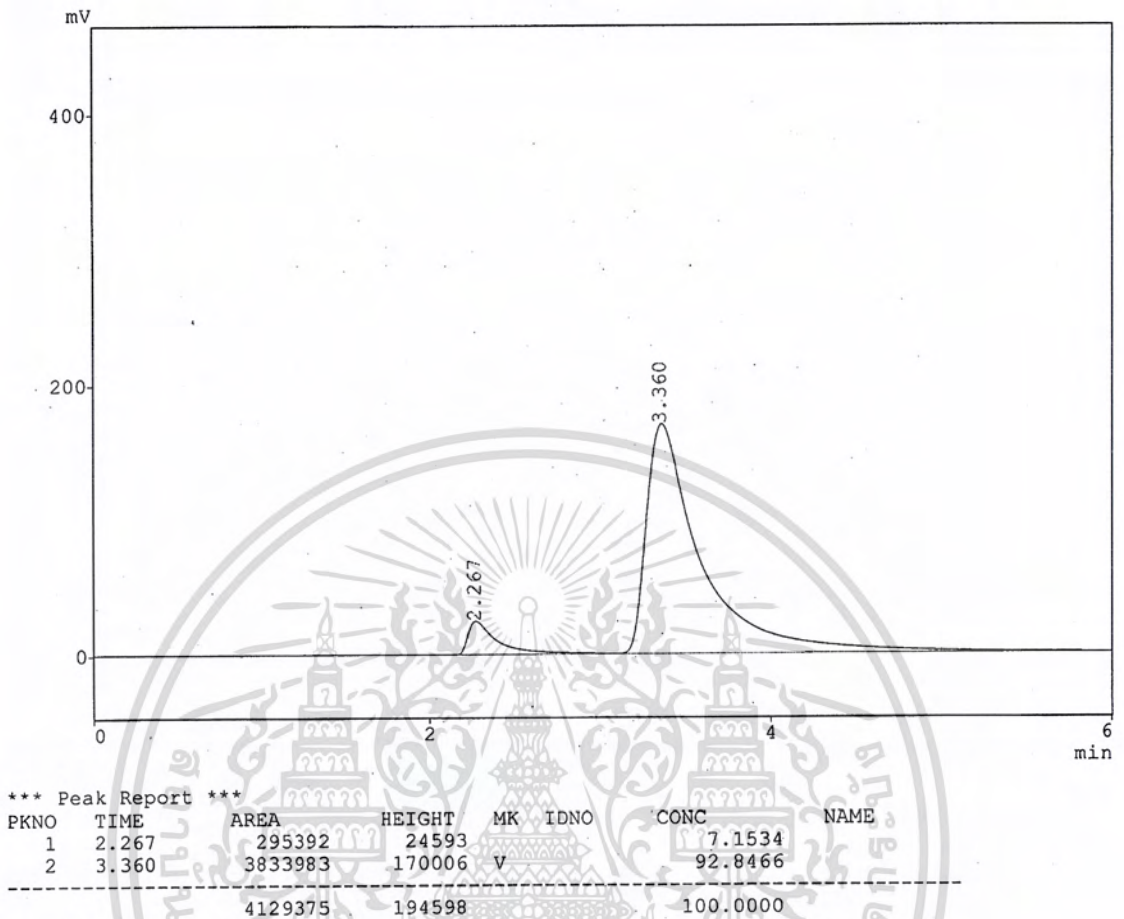
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.081 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.73 \% \text{ (ปริมาตรต่อปริมาตร)} \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.73(0.789)(10) \\ &= 13.65 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SHF 1.2



รูปที่ ก-2 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

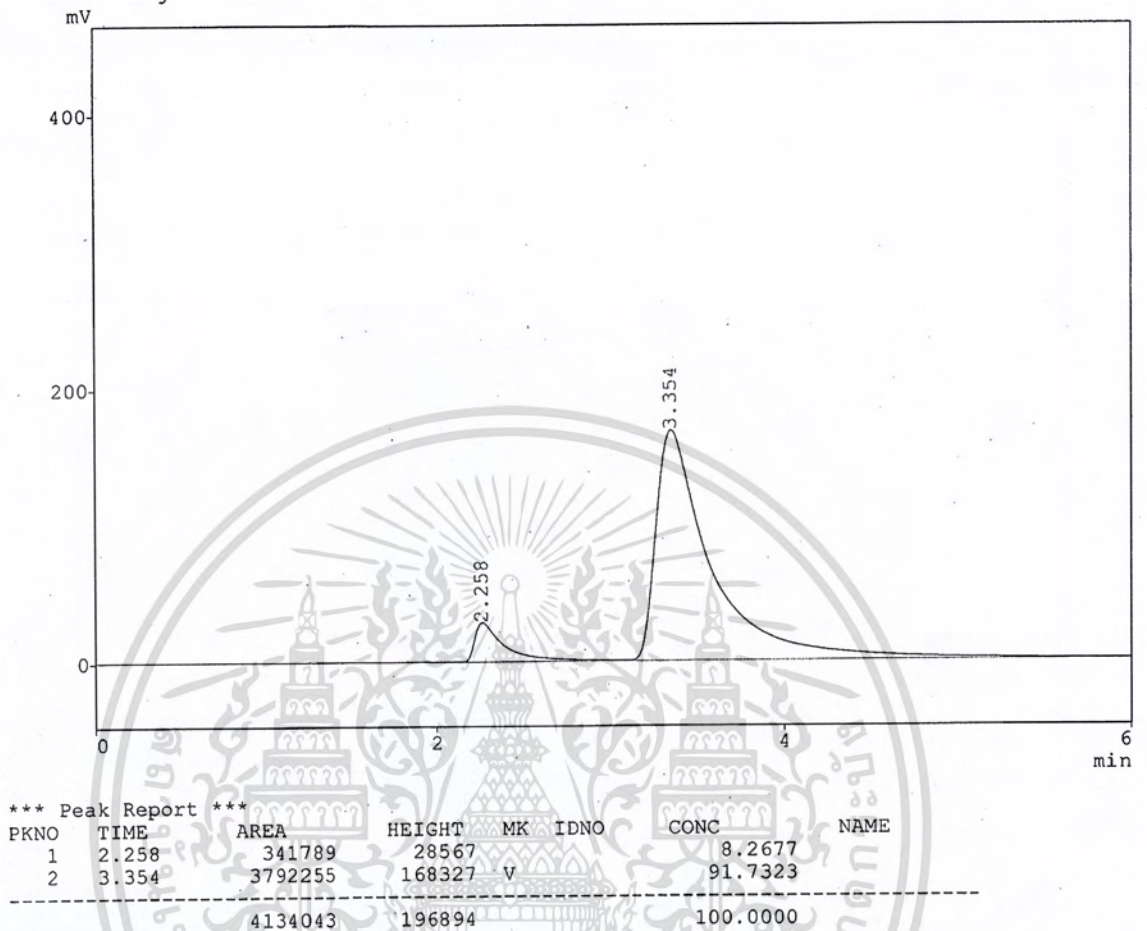
จากสมการ $Y = 0.1129x - 0.1139$
 $0.077 = 0.1129x - 0.1139$
 $X = 1.690 \%$ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $1.690(0.789)(10)$
 = 13.33 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SHF 2.1



รูปที่ ค-3 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

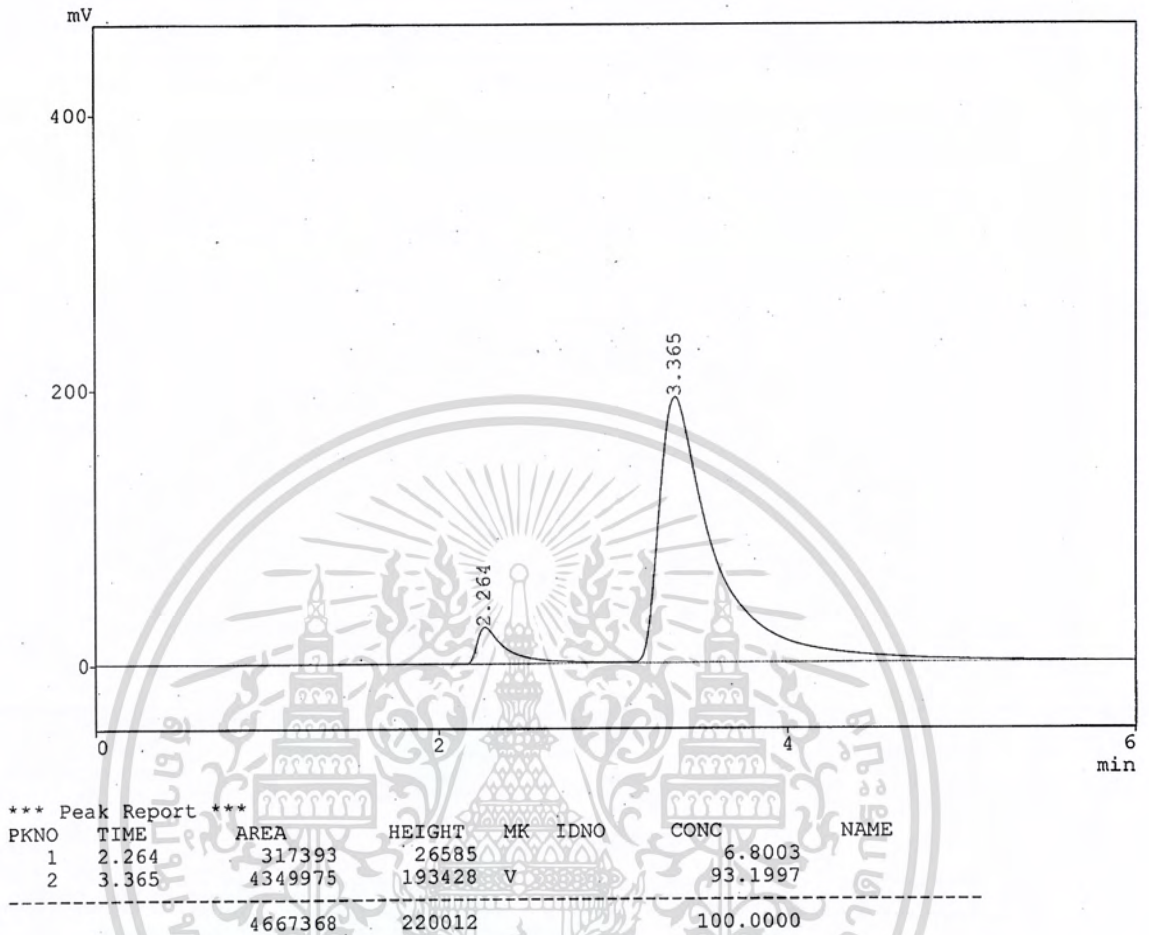
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.09 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.80 \% (\text{ปริมาตรต่อปริมาตร}) \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.80(0.789)(10) \\ &= 14.20 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SHF 2.2



รูปที่ ก-4 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

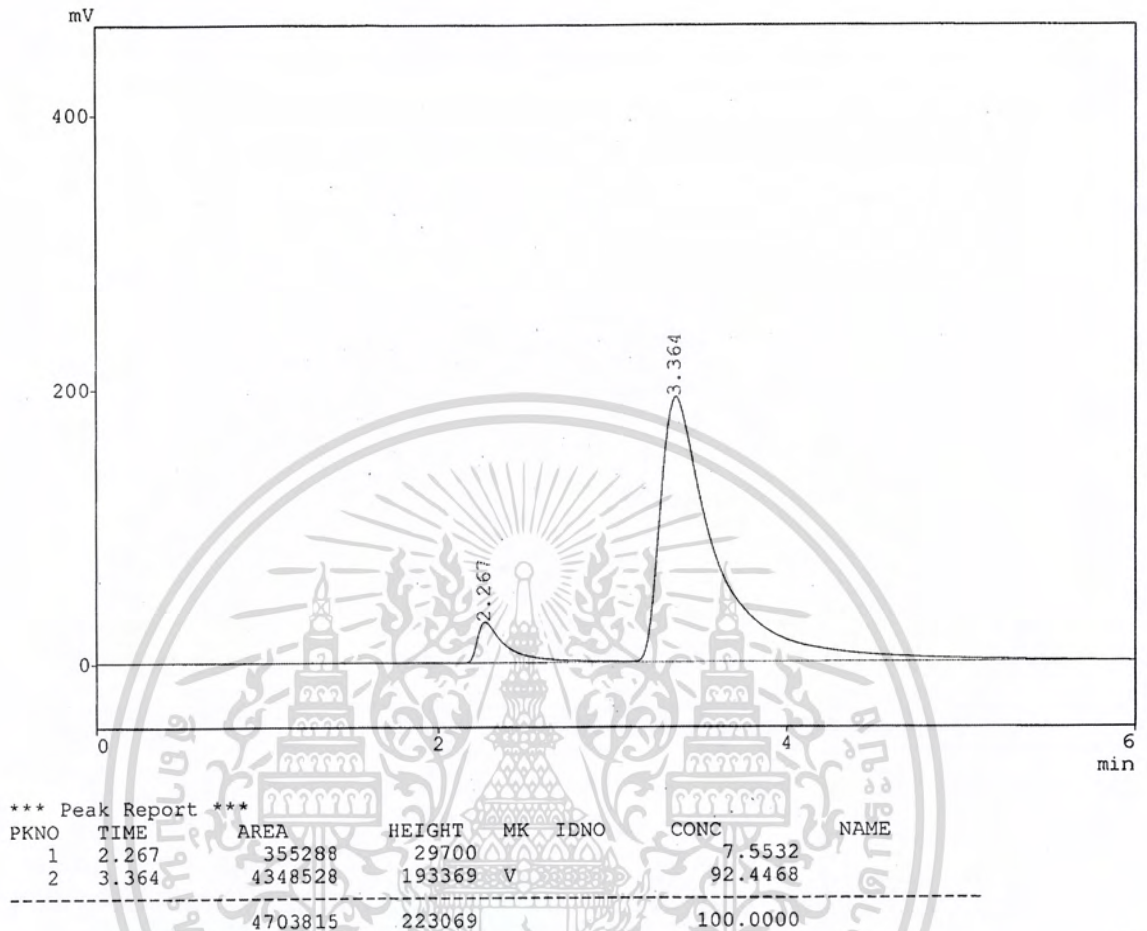
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.07 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.66 \% \text{ (ปริมาตรต่อปริมาตร)} \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.66(0.789)(10) \\ &= 13.10 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SHF 3.1



รูปที่ ก-5 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

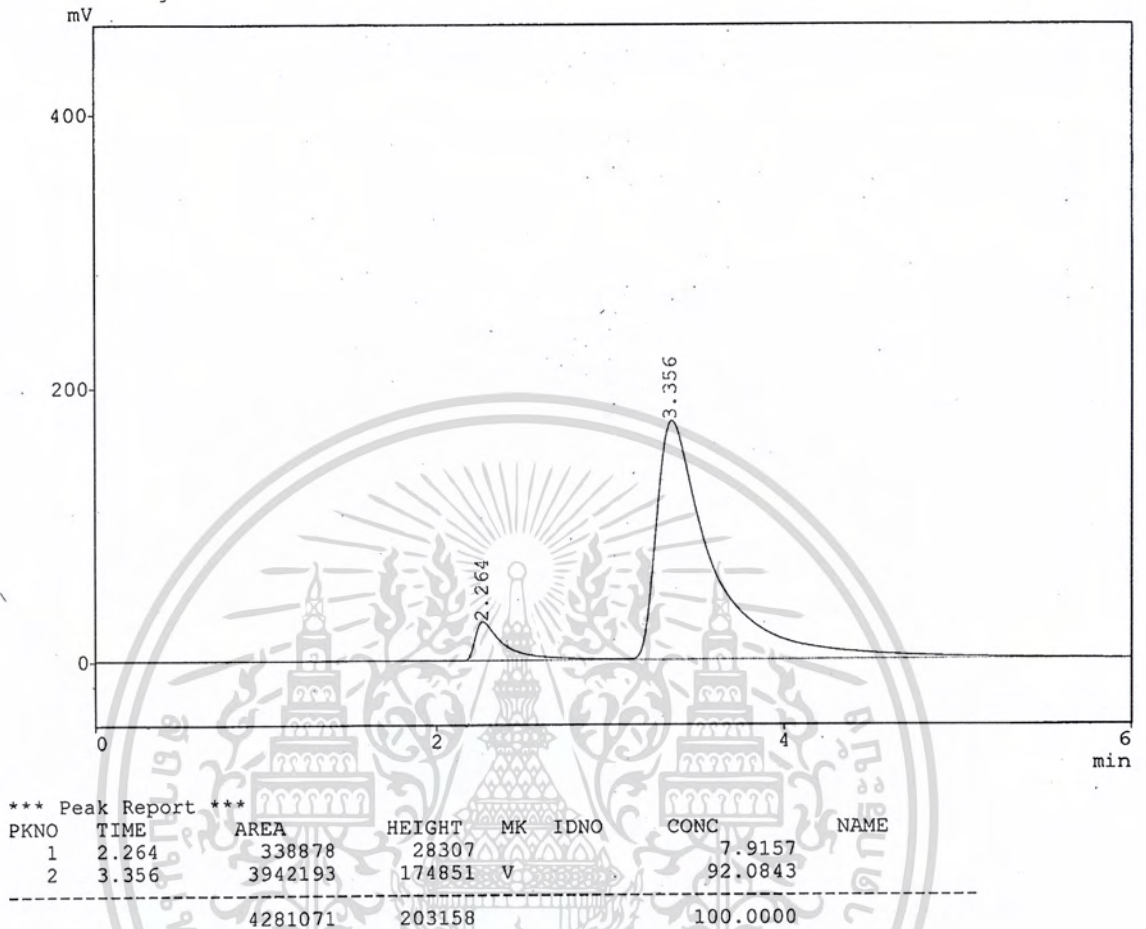
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.081 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.73 \% \text{ (ปริมาตรต่อปริมาตร)} \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.73(0.789)(10) \\ &= 13.65 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SHF 3.2



รูปที่ ค-6 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหนักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SHF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

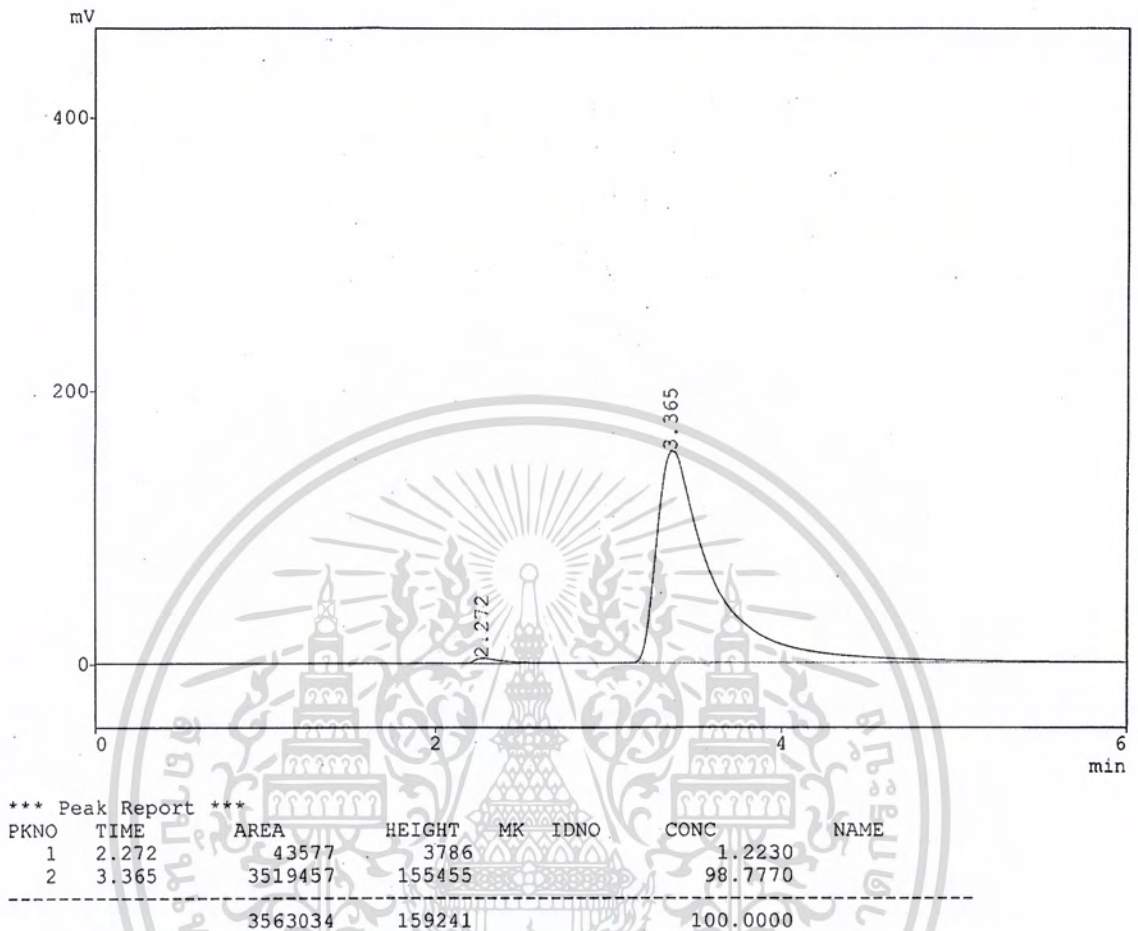
จากสมการ $Y = 0.1129x - 0.1139$
 $0.086 = 0.1129x - 0.1139$
 $X = 1.77\%$ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $1.77(0.789)(10)$
 = 13.97 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 1.1



รูปที่ ก-7 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

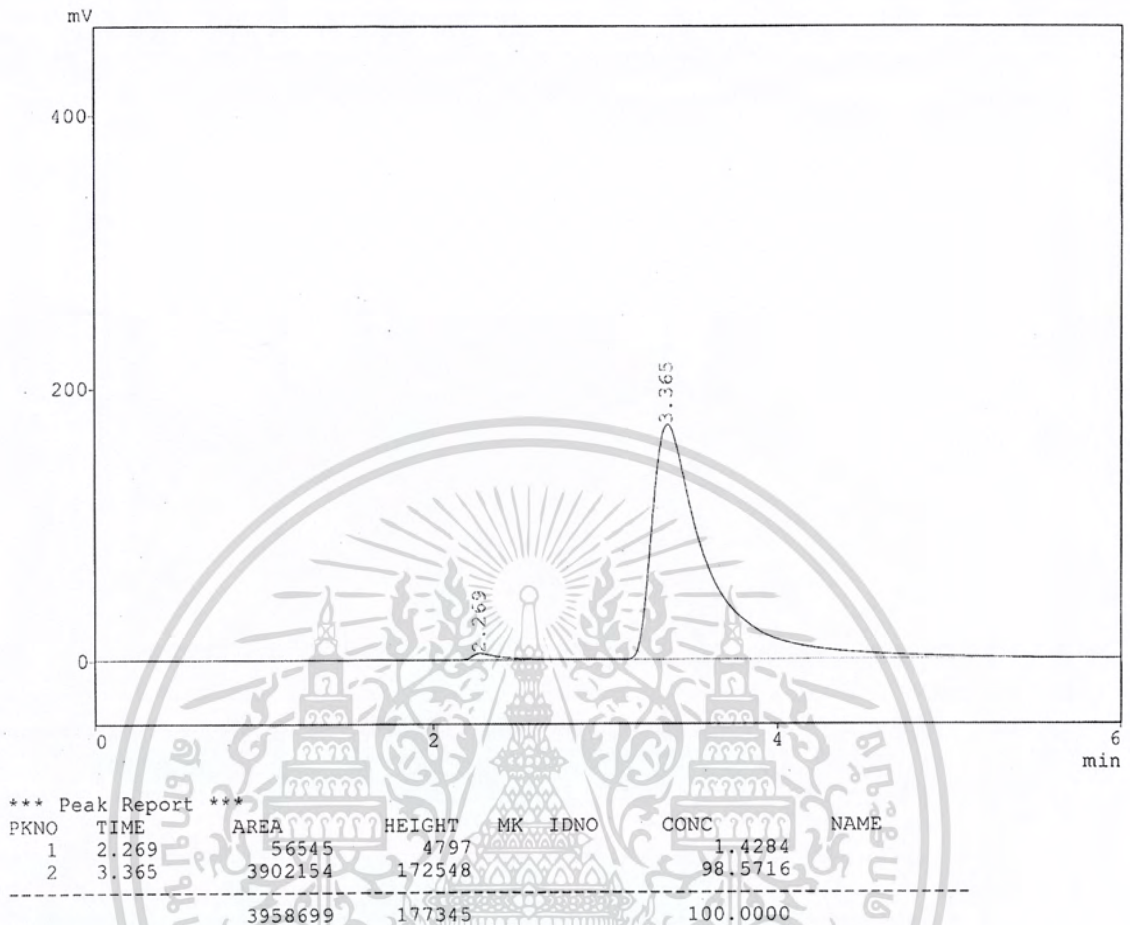
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.012 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.12 \% (\text{ปริมาตรต่อปริมาตร}) \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.12(0.789)(10) \\ &= 8.84 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 1.2



รูปที่ ค-8 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

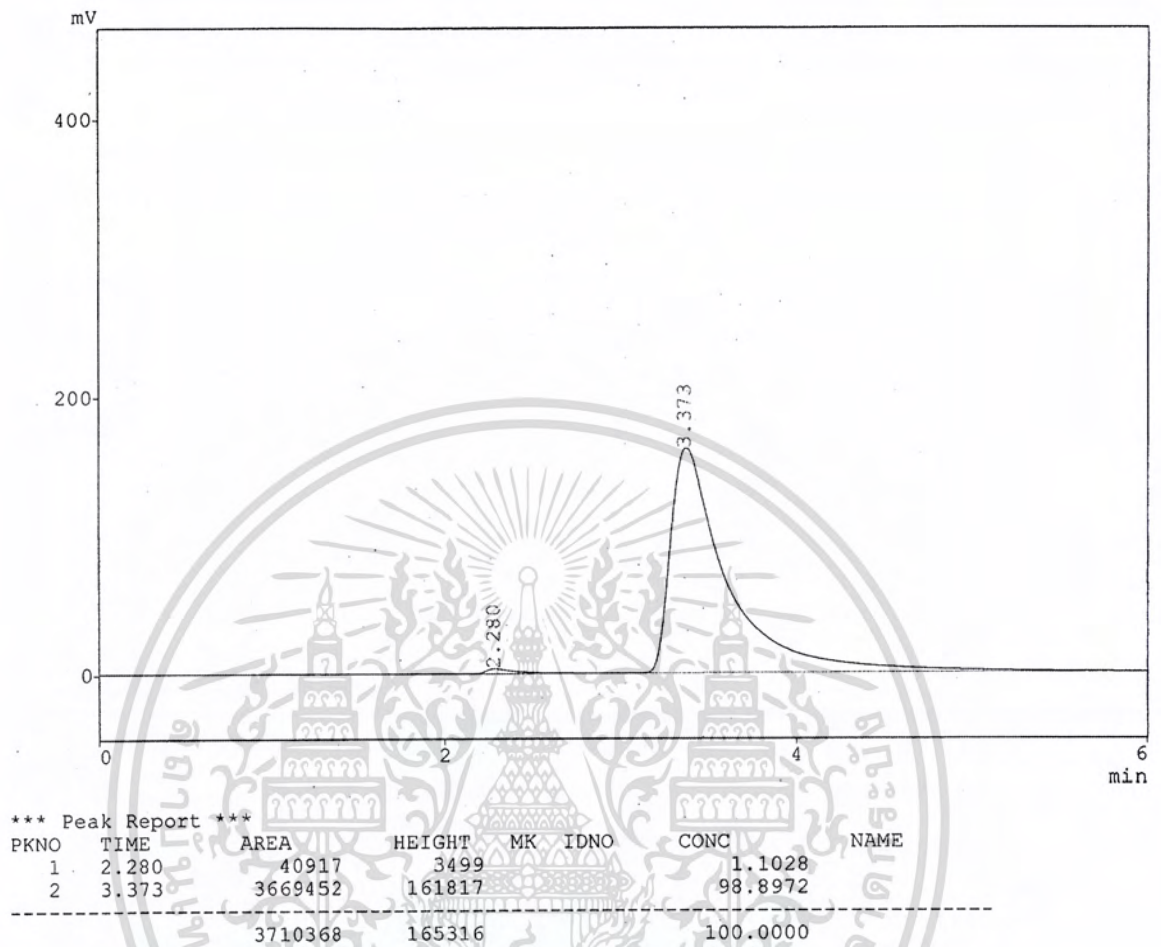
จากสมการ $Y = 0.1129x - 0.1139$
 $0.0145 = 0.1129x - 0.1139$
 $X = 1.137\%$ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $1.137(0.789)(10)$
 = 8.97 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 2.1



รูปที่ ก-9 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบSSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

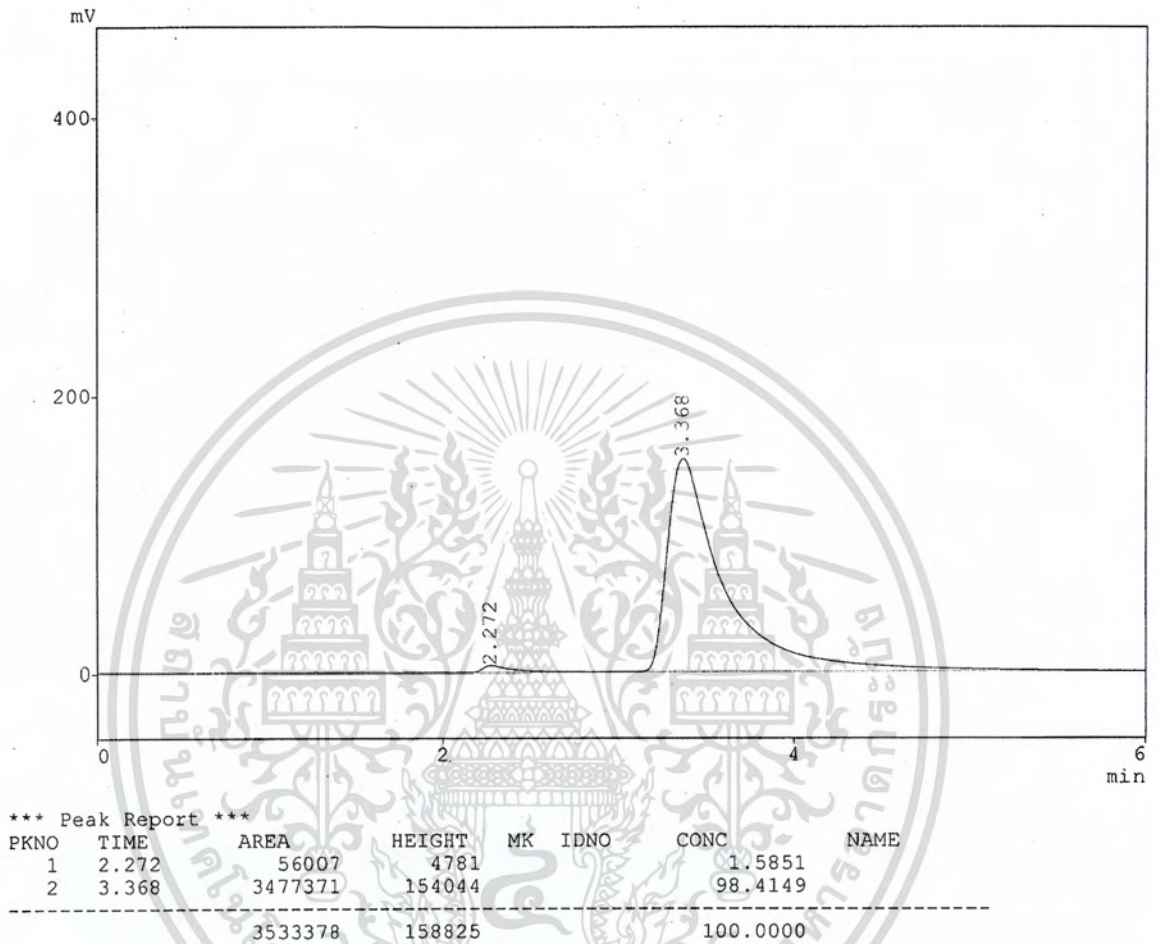
จากสมการ $Y = 0.1129x - 0.1139$
 $0.012 = 0.1129x - 0.1139$
 $X = 1.11\%$ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $1.11(0.789)(10)$
 = 8.76 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 2.2



รูปที่ ค-10 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

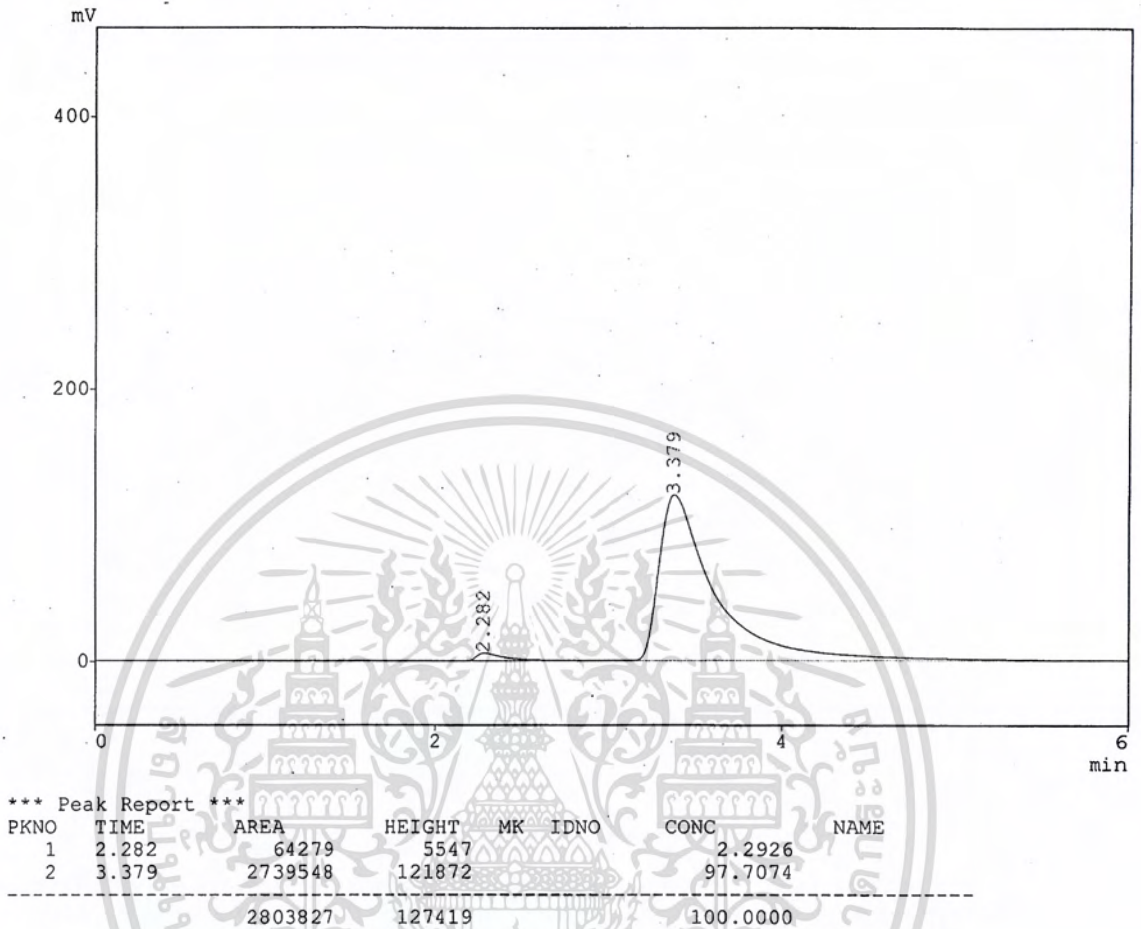
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.016 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.15 \% \text{ (ปริมาตรต่อปริมาตร)} \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.15(0.789)(10) \\ &= 9.07 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 3.1



รูปที่ ค-11 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

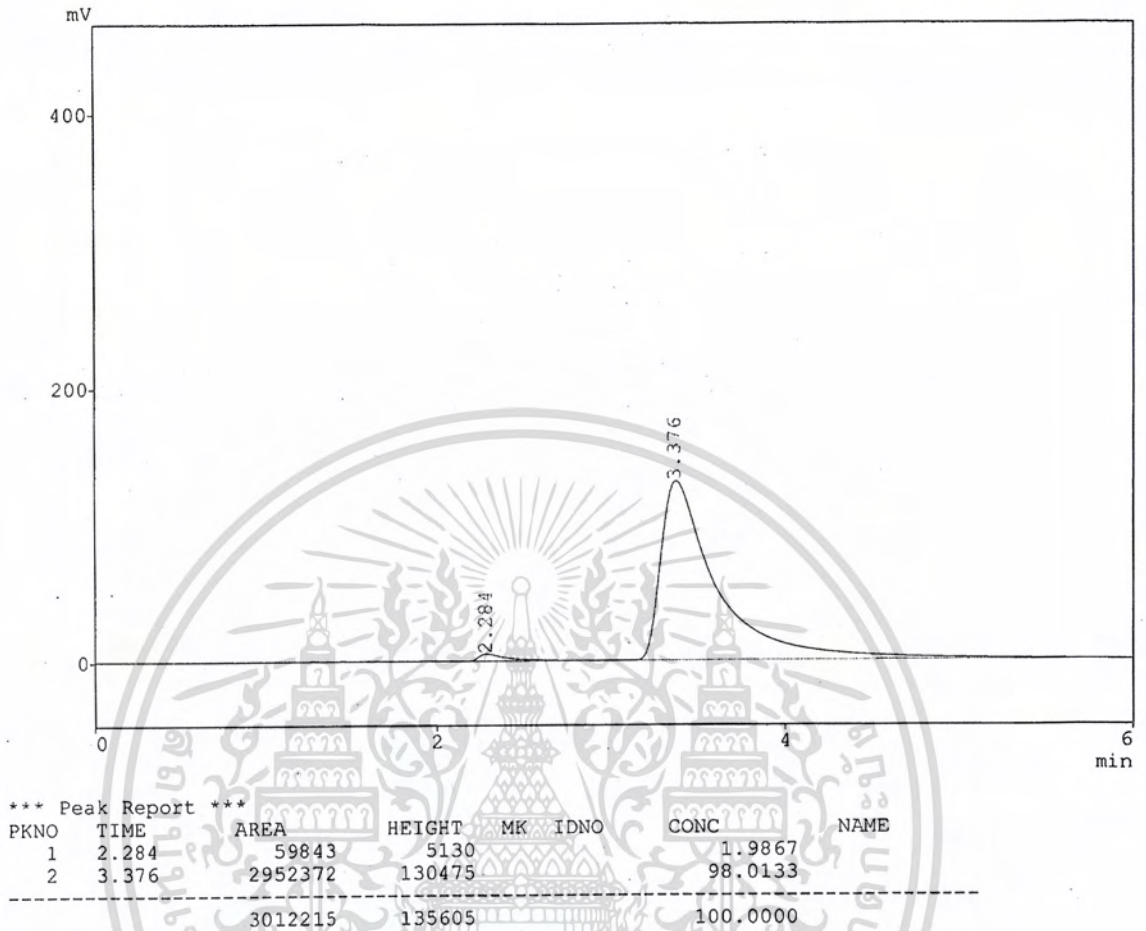
$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad Y &= 0.1129x - 0.1139 \\ 0.024 &= 0.1129x - 0.1139 \\ X &= 1.22 \% \text{ (ปริมาตรต่อปริมาตร)} \end{aligned}$$

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} &= 1.22(0.789)(10) \\ &= 9.63 \text{ กรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ SSF 3.2



รูปที่ ค-12 แสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์น้ำหมักจากการทดลองชุดที่ 1 โดยการหมักแบบ SSF โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และ *Saccharomyces cerevisiae*

จากสมการ $Y = 0.1129x - 0.1139$
 $0.02 = 0.1129x - 0.1139$
 $X = 1.19\%$ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = $1.19(0.789)(10)$
 = 9.39 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลดิบของการทดลอง

ตารางที่ ง-1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล รีดิคซ์ของเชื้อราแต่ละชนิดที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของเชื้อรา	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
<i>A.rouxii</i> MNT 037	0.71	0.59	0.69
<i>A.oryzae</i> MNT 029	0.43	0.42	0.32
<i>R.oryzae</i> MNT 006	0.56	0.60	0.59

ตารางที่ ง-2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิคซ์ (กรัม/ลิตร) ของเชื้อราแต่ละชนิดที่เลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชนิดของเชื้อรา	ปริมาณน้ำตาลรีดิคซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
<i>A.rouxii</i> MNT 037	28.76	23.68	27.52	26.79
<i>A.oryzae</i> MNT 029	8.66	8.54	6.44	7.88
<i>R.oryzae</i> MNT 006	1.12	1.21	1.18	1.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ริคิวซ์ ของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 0 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.44	0.40	0.34
ร้อยละ 4	0.51	0.60	0.59
ร้อยละ 6	0.30	0.37	0.34
ร้อยละ 8	0.44	0.44	0.56
ร้อยละ 10	0.44	0.54	0.32

ตารางที่ ง-4 แสดงปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 0 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	1.00	1.11	1.05	1.05
ร้อยละ 4	1.47	1.47	1.49	1.47
ร้อยละ 6	2.67	2.67	2.43	2.59
ร้อยละ 8	4.28	4.61	4.25	4.18
ร้อยละ 10	4.12	4.30	4.04	4.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ริคิวซ์ ของเชื้อ

A.rouxii MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.49	0.23	0.99
ร้อยละ 4	0.57	0.62	0.49
ร้อยละ 6	0.52	1.46	0.79
ร้อยละ 8	0.37	0.44	0.34
ร้อยละ 10	0.32	0.32	0.34

ตารางที่ ง-6 แสดงปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	4.96	2.34	9.93	5.74
ร้อยละ 4	5.76	6.20	4.96	5.64
ร้อยละ 6	5.27	14.67	7.92	9.28
ร้อยละ 8	7.40	8.96	6.98	7.78
ร้อยละ 10	6.50	6.56	6.86	6.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.55	0.59	0.54
ร้อยละ 4	0.66	0.55	0.72
ร้อยละ 6	0.25	0.45	0.93
ร้อยละ 8	0.57	0.58	0.66
ร้อยละ 10	0.65	0.86	0.60

ตารางที่ ง-8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	11.14	11.86	10.82	11.27
ร้อยละ 4	26.56	22.28	28.88	25.90
ร้อยละ 6	20.16	36.4	74.88	43.81
ร้อยละ 8	46.16	47.04	53.12	48.77
ร้อยละ 10	52.48	69.36	48.48	56.77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.31	0.28	0.35
ร้อยละ 4	0.43	0.30	0.33
ร้อยละ 6	0.35	0.32	0.79
ร้อยละ 8	0.38	0.36	0.37
ร้อยละ 10	0.59	0.63	0.55

ตารางที่ ง-10 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	6.32	5.66	7.18	6.38
ร้อยละ 4	17.24	12.28	13.40	14.30
ร้อยละ 6	28.08	25.92	63.52	29.76
ร้อยละ 8	30.40	29.28	29.60	39.17
ร้อยละ 10	47.36	50.56	44.48	47.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ริคิวซ์ ของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.38	1.00	0.33
ร้อยละ 4	0.67	0.50	0.37
ร้อยละ 6	0.30	0.30	0.48
ร้อยละ 8	0.52	0.44	0.34
ร้อยละ 10	0.52	0.61	0.53

ตารางที่ ง-12 แสดงปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	3.05	8.06	2.64	4.58
ร้อยละ 4	13.58	10.04	7.50	10.37
ร้อยละ 6	24.00	24.00	38.96	28.98
ร้อยละ 8	41.84	35.52	27.60	34.98
ร้อยละ 10	42.32	48.80	43.42	44.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ริคิวซ์ ของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
ร้อยละ 2	0.47	0.34	0.35
ร้อยละ 4	0.50	0.50	0.50
ร้อยละ 6	0.31	0.33	0.32
ร้อยละ 8	0.30	0.32	0.31
ร้อยละ 10	0.63	0.84	0.67

ตารางที่ ง-14 แสดงปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของเชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ที่ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

ร้อยละของแป้ง มันเทศ	ปริมาณน้ำตาลริคิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
ร้อยละ 2	1.91	1.38	1.40	1.56
ร้อยละ 4	5.08	5.03	5.07	5.06
ร้อยละ 6	24.96	26.48	26.00	25.30
ร้อยละ 8	24.72	26.00	25.20	25.81
ร้อยละ 10	50.88	67.36	53.60	57.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-15 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของ
กระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
24	0.71	0.70	0.67
48	0.38	0.37	0.32
72	0.31	0.32	0.32

ตารางที่ ง-16 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24
48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
24	1.42	1.47	1.34	1.41
48	0.77	0.70	0.72	0.73
72	0.62	0.65	0.60	0.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-17 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของ
กระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
24	0.20	0.24	0.23
48	0.20	0.27	0.21
72	0.23	0.32	0.24

ตารางที่ ง-18 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการผลิตเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24
48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
24	0.27	0.45	0.46	0.45
48	0.44	0.41	0.41	0.42
72	0.44	0.41	0.39	0.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-19 แสดงสัดส่วนพื้นที่ของเอทานอลต่อโพรพานอลที่ได้โดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สัดส่วนเอทานอลต่อโพรพานอล	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
24	286061/3503412	295392/3833983
48	341789/3792255	317393/4349975
72	355288/4348528	338878/3942193

ตารางที่ ง-20 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
24	13.65	13.33	13.49
48	14.20	13.10	13.65
72	13.65	13.97	13.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-21 แสดงสัดส่วนพื้นที่ของเอทานอลต่อโพรพานอลที่ได้โดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	สัดส่วนเอทานอลต่อโพรพานอล	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2
24	64279/2739548	59843/2952372
48	40917/3669452	56007/3477371
72	43577/3519457	56545/3902154

ตารางที่ ง-22 แสดงปริมาณเอทานอลที่ได้จากการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
24	8.84	8.99	8.91
48	8.76	9.07	8.91
72	9.63	9.39	9.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-23 แสดงอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SHF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
24	0.56	0.55	0.55
48	0.59	0.54	0.56
72	0.56	0.58	0.57

ตารางที่ ง-24 แสดงอัตราการผลิตเอทานอลที่ได้โดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักเอทานอลแบบ SSF ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
24	0.36	0.37	0.36
48	0.36	0.37	0.36
72	0.40	0.39	0.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0 for Windows Evaluation version โดยมีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ จ-1 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด

A. rouxii MNT 037, *A. oryzae* MNT 029, *R. oryzae* MNT 029 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล ระยะเวลา 3 วัน

sugar		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
						Lower Bound	Upper Bound			
A. rouxii		3	26.7867	2.72304	1.57215	20.0223	33.5511	23.68	28.76	
A. oryzae		3	7.8800	1.24852	.72083	4.7785	10.9815	6.44	8.66	
R. oryzae		3	1.1733	.04888	.02822	1.0519	1.2948	1.12	1.22	
Total		9	11.9467	11.59977	3.86659	3.0303	20.8630	1.12	28.76	
Model				1.72975	.57658	10.5358	13.3575			
Fixed Effects										175.41670
Random Effects					7.66842	-21.0479	44.9412			

Test of Homogeneity of Variances

sugar			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.076	2	6	.020

ANOVA

sugar					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1058.484	2	529.242	176.883	.000
Within Groups	17.952	6	2.992		
Total	1076.437	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

Isolate	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
R. oryzae	3	1.1733		
A. oryzae	3		7.8800	
A. rouxii	3			26.7867
Sig.		1.000	1.000	1.000

ตารางที่ จ-2 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 0 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	1.0533	.05508	.03180	.9165	1.1901	1.00	1.11	
4%	3	1.4767	.01155	.00667	1.4480	1.5054	1.47	1.49	
6%	3	2.5900	.13856	.08000	2.2458	2.9342	2.43	2.67	
8%	3	4.1800	.14799	.08544	3.8124	4.5476	4.01	4.28	
10%	3	4.2200	.15620	.09018	3.8320	4.6080	4.04	4.32	
Total	15	2.7040	1.37061	.35389	1.9450	3.4630	1.00	4.32	
Model	Fixed Effects		.11719	.03026	2.6366	2.7714			
	Random Effects			.66034	.8706	4.5374			2.17564

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.525	4	10	.024

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.163	4	6.541	476.261	.000
Within Groups	.137	10	.014		
Total	26.300	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2%	3	1.0533			
4%	3		1.4767		
6%	3			2.5900	
8%	3				4.1800
10%	3				4.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	.685

ตารางที่ จ-3 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	5.7433	3.85516	2.22578	-3.8334	15.3201	2.34	9.93	
4%	3	5.6400	.62865	.36295	4.0783	7.2017	4.96	6.20	
6%	3	9.2867	4.84673	2.79826	-2.7533	21.3266	5.27	14.67	
8%	3	7.7800	1.04326	.60233	5.1884	10.3716	6.98	8.96	
10%	3	6.6400	.19287	.11136	6.1609	7.1191	6.50	6.86	
Total	15	7.0180	2.77856	.71690	5.4804	8.5556	2.34	14.67	
Model			2.82396	.72914	5.3934	8.6426			
Fixed Effects									
Random Effects				.72914 ^a	4.9936 ^a	9.0424 ^a			-30975

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.684	4	10	.022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.182	4	7.046	.883	.508
Within Groups	79.748	10	7.975		
Total	107.930	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
4%	3	5.6400	
2%	3	5.7433	
10%	3	6.6400	
8%	3	7.7800	
6%	3	9.2867	
Sig.		.176	

ตารางที่ ๑-4 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT

037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	11.2733	.53267	.30754	9.9501	12.5965	10.82	11.86	
4%	3	25.9067	3.34815	1.93306	17.5894	34.2239	22.28	28.88	
6%	3	43.8133	28.10316	16.22537	-25.9988	113.6255	20.16	74.88	
8%	3	48.7733	3.78995	2.18813	39.3586	58.1881	46.16	53.12	
10%	3	56.7733	11.08233	6.39839	29.2433	84.3034	48.48	69.36	
Total	15	37.3080	20.62995	5.32663	25.8835	48.7325	10.82	74.88	
Model									
Fixed Effects			13.70010	3.53735	29.4263	45.1897			
Random Effects				8.24763	14.4089	60.2071			277.55244

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.065	4	10	.010

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4081.400	4	1020.350	5.436	.014
Within Groups	1876.927	10	187.693		
Total	5958.327	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2%	3	11.2733		
4%	3	25.9067	25.9067	
6%	3		43.8133	43.8133
8%	3		48.7733	48.7733
10%	3			56.7733
Sig.		.220	.079	.295

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-5 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	6.3867	.76219	.44005	4.4933	8.2801	5.66	7.18	
4%	3	14.3067	2.60133	1.50188	7.8446	20.7687	12.28	17.24	
6%	3	39.1733	21.11247	12.18929	-13.2730	91.6196	25.92	63.52	
8%	3	29.7600	.57689	.33307	28.3269	31.1931	29.28	30.40	
10%	3	47.4667	3.04140	1.75595	39.9114	55.0219	44.48	50.56	
Total	15	27.4187	17.73792	4.57991	17.5957	37.2416	5.66	63.52	
Model			9.61943	2.48373	21.8846	32.9528			
Fixed Effects									
Random Effects				7.61527	6.2753	48.5620			259.11699

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.485	4	10	.001

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3479.538	4	869.884	9.401	.002
Within Groups	925.335	10	92.533		
Total	4404.872	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2%	3	6.3867		
4%	3	14.3067	14.3067	
8%	3		29.7600	29.7600
6%	3			39.1733
10%	3			47.4667
Sig.		.337	.077	.056

ตารางที่ จ-6 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	4.5833	3.01785	1.74236	-2.9134	12.0801	2.64	8.06	
4%	3	10.3733	3.05368	1.76304	-2.7876	17.9591	7.50	13.58	
6%	3	28.9867	8.63716	4.98667	7.5308	50.4426	24.00	38.96	
8%	3	34.9867	7.13497	4.11937	17.2624	52.7109	27.60	41.84	
10%	3	44.7467	3.53301	2.03978	35.9702	53.5231	42.32	48.80	
Total	15	24.7353	16.30251	4.20929	15.7073	33.7634	2.64	48.80	
Model									
Fixed Effects			5.59326	1.44417	21.5175	27.9532			
Random Effects				7.53654	3.8106	45.6601			273.56864

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.090	4	10	.157

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3407.962	4	851.990	27.234	.000
Within Groups	312.846	10	31.285		
Total	3720.807	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2%	3	4.5833		
4%	3	10.3733		
6%	3		28.9867	
8%	3		34.9867	34.9867
10%	3			44.7467
Sig.		.234	.218	.058

ตารางที่ จ-7 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ที่ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
2%	3	1.5633	.30039	.17343	.8171	2.3095	1.38	1.91	
4%	3	5.0600	.02646	.01528	4.9943	5.1257	5.03	5.08	
6%	3	25.8133	.77700	.44860	23.8832	27.7435	24.96	26.48	
8%	3	25.3067	.64663	.37333	23.7003	26.9130	24.72	26.00	
10%	3	57.2800	8.83484	5.10080	35.3330	79.2270	50.88	67.36	
Total	15	23.0047	20.81812	5.37522	11.4760	34.5334	1.38	67.36	
Model									
Fixed Effects			3.97913	1.02741	20.7155	25.2939			
Random Effects				9.92403	-4.5489	50.5582			487.15422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
11.717	4	10	.001

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5909.184	4	1477.296	93.302	.000
Within Groups	158.334	10	15.833		
Total	6067.519	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

starch	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2%	3	1.5633		
4%	3	5.0600		
8%	3		25.3067	
6%	3		25.8133	
10%	3			57.2800
Sig.		.307	.879	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-8 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	3	1.4100	.06557	.03786	1.2471	1.5729	1.34	1.47	
48	3	.7300	.03606	.02082	.6404	.8196	.70	.77	
72	3	.6233	.02517	.01453	.5608	.6858	.60	.65	
Total	9	.9211	.37167	.12389	.6354	1.2068	.60	1.47	
Model			.04558	.01519	.8839	.9583			
Fixed Effects									
Random Effects				.24638	-1.390	1.9812			.18141

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.382	2	6	.321

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.093	2	.546	262.930	.000
Within Groups	.012	6	.002		
Total	1.105	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
72	3	.6233		
48	3		.7300	
24	3			1.4100
Sig.		1.000	1.000	1.000

ตารางที่ จ-9 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	3	.4583	.01258	.00726	.4271	.4896	.45	.47	
48	3	.4200	.01732	.01000	.3770	.4630	.41	.44	
72	3	.4133	.02517	.01453	.3508	.4758	.39	.44	
Total	9	.4306	.02674	.00891	.4100	.4511	.39	.47	
Model			.01908	.00636	.4150	.4461			
Fixed Effects				.01402	.3702	.4909			.00047
Random Effects									

Test of Homogeneity of Variances

sugar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.765	2	6	.506

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	2	.002	4.863	.056
Within Groups	.002	6	.000		
Total	.006	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

sugar

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
72	3	.4133	
48	3	.4200	
24	3		.4583
Sig.		.684	1.000

ตารางที่ ๑-10 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	2	13.4900	.22627	.16000	11.4570	15.5230	13.33	13.65	
48	2	13.6500	.77782	.55000	6.6616	20.6384	13.10	14.20	
72	2	13.8100	.22627	.16000	11.7770	15.8430	13.65	13.97	
Total	6	13.6500	.40244	.16430	13.2277	14.0723	13.10	14.20	
Model			.48559	.19824	13.0191	14.2809			
Fixed Effects									
Random Effects				.19824 ^a	12.7970 ^a	14.5030 ^a			-.09230

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

ethanol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	2	.	.

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.102	2	.051	.217	.816
Within Groups	.707	3	.236		
Total	.810	5			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ethanol

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
24	2	13.4900
48	2	13.6500
72	2	13.8100
Sig.		.554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-11 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการผลิตเอทานอลจาก
กระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK
017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	2	8.9150	.10607	.07500	7.9620	9.8680	8.84	8.99	
48	2	8.9150	.21920	.15500	6.9455	10.8845	8.76	9.07	
72	2	9.5100	.16971	.12000	7.9853	11.0347	9.39	9.63	
Total	6	9.1133	.33470	.13664	8.7621	9.4646	8.76	9.63	
Model									
Fixed Effects			.17137	.06996	8.8907	9.3360			
Random Effects				.19833	8.2600	9.9667			.10333

Test of Homogeneity of Variances

ethanol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	2		

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.472	2	.236	8.037	.062
Within Groups	.088	3	.029		
Total	.560	5			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ethanol

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	2	8.9150	
48	2	8.9150	
72	2		9.5100
Sig.		1.000	1.000

ตารางที่ จ-12 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการผลิตเอทานอล จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SHF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

rate	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	2	.5550	.00707	.00500	.4915	.6185	.55	.56	
48	2	.5650	.03536	.02500	.2473	.8827	.54	.59	
72	2	.5700	.01414	.01000	.4429	.6971	.56	.58	
Total	6	.5633	.01862	.00760	.5438	.5829	.54	.59	
Model			.02236	.00913	.5343	.5924			
Fixed Effects				.00913 ^a	.5241 ^a	.6026 ^a			
Random Effects									-.00019

Test of Homogeneity of Variances

rate

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2	.	.

ANOVA

rate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	.233	.805
Within Groups	.001	3	.000		
Total	.002	5			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

rate

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
24	2	.5550
48	2	.5650
72	2	.5700
Sig.		.547

ตารางที่ จ-13 วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการผลิตเอทานอลจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ในกระบวนการหมักแบบ SSF เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง

Descriptives

rate

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
24	2	.3650	.00707	.00500	.3015	.4285	.36	.37	
48	2	.3650	.00707	.00500	.3015	.4285	.36	.37	
72	2	.3950	.00707	.00500	.3315	.4585	.39	.40	
Total	6	.3750	.01643	.00671	.3578	.3922	.36	.40	
Model			.00707	.00289	.3658	.3842			.00028
Fixed Effects									
Random Effects				.01000	.3320	.4180			

Test of Homogeneity of Variances

rate

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	2	.	.

ANOVA

rate

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	2	.001	12.000	.037
Within Groups	.000	3	.000		
Total	.001	5			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

rate

Duncan^a

time	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	2	.3650	
48	2	.3650	
72	2		.3950
Sig.		1.000	1.000



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้