

การผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii*
TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อ
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

BIOETHANOL PRODUCTION FROM CASSAVA STARCH
BY *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 AND *Aspergillus oryzae* F-1
IN COMBINATION WITH *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ปีการศึกษา 2561

BIOETHANOL PRODUCTION FROM CASSAVA STARCH
BY *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 AND *Aspergillus oryzae* F-1
IN COMBINATION WITH *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2018
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ การผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

Bioethanol Production from Cassava Starch by *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and *Aspergillus oryzae* F-1 in Combination with *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ชื่อนักศึกษา นางสาวประวีณา นวลยงค์ รหัสนักศึกษา 58050924
นางสาวมณีผกา จีศิริ รหัสนักศึกษา 58050953
นางสาวสุชาดา ทรัพย์เมือง รหัสนักศึกษา 58050996

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. วรภัทร์ สงวนไขยผ่องศ์ ประธานกรรมการสอบ	
ผศ.ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการ	
รศ. ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ การผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ชื่อนักศึกษา นางสาวประวีณา นวลยงค์ รหัสนักศึกษา 58050924
 นางสาวมณีนฎกา จีศรี รหัสนักศึกษา 58050953
 นางสาวสุชาดา ทรัพย์เมือง รหัสนักศึกษา 58050996

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) เปรียบเทียบกับกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) โดยใช้เชื้อราที่มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์สำหรับย่อยสลายแป้งทำงานร่วมกับยีสต์ในการหมักเอทานอล โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 2 *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 3 *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่าการหมักด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF) ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) โดยชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 29.26 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2 และ 3 และเมื่อนำชุดการทดลองที่ 1

มาหมักเอทานอลโดยใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าแบบ SHF พบว่าปริมาณเอทานอลสูงสุดของเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ไม่วากรณ์ใดๆ ทงสน อักทงหามมเหตดแบลงเนอหาและตยงอ้างองลงเจ้าของเอกสารทุกคร้งทมการนำไปใช้

เท่ากับ 17.46 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ซึ่งต่ำกว่าการใช้เซลล์ยีสต์อิสระในการหมักเอทานอล (ปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 29.82 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96) ดังนั้นจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการผลิตเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF โดยเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในรูปเซลล์อิสระจะให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้เซลล์ตรึงรูปของยีสต์

คำสำคัญ : *Amylomyces rouxii*, *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF), กระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) และเซลล์ตรึงรูป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Bioethanol Production from Cassava Starch by <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182 and <i>Aspergillus oryzae</i> F-1 in Combination with <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088		
Students	Miss. Praveena	Nuanyong	Student ID 58050924
	Miss. Maneepaka	Jeekeeree	Student ID 58050953
	Miss. Suchada	Supmuang	Student ID 58050996
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Industrial Microbiology		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2018		
Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul		

Abstract

The objective of this research was to investigate the production of bioethanol from cassava powder by separate hydrolysis and fermentation (SHF) and simultaneous saccharification and fermentation (SSF). Three sets of experiment were conducted for each SHF and SSF process: the first set used *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 with *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088; the second set used *Aspergillus oryzae* F-1 with *S. cerevisiae* TISTR 5088; and the third set used *A. rouxii* TISTR 3182 and *A. oryzae* F-1 with *S. cerevisiae* TISTR 5088. Samples were collected and analyzed of their ethanol content, pH, and the amount of reducing sugar every 24 hours. The results revealed that SHF yielded a higher ethanol content and ethanol productivity than SSF for the first experimental set. In addition, *A. rouxii* TISTR 3182 with *S. cerevisiae* TISTR 5088 produced the maximum content of ethanol at 96 hours (29.26 ± 0.00 g/L). These content and productivity values were higher than those produced by the fungi and yeast in the second and third set. After the SHF process was determined to be a better process, a new one was performed but with the cells of *S. cerevisiae* TISTR 5088

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอน โดยผู้จัดทำสงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

immobilized. This time, the maximum ethanol content was 17.46 ± 4.50 g/L at 120 hours, which were lower than those provided by free yeast cells (The maximum ethanol content of 29.82 ± 0.05 g/L). Therefore, the major finding from this research is that ethanol production from cassava powder with an SHF process and free cells of *A. rouxii* TISTR 3182 and *S. cerevisiae* TISTR 5088 was the most productive.

Keywords : *Amylomyces rouxii* , *Aspergillus oryzae* , *Saccharomyces cerevisiae* , Separate hydrolysis and fermentation (SHF), Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) and Immobilized cell



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษจัดขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โครงการพิเศษนี้ประสบความสำเร็จได้เนื่องด้วยได้รับความอนุเคราะห์จากระบบอาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษนี้ได้เสียสละเวลาให้ความรู้ คำแนะนำตลอดการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และ ผศ.ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ ที่เสียสละมาเป็นประธานกรรมการและกรรมการสอบรวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับโครงการพิเศษนี้

ขอขอบคุณนางสาวชिरินญาณ์ จันทโชติ และนางสาวนวพร รุ่งโรจน์มงคล ที่เสียสละเวลาให้ความรู้เกี่ยวกับการใช้เครื่องมือวิเคราะห์เอทานอลและคำแนะนำในการดำเนินงาน ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนด้านงบประมาณและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ ซึ่งข้าพเจ้าเชื่อมั่นว่าโครงการพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในอนาคต ข้าพเจ้าจึงขออุทิศรายงานเล่มนี้ให้เป็นแหล่งอ้างอิงความรู้เกี่ยวกับการผลิตไบโอเอทานอล

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้การสนับสนุนอีกทั้งเป็นกำลังใจสำคัญในการจัดทำโครงการพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ หากโครงการพิเศษฉบับนี้ มีความผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวประวีณา	นวลยงค์
นางสาวมณีนก	จีศรี
นางสาวสุชาดา	ทรัพย์เมือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	34
3.1 เชื้อจุลินทรีย์.....	34
3.2 วัตถุประสงค์.....	34
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	34
3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ.....	35
3.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	36
3.5.1 การเตรียมผงมันสำปะหลัง.....	36
3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น.....	36
3.5.3 การเตรียมอาหารหมัก.....	37
3.5.4 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182, <i>Aspergillus oryzae</i> F-1 และเชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการแบบย่อยแยกจากการหมัก (SHF).....	37
3.5.5 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา <i>A. rouxii</i> TISTR 3182, <i>A. oryzae</i> F-1 และเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF).....	38
3.5.6 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 เปรียบเทียบกับเซลล์อิสระด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF).....	38
3.5.6.1 การเตรียมเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088.....	39
3.5.7 ขั้นตอนการวิเคราะห์.....	39
3.5.8 การวิเคราะห์สถิติ.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	42
4.1 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182, <i>Aspergillus oryzae</i> F-1 และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation หรือ SHF).....	42
4.2 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182, <i>Aspergillus oryzae</i> F-1 และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharrification and Fermentation หรือ SSF).....	48
4.3 เปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182, <i>Aspergillus oryzae</i> F-1 และ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 โดยกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF.....	53
4.4 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>Amylomyces rouxii</i> TISTR 3182 และเซลล์ตรึงรูปของ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	55
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	61
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	61
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	62
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก ก.....	72
ภาคผนวก ข.....	74
ภาคผนวก ค.....	79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)..... 43

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF) 44

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)..... 46

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)..... 47

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)..... 48

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) 50

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) 51

ตารางที่ 4.8 ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF).. 53

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF 54

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.10	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	56
ตารางที่ 4.11	ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	57
ตารางที่ 4.12	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เกิดขึ้นได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	58
ตารางที่ 4.13	ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้จากกระบวนการหมักผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอทานอล	4
รูปที่ 2.2	กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง	9
รูปที่ 2.3	กระบวนการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล.....	10
รูปที่ 2.4	ลักษณะใบ ลำต้น และหัวของมันสำปะหลัง	12
รูปที่ 2.5	กระบวนการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยกระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (SHF)	14
รูปที่ 2.6	ความแตกต่างของกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นด้วยกระบวนการหมักแบบย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (SHF) กับกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)..	15
รูปที่ 2.7	โครงสร้างภายในเซลล์ของ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ TEM.....	18
รูปที่ 2.8	ลักษณะการแตกหน่อของเซลล์ยีสต์.....	20
รูปที่ 2.9	ลักษณะของเซลล์ยีสต์ <i>S. cerevisiae</i>	22
รูปที่ 2.10	การสังเคราะห์เอทานอล	24
รูปที่ 2.11	วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ.....	27
รูปที่ 2.12	ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 บนอาหาร PDA.....	28
รูปที่ 2.13	ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>A. oryzae</i> F-1 บนอาหาร PDA และรูปร่างของเชื้อรา.....	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

ในปัจจุบันการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงเป็นสิ่งจำเป็นมากในการดำเนินชีวิตโดยเฉพาะการนำไปเป็นเชื้อเพลิงในยานพาหนะ ประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยกำลังประสบปัญหาาราคาเชื้อเพลิงปิโตรเลียมที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเหตุผลเนื่องจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียมมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้น จึงได้มีการพยายามหาแหล่งพลังงานทดแทนชนิดอื่นมาทดแทนเชื้อเพลิงปิโตรเลียม

เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนที่สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งซึ่งเกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อย เมื่อทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% โดยการกลั่น เอทานอลสามารถผลิตจากทรัพยากรธรรมชาติที่สร้างขึ้นมามาทดแทนใหม่ได้หลายชนิด วิสตุทางการเกษตรที่สามารถนำมาผลิตเอทานอลได้มี 3 กลุ่มหลักๆ ได้แก่ กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่มีน้ำตาล เช่น อ้อย ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น กลุ่มที่ 2 กลุ่มวัสดุลิกโนเซลลูโลส เช่น ชานอ้อย ฟางข้าว ชังข้าวโพด เป็นต้น และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีแป้ง เช่น ข้าวโพด มันฝรั่ง มันเทศ ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี และมันสำปะหลัง เป็นต้น (วรลักษณ์, 2556)

มันสำปะหลัง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* (L.) Crantz ซึ่งมีความสำคัญด้านอาหารและเป็นพืชที่นำมาผลิตไบโอเอทานอลได้ ปลูกในเขตร้อนชื้น ใช้แหล่งคาร์บอนและพลังงานที่สะสมในแป้ง มีเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสชนิดทนต่อความร้อนซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ในมันสำปะหลังมีแป้ง ประมาณร้อยละ 50-70 ของน้ำหนักแห้ง ในปัจจุบันมีการนำเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มาใช้ในการผลิตเอทานอลกันอย่างแพร่หลาย (Shuvashish et al., 2015) และในงานวิจัยนี้ได้มีการนำเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมาก 2 ชนิดมาใช้ในการผลิตเอทานอลร่วมกับเชื้อ *S. cerevisiae* โดยเชื้อราทำหน้าที่ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลเพื่อให้เชื้อยีสต์สามารถใช้น้ำตาลและเปลี่ยนเป็นเอทานอลได้

ลูกแป้งข้าวหมากเป็นวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตข้าวหมากซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของคนไทย

ชนิดหนึ่งทำมาจากข้าวเหนียวหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งเป็นการผสมกันของเชื้อ 3 ชนิด คือพวก

เอกสสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรียแลคติก โดยการย่อยข้าวด้วยเอนไซม์ของเชื้อราในลูกแป้งจะมีการเปลี่ยนไมวากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นยีสต์ในลูกแป้งจะทำการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากพบเพียงไม่กี่สกุลเท่านั้น ราที่พบส่วนใหญ่คือ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae* ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อยแป้ง เปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล (Savitree *et al.*, 2005)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบจำพวกแป้งอย่างแพร่หลาย โดยใช้เชื้อยีสต์ในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ แต่เนื่องจากเชื้อยีสต์ที่นิยมใช้ในการหมักไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งได้ จึงนำเอาเอนไซม์อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส มาใช้ในการย่อยแป้งก่อน แต่อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์จะทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูงขึ้น (Montesinos *et al.*, 2000; Bandaru *et al.*, 2006; Jamai *et al.*, 2007; Ebrahimi *et al.*, 2008) จึงนำเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ในการย่อยแป้งได้มาหมักร่วมกับเชื้อยีสต์เพื่อผลิตเป็นแอลกอฮอล์ มีงานวิจัยของ Thalisa Yuwa-Amornpitak ที่ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยการหมักร่วมกันระหว่างเชื้อรา *Rhizopus sp.* ที่ได้แยกได้จากลูกแป้ง (tan-koji) กับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้กระบวนการหมักแบบ SSF สามารถผลิตเอทานอลได้ 14.36 กรัมต่อลิตร (Thalisa, 2010) และงานวิจัยของ Lee *et al.* (2011) ได้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้การตรึงเซลล์ร่วมกันของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* และเชื้อราที่ย่อยแป้งได้สองชนิดคือ *Aspergillus oryzae* และ *Monascus purpureus* ซึ่งการตรึงเซลล์จะเพิ่มประสิทธิภาพของยีสต์ให้สามารถทนต่อแรงดันออสโมซิสได้เพิ่มขึ้น ทำให้สามารถผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Lee *et al.*, 2011)

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากที่มีกิจกรรมในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง (นวพร, 2561) ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *A. oryzae* F-1 หมักร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) และกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation, SHF) และใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มาใช้ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลัง รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Ethanol productivity) ของกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 ศึกษาความสามารถในการย่อยไขมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ซึ่งแยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากที่มีกิจกรรมในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง

1.2.2 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไขมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 หมักร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยเปรียบเทียบกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) กับกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation, SHF)

1.2.3 ศึกษาการใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งสำปะหลังเปรียบเทียบกับการใช้เซลล์อิสระ โดยใช้กระบวนการหมักที่ให้ปริมาณเอทานอลสูง

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาความสามารถในการย่อยไขมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งมีกิจกรรมในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง และศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไขมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และเชื้อรา *A. oryzae* F-1 หมักร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยเปรียบเทียบกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) กับกระบวนการหมักแบบย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และศึกษาการตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในการผลิตไบโอเอทานอลจากกระบวนการหมักที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงเปรียบเทียบกับการใช้เซลล์อิสระ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถปรับปรุงกระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากไขมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูงร่วมกับยีสต์ และใช้กระบวนการหมักที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น

1.4.2 เป็นการนำมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอล เป็นการเพิ่มมูลค่า

ของมันสำปะหลังให้สูงขึ้น สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

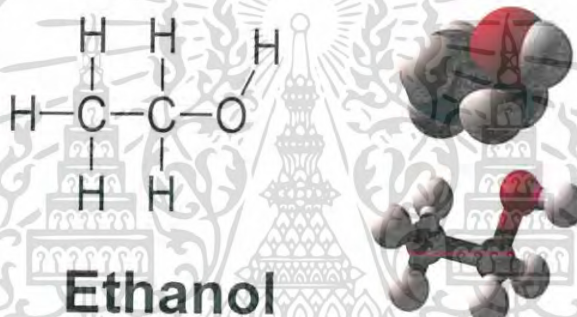
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ที่มาและความสำคัญของเอทานอล

2.1.1 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง มีสูตรเคมี คือ C_2H_5OH น้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 46.07 เป็นของเหลวใส ให้เปลวไฟสีน้ำเงิน ติดไฟง่าย และไม่มีควัน โดยปกติเอทานอลสามารถรวมตัวกับน้ำ อีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์มได้ทุกส่วน (มอก.640, 2553)



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอทานอล

ที่มา : <https://socity.co/life/eat/why-does-alcohol-make-my-throat-burn/>; สืบค้นเมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2562

เอทานอล เกิดจากการหมักพืชเพื่อเปลี่ยนแป้งจากพืชเป็นน้ำตาลแล้วเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ เมื่อทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% โดยการกลั่นจะเรียกว่า เอทานอล (Ethanol) เอทานอลที่นำไปผสมในน้ำมันเพื่อใช้เติมเครื่องยนต์เป็น แอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์ตั้งแต่ 99.5% โดยปริมาตร ซึ่งสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2554)

2.1.2 ประโยชน์จากเอทานอล

สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่ม แอลกอฮอล์ ใช้ใน

อุตสาหกรรมยา ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม เช่น สี แล็กเกอร์ ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า สารเคมีและชีวเคมี ผลิตเป็นอาหาร เช่น น้ำส้มสายชู เจลาติน ใช้ทางการแพทย์ เช่น ใช้เช็ดไมวากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผล ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ใช้เป็นตัวรีเอเจนต์ในห้องปฏิบัติการ ใช้เป็นสารเติมแต่งเพิ่มค่าออกเทน เป็นต้น (วรลักษณ์, 2556)

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอล

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอลแบ่งออกเป็น 3 ประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้ คือ

2.2.1 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Sugar) ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล บีตรูต หัวผักกาดหวาน และข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น วัตถุดิบประเภทน้ำตาลยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน โดยวัตถุดิบเหล่านี้จะมีน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นองค์ประกอบหลัก

2.2.2 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง (Starch) ได้แก่ ธัญพืช ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง มันเทศ เป็นต้น แป้งจะเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส โดยวัตถุดิบประเภทแป้งต้องผ่านกระบวนการย่อยเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสก่อนนำเข้าสู่กระบวนการหมักซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอลได้ในที่สุด

2.2.3 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ซึ่งวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจะเป็นผลผลิตพลอยได้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาษ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิดคือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ลิกนิน (lignin) และสารประกอบอื่นๆ เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ต่อกันเป็นสายยาวและอยู่ในรูปผลึก มีลักษณะเป็น เส้นใย เหนียวและไม่ละลายน้ำ เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (pentose) หลายชนิด เช่น ไซโลส (xylose) แมนโนส (mannose) และอะราบินอส (arabinose) เป็นต้น ไม่ละลายน้ำและเสถียรน้อยกว่าเซลลูโลสมาก ลิกนินเป็นพอลิเมอร์ของ Phenylpropane ทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการย่อย ลิกนินออกก่อน เพื่อให้สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลกลูโคสก่อน นำเข้าสู่กระบวนการหมักได้ง่ายขึ้น

ส่วนใหญ่โรงงานอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลโดยการหมักมักใช้วัตถุดิบที่มีความหวาน เช่น กากน้ำตาลมากกว่าวัตถุดิบอย่างอื่น ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้ยีสต์จะสามารถนำไปใช้ได้โดยตรงทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการหมักได้ อย่างไรก็ตาม การหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสนั้นมีความท้าทายอย่างมาก เนื่องจากกระบวนการหมักที่ซับซ้อนและต้นทุนที่สูง การหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีต้นทุนที่สูงมาก การหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีต้นทุนที่สูงมาก การหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีต้นทุนที่สูงมาก

ต้นทุนการเตรียมวัตถุดิบ วัตถุดิบบางชนิดที่มีราคาถูกมากๆ ได้แก่ Sulfite spent liquor และเวย์ (whey) ซึ่งมีน้ำตาลในปริมาณต่ำกว่าการใช้วัตถุดิบชนิดอื่น โดย Sulfite spent liquor มีน้ำตาลเพนโทส 20-30 กรัมต่อลิตร และเวย์ (whey) มีน้ำตาลแลคโทส 38-50 กรัมต่อลิตร เป็นต้น

2.3 กระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

กระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นเป็นกระบวนการกำจัดสารประกอบจำพวกลิกนินที่ห่อหุ้มเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสออกไป เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้จะทำให้มีผลต่อขั้นตอนกระบวนการย่อยสลาย ซึ่งถ้าไม่ทำการกำจัดลิกนินออกก็จะทำให้การย่อยสลายนั้นทำได้ยาก หรืออาจทำให้เกิดสารอนุพันธ์ที่อาจมีผลต่อกระบวนการผลิต วิธีการปรับสภาพเบื้องต้นสามารถแบ่งออกเป็น 4 วิธี (ประเวทย์ และคณะ, 2551)

2.3.1 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (physical pretreatment) เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบ และทำให้เส้นใยเซลลูโลสแตกออกเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น เช่น การบดและการใช้ความร้อน เป็นต้น

2.3.2 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี (chemical pretreatment) จะใช้สารละลายกรดเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส เพราะเฮมิเซลลูโลสสามารถย่อยสลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลสหรือใช้สารละลายเบสเพื่อเพิ่มปริมาณการละลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน

2.3.3 การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีฟิสิกส์ (physico-chemical pretreatment) เป็นการใช้วิธีทางกายภาพรวมกับการใช้สารเคมี เช่น การใช้สารละลายเบสเจือจางและความร้อนภายใต้ความดันสูงในการปรับสภาพ ประสิทธิภาพการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายเบสและความร้อนที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่เมื่อใช้ความร้อนภายใต้สภาวะความดันสูงเพียงอย่างเดียว พบว่าอัตราการย่อยสลายสลายลดลงเมื่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากการแตกตัวของน้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสารประเภทเฟอร์ฟูรัลฟอร์มัลดีไฮด์ หรือ กรดฟอร์มิก เป็นต้น ซึ่งเป็นตัวขัดขวางขั้นตอนการย่อยสลาย

ชนิดของสารละลายเบสเจือจางที่นิยมใช้กัน เช่น โซเดียมซัลไฟด์ เป็นสารเคมีที่นิยมใช้น้อยที่สุดแต่เป็นสารที่กำจัดลิกนินได้ดีที่สุดโดยโซเดียมซัลไฟด์ที่จะมีความจำเพาะเจาะจงกับลิกนินเท่านั้น

โดยจะไม่มีผลต่อเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส เหตุผลที่นิยมใช้โซเดียมซัลไฟด์ค่อนข้างน้อย เนื่องจากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า กลิ่นของแก๊สไข่เน่าที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายลิกนิน โซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นสารเคมีที่นิยมใช้ไม่มากนักแต่ๆ พังสน อีกทั้งห้ามมีเหตุดแปงลงเอยหาและต้ององอาจองลงเงาของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากที่สุดสามารถกำจัดลิกนินได้ดีเนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสแก่ ซึ่งในบางครั้ง โซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่ได้กำจัดลิกนินออกไปเพียงอย่างเดียวแต่อาจทำลายเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสบางส่วนออกไปด้วย ดังนั้นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์จึงจำเป็นต้องใช้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมกับพืชชนิดนั้นๆ ผลผลิตที่ได้จึงจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นสารเคมีที่นิยมใช้ไม่น้อยไปกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่เนื่องจากแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสอ่อนจึงต้องใช้เวลาในการกำจัดลิกนินนานกว่าเล็กน้อย แต่ปัญหาที่พบจากการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ คือ การกำจัดลิกนินออกไม่หมดและอาจมีกลิ่นของแก๊สแอมโมเนียที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายลิกนิน

2.3.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ (biological pretreatment) เป็นการใช้อินไซม์เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลส ให้อยู่ในรูปโซ่ตรงและช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส ซึ่งวิธีการนี้เหมาะสำหรับขั้นตอนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2.4 กระบวนการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตแอลกอฮอล์สามารถผลิตจากกระบวนการทางธรรมชาติ โดยการหมักและกลั่นและการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมี โดยการสังเคราะห์จากเอทิลีน

2.4.1 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจากธรรมชาติโดยกระบวนการหมัก

2.4.1.1 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง (Conventional Process)

วัตถุดิบประเภทแป้งนิยมใช้มันสำปะหลัง วัตถุดิบที่นำมาใช้ต้องผ่านการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์เพื่อให้แป้งกลายเป็นน้ำตาล ปรับความเข้มข้น ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสม เพื่อเตรียมเข้าสู่กระบวนการหมัก การผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้น้ำมันสำปะหลังที่จะใช้เป็นวัตถุดิบต้องผ่าน 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมวัตถุดิบ (Preparation of Feedstock)

นำมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการ การแยกเหง้า การทำความสะอาด การบดให้ละเอียดเป็นแป้ง การผสมน้ำ และนำเข้าสู่กระบวนการย่อยแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น เมื่อผู้ยืมหรือผู้ใช้เอกสารฉบับนี้ประสงค์จะนำเอกสารไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยแบ่งคือการเปลี่ยนแบ่งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส เพื่อให้มีสภาพพร้อมที่จะเข้าสู่การหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ในขั้นต่อไป การย่อยแบ่งแบ่งได้ 2 ลักษณะตามสารที่นำมาใช้อย่าง ได้แก่ การย่อยแบ่งด้วยกรด (Acid Hydrolysis) วิธีนี้ไม่ค่อยได้รับความนิยมเนื่องจากการใช้กรดจะเกิดการกัดกร่อนของเครื่องจักรและอุปกรณ์ในกระบวนการได้ง่าย และการย่อยแบ่งด้วยเอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) วิธีนี้ได้รับความนิยมมากกว่าการย่อยแบ่งด้วยกรดเนื่องจากสะดวก ประหยัดต้นทุน ช่วยรักษาเครื่องมือและเครื่องจักรของกระบวนการผลิต และเป็นการช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมอีกด้วย การย่อยแบ่งด้วยเอนไซม์ประกอบด้วยกร่อย 2 ครั้ง

ขั้นตอนที่ 3 การเตรียมหัวเชื้อและการหมัก (Yeast proliferation and Fermentation)

การเตรียมหัวเชื้อต้องคำนึงถึงชนิดของคาร์โบไฮเดรตหรือวัตถุดิบที่ใช้ เช่น วัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาล หัวไปจะใช้ยีสต์จำพวก *Saccharomyces sp.* ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปไข่ ทรงกลม เช่น *S. cerevisiae*, *S. ellipsoideus* เป็นต้น โดยทั่วไปนิยมใช้ *S. cerevisiae* เนื่องจากสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี และทนต่อความเข้มข้นน้ำตาลที่สูงได้ การหมักจะเริ่มหลังจากที่เตรียมหัวเชื้อเรียบร้อยแล้ว ยีสต์ *S. cerevisiae* ถูกนำมาใช้ในการหมักในถังหมักที่ได้เตรียมไว้ และใช้เครื่องควบคุมการหมัก นอกจากนี้การหมักยังต้องควบคุมอัตราการให้อากาศ อัตราการกวน ค่าความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิ ใช้เวลาหมัก 48-72 ชั่วโมง ที่ pH 4-5 การหมักจะได้แอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 8-12 และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งแอลกอฮอล์ที่ได้เรียกว่าน้ำสำ น้ำสำจะถูกปั๊มเข้าเครื่องกรองที่มีตะแกรงขนาด 70 เมช เพื่อแยกกากส่าออกและส่งผลให้การกลั่นมีประสิทธิภาพสูงสุด

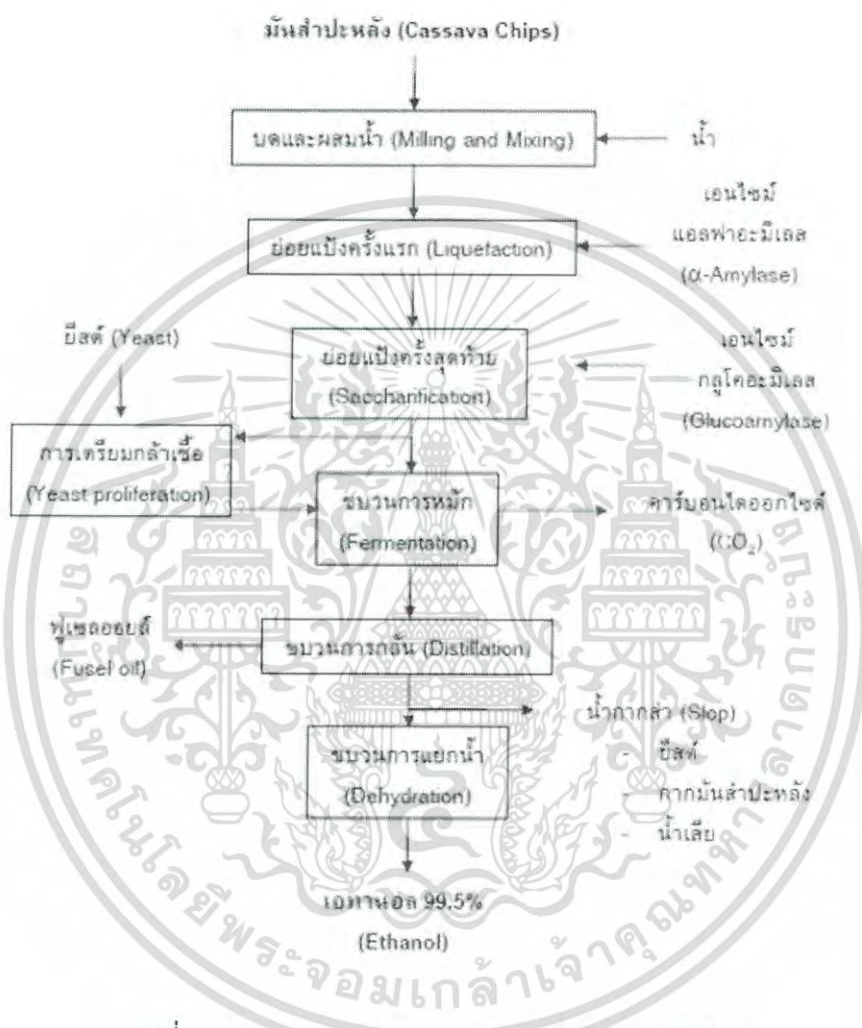
ขั้นตอนที่ 4 การกลั่นแอลกอฮอล์ (Distillation)

เป็นขั้นตอนที่ทำให้แอลกอฮอล์มีความบริสุทธิ์และแยกแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร ออกจากน้ำสำ หากใช้การกลั่นลำดับส่วนจะแยกแอลกอฮอล์ให้บริสุทธิ์ได้ถึงร้อยละ 95.6 โดยปริมาตร แอลกอฮอล์ที่ได้จากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์หรือสงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่ผู้จัดทำหรือนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

กลั่นไปใช้เป็นเชื้อเพลิง (แก๊สโซฮอล์) ต้องทำให้แอลกอฮอล์มีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าใช้

ร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร ซึ่งต้องกลั่นแยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ ตัวอย่างเทคโนโลยีที่ใช้กลั่นแยกน้ำออกจากแอลกอฮอล์ เช่น การดูดซับด้วย Molecular sieve การกลั่นด้วยอะซีโโทรอป เทคโนโลยีแผ่นเยื่อบาง การสกัดและการดูดน้ำโดยตรง



รูปที่ 2.2 กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง

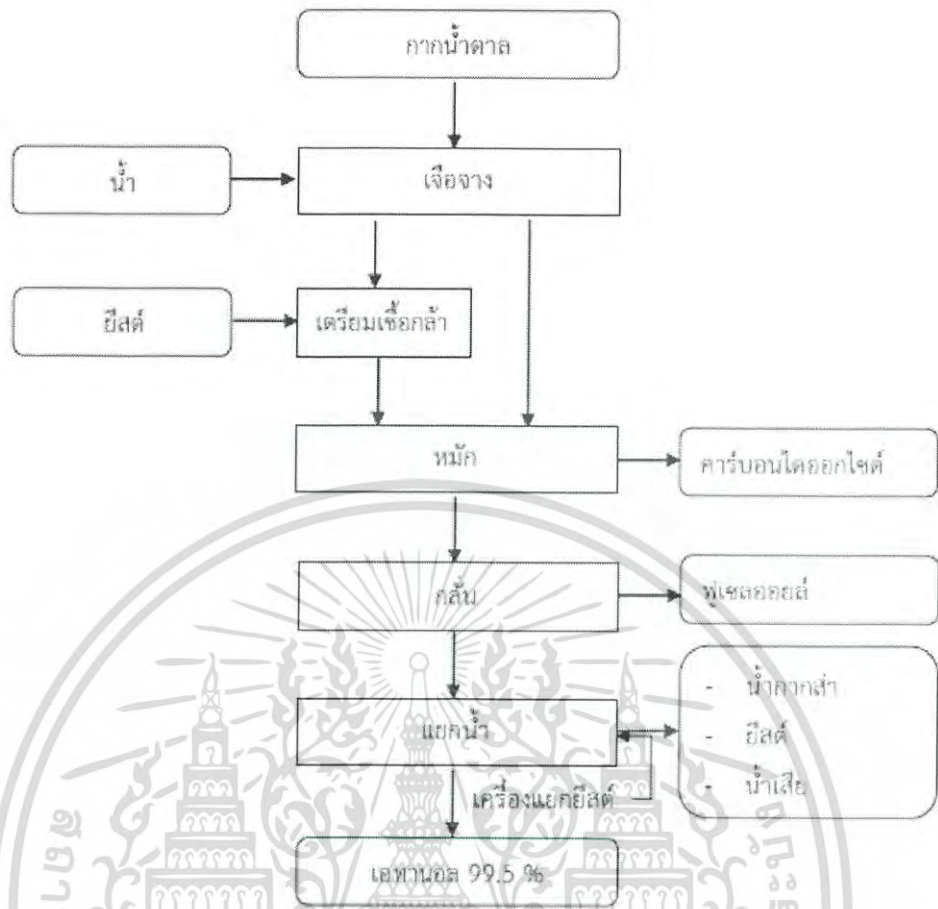
ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549)

2.4.1.2 การผลิตแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Molasses)

คล้ายกับการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง เพียงแต่ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิตเริ่มจากนำกากน้ำตาลมาเจือจางด้วยน้ำร้อนและนำไปหมักทิ้งไว้ 48

ชั่วโมง จึงได้แอลกอฮอล์ แอลกอฮอล์ที่ได้จะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการกลั่นเพื่อให้ได้เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ร้อยละ 95 สุดท้ายจึงนำไปผ่านกระบวนการแยกน้ำเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล

ที่มา : องค์การสุรา กรมสรรพสามิต (2560)

2.4.1.3 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทเส้นใยเซลลูโลส

วัตถุดิบประเภทเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เนื่องจากในกระบวนการหมักใช้เฉพาะเซลลูโลส จึงต้องแยกกลีซินและเฮมิเซลลูโลส ออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบก่อน เพราะองค์ประกอบทั้งสองทำให้กระบวนการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ลดลงและเป็นอุปสรรคต่อการหมักอีกด้วย นอกจากนี้การปรับสภาพยังช่วยให้เซลลูโลสมีลักษณะอ่อนนุ่ม และเป็นการปรับโครงสร้างเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมคือ ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความเป็นรูพรุนของวัตถุดิบส่งผลให้เอนไซม์เข้าถึงและทำปฏิกิริยาได้ดี เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำตาล ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต

หลีกเลี่ยงการเกิดตัวยับยั้งในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสและการหมักโดยกระบวนการปรับสภาพเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ก่อนการหมัก ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบจากธรรมชาติโดยการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมี

เป็นการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีหรือการสังเคราะห์แอลกอฮอล์จากเอทิลีน แอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการนี้เรียกว่า แอลกอฮอล์สังเคราะห์ (Synthetic alcohol) แอลกอฮอล์ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางปิโตรเคมีไม่นิยมนำมาบริโภค เนื่องจากมีการปนเปื้อน สารเคมีบางชนิด เช่น ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ จึงนิยมนำมาใช้สำหรับเป็นตัวทำละลาย สารสกัด Antifreeze และสารตัวกลางในการสังเคราะห์สารเคมีชนิดอื่น (ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย, 2560)

2.5 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* (L.) Crantz ชื่อสามัญ คือ Cassava, Tapioca, Manioc, Yuca หรือ Mandioca และมีชื่อเรียกตามท้องถิ่นของไทย ดังนี้ มันสำปะหลัง มันสำโรง (ภาคกลาง) ต้วน้อย ต้วบ้าน (ภาคเหนือ) มันตัน มันไม้ (ภาคใต้) และมันหัว (พังงา) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง เป็นไม้พุ่มยืนต้น มีอายุอยู่ได้หลายปี ลักษณะลำต้นสูงแตกต่างกันตามพันธุ์และสภาพแวดล้อมที่ปลูกอาจสูงถึง 1-5 เมตร ลักษณะของใบมันสำปะหลัง เป็นแบบใบเดี่ยว สีของใบแตกต่างกันตามสายพันธุ์เช่นเดียวกับสีของลำต้น ระบบรากของมันสำปะหลังแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ รากจริง (wiry root) และรากสะสม (storage roots) รากสะสมจะเจริญเป็นหัวมันสำปะหลัง โดยทั่วไปมันสำปะหลัง 1 ต้นจะมีรากสะสมอาหารหรือหัวมันสำปะหลังอยู่ประมาณ 5-20 หัวต่อต้น (จำสอง, 2547)

การจำแนกมันสำปะหลัง

Kingdom	: Plantae
Class	: Angiospermae
Subclass	: Dicotyledonae
Order	: Geraniales
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Manihot</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 Species : *esculenta*
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 ลักษณะใบ ลำต้น และหัวของมันสำปะหลัง

ที่มา : <https://www.thairath.co.th/tags/>; สืบค้นเมื่อวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2562

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งมีลักษณะเป็นไม้พุ่มยืนต้นมีอายุอยู่ได้หลายปี เป็นพืชอาหารที่ใช้เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรต เป็นพืชที่ปลูกง่ายทนต่อความแห้งแล้ง ปัญหาโรคแมลงมีน้อย การเก็บเกี่ยวไม่ขึ้นกับฤดูกาล จึงสามารถชะลอการเก็บเกี่ยวได้ ซึ่งถ้าพิจารณาจากปริมาณการผลิตพืชอาหารทั่วโลก มันสำปะหลังจัดอยู่ในลำดับที่ 8 ของ 10 อันดับแรกของพืชเศรษฐกิจโลก มันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของประชาชนในทวีปแอฟริกาและอเมริกาใต้ นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งวัตถุดิบแป่งที่มีราคาถูกกว่าพืชผลผลิตแป่งชนิดอื่นๆ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่นไม่ทำให้เกิดภูมิแพ้ จึงมีการนำแป่งมันสำปะหลังไปแปรรูปเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยา อาหาร เครื่องสำอางและเคมีภัณฑ์

2.5.1 การนำมันสำปะหลังไปใช้ประโยชน์

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ตั้งแต่ยอดใบจนถึงราก (หัวมัน) เพื่อการบริโภคเป็นอาหารมนุษย์ และอาหารสัตว์ รวมถึงใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่างๆ ใช้เป็นอาหารมนุษย์โดยใช้ส่วนหัว นำมา ต้ม นึ่ง ย่าง อบ เชื่อม เป็นอาหารชนิดต่างๆ ส่วนใบ นำมาต้มจิ้มน้ำพริก ใช้เป็นอาหารสัตว์ ทั้งที่เป็นหัวสด กากที่เหลือจากการทำแป่ง เปลือกของหัวใบสด ตากแห้งป่นผสมเป็นอาหาร

เอกสารเป็นเอกสารที่ส่งมอบให้บริษัทฯ เพื่อใช้ในการดำเนินงาน โดยมีผู้ให้หมายของเอกสารเป็นนามาที่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่างๆ ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ผลิตเป็นมันสำปะหลังเส้น มันสำปะหลังอัดเม็ด แป้งมันสำปะหลัง และจากแป้งมันสำปะหลังสามารถนำไปผลิตเป็นแป้งแปรรูป อุตสาหกรรมที่ไม่ใช่อาหาร เช่น อุตสาหกรรมทำกาวย อุตสาหกรรมกระดาษ เป็นตัวฉาบผิวด้วยกาวยจาก แป้งทำให้กระดาษเรียบ คงรูปร่าง ช่วยทำให้กระดาษไม่ซึมหมึกพิมพ์สี อุตสาหกรรมซักกรีต อุตสาหกรรม ยาสีฟัน และเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมพลาสติกที่สลายได้ทางชีวภาพ อุตสาหกรรมสิ่งทอ และสารดูดน้ำ ในการผลิตผ้าอ้อมสำหรับเด็กและผู้ใหญ่ เป็นต้น และอุตสาหกรรมพลังงานใช้แป้งมันสำปะหลังในการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นส่วนผสมในการผลิตแก๊สโซฮอล์ (<https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=17849>; สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2562)

2.5.2 ความเป็นพิษในมันสำปะหลัง

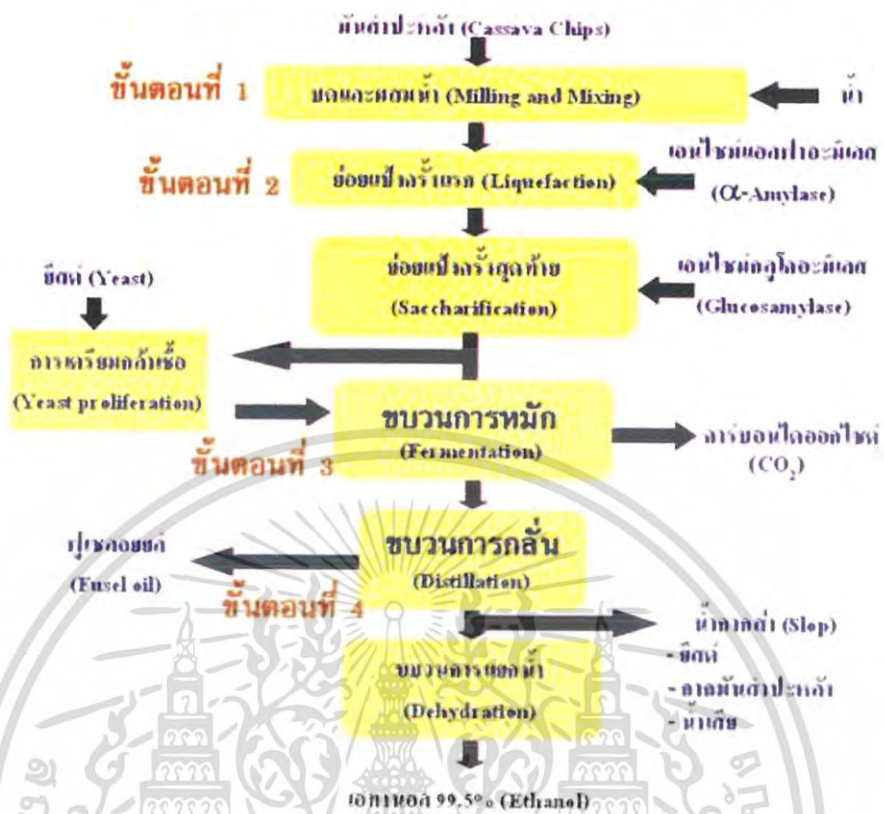
ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังจะมีกรดไฮโดรไซยานิก (hydrocyanic acid, HCN) ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของสารประกอบไซยาโนเจนิกกลูโคไซด์ (cyanogenetic glucosides) ให้สารพิษในรูปกรดไฮโดรไซยานิก ที่มีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและทางเดินโลหิตทำให้ถึงตายได้ เนื่องจากทำให้ออกซิเจนเข้าสู่เซลล์สมองน้อยลง เกิดอาการอาเจียน หายใจขัด ชักกระตุก กล้ามเนื้อไม่มีแรง หายใจลำบาก อาการพิษแบบฉับพลันคือ เวียนศีรษะ ปวดศีรษะ ปวดท้อง อาเจียน และอุจจาระร่วง ถ้าได้รับกรดไฮโดรไซยานิกประมาณ 1.4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะเป็นพิษถึงตายได้ สารพิษในรูปกรดไฮโดรไซยานิกนี้มีมากที่เปลือกของหัวมันสำปะหลังและที่ใบอ่อน แต่สารนี้จะสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน ดังนั้นวิธีการลดความเป็นพิษในหัวมันสำปะหลังก่อนนำมาบริโภค คือ การปอกเปลือกออกหรือการนำไปให้ความร้อน เป็นต้น (<https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=17866>; สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2562)

2.6 การหมักเอทานอลจากมันสำปะหลัง

2.6.1 กระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation, SHF) เป็นกระบวนการที่ทำการย่อยแป้งครั้งแรกด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสก่อนเพื่อเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อยก่อน จากนั้นใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยอีกครั้งเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสมากขึ้น และทำการหมักด้วยเชื้อยีสต์เพื่อหมักน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล (ธราพงษ์ และคณะ, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง

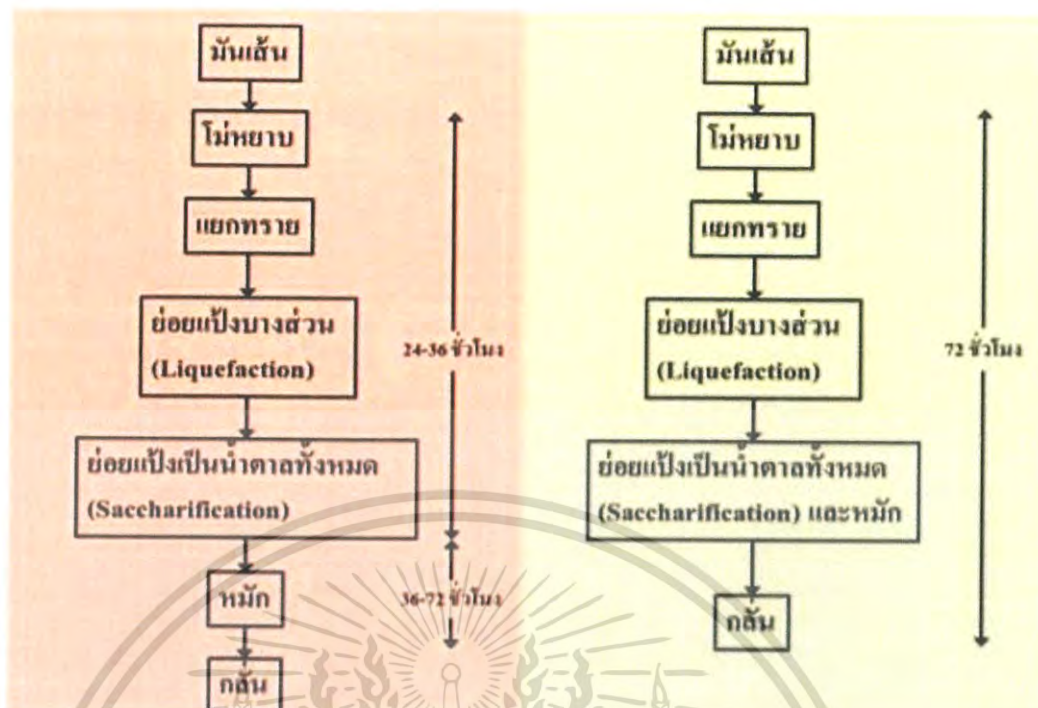


รูปที่ 2.5 กระบวนการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยกระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (SHF)

ที่มา : <http://www.vcharkarn.com/varticle/38199>; สืบค้นเมื่อวันที่ 3 มีนาคม 2562

2.6.2 กระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF) เป็นกระบวนการที่ย่อยแป้งครั้งแรกด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และมีการเติมเอนไซม์กลูโคซามัยเลสพร้อมกับเติมเชื้อยีสต์ตั้งนั้นการย่อยแป้งครั้งสุดท้ายด้วยเอนไซม์จึงเกิดขึ้นพร้อมกับการหมักด้วยยีสต์ในขั้นตอนเดียวกัน เป็นการช่วยลดระยะเวลาในการหมัก ประหยัดพลังงานของกระบวนการผลิตและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอล (ภิญญาภรณ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 ความแตกต่างของกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นด้วยกระบวนการหมักแบบย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (SHF) กับกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

ที่มา : http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair49/Plant/p_05/; สืบค้นเมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2562

จากรูปที่ 2.6 เป็นการเปรียบเทียบกระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเส้นด้วยกระบวนการหมักแบบย่อยแยกกับกระบวนการหมัก (SHF) กับกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) พบว่าการหมักแบบ SHF นั้นใช้เวลาในการผลิตทั้งหมดตั้งแต่เริ่มจนถึงสิ้นสุดการผลิตสูงถึง 108 ชั่วโมง ในขณะที่การหมักแบบ SSF นั้นจะใช้เวลาในการผลิตทั้งหมดเพียง 72 ชั่วโมง จึงประหยัดเวลาและใช้พลังงานน้อยกว่า ทำให้การหมักแบบ SSF ได้รับความนิยมสูงในปัจจุบัน

สำหรับกระบวนการหมักแบบ SHF ข้อดี คือ กระบวนการย่อยแยกกับการหมักทำให้เอนไซม์กลูโคสไมเลสทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนข้อเสีย คือ ใช้ระยะเวลาในการหมักนานกว่ากระบวนการหมักแบบ SSF

สำหรับกระบวนการหมักแบบ SSF ข้อดี คือ ช่วยลดระยะเวลา ประหยัดพลังงานของกระบวนการผลิต และเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอล ส่วนข้อเสีย SSF คือ การหมักพร้อมเอนไซม์กับกระบวนการย่อยที่ใช้อุณหภูมิในการหมักประมาณ 30 องศาเซลเซียส ให้ประสิทธิภาพในการไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำงานของเอนไซม์กลูโคสไมเลสลดลง เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมของกลูโคสไมเลส อยู่ที่ประมาณ 60 องศาเซลเซียส

2.6.3 เซลล์ตรึงรูป (Immobilized cell)

การตรึงเซลล์เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันแพร่หลาย เพื่อเพิ่มความทนของเซลล์ สามารถนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้ ช่วยลดการปนเปื้อน แยกผลผลิตออกมาได้ง่าย ช่วยเพิ่มอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ เอนไซม์มีความเสถียรเพิ่มขึ้น ตลอดจนช่วยลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการแยกเซลล์ (Nigam, 2000) การตรึงเซลล์ คือการยึดหรือเกาะติดเซลล์จุลินทรีย์ไว้กับวัสดุตรึง วิธีการตรึงเซลล์แบ่งได้หลายวิธีการ (Hasirci *et al.*, 2006) ได้แก่

2.6.3.1 การดูดติดผิวทางกายภาพและการยึดติดด้วยประจุ (Physical adsorption) เป็นวิธีการดูด หรือยึดเซลล์จุลินทรีย์ที่ผิวของวัสดุตรึง วัสดุตรึงที่นิยมใช้ในวิธีนี้ เช่น แผ่นพลาสติกที่มีรูพรุน เป็นต้น วิธีการนี้ส่งผลเสียต่อเซลล์น้อยเนื่องจากเป็นกระบวนการทางกายภาพ แต่ความเสถียรและความคงทนของเซลล์ตรึงก็น้อยเช่นกัน เทคนิคนี้มีการใช้อย่างแพร่หลายในงานทางสิ่งแวดล้อม เช่น การบำบัดน้ำเสีย (Trickling filter)

2.6.3.2 การยึดด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent Binding) วิธีนี้เป็นกระบวนการสร้างพันธะ ระหว่างเซลล์จุลินทรีย์มีพันธะที่แข็งแรงส่งผลให้เซลล์มีความเสถียรสูง แต่มีข้อเสียคือ วัสดุตรึงในกลุ่มนี้จำเป็นต้องเร่งสภาพ (Activate) ก่อนใช้งาน (Hasirci *et al.*, 2006)

2.6.3.3 การเชื่อมแบบไขว้ (Cross-linking) วิธีการนี้เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่างวัสดุตรึงและ จุลินทรีย์โดยตรง วิธีการนี้ไม่เป็นที่นิยมมากนักเนื่องจากกระบวนการตรึงสามารถส่งผลเสียต่อจุลินทรีย์ได้มาก

2.6.3.4 การกักขัง (Entrapment) เป็นการตรึงจุลินทรีย์ด้วยวัสดุประเภทสารพอลิเมอร์หรือเมมเบรนวิธีการนี้แตกต่างจากวิธีอื่น ๆ คือจุลินทรีย์ไม่ได้เกิดปฏิกิริยาโดยตรงกับวัสดุตรึงแต่จุลินทรีย์จะถูกขังอยู่ในวัสดุ วิธีการนี้จึงประยุกต์ใช้กับงานได้ทั้งกับจุลินทรีย์ทุกชนิด และสารโปรตีนอื่น ๆ วัสดุที่นิยมใช้ในการตรึงประกอบด้วยพอลิเมอร์จากธรรมชาติและสังเคราะห์ เช่น สารประกอบอัลจิเนต (Alginate) สารโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (Nikolskaya

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

et al., 2012) เป็นต้น วิธีการนี้นิยมใช้ในงานด้านสิ่งแวดล้อม อุตสาหกรรมอาหาร และพลังงาน

เซลล์ตรึงรูปมีข้อดีคือ เมื่อใช้งานแล้วสามารถแยกนำกลับมาใช้งานได้อีกหลายครั้ง จนกว่าความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะลดต่ำลงมาก ทำให้ประหยัดกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ และสามารถใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างไปจากเอนไซม์อิสระดั้งเดิมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การเลือกชนิดของตัวกลางที่ใช้จับยึดในวิธีการตรึงรูปด้วย

(<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/4162/immobilized-enzyme>; สืบค้นเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562)

2.7. ยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอล

ยีสต์ (Yeast) คือราชนิดหนึ่งที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวและเป็นเซลล์ชนิดยูคาริโอตซึ่งมีคุณสมบัติแตกต่างจากแบคทีเรียที่เป็นพวกโปรคาริโอต เช่น ยีสต์มีคุณสมบัติในการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ สารซัลฟาไมด์และสารต้านแบคทีเรียอื่น ๆ เป็นต้น (Montes de Oca *et al.*, 2016) ซึ่งยีสต์มีมากกว่า 1,500 สายพันธุ์ มีรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม (Round) รี (Oval) สามเหลี่ยม (Triangular) แบบลูกมะนาวฝรั่ง (Apiculated) เป็นต้น (Moncel, 2010)

2.7.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์

ยีสต์โดยทั่วไปจะมีขนาดที่แตกต่างกันออกไป โดยมีความกว้าง (เส้นผ่านศูนย์กลาง) ของเซลล์อยู่ที่ประมาณ 2-6 ไมครอนและความยาวประมาณ 5-30 ไมครอน ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ของแบคทีเรีย (สาวิตรี, 2540) โดยยีสต์จะมีรูปร่างลักษณะที่แตกต่างกัน เช่น รูปทรงกลม รูปไข่ รูปร่างยาวที่มีปลายด้านหนึ่งกลมส่วนปลายอีกด้านแหลม รูปฟลอสก์ หรือรูปสามเหลี่ยม เป็นต้น โดยยีสต์แต่ละชนิดจะมีรูปร่างและลักษณะเฉพาะ เซลล์บางเซลล์มีช่วงที่ทำให้รูปร่างเปลี่ยนไปเนื่องจากการพัฒนาทางด้านพันธุศาสตร์ของยีสต์ นอกจากนี้สภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ยังมีผลต่อรูปร่างและขนาดของเซลล์ยีสต์ (พิพัฒน์ และคณะ, 2534) ยีสต์บางชนิดสร้างเส้นใยแท้ (true mycelium) เช่น ทุกสปีชีส์ของ *Trichosporon* ซึ่งจะสร้างเส้นใยแท้ที่มีผนังกัน บางชนิดอาจสร้างเส้นใยเทียม (pseudomycelium) เช่น *Candida albicans* และ *C. boidinii* สำหรับเส้นใยเทียมอาจเกิดเมื่อมีการเพิ่มจำนวนจากการแตกหน่อแล้วหน่อที่เกิดขึ้นไม่ได้หลุดจากเซลล์แม่ทำให้มีการเรียงต่อกันเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่เสียนายใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ไม่มีส่วนประกอบที่ใช้สำหรับการเคลื่อนที่และยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของเซลล์เหมือนกับเซลล์พืชชั้นสูง เช่น นิวเคลียส เยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์ ไมโทคอนเดรีย ไซโตพลาสซึม แวกคิวโอล ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่ง่ายต่อการเจริญเติบโต สามารถพบได้ทั้งใน อากาศ ดิน น้ำ พืช แมลง และสัตว์ (Montes de Oca *et al.*, 2016) ยีสต์สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ยีสต์ที่เจริญได้ในภาวะที่มีออกซิเจนเรียกว่า ออกซิเดทีฟยีสต์ (oxidative yeast) โดยเกิดเป็นฟิล์มที่ผิวหน้าของอาหารเหลว ส่วนยีสต์ที่เจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนและเจริญได้ทุกส่วนของอาหารจัดเป็นพวกยีสต์เฟอร์เมนเททีฟ (Fermentative yeast) (<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0555/yeast-ยีสต์>; สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2562)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างภายในเซลล์ของเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ TEM ที่มา: สาวิตรี (2549)

2.7.2 ลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์

ลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมผลิตสารต่างๆ ซึ่งลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์ หมายถึง การที่ยีสต์สามารถใช้อุณหภูมิ น้ำตาลและไนโตรเจนในการเจริญเติบโตได้ โดยทั่วไปยีสต์ ส่วนมากจะเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีน้ำตาลหรือเกลือค่อนข้างสูงกว่าแบคทีเรีย ดังนั้นยีสต์จะเจริญได้ในที่ที่มีน้ำน้อยซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่สูง ยีสต์จึงทนต่อแรงดันออสโมซิสสูงได้ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์ส่วนมากอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิระหว่าง 35-47 องศาเซลเซียส แต่อาจมียีสต์บางชนิดที่สามารถเจริญได้ที่

ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตาม ยีสต์ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าเล็กน้อย และยีสต์ส่วนมากเจริญเติบโตได้ดีในที่ที่มีความเป็นกรด 4-4.5 แต่เติบโตได้ไม่ดีที่ความเป็นกรด-เบสสูงกว่า 7 และยีสต์บางชนิดจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobe) แต่บางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อยได้ (Facultative anaerobe)

โดยทั่วไปแล้วน้ำตาลเป็นอาหารที่ดีที่สุดสำหรับยีสต์ ซึ่งใช้เป็น oxidative yeast เช่น ฟิล์มยีสต์ สามารถออกซิไดซ์กรดและแอลกอฮอล์ ส่วน fermentative yeast สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ในการผลิตไวน์ เบียร์และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์อื่น ๆ นอกจากนี้ยีสต์ยังอาจใช้ในโตรเจนได้หลายชนิด เช่น แอมโมเนีย ยูเรีย กรดอะมิโนและโพลีเปปไทด์ (อโณทัย, 2530)

2.7.3 การสืบพันธุ์ของยีสต์

การสืบพันธุ์ของยีสต์มี 2 รูปแบบ

1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction) แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีการแตกหน่อ (budding) จะเกิดหน่อเล็ก ๆ จากเซลล์เดิมแล้วหลุดออกเป็นเซลล์ใหม่ เป็นวิธีสืบพันธุ์ที่เกิดเป็นปกติหรือเป็นวิธีที่ยีสต์ใช้มากที่สุด และแบบฟิสชัน (fission)

1.1 การแตกหน่อ (Yarrow, 1998)

1.1.1 การแตกหน่อขั้วเดียว (Monopolar budding) คือ การแตกหน่อที่ปลายด้านเดียวซ้ำ ๆ กัน เช่น *Pityrosporum* sp.

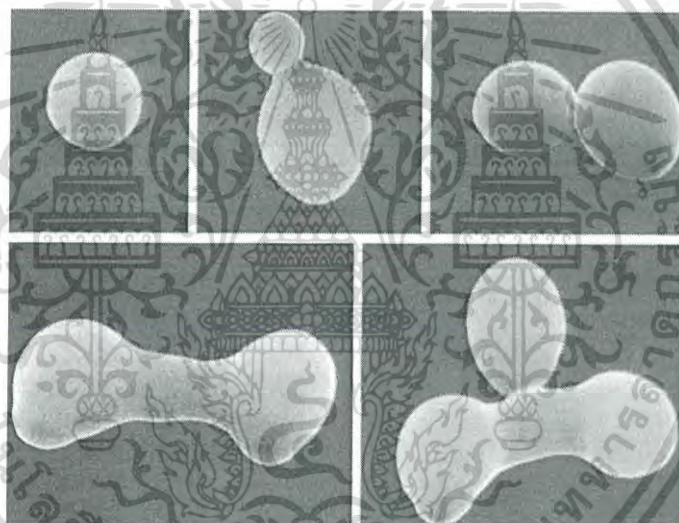
1.1.2 การแตกหน่อสองขั้ว (Bipolar budding) คือ การแตกหน่อที่ปลายทั้ง 2 ด้าน โดยจะเกิดที่ละด้านหรือเกิดพร้อมกันทั้ง 2 ด้านก็ได้ เช่น *Hanseniaspora* sp.

1.1.3 การแตกหน่อหลายขั้ว (Multipolar หรือ multilateral budding) คือ การแตกหน่อรอบเซลล์ทุก ๆ ด้าน ซึ่งยีสต์ส่วนใหญ่จะมีการแตกหน่อในลักษณะนี้ เช่น *Saccharomyces* sp.

การแตกหน่อ จะมีการส่งต่อออกจากนิวเคลียร์แควิวโอล ซึ่งใกล้กับนิวเคลียสของเซลล์พ่อแม่เดิม ซึ่ออกไปที่ผนังเซลล์ที่ใกล้กับแควิวโอลมากที่สุด ที่ผิวนอกของเซลล์จะมีส่วนยื่นออกไปเป็นตุ่ม ซึ่งการค้ำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดจากผนังเซลล์ตรงนั้นอ่อนแอลง ท่อนั้นจะผ่านเข้าสู่ส่วนที่ยื่นซึ่งจะขยายใหญ่ออก และบรรจุสารของนิวเคลียสและไซโทพลาซึมจากเซลล์พ่อแม่เดิม ผนังเซลล์ของหน่อ (bud) จะมีสารที่สร้างขึ้นใหม่เมื่อหน่อใหญ่เกือบเท่าเซลล์พ่อแม่แล้ว องค์ประกอบของนิวเคลียสในเซลล์ทั้งสองจะจัดเรียงตัวใหม่เพื่อให้เซนโตโซมของแต่ละเซลล์อยู่ไกลจากจุดที่เซลล์ติดกันอยู่ หลังจากการแบ่งนิวเคลียสสิ้นสุดลงจะมีผนังกันเกิดขึ้น เพื่อแยกเซลล์พ่อแม่เดิมกับหน่อใหม่ออกจากกัน ถึงแม้ว่าหน่ออาจยังติดกับเซลล์เดิมและมีการสร้างหน่อใหม่อีกก็ตาม ในช่วงชีวิตยีสต์ที่เจริญเต็มที่อาจแตกหน่อได้โดยเฉลี่ย 24 เซลล์ การแตกหน่อจะเกิดขึ้นที่ตำแหน่งต่างๆบนผิวเซลล์ และมีรอยการแตกหน่อ (birth scar หรือ bud scar) ติดอยู่กับเซลล์แม่ซึ่งเป็นผลจากการแบ่งเซลล์โดยการแตกหน่อ

(<http://www.thaieditorial.com/การสืบพันธุ์ของยีสต์-reproduction-of-ye/>; สืบค้นเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562) แสดงดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ลักษณะการแตกหน่อของเซลล์ยีสต์
ที่มา: Ira (1988)

1.2 การแบ่งเซลล์แบบฟิสชัน

สามารถพบได้ในเฉพาะ *Schizosaccharomyces* sp. ซึ่งมีรูปร่างยาวหรือทรงกระบอก ปลายทั้ง 2 ด้านเป็นครึ่งวงกลม ซึ่งผลจากการแบ่งเซลล์แบบฟิสชันจะได้ 2 เซลล์ที่มีขนาดเท่ากัน (Spencer *et al.*, 1997)

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction) ยีสต์ที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศแบ่ง

ออกเป็น 2 พวก คือ Ascomycetous yeast และ Basidiomycetous yeast ซึ่งระยะที่พบการ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปเผยแพร่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สปีพันธุ์แบบอาศัยเพศเรียกว่า Perfect state หรือระยะ Telemorphic state ส่วนระยะที่ไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเรียกระยะนั้นว่า Imperfect state (Yarrow, 1998)

2.7.4 คุณสมบัติของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

ลักษณะของยีสต์ที่เหมาะสมแก่การผลิตเอทานอลควรมีลักษณะดังนี้ (สาวิตรี, 2540; Panchal *et al*, 1990)

1. สามารถใช้ขั้วสเตรตได้หลากหลายชนิด
2. ให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการหมักเอทานอลเร็วซึ่งทำให้ต้นทุนในการผลิตเอทานอลลดลง
3. มีความทนต่อเอทานอล (Ethanol tolerance)
4. สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ (Thermo tolerance)
5. มีความทนต่อการเปลี่ยนแปลงในสภาวะต่าง ๆ ของการหมักและมีพันธุกรรมที่ไม่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย
6. มีความทน pH ต่ำ หรือ ทนกรดได้ (Acid tolerance)
7. มีความสามารถในการตกตะกอน (Flocculation)
8. ทนทานต่อแรงดันออสโมซิส (Osmosis tolerance)

2.7.5 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต เป็น Unicellular organism พบมากในแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง เป็นต้น ซึ่ง *S. cerevisiae* มีลักษณะรูปร่างกลมไปถึงรูปไข่ อยู่ในลักษณะเซลล์เดี่ยว ขนาดทั่วไปมีความกว้างประมาณ 2.5-10.5 ไมครอน มีความยาวประมาณ 4.5-2.1 ไมครอน (สมใจ, 2554) สปีพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ แสดงดังรูปที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำแนกเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Subphylum : Saccharomycotina

Class : Saccharomycetes

Order : Saccharomycetales

Family : Saccharomycetaceae

Genus : *Saccharomyces*

Species : *cerevisiae*



รูปที่ 2.9 ลักษณะของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา: <http://www.jpkc.njau.edu.cn>; สืบค้นเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562

2.8 กระบวนการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์

2.8.1 คุณสมบัติทั่วไปของเอทานอล

เอทานอล (Ethanol) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดไฟติดระเหยง่าย มีจุดเดือดอยู่ที่ 78 องศาเซลเซียส โดยที่เอทานอลที่บริสุทธิ์จะมีแอลกอฮอล์ประมาณ 99.7% โดยทั่วไปมีน้ำเจือปนไม่เกินร้อยละ 0.5 ละลายได้ดีในน้ำและตัวละลายอินทรีย์อื่น ๆ เช่น เมทานอล อีเทอร์ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น (สาวิตรี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 กระบวนการของการหมัก

2.8.2.1 การหมักแบบกะ (Batch fermentation) เป็นวิธีการหมักโดยใช้ระบบปิด ซึ่งมีการเติมสารอาหารลงไปในถังหมักเพียงครั้งเดียวคือตอนเริ่มต้นเท่านั้น ไม่มีการเติมสารอาหารใด ๆ ลงไปอีกจนกว่าจะเสร็จสิ้นกระบวนการหมัก

2.8.2.2 การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) เป็นการหมักที่มีการเติมซับสเตรตเป็นระยะ อาจมีการดึงน้ำหมักออกหรือไม่มีการดึงน้ำหมักออก ทำให้ปริมาตรสารต่าง ๆ ในถังหมักเพิ่มขึ้นหรือเปลี่ยนแปลงได้ตามเวลาที่ใช้ในการหมัก ในกรณีที่มีการเติมซับสเตรตที่มีความเข้มข้นสูง ปริมาตรของน้ำหมักอาจเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก (Dunn *et al.*, 2003) ปัจจุบันการหมักแบบกึ่งกะนิยมใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น การผลิตยีสต์ทำขนมปัง การผลิตเพนนิซิลิน เป็นต้น

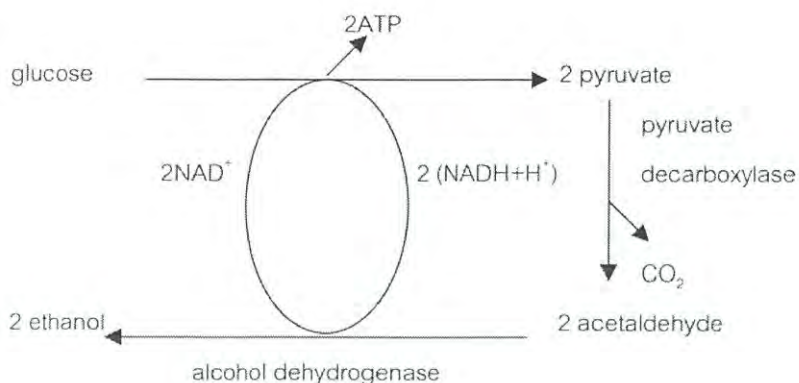
2.8.2.3 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิด มีการรักษาสมดุลในการหมัก โดยการกำจัดน้ำหมักออกไปบางส่วนแล้วจึงเติมสารอาหารใหม่เข้าไปในอัตราส่วนเดียวกัน ซึ่งระบบการหมักแบบต่อเนื่องแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ Chemostat อัตราการป้อนจะถูกตั้งไว้ที่ค่าหนึ่งและอัตราการเจริญของการเพาะเลี้ยงปรับตามอัตราการไหล และ Turbidostat คือค่าความขุ่นของเซลล์ (กนกวรรณ, 2547)

2.8.3 กระบวนการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์

กระบวนการหมักเอทานอลโดยจุลินทรีย์จำพวกยีสต์จะมีซับสเตรตเป็นสารประกอบจำพวกแป้งหรือน้ำตาล โดยน้ำตาล 1 โมเลกุล จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล และเอทานอล 2 โมเลกุล ภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน

การหมักเอทานอลของยีสต์นั้นเกิดจากการที่น้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปตามวิถีไกลโคไลซิสจนได้ไพรูเวต จากน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล จะได้ไพรูเวต 2 โมเลกุล จากนั้นไพรูเวตจะเกิด decarboxylation โดยเอนไซม์ pyruvate decarboxylase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสร้าง acetaldehyde ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นเอทานอล โดยมีเอนไซม์ alcohol dehydrogenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังรูปที่ 2.10 (สาวิตรี, 2540; Panchal and Tavares, 1990)

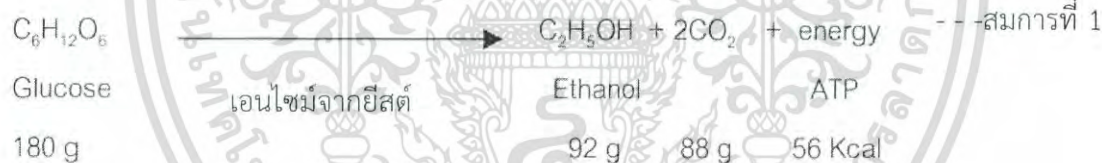
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 การสังเคราะห์เอทานอล

ที่มา : Panchal and Tavares (1990)

ซึ่งตามทฤษฎีสตจะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ให้เป็นเอทานอล 0.511 กรัม (ร้อยละ 51.1) และคาร์บอนไดออกไซด์ 0.498 กรัม (ร้อยละ 49.8) แต่สำหรับในทางปฏิบัติ น้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้นที่จะถูก เปลี่ยนเป็นเอทานอล เนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญเติบโตและมีบางส่วนที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลผลิตพลอยได้บางชนิด เช่น กลีเซอรอล ซัคซิเนท และ higher alcohol หรือ fusel oil (สาวิตรี, 2540; Panchal and Tavares, 1990; อีรภัทร, 2543) แสดงดังสมการที่ 1



2.9 เชื้อราที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

รา (Mold) เป็นจุลินทรีย์พวุกยูคาริโอต ไม่มีคลอโรพลาสต์ ผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส สามารถใช้สารอาหารได้หลากหลายชนิด เช่น สารอนินทรีย์ ไนโตรเจน และสารอินทรีย์ไนโตรเจนในการสร้างโปรตีน ราส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต (aerobe microorganism) และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ 22-30 องศาเซลเซียส ส่วนราพวกที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1 สัณฐานวิทยาของรา

รา มีลักษณะเป็นเส้นใย หรือไฮฟา (hypha) เส้นใยของรา มีหน้าที่ยึดติดกับอาหาร และสืบพันธุ์ รวมทั้งสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ คือสปอร์ (spore) เส้นใยของเชื้อราแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.9.1.1 เส้นใยแบบไม่มีผนังกัน (non-septate hypha) มีขนาดกว้างประมาณ 1-2 ไมครอน มีการยึดตัวของเส้นใยด้านปลาย มีการแบ่งตัวโดยเว้าเข้ามาในเซลล์ เกิดเป็นผนังกันที่ไม่สมบูรณ์ (adventitious septum) เพราะมีรูตรงกลางผนัง ทำให้นิวเคลียสไหลปะปนกับโปรโตพลาสซึม โดยจะมีนิวเคลียสหลายอันในแต่ละเซลล์ เช่น พวก *Rhizopus* sp.

2.9.1.2 เส้นใยแบบมีผนังกัน (septate hyphae) มีขนาดกว้างประมาณ 4-10 ไมครอน ภายในเส้นใยมีผนังกัน (septum) มี 1 นิวเคลียส ต่อ 1 เซลล์ พบในราพวก *Penicillium* sp. และ *Aspergillus* sp.

2.9.2 การสืบพันธุ์ของเชื้อรา

การสืบพันธุ์ของเชื้อรา แบ่งออกเป็น 2 แบบ ดังนี้
(<http://oservice.skru.ac.th/ebookft/295/chapter8.pdf>; สืบค้นเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562)

2.9.2.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ราจะสร้างสปอร์ (sporulation) ซึ่งเป็นสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) โดยจะแบ่งตัวแบบไมโทซิสและไม่มี การรวมกันของนิวเคลียสของเซลล์ มีหลายชนิด ดังนี้

1. โคนิเดียหรือโคนิไดโอสปอร์ (conidia หรือ conidiospore) เกิดที่ปลายของเส้นใย มีทั้งขนาดเล็ก เรียกว่า microconidia และขนาดใหญ่ เรียกว่า macroconidia

2. สปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) เกิดภายในถุงหรืออับสปอร์ (sporangium) ซึ่งอยู่ที่ปลายเส้นใยเรียกว่า sporangiophore โดยสปอร์แรงจิโอสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้จะเรียกว่า zoospores ส่วนที่เคลื่อนที่ไม่ได้เรียกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
aplanospores
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อาร์โธสปอร์หรือออยเดีย (arthrospore หรือ oidia) เป็นสปอร์เซลล์เดี่ยวที่เกิดจากเส้นใยหลุดออกมากลายเป็นสปอร์ เช่น *Coccidioides immitis*

4. คลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) เป็นสปอร์เซลล์เดี่ยว ผนังหนา ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น *Candida albicans*

5. บลาสโตสปอร์ (blastospore) เป็นสปอร์ที่เกิดจากการแตกหน่อของสปอร์เดิม

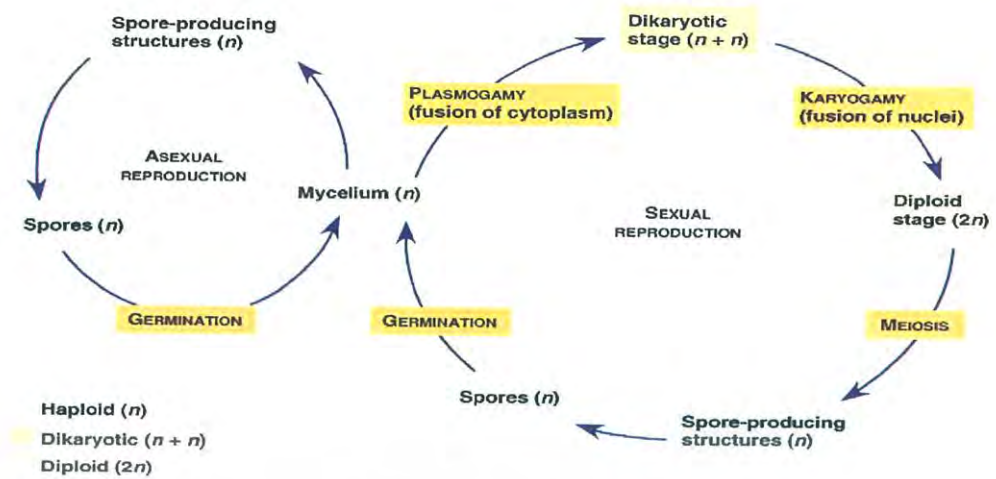
2.9.2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการผสมกันระหว่างเซลล์สืบพันธุ์และมีการรวมตัวของนิวเคลียส ซึ่งรวมแล้วเป็น diploid ($2n$) และมีการแบ่งตัวในขั้นตอนสุดท้ายแบบ meiosis เพื่อลดจำนวนโครโมโซมลงเป็น haploid (n) ตามเติมกรรมวิธีในการรวมของนิวเคลียสมี 3 ระยะ ดังนี้

1. Plasmogamy เป็นระยะที่ไซโตพลาสซึมของทั้งสองเซลล์มารวมกันทำให้นิวเคลียสในแต่ละเซลล์มาอยู่รวมกันด้วย นิวเคลียสในระยะนี้มีโครโมโซมเป็น n

2. Karyogamy เป็นระยะที่นิวเคลียสทั้งสองมารวมกัน ในฟองไข่ชั้นต่ำจะเกิดการรวมตัวของนิวเคลียสอย่างรวดเร็วในทันทีที่มีนิวเคลียสทั้งสองอันอยู่ในเซลล์เดียวกัน ส่วนในฟองไข่ชั้นสูงจะเกิดการรวมตัวของนิวเคลียส ช้ามาก ทำให้เซลล์ระยะนี้มีสองนิวเคลียส เรียกว่า Dikaryon

3. Haploidization หรือไมโอซิส (Meiosis) เป็นระยะที่นิวเคลียสซึ่งมีโครโมโซมเป็น $2n$ จะแบ่งตัวแบบไมโอซิส เพื่อลดจำนวนโครโมโซมเป็น n ราแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างที่เรียกว่า Gametangium ทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Gamete) เพศผู้และเพศเมีย อยู่ในไมซีเลียมเดียวกันและสามารถผสมพันธุ์กันได้ เรียกว่า Monoecious แต่ราที่มี Gametangium สร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียอยู่ต่างไมซีเลียมกันเรียกว่า Dioecious ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จะมีการสร้างสปอร์เกิดขึ้นเช่นเดียวกัน สปอร์ที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะมีขนาดเล็กและจำนวนน้อยกว่า เช่น Ascospore Basidiospore Zygosporangium และ Oospore (นงลักษณ์ และคณะ, 2548) แสดงดังรูปที่ 2.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ

ที่มา : http://www.clt.astate.edu/mhuss/intro_to_the_fungi1.htm;

สืบค้นเมื่อวันที่ 17 กุมภาพันธ์ 2562)

2.9.3 เชื้อรา *Amylomyces rouxii*

เชื้อรา *Amylomyces rouxii* หรือ *Mucor rouxii* เป็นเชื้อราใน Class Zygomycetes ที่มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว โดย *A. rouxii* จะมีลักษณะเป็นวงกลมหรือรี สี มีสีขาวหรือเทา สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้าง sporangiospore และแบบอาศัยเพศ โดยการสร้าง Zygosporangium แต่โดยทั่วไปแล้วพบว่า การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะมีบทบาทสำคัญต่อการสืบพันธุ์มากกว่าแบบอาศัยเพศ บริเวณผนังชั้นนอกของสปอร์จะมีโปรตีนและไขมันสะสมอยู่ในปริมาณสูง

การจัดจำแนกเชื้อรา *Amylomyces rouxii*

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Zygomycota
Class	: Mucormycotina
Order	: Mucorales
Family	: Mucoraceae
Genus	: <i>Amylomyces</i>
Species	: <i>rouxii</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 บนอาหาร PDA

นอกจากนี้ *A. rouxii* ยังมีคุณสมบัติที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างในระหว่างการเจริญเติบโตได้ทั้งแบบเส้นใย (mycelium) และแบบเซลล์ยีสต์ (yeast-like) ตามสภาวะแวดล้อมของการเจริญ (Orlowski *et al.*, 1978) นอกจากนี้เชื้อรา *A. rouxii* ยังมีความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ เพื่อเป็นการลดการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายแป้งก่อนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ (Webster, 1979)

2.9.4 เชื้อรา *Aspergillus oryzae*

Aspergillus oryzae เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ในดิวิชัน Ascomycota โคลนีมีลักษณะเป็นปุยสีขาวและมีสปอร์สีเขียว เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่าเชื้อราจะมีก้านชูสปอร์ (Conidiophore) และบริเวณส่วนปลายก้านชูสปอร์จะรูปร่างเป็นทรงกลม ลักษณะเป็นถุงที่เรียกว่า vesicle และบริเวณที่เป็นถุงนั้นจะมีเส้นใยขยายออกไปหลากหลายเส้นโดยที่ส่วนปลายของถุงจะมี conidia เรียงกันเป็นสาย มีลักษณะเป็นเส้นใยแตกแขนง มีผนังกัน และส่วนที่กันผนังแล้วจะมีนิวเคลียสหลายอัน (Anselm *et al.*, 2015; Masayuki *et al.*, 2008) เชื้อรา *A. oryzae* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ แต่การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมักเกิดขึ้นน้อย โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนั้นจะแบ่งตัวแบบไมโทซิสและไม่มีการรวมกันของนิวเคลียสของเซลล์ซึ่งจะเป็นแบบโคนิเดียหรือโคนิโดสปอร์ (Goffeau, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจัดจำแนกเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

Domain	: Eukaryote
Kingdom	: Fungi
Division	: Ascomycota
Class	: Eurotiomycetes
Order	: Eurotiales
Family	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Species	: <i>oryzae</i>

เชื้อรา *A. oryzae* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้หลากหลายชนิด เช่น ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสสำหรับการย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน เอนไซม์อะไมเลสสำหรับย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล หรือเอนไซม์กลูตามิเนส เป็นต้น (Chuenjit *et al.*, 2012)



รูปที่ 2.13 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *A. oryzae* F-1 บนอาหาร PDA และรูปร่างของเชื้อรา

A. oryzae

ที่มา : Hee-Soo Park *et. al* (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศญามล และคณะ (2557) ศึกษาผลิตไบโอเอทานอลจากกระเจับโดยการหมักกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) แบ่งเป็นสองขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรก เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งกระเจับให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์โดยไซเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus niger* และขั้นตอนที่สอง เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 พบว่า ความเข้มข้นของแป้งร้อยละ 15 มวลต่อปริมาตรในอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.5 ปริมาตรของ crude enzyme เท่ากับ 100 มิลลิลิตร บมแบบเขยา 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการย่อยแป้ง 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 32.69 ± 0.21 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไปหมักต่อด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 พบว่า น้ำหมักที่มีการปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 ปริมาณยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร ระยะเวลาในการหมัก 4 วัน เขยาที่ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับร้อยละ 1.59 ± 0.04 น้ำหนักต่อปริมาตร หรือคิดเป็นประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลเท่ากับร้อยละ 75.1

ปรียารัตน์ และคณะ (2551) ศึกษาการนำเปลือกมันสำปะหลังมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลร่วมกับการหมักแอลกอฮอล์ ไซเอนไซม์ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ศึกษาความเข้มข้นของสับสเตรท (ร้อยละ 2-10 น้ำหนักต่อน้ำหนัก) แอลฟา-อะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส 1.4 และ 2.7 หน่วยต่อกรัม เปลือกมันสำปะหลัง ตามลำดับ พบว่าผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักของเปลือกมันสำปะหลัง ผลผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 68 ของผลผลิตตามทฤษฎี เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในเปลือกมันสำปะหลัง

วนิดา และคณะ (2553) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมการหมัก (SSF) จากไม้อยูคาลิปตัสที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 จากการศึกษาปริมาณเยื่อไม้ (ร้อยละ 5, 7.5 และ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร) และอุณหภูมิ (30 35 และ 40 องศาเซลเซียส) พร้อมทั้งใส่เอนไซม์ Celluclast 1.5 L และเอนไซม์ Novozym 188 ในการหมักแบบSSF เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด พบว่า ปริมาณเยื่อไม้ร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสม มีปริมาณเอทานอล 28.47 กรัมต่อลิตร และผลได้ของเอทานอล (Ethanol yield) ร้อยละ 79.01 เนื่องจากการเพิ่มปริมาณเยื่อไม้และอุณหภูมิส่งผลให้

เอกสารปริมาณเอทานอลสูงขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้อยสุตา และคณะ (2556) ศึกษาการใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดเจือจาง ร่วมกับการใช้น้ำมะพร้าวแก่ในการผลิตเอทานอล และศึกษาถึงความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมซัลเฟตหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 พบว่าอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่งเสริมการเจริญได้ดีที่สุด โดยให้ค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงถึง $7.47 \pm 0.26 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่อาหารควบคุมที่มีการเติมยีสต์สกัด 1 กรัมต่อลิตร แทนน้ำมะพร้าว ให้ค่าความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ $4.54 \pm 0.85 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ผลของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อการผลิตเอทานอลในอาหารที่ใช้น้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดเจือจางที่เสริมสารอาหารด้วยน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่า แอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 1-3 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมการหมักเอทานอลได้ดีโดยให้ผลได้ของเอทานอล อัตราการผลิตเชิงปริมาตร และประสิทธิภาพการหมักประมาณ 0.38 กรัมต่อกรัม, 0.32 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และร้อยละ 74.66 ตามลำดับ

พลกฤษณ์ และคณะ (2559) ศึกษาการเปรียบเทียบความสามารถการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxi* TISTR 3182 และเชื้อราแบบผสม พบว่า ที่เวลา 96 ชั่วโมง การใช้เชื้อรา *T. viride* TISTR 3114, *A. rouxi* TISTR 3182 และเชื้อผสม สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุด เท่ากับ 10.64 16.61 และ 23.17 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม โดยที่ปริมาณแป้งลดลงเท่ากับ 37.73 28.26 และ 25.58 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันปริมาณเซลลูโลสลดลงเท่ากับ 2.08 2.84 และ 1.91 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ และปริมาณเฮมิเซลลูโลสมีปริมาณลดลงเท่ากับ 2.87 3.03 และ 2.76 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าการใช้เชื้อราแบบรวมมีความสามารถในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงกว่า

อภิขญา และคณะ (2558) ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่มีกลูโคส ไชโลสและกลูโคสผสมไชโลสเป็นซับสเตรต พบว่าผลได้ของเอทานอล ($Y_{P/S}$) เท่ากับ 0.38 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคส 0.17 กรัมเอทานอลต่อกรัมไชโลส และ 0.35 กรัมเอทานอลต่อกรัมกลูโคสและไชโลส ตามลำดับ จึงได้ศึกษาการหมักเอทานอลโดยจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 ร่วมกับ *Pichia stipitis* TISTR 5806 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 ร่วมกับ

แบคทีเรียรีคอมบิแนนต์ *Escherichia coli* KO11 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่มีกลูโคสและไชโลส

เอกสารฉบับนี้เป็นทรัพย์สินของงานวิจัยของศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำเอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่แจ้งให้ทราบก่อนจะถือว่าผิดลิขสิทธิ์

เป็นซีสเตรตผสม พบว่าการผลิตเอทานอลโดยจุลินทรีย์ผสมระหว่างเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 และแบคทีเรียรีคอมบิแนนต์ *E. coli* KO11 ให้ผลได้ของการผลิตเอทานอลทางทฤษฎีเท่ากับร้อยละ 96.16 สูงกว่าการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 เพียงสายพันธุ์เดียว

Reddy *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) โดยปรับค่า pH ให้เท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* NRRL 76 และ *Zymomonas mobilis* พบว่าถ้าใช้การหมักแบบ mixed culture สามารถผลิตเอทานอลได้มากกว่าการหมักแบบ monoculture โดยสามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 10.5 โดยปริมาตร จากแป้งมันสำปะหลังเริ่มต้นร้อยละ 22.5 น้ำหนักต่อปริมาตร และถ้าเติมเอนไซม์กลูโคสไมเลสร้อยละ 0.01 ในกระบวนการหมักแบบ SSF จะสามารถผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 13.2 โดยปริมาตร

Zhang *et al.* (2013) ศึกษาการเปรียบเทียบระหว่างการผลิตเอทานอลจากมันเทศที่ไม่ผ่านการทำให้สุกและมันเทศที่ผ่านการทำให้สุก โดยใช้สายพันธุ์กลายของเชื้อ *Aspergillus niger* ที่แยกได้จากมันเทศที่เป็นโรคราน้ำค้างในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งความหนืดของแป้งมันเทศที่ไม่ผ่านการทำให้สุกจะมีค่าต่ำกว่าแป้งมันเทศที่ผ่านการทำให้สุก โดยใช้เชื้อ *Zymomonas mobilis* ในการหมักเอทานอล ได้ปริมาณเอทานอล 14.4 กรัม (ผลตามทฤษฎีเท่ากับร้อยละ 87.2) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ประหยัดพลังงานและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมได้

Aron *et al.* (2016) ศึกษาการใช้ลูกแป้งเป็นแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและมีราคาถูกสำหรับนำมาย่อยแป้งมันสำปะหลังให้ได้น้ำตาลกลูโคส สำหรับกระบวนการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นกลูโคสโดยใช้ลูกแป้งนั้นได้มีการปรับปรุงกระบวนการโดยใช้จุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันตรึงเซลล์ (Immobilized cell, IC) โดยใช้รังไหม (Thin shell silk cocoon, TSC) หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง กระบวนการ IC-TSC จะเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 20 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นน้ำตาลกลูโคส (syrup) ซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสอยู่ที่ 145.5 กรัมต่อลิตร (ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 98 และโพลิโกลิแซคคาไรด์ร้อยละ 1.2) โดยมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อยหรือไม่มีการปนเปื้อนเลย ความเข้มข้นของกลูโคสจากกระบวนการการย่อยแป้งที่ใช้ระบบ IC-TSC มีความเข้มข้นมากกว่าใช้แบบสารแขวนลอยสปอร์ (SC) 1.3 เท่าหรือมากกว่า ซึ่งแป้งที่ถูกย่อยจะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการหมักเอทานอลโดยไม่ต้องเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านการฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้คือ 71.2 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 9.1 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ที่เวลาการหมัก 36 ชั่วโมง โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30

Manas *et al.* (2013) ศึกษาการเลี้ยงจุลินทรีย์ร่วมกันของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (อัตราส่วน 1: 4) บนแป้งมันเทศ (*Ipomoea batatas* L.) (SPF) เพื่อผลิตไบโอเอทานอลในการหมักแบบ SSF มีการผลิตเอทานอลสูงสุดในอาหารที่มีความชื้นร้อยละ 80 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.2 pH 5.0 หมักด้วยหัวเชื้อร้อยละ 10 และหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ได้ โดยปริมาณเอทานอลสูงสุด 2.8 กรัมต่อกิโลกรัมซบสเตรทต่อชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์ 23×10^8 CFU/g ผลผลิตเอทานอล 47 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำตาล และมีประสิทธิภาพการหมักร้อยละ 72 ซึ่งจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกันระหว่างเชื้อ *Trichoderma* sp. และ *S. cerevisiae* พบว่าความสามารถในการผลิตเอทานอลโดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันนั้นสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* เพียงเชื้อเดียวถึงร้อยละ 65

Manikandan *et al.* (2010) ศึกษาการใช้เชื้อผสมระหว่าง *Aspergillus niger* และ *S. cerevisiae* สำหรับการผลิตเอทานอลโดยมีแป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้น โดยมีการศึกษาผลของอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ของอาหารหมักต่อความเข้มข้นของเอทานอลและชีวมวล พบว่าอัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมของอาหารหมักมีค่าเท่ากับ 35.2 ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดที่ 8.85 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังได้ทำศึกษาค่าที่เหมาะสมของอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่างและความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส, ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 และ ความเข้มข้นของซบสเตรท 60 กรัมต่อลิตร โดยสารละลายน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 6 ในสภาวะที่เหมาะสม ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดคือ 8.9 กรัมต่อลิตร หลังจากหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Eduardo *et al.* (2018) ศึกษาการหมักน้ำตาลเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เซลล์ตรังรูปของ *Saccharomyces cerevisiae* โดยแคลเซียมอัลจิเนต พบว่า เซลล์ยีสต์ที่ตรังรูปสามารถผลิตเอทานอลได้สูงกว่าเซลล์ยีสต์อิสระ โดยในสภาวะการหมักเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

Amylomyces rouxii TISTR 3182

Aspergillus oryzae F-1 ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมาก

3.2 วัตถุดิบ

มันสำปะหลัง (Cassava) ซื้อมาจากตลาดมินบุรี ในช่วงเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน 2561

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

3.3.2 อาหารเหลว Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) broth

3.3.3 สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1

3.3.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

3.3.5 น้ำกลั่นที่มี Tween 80 ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร

3.3.6 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (Standard glucose solution) ความเข้มข้น 1000

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.7 สารละลายเอทานอล (ethanol 99.9%)

3.3.8 สารละลายโพรพานอล (*n*-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ

- 3.4.1 ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 500 มิลลิลิตร
- 3.4.2 หลอดทดลอง (Test tube)
- 3.4.3 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop) / เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
- 3.4.4 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.4.5 กระจกตวง (Graduated cylinder) ขนาด 100 500 มิลลิลิตร
- 3.4.6 ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50 100 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.4.7 ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.4.8 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.4.9 จุกยางดูดสาร (Rubber bulb)
- 3.4.10 แท่งแก้วคนสาร (Stiring Rod)
- 3.4.11 ขวดเก็บตัวอย่าง (Vial) ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 3.4.12 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)
- 3.4.13 เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Incubator shaker)
- 3.4.14 ตะแกรงร่อนแป้งขนาด 50 เมช
- 3.4.15 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) (TELSTAR Bio II Advance, Spanish)
- 3.4.16 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (MEMMERT INB 500, Germany)
- 3.4.17 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (SARTORIUS TE 2145, Germany)
- 3.4.18 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (SCHOTT CG 842, Germany)
- 3.4.19 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) (OLYMPUS, Japan)
- 3.4.20 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (HERMLE Z 383K, Germany)
- 3.4.21 ไมโครเวฟ (Microwave) (SAMSUNG T.D.S. Triple Distribution System, China)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.21 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) (SHIMADZU UV-1601, Japan)

3.4.22 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) (SHIMADZU GC-2014, Japan)

3.4.23 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) (MEMMERT, Germany)

3.4.24 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (MEMMERT UN 110, Germany)

3.4.25 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) (TOMY High-Pressure steam sterilizer ES-315, Japan)

3.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.5.1 การเตรียมผงมันสำปะหลัง

นำมันสำปะหลังล้างน้ำ ปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จนแห้ง จากนั้นบดให้ละเอียดแล้วกรองผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 เมช ผงมันสำปะหลังที่ได้จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 300 ไมโครเมตร เก็บใส่ถุงและปิดให้สนิท และเก็บไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

3.5.2.1 การเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา

เพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* ลงในอาหารแข็งเอียง PDA (Potato Dextrose Agar) นำไปป่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา โดยการใช้ น้ำกลั่นที่เติม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อหลอด และใช้ loop ขูดให้สปอร์และเส้นใยหลุดจากอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปกรองด้วยกรวยบุสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ไปนับจำนวนสปอร์เริ่มต้นด้วยเครื่องฮีมาไซโตมิเตอร์ให้มีจำนวนสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (นวพร และคณะ, 2559) และนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.2 การเตรียมสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

เชื้อเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 จำนวน 1 loop streak บนอาหารแข็งเลี้ยง YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชื้อเชื้อ 1 loop ลงในอาหารเหลว YPD ที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายเชื้อยีสต์วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 ± 0.02 (นวพร และคณะ, 2559) และนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาต่อไป

3.5.3 การเตรียมอาหารหมัก

นำผงมันสำปะหลังที่ได้จากข้อ 3.5.1 มาเตรียมสารละลายผงมันสำปะหลัง ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส คนตลอดเวลาเป็นเวลา 30 นาที และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.5.4 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182, *Aspergillus oryzae* F-1 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการแบบย่อยแยกจากการหมัก (SHF)

เตรียมสารละลายผงมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส คนตลอดเวลาเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำตาลทรายสปอร์ของเชื้อราปริมาตร 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) นำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำตาลละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) โดยใช้อัตราส่วนเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ 1:1 โดยปริมาตร นำไปบ่มจนครบ 120 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง Gas chromatography (GC) และวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS รวมทั้งค่า pH และคำนวณประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Productivity) โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า สารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088
ไมวารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดการทดลองที่ 2 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* F-1 ตามด้วยสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 3 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ตามด้วยสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

3.5.5 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใส่เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมับกระบวนการหมัก (SSF)

เตรียมสารละลายผงมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส คนตลอดเวลาเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราปริมาณ 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) และเติมสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* ปริมาตร 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) โดยใช้อัตราส่วนเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ 1:1 โดยปริมาตร แล้วนำไปปั่นในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง Gas chromatography (GC) และวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS รวมทั้งค่า pH และคำนวณประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Productivity) โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 2 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* F-1 พร้อมกับสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 3 : ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

3.5.6 ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใส่เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับเซลล์อิสระด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.6.1 การเตรียมเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ตรึงเซลล์โดยใช้โซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยซังโซเดียมอัลจิเนต 3 กรัม และเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เพื่อให้โซเดียมอัลจิเนตละลาย ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตูตสารละลายยีสต์จากข้อ 3.5.2.2 ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้า และใช้อัตราส่วนของโซเดียมอัลจิเนตต่อปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1:1 นำมาหยดลงในแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ (Idris *et al.*, 2006) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แช่เม็ดเจลทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองเอาเฉพาะเม็ดเจลล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำเชื้อตรึงรูปไปใช้ในการหมัก เปรียบเทียบกับการใช้เซลล์อิสระ

3.5.6.2 กระบวนการหมัก

เตรียมสารละลายผงมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส คนตลอดเวลาเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) นำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 จากข้อ 3.5.6.1 นำไปบ่มจนครบ 120 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยเครื่อง Gas chromatography (GC) และวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS รวมทั้งค่า pH และคำนวณประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Productivity) โดยเปรียบเทียบกับเซลล์อิสระ

3.5.7 ขั้นตอนการวิเคราะห์

3.5.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสโดยทำการเจือจางสารละลายกลูโคสด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1000 800 600 400 200 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เขียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ขออนุญาต
กราฟมาตรฐานน้ำตาลแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมตร และทำการเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างโดยทำการเติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรต่อปริมาณตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาทีและหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่น้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่าง

3.5.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณของเอทานอลโดยใช้เครื่อง Gas chromatography (GC)

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากตัวอย่างโดยใช้สารมาตรฐานภายใน (Internal Standard) การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากตัวอย่าง ใช้สารละลายเอทานอล (ethanol 99.9%) เป็นสารละลายมาตรฐานเอทานอล เตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 8 16 20 และ 24 โดยใช้สารละลายโพรพานอล (*n*-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เป็นสารละลายมาตรฐานภายใน และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography เพื่อหาอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของตัวอย่างโดยนำตัวอย่างที่เก็บได้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงมาผสมกับสารละลายโพรพานอลความเข้มข้นร้อยละ 10 และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่าง จากนั้นนำอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างที่คำนวณได้ไปเทียบกับค่าความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลในกราฟมาตรฐานที่สร้างไว้

3.5.7.3 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงที่ 9000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศา

เซลเซียส จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีลักษณะใสก่อนนำไปวัดพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ก่อนนำไปวัดพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.8 การวิเคราะห์สถิติ

มีวิธีการวิเคราะห์ 2 แบบ โดยหัวข้อที่ 3.5.4 และ 3.5.5 จะใช้การทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) สำหรับหัวข้อที่ 3.5.6 ใช้การทดลองวางแผนการทดลองแบบ t-test จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182, *Aspergillus oryzae* F-1 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation หรือ SHF)

จากการทดลองทั้ง 3 ชุดการทดลอง การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือในช่วง 0 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำมากอยู่ในช่วง $1.05 \pm 0.01 - 1.11 \pm 0.01$ กรัมต่อลิตร เนื่องจากการเตรียมสารละลายน้ำแป้งโดยการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เป็นวิธีการลดความหนืดของน้ำแป้งลงและทำให้เอนไซม์ย่อยได้ง่ายขึ้นแต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นยังมีน้อย และนำสารละลายน้ำแป้งใส่ขวดรูปชมพู่ปริมาตร 120 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเติมเชื้อรา ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วง 24 - 48 ชั่วโมงของการหมัก ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 15 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 โดยปริมาตร) นำไปบ่มในสถานะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บผลทุก 24 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่า ชุดการทดลองที่ 2 (เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) และชุดการทดลองที่ 3 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 โดยพบว่าชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 31.80 ± 0.01 27.35 ± 0.01 และ 30.75 ± 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Aunstrup (1979) รายงานว่าเชื้อรา *A. oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเชื้อรา *A. rouxii* สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีคุณสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยไฮโดรไลซ์พันธะแอลฟา 1,4-glycosidic bond ในโมเลกุลของแป้งให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงได้น้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทส และโมโนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส ขณะที่เอนไซม์กลูโคอะไมเลสมีคุณสมบัติไฮโดรไลซ์สายพอลิเมอร์ของแป้งได้ทั้งที่พันธะไกลโค

ไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 และ 1,6-glycosidic bond ได้น้ำตาลกลูโคส (Doman *et al.*, 2004) มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ผลทำให้เชื้อรา *A. rouxii* ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ดีกว่าเชื้อรา *A. oryzae* หลังจากนั้นในชั่วโมงที่ 48 มี
ไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง โดยในชั่วโมงที่ 72 ทั้ง 3 ชุดการทดลองปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็ว และลดลงจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก เนื่องจากเชื้อยีสต์ใช้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นซับสเตรทในการผลิตเอทานอลขณะเดียวกันเชื้อราที่ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)

ชุดการทดลอง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	1.05±0.01 ^c	26.17±0.00 ^a	31.80±0.01 ^a	7.80±0.01 ^c	2.20±0.00 ^c	1.27±0.00 ^c
2	1.11±0.01 ^b	20.50±0.00 ^c	27.35±0.01 ^c	14.21±0.01 ^a	7.19±0.00 ^a	5.11±0.01 ^a
3	1.09±0.02 ^a	22.37±0.01 ^b	30.75±0.01 ^b	12.90±0.00 ^b	5.72±0.00 ^b	3.49±0.00 ^b

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088

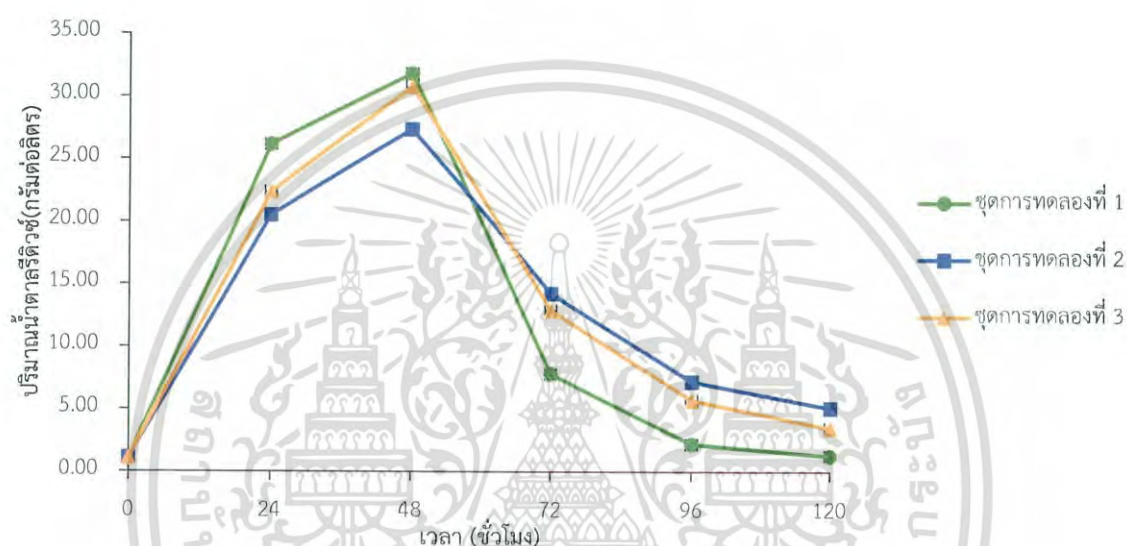
เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลพบว่าช่วงเวลา 0 – 48 ชั่วโมง ซึ่งเติมเชื้อราที่มีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.61±0.01 - 2.44±0.07 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นเนื่องจากเชื้อราที่ใช้ในการทดลอง *A. rouxii* และ *A. oryzae* สามารถใช้น้ำตาลเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้เล็กน้อย จึงมีผลให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Saito *et al.*, 2004 ; Carlsen *et al.*, 1996) เมื่อเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในชั่วโมงที่ 48 เชื้อยีสต์ใช้น้ำตาลที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นเอทานอล ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 โดยพบว่าชุดการทดลองที่ 1 (เติม *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 29.26±0.00 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 3 (เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอล 14.21±0.01 กรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 2 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอล 7.19±0.00 กรัมต่อลิตร ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A. rouxii TISTR 3182 พร้อมกับ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอล 21.48 ± 0.63 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 120 สำหรับชุดการทดลองที่ 2 (เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอลต่ำที่สุด 20.60 ± 0.70 กรัมต่อลิตร ทุกชุดการทดลองปริมาณเอทานอลจะค่อยๆ ลดลงจนสิ้นสุดการหมัก เนื่องจากปริมาณเอทานอลสูงจะมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ในกระบวนการหมัก ทำให้ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ลดลง (ชัยญา และเนตรนภิศ, 2555) แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)

ชุดการทดลอง	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	0	0.69 ± 0.02^a	2.44 ± 0.07^a	27.37 ± 0.01^a	29.26 ± 0.00^a	25.54 ± 0.60^a
2	0	0.61 ± 0.01^b	2.27 ± 0.17^b	13.10 ± 0.01^c	20.12 ± 0.00^c	20.60 ± 0.70^b
3	0	0.68 ± 0.04^a	2.24 ± 0.06^c	14.65 ± 0.00^b	21.31 ± 0.00^b	21.48 ± 0.63^b

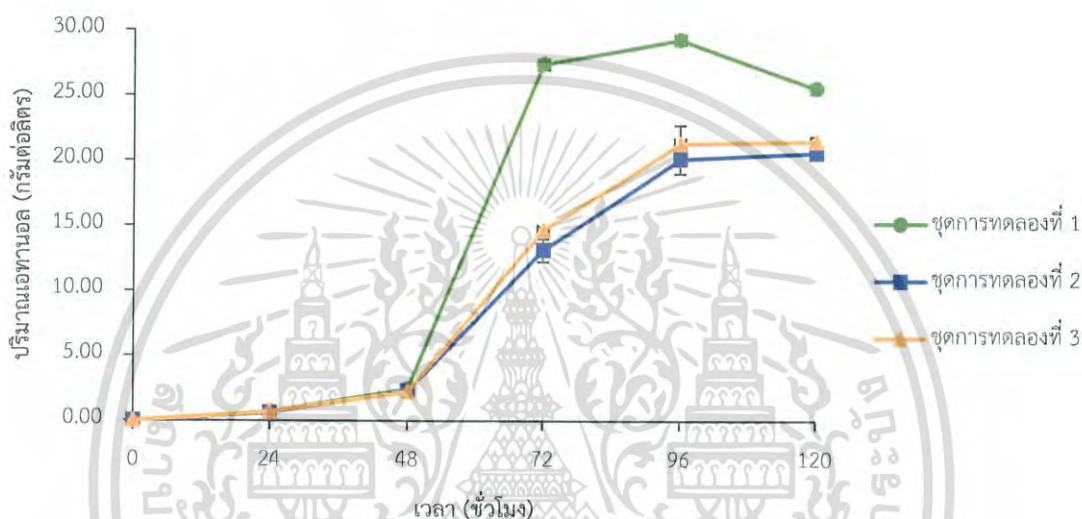
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย
S. cerevisiae TISTR 5088

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

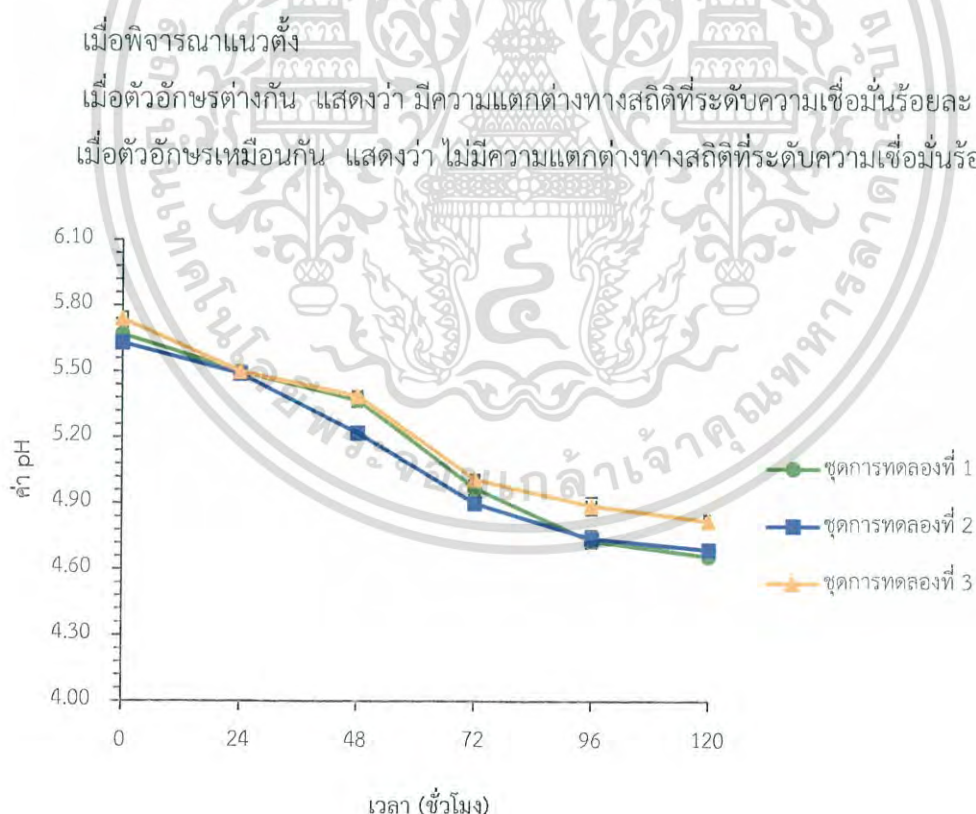
การเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการหมักทั้ง 3 ชุดการทดลองด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF) พบว่าการเปลี่ยนแปลงพีเอชของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน โดยชั่วโมงที่ 0 ของการหมักพีเอชมีค่าอยู่ในช่วง $5.63 \pm 0.02 - 5.74 \pm 0.05$ ซึ่งเชื้อรา *A. oryzae* สามารถเจริญได้ดีในช่วงพีเอช 5-7 และเชื้อรา *A. rouxii* มีการพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 4.5 (Arup et al., 2017 ; Astrid et al., 2017) ซึ่งค่าพีเอชจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังการเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในชั่วโมงที่ 48 เนื่องจากกระบวนการหมักของเชื้อยีสต์ นอกจากจะผลิตเอทานอลแล้วยังผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดซัคซินิกออกมาด้วย (Martha et al., 2016) มีผลทำให้อาหารหมักมีพีเอชลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก วันสุดท้ายของการหมัก (120 ชั่วโมง) ชุดการทดลองที่ 1 (เติม *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีพีเอชต่ำสุด 4.66 ± 0.03 แสดงดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3

เอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าดัดแปลงไปใช้ประโยชน์ในการค้า
 ไม่มีการเผยแพร่สิ่งใดที่สงวนไว้ทั้งหมดให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)

ชุดการทดลอง	ค่า pH					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	5.67±0.05 ^{ab}	5.50±0.03 ^b	5.37±0.05 ^a	4.97±0.05 ^a	4.73±0.05 ^b	4.66±0.03 ^b
2	5.63±0.02 ^b	5.49±0.03 ^b	5.22±0.03 ^b	4.90±0.02 ^b	4.74±0.07 ^b	4.69±0.03 ^b
3	5.74±0.05 ^a	5.60±0.03 ^a	5.39±0.03 ^a	5.01±0.03 ^a	4.89±0.07 ^a	4.82±0.05 ^a

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วย

กระบวนการหมักแบบ SHF งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF ทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 1 (เติม *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงที่สุด โดยมีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 27.37 ± 0.01 กรัมต่อลิตร และมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.38 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 3 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 21.31 ± 0.00 กรัมต่อลิตร มีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.22 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับชุดการทดลองที่ 2 (เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 ตามด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลต่ำสุด โดยมีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 96 มีค่าเท่ากับ 20.12 ± 0.00 กรัมต่อลิตร มีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.21 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยแยกจากการหมัก (SHF)

ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
1 : <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	72	27.37 ± 0.01	0.38
2 : <i>A. oryzae</i> F-1 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	96	20.12 ± 0.00	0.21
3 : <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 + <i>A. oryzae</i> F-1 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	96	21.31 ± 0.00	0.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182, *Aspergillus oryzae* F-1 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharrification and Fermentation หรือ SSF)

จากการทดลองทั้ง 3 ชุดการทดลอง การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยในช่วงเวลาที่ 0 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำมากอยู่ในช่วง $1.03 \pm 0.01 - 1.19 \pm 0.01$ กรัมต่อลิตร ภายหลังจากเติมเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (ชุดการทดลองที่ 1) เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (ชุดการทดลองที่ 2) และเติม *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (ชุดการทดลองที่ 3) ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดลองที่ 1 จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด 17.02 ± 0.88 กรัมต่อลิตร ในช่วงเวลาที่ 24 รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 3 และชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด 14.14 ± 0.07 กรัมต่อลิตร และ 13.08 ± 0.22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อ *A. rouxii* สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสไมเลสที่มีคุณสมบัติไฮโดรไลซ์สายพอลิเมอร์ของแป้งได้ทั้งที่พันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 และ 1,6-glycosidic bond ได้น้ำตาลกลูโคสขณะที่ *A. oryzae* มีคุณสมบัติผลิตเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งจะย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโมเลกุลที่เล็กลง ได้แก่ มอลโทสและกลูโคส จึงทำให้ *A. rouxii* ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ดีกว่า *A. oryzae* หลังจาก 24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก *S. cerevisiae* ที่เติมพร้อมกับเชื้อราจะใช้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนเป็นเอทานอล ขณะเดียวกันเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง แสดงดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.4

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

ชุดการทดลอง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	1.03 ± 0.01^c	17.02 ± 0.88^a	9.55 ± 0.14^c	8.85 ± 0.08^c	3.92 ± 0.03^c	3.20 ± 0.08^b
2	1.10 ± 0.01^b	13.08 ± 0.22^c	11.58 ± 0.04^a	9.55 ± 0.08^a	5.25 ± 0.03^a	4.59 ± 0.16^a

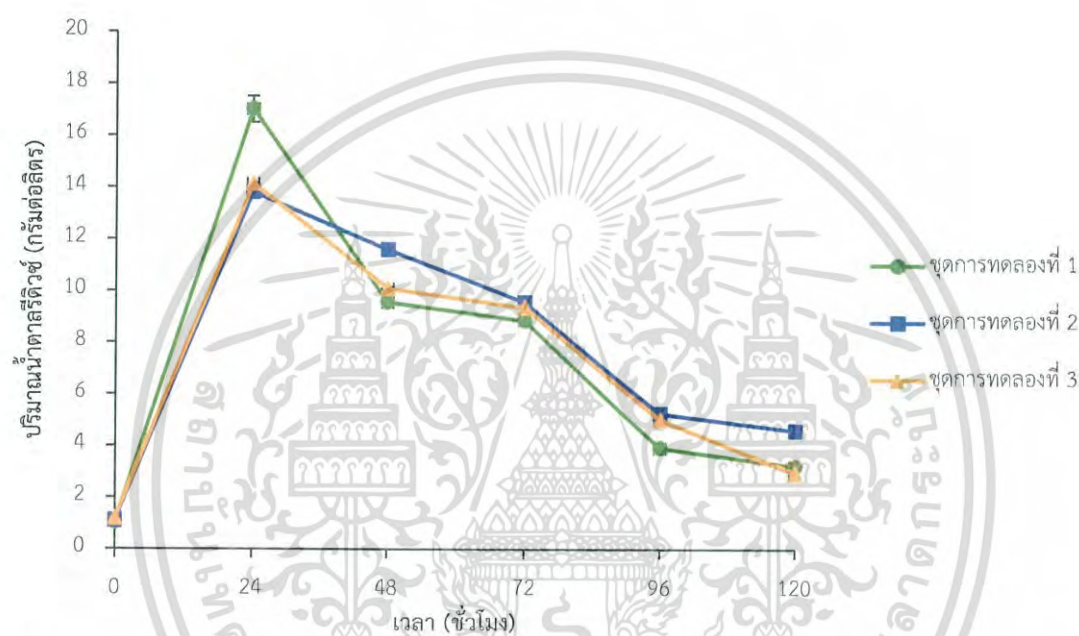
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น และผู้จัดทำไม่จำเป็นต้องรับผิดชอบต่อความเสียหายใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ
S. cerevisiae TISTR 5088

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล พบว่าทั้ง 3 ชุดการทดลองปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าและมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 โดยพบว่าชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณเอทานอลสูงสุด 4.92 ± 0.51 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 3 และชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล 3.88 ± 0.72 และ 3.73 ± 0.45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลง แสดงดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

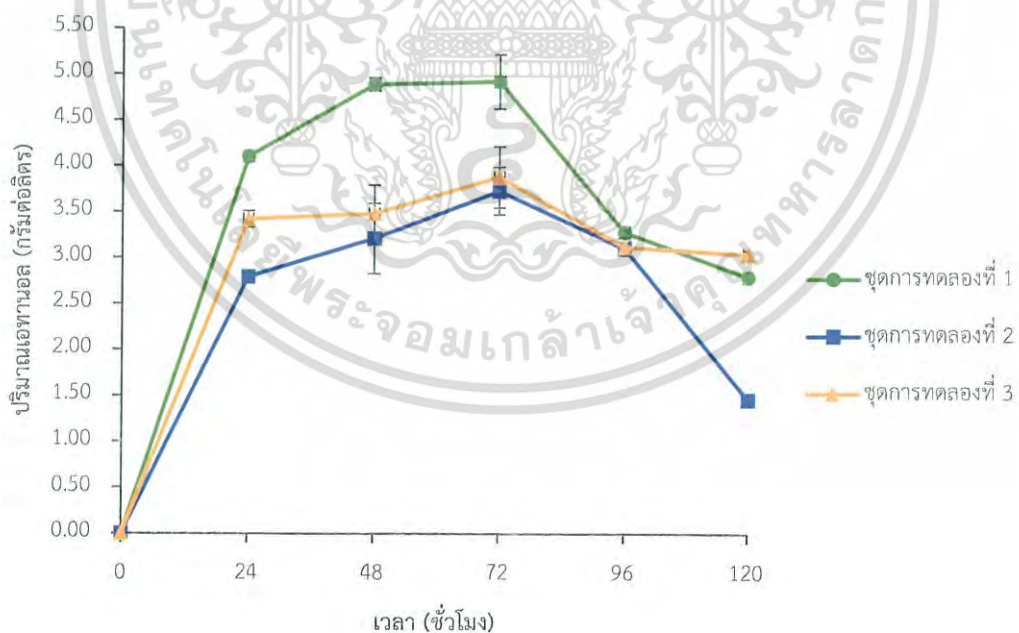
ชุดการทดลอง	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	0	4.10±0.01 ^a	4.89±0.13 ^a	4.92±0.51 ^a	3.28±0.01 ^a	2.79±0.06 ^b
2	0	2.79±0.03 ^c	3.21±0.66 ^b	3.73±0.45 ^b	3.10±0.67 ^b	1.46±0.12 ^c
3	0	3.42±0.15 ^b	3.48±0.54 ^b	3.88±0.72 ^b	3.12±0.05 ^b	3.04±0.07 ^a

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักผงมันสำปะหลังด้วย

กระบวนการหมักแบบ SSF

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักทั้ง 3 ชุดการทดลองด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF พบว่าการเปลี่ยนแปลงพีเอชของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน โดยวันที่ 0 ของการหมักพีเอชมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 5.62 ± 0.07 - 5.75 ± 0.08 หลังจากนั้นค่าพีเอชจะลดลงตลอดระยะเวลาของการหมัก เนื่องจากเชื้อยีสต์ใช้น้ำตาลเปลี่ยนเป็นเอทานอลและเกิดกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในระหว่างกระบวนการหมัก จึงทำให้ค่าพีเอชลดลง แสดงดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

ชุดการทดลอง	ค่า pH					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
1	5.75 ± 0.08^a	5.66 ± 0.05^a	5.38 ± 0.04^a	5.13 ± 0.05^a	4.96 ± 0.07^{ab}	4.88 ± 0.06^a
2	5.62 ± 0.07^a	5.46 ± 0.12^b	5.32 ± 0.03^a	5.09 ± 0.07^a	4.88 ± 0.04^b	4.79 ± 0.04^b
3	5.69 ± 0.13^a	5.56 ± 0.08^{ab}	5.37 ± 0.06^a	5.20 ± 0.06^a	5.07 ± 0.06^a	4.90 ± 0.03^a

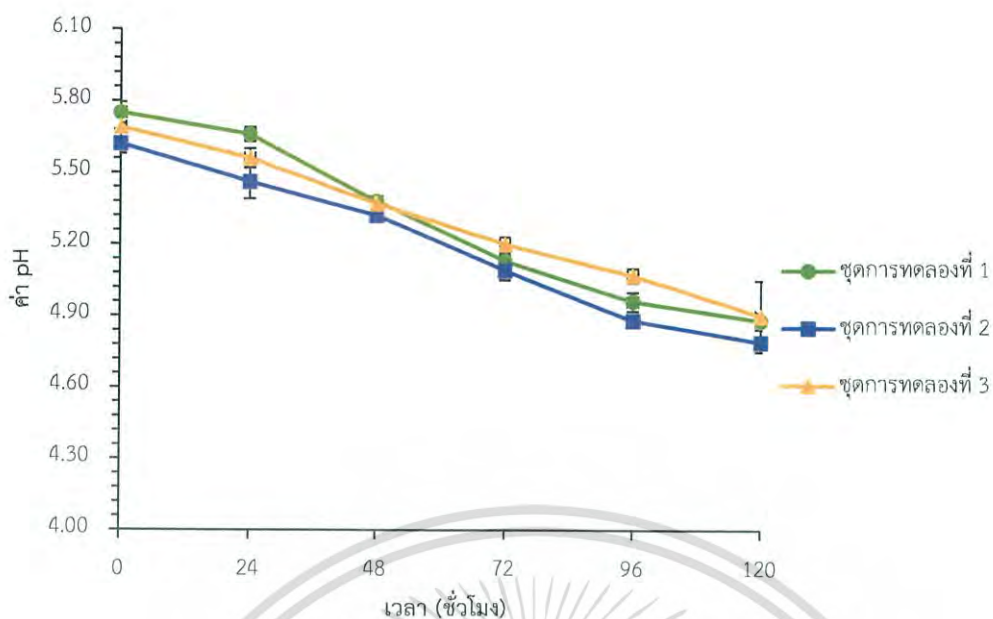
หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
 ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088

เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 1 (เติม *A. rouxii* TISTR 3182 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงที่สุด โดยมีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 4.10 ± 0.01 กรัมต่อลิตร และมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.17 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง รองลงมาเป็นชุดการทดลองที่ 3 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 3.42 ± 0.15 กรัมต่อลิตร มีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สำหรับชุดการทดลองที่ 2 (เติมเชื้อ *A. oryzae* F-1 พร้อมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) มีค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลต่ำสุด โดยมีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 2.79 ± 0.03 กรัมต่อลิตร มีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.12 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
1 : <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	24	4.10±0.01	0.17
2 : <i>A. oryzae</i> F-1 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	24	2.79±0.03	0.12
3 : <i>A. rouxii</i> TISTR 3182, <i>A. oryzae</i> F-1 ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	24	3.42±0.15	0.14

4.3 เปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182, *Aspergillus oryzae* F-1 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF

จากการศึกษาผลการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF เทียบกับกระบวนการหมักแบบ SSF พบว่าชุดการทดลองที่ 1 (เติม *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุดทั้งการหมักแบบ SHF และ SSF โดยการหมักแบบ SHF ได้เอทานอลสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 96 มีค่าเอทานอลเท่ากับ 29.26±0.00 กรัมต่อลิตร ซึ่งการหมักแบบ SSF ได้ค่าเอทานอลสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 72 มีค่าเอทานอลเท่ากับ 4.92±0.51 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองทำให้ทราบว่ากระบวนการหมักแบบ SHF ได้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบ SSF ในสภาวะการหมักและเชื้อที่ใช้ในการหมักเหมือนกัน ซึ่งไม่ว่าจะเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลสูงสุดหรือค่าประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ของกระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลและค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักแบบ SSF ในทางอุตสาหกรรมจะใช้ระยะเวลาในการหมัก

สั้นกว่ากระบวนการหมักแบบ SHF และยังมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ค่าใช้จ่ายในการเตรียมการต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
กว่า มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนน้อยกว่ากระบวนการหมักแบบ SHF (Keng et al., 2012) และ
ไม่รวมกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเกิดกระบวนการหลาย ๆ กระบวนการไปพร้อมกันในเวลาเดียวได้ คือน้ำตาลกลูโคสจะเกิดขึ้นในกระบวนการ saccharification ไปพร้อมกับการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยยีสต์ ทำให้ไม่เกิดปัญหาของความดันออสโมติกซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ยับยั้งกระบวนการหมักเอทานอลอีกด้วย (D. Amore *et.al.*, 1988) แต่จากผลการทดลองที่ได้ศึกษาการเปรียบเทียบกระบวนการหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF พบว่ากระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบ SSF เนื่องจากกระบวนการหมักแบบ SSF ใส่เชื้อราและเชื้อยีสต์พร้อมกัน ทำให้เชื้อรายังไม่ย่อยแบ่งเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล ซึ่งเป็นผลทำให้เชื้อยีสต์ไม่สามารถใช้น้ำตาลในการหมักเอทานอลได้ รวมทั้งเชื้อยีสต์ไม่มีความสามารถในการย่อยแบ่ง จึงทำให้ได้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าการหมักแบบ SHF ดังนั้นจึงเลือกใช้กระบวนการหมักแบบ SHF มาใช้ในการศึกษาในหัวข้อถัดไป สำหรับชุดการทดลองที่จะนำไปใช้ในการศึกษาต่อไปคือ ชุดการทดลองที่ 1 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) ของกระบวนการหมัก SHF ซึ่งจะมีปริมาณเอทานอลสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182, *A. oryzae* F-1 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF

กระบวนการหมัก	ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)
กระบวนการย่อยแบ่งแยก จากกระบวนการหมัก (SHF)	ชุดการทดลองที่ 1	96	29.26±0.00
	ชุดการทดลองที่ 2	120	20.60±0.70
	ชุดการทดลองที่ 3	120	21.48±0.63
กระบวนการย่อยแบ่ง พร้อมกระบวนการหมัก (SSF)	ชุดการทดลองที่ 1	72	4.92±0.51
	ชุดการทดลองที่ 2	72	3.73±0.45
	ชุดการทดลองที่ 3	72	3.88±0.72

หมายเหตุ : ชุดการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 3 ใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่ในวงกว้าง

ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเซลล์ตรึงรูปของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

จากการเปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังของเซลล์ยีสต์อิสระด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF เทียบกับการกระบวนการหมักแบบ SSF พบว่าการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักแบบ SSF และจากผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ 1 (เติมเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088) ของกระบวนการหมัก SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าอีก 2 ชุดการทดลอง ดังนั้นจึงเลือกใช้ชุดการทดลองที่ 1 มาหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF จากการทดลองเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 0) ของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกัน คือมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.0 ± 0.00 และ 1.03 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 48 ชุดการทดลองที่ใช้เซลล์อิสระของยีสต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 31.67 ± 0.42 กรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ใช้เซลล์ตรึงรูปของยีสต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 30.97 ± 0.95 จากนั้นมีการเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในชั่วโมงที่ 48 ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์ของเซลล์อิสระลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 120 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือน้อยมากเท่ากับ 1.29 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ขณะที่เซลล์ตรึงรูปของยีสต์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆ ลดลงและในวันสุดท้ายของการหมัก (120 ชั่วโมง) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือค่อนข้างสูงเท่ากับ 16.05 ± 0.14 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.7

สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลพบว่าช่วงเวลา 0 - 48 ชั่วโมง ซึ่งเติมเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 มีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.68 ± 0.01 - 2.73 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นเนื่องจากเชื้อราที่ใช้ในการทดลอง *A. rouxii* สามารถใช้น้ำตาลเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้เล็กน้อย จึงมีผลให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Saito *et.al.*, 2004) เมื่อเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในชั่วโมงที่ 48 พบว่าการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเซลล์อิสระของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* หมักร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดของเซลล์อิสระเท่ากับ 29.82 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 และปริมาณเอทานอลสูงสุดของเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เท่ากับ 17.46 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.9 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nand Lal Singh

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำเอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่ผ่านการคัดค้านจากเจ้าของลิขสิทธิ์ หรือการนำเอกสารฉบับนี้ไปใช้โดยไม่ผ่านการคัดค้านจากเจ้าของลิขสิทธิ์

et al. (2009) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลของเซลล์ตรึงรูปมีปริมาณเอทานอลน้อยกว่าเซลล์อิสระอาจเกิดจากข้อจำกัดในการถ่ายเทมวลของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ที่ถูกตรึงรูปเนื่องจากเม็ดเจลที่เป็นตัวกีดขวางของเซลล์ตรึง ทำให้การถ่ายเทมวลของสารอาหารผ่านเข้าสู่เซลล์ตรึงรูปได้ยากขึ้นและทำให้กระบวนการที่ยีสต์จะเปลี่ยนจากน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ช้าลง ส่งผลให้ปริมาณของเอทานอลที่ได้จากเซลล์ตรึงรูปมีปริมาณน้อยกว่าเซลล์อิสระ (Wendhausen, 1998) แต่เซลล์ตรึงรูปมีข้อได้เปรียบมากกว่าเซลล์อิสระอยู่หลายประการ เช่น ความหนาแน่นที่สูงขึ้นของเซลล์ตรึงรูปต่อปริมาตรถังหมักสามารถแยกเซลล์ออกจากอาหารหมักได้ง่ายกว่าเซลล์อิสระ สามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักได้หลายครั้ง ลดระยะเวลาการปรับตัวในช่วง lag phase ลดเวลาการเกิดปฏิกิริยาและควบคุมการเจริญของเชื้อเนื่องจากในเม็ดเจลมีพื้นที่จำกัด

ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

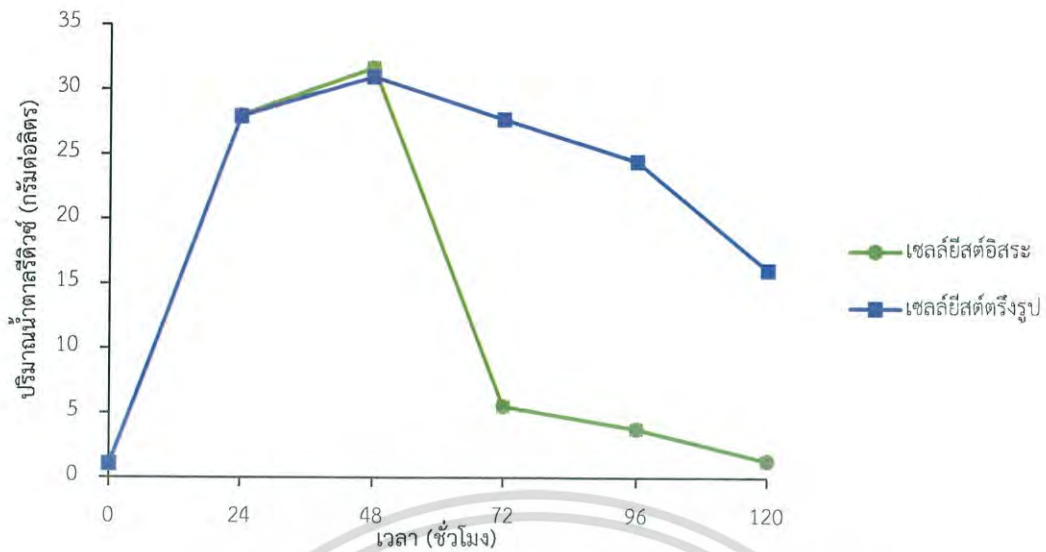
ชุดการทดลอง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วย เซลล์อิสระของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1.04±0.01 ^a	28.00±0.30 ^a	31.67±0.42 ^a	6.58±0.15 ^b	2.58±0.03 ^b	1.29±0.03 ^b
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1.03±0.01 ^b	27.92±0.38 ^a	30.97±0.95 ^a	27.70±0.22 ^a	24.45±0.13 ^a	16.05±0.14 ^a

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์รีงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์รีงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ชุดการทดลอง	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ อิสระของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	0	0.68±0.01 ^a	2.73±0.26 ^a	27.91±0.55 ^a	29.82±0.05 ^a	25.58±0.68 ^a
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ รีงรูปของ <i>S. cerevisiae</i>	0	0.70±0.14 ^a	2.44±0.11 ^a	6.16±1.56 ^b	11.00±1.49 ^b	17.46±0.26 ^b

เอกสาร TISTR 5088 ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างกระบวนการหมักโดยใช้เซลล์ยีสต์อิสระและเซลล์ยีสต์ตรึงรูปด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF พบว่าการเปลี่ยนแปลงพีเอชของทั้ง 2 ชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน ค่าพีเอชเริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 0) ของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าพีเอชใกล้เคียงกันคือ 5.49 ± 0.02 และ 5.52 ± 0.03 ตามลำดับ เมื่อเริ่มเข้าสู่กระบวนการหมักค่าพีเอชของเซลล์อิสระมีแนวโน้มลดลงมากกว่าเซลล์ตรึงรูปจนมีค่าพีเอชต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 120 คือมีค่าพีเอช 4.69 ± 0.03 เนื่องจากเซลล์ตรึงรูปมีข้อจำกัดในการถ่ายเทมวลของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ที่ถูกตรึงรูปโดยเม็ดเจลเป็นตัวกีดขวางของเซลล์ตรึง ทำให้เชื้อยีสต์สร้างสารอินทรีย์ กรดอินทรีย์ รวมถึงผลิตภัณฑ์เอทานอลออกมาน้อย ทำให้ค่าพีเอชระหว่างการหมักลดลงช้า ๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก ในชั่วโมงที่ 120 เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีค่าพีเอช 4.81 ± 0.02 แสดงดังตารางที่ 4.12 และ รูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เกิดขึ้นได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

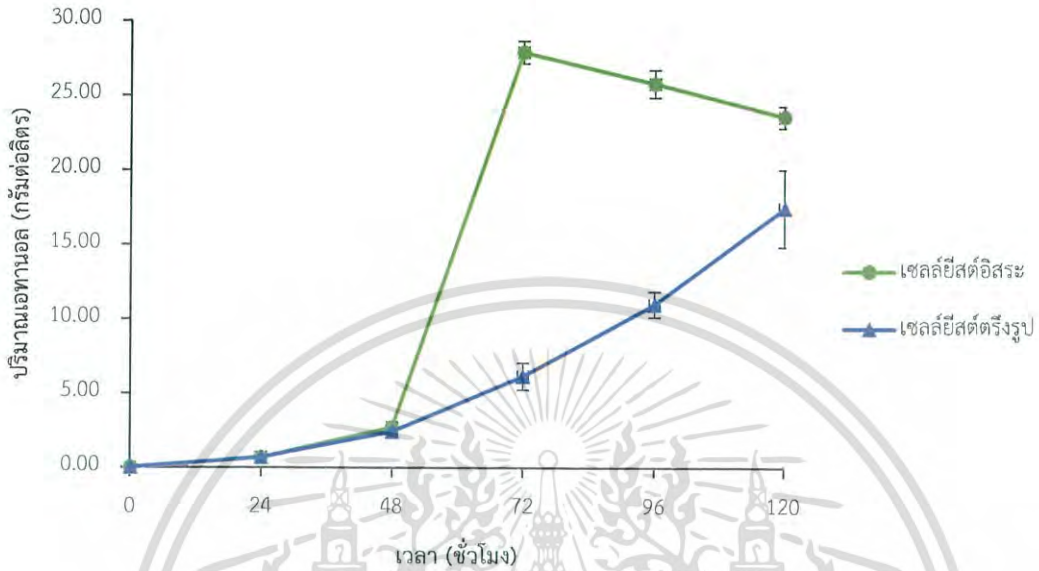
ชุดการทดลอง	ค่า pH					
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ อิสระของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	5.49 ± 0.02^a	5.28 ± 0.06^a	5.13 ± 0.05^a	4.89 ± 0.04^b	4.76 ± 0.05^b	4.69 ± 0.03^b
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	5.52 ± 0.03^a	5.32 ± 0.05^a	5.17 ± 0.04^a	4.97 ± 0.05^a	4.88 ± 0.05^a	4.81 ± 0.02^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

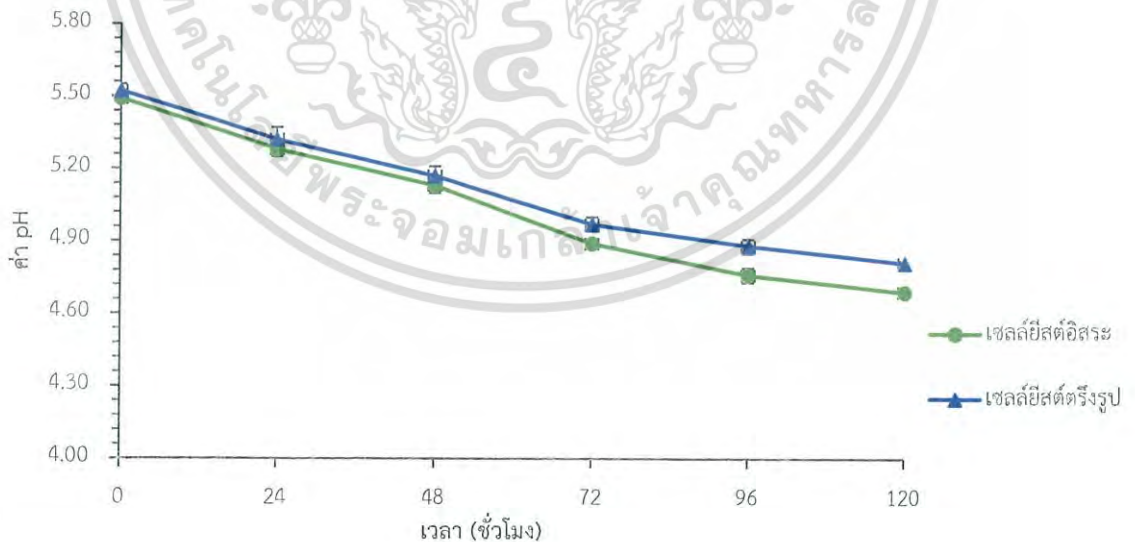
หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

เมื่อตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไขมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลัง

ด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารของ TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF พบว่าการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เซลล์อิสระมีอัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น อย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่ 72 มีค่าเท่ากับ 27.91 ± 1.31 กรัมต่อลิตร และมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 อัตราการเพิ่มของปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่ 120 มีค่าเท่ากับ 17.46 ± 4.50 กรัมต่อลิตร และมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.13 จากผลการทดลองพบว่าการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เซลล์ยีสต์อิสระมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์

ตารางที่ 4.13 ค่าประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้จากกระบวนการหมักผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์อิสระของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	72	27.91 ± 0.55	0.39
<i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ตามด้วยเซลล์ตรึงรูปของ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	120	17.46 ± 0.26	0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษากระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลัง โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เปรียบเทียบระหว่างกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) จากการทดลองพบว่ากระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมักของชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นกระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 29.26 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมง 96 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.38 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมักของชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นกระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 4.92 ± 0.51 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมง 72 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล 0.17 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบกระบวนการหมักสองรูปแบบของกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) พบว่ากระบวนการย่อยแยกกับกระบวนการหมักมีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอลได้ดีกว่ากระบวนการหมักแบบย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก

จากผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้เซลล์อิสระของ *S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

กระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันสำปะหลังด้วยเซลล์อิสระของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้เซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดของเซลล์อิสระ 29.82 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และปริมาณเอทานอลสูงสุดของเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* 17.46 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรพัฒนาสภาวะในกระบวนการหมัก โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสและนำมาสกัดเพื่อให้ได้เอนไซม์บริสุทธิ์แล้วนำมาใช้ในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล เพื่อหลีกเลี่ยงสภาวะการเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสมของเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก
2. ควรศึกษาปัจจัยที่ทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น เช่น ค่าพีเอชของอาหารหมัก เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญเชื้อราและเชื้อยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2554. “เชื้อเพลิงเอทานอล”. คู่มือการพัฒนาและการลงทุนผลิตพลังงานทดแทน ชุดที่7.

จำลอง เจียมจันรรจา. 2547. มันสำปะหลังในพืชเศรษฐกิจ. พิมพ์ครั้งที่ 2, หน้า 104-116. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชญญา วงศ์จันทร์ และ เนตรนพิศ น้อยพิน. 2555. “การพัฒนากระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากส่วนเหลือทิ้งของขนุนด้วยเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์ขนาดกลาง”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

ธราพงษ์ วิจิตตานต์ นวดล เหล่าศิริพจน์ และ ประเสริฐ เรียบร้อยเจริญ. 2553. “รายงานสถานภาพของงานวิจัยและผลิตเอทานอล ไบโอดีเซล ไบโอแก๊ส และน้ำมันชีวภาพในประเทศไทย”. สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว).

ธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2543. “เชื้อเพลิงเอทานอลจากวัสดุการเกษตร แหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ของคนไทย”. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 15(3) : 5-8.

นพพร รุ่งโรจน์มงคล วิชาพรธรรม ชนนานาฏ และสุนันฎฐา ศิลป์วัฒนจินดา. 2559. “การผลิตไบโอเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2548. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่5. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. 2553. “ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเอทานอลและกำหนดมาตรฐานอุตสาหกรรมเอทานอลใช้ทางเภสัชกรรม”.

ประเวศ ต้อยเต็มวงศ์ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร ปิยรัตน์ บุญแสวง และ ธีรภัทร ศรีนรคุตร. 2552. “การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส”. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ปิยารัตน์ โยวะผุย และ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร. 2551. “การผลิตเอทานอลจากเปลือกมันสำปะหลังโดยการแปรรูปน้ำตาลร่วมกับการหมัก”. วารสารวิจัย ปีที่1 ฉบับที่2. คณะทรัพยากรชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์ และ วิภาวดี แมนมนตรี. 2534. แบคทีเรียวิทยาคลินิกพื้นฐาน. พิมพ์ครั้งที่

1. ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก. คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พลกฤษณ์ จิตรโธ, สมรึก ทองสุญ และ อนงค์นาถ แสนหอม. 2559. “การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกาก

มันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* และเชื้อรา *Amylomyces rouxii*”. การ

ประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 12. คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร

ศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

วนิดา ปานอุทัย นิคม แผลมสัก สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล วีรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา และ ประมุข ภาระกุล

สุขสถิตย์. 2553. “การผลิตเอทานอลจากไมยคาลิปติสโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและ

หมักพร้อมกัน”. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรลักษณ์ คงจินตามณี. 2556. “การผลิตเอทานอลจากแกนข้าวโพด”. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตร

มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศณูมล จันบาง นาดาชา คาร และ อุษารัตน์ คำทับทิม. 2557. “การเตรียมไบโอเอทานอลจาก

กระเจบโดยกระบวนการหมักแบบแยกกระบวนการผลิต”. วารสารวิจัย ปีที่7 ฉบับที่1.

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.

สาวิตรี ลิ้มทอง. 2540. ยีสต์และยีสต์เทคโนโลยี. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวิตรี ลิ้มทอง. 2549. ยีสต์ : ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์เกษตรศาสตร์.

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมใจ ศิริโชค. 2544. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์พิมพ์ดี จำกัด. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะ

วิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ประพัฒน์ พัวพันวัฒนะ และ ไอรยา สิทธิอำพรพรรณ. 2556. “การผลิตเอทานอลชีวภาพจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยกรดเจือจางและมีการเสริมสารอาหารด้วยน้ำมะพร้าวโดยการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* SC90”. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ครั้งที่ 2. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อโณทัย คมเสวต. 2530. “การศึกษาการเจริญของยีสต์อาหารสัตว์โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบ”. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิขญา จันทรมันน์ สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล และ กิติพงษ์ รัตนภรณ์. 2558. “การหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* SC90 และการหมักด้วยจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ร่วมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่มีกลูโคสและไซโลส”. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 53. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

องค์การสุรา กรมสรรพสามิต. 2560. “โครงการศึกษาปริมาณและการใช้งานแอลกอฮอล์ในประเทศไทย”. ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Astrid, M., Rita, A. and Tania S.U. 2017. “Effect of pH, temperature and medium agitation rate in production of AA, DHA, EPA from *Aspergillus oryzae* with submerged fermentation”. *Journal of Earth and Environmental Sciences*. 105 : 1-7.

Arup, J.D., Tatsuro, M. and Sankar, C.D. 2017. “Amylolytic fungi in starter cakes for rice beer production”. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 63 : 236-245.

Anselm, P.M., Ken, M.M., Hosea, E.E., Gashaw, M., Linda, O., and Achu, N. 2016. “Production of raw starch-degrading enzyme by *Aspergillus* sp. and its use in conversion of inedible wild cassava flour to bioethanol”. *Bioscience and Bioengineering*. 121(4) : 457 – 463.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Aunstrup, K. 1979. "Production, isolation and economics of extracellular enzymes".

Applied Biochemistry and Bioengineering. 2(1): 27 – 69.

Bandaru, V.V.R., Somalanka, S.R., Mendu, D.R., Madicherla, N.R. and Chityala, A. 2006.

"Optimization of fermentation conditions for the production of ethanol from sago starch by co-immobilized amyloglucosidase and cells of *Zymomonas mobilis* using response surface methodology". *Enzyme and Microbial Technology*. 38: 209-214.

Boonsawang, P., Subkaree, Y. and Srinorakutara, T. 2012. Ethanol production from

palm pressed fiber by prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation (SSF). *Biomass and Bioenergy*. 40: 127-132.

Carlsen, M., Spohr, A., Nielsen, J. and Villadsen, J. 1995. "Morphology and physiology

of an α -amylase producing strain of *Aspergillus oryzae* during batch cultivations". *Applied Biochemistry and Bioengineering*. 49(3): 266–276.

Chuenjit, C., Pao-Chuan, H., and Shyang-Chwen, S. 2012. "Production of enzyme and

growth of *Aspergillus oryzae* S. on soybean koji". *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 2(4): 228-231.

D. Amore, T., Panchal, C. J., Russeil, I. and Stewart, G.G. 1988. "International bioenergy

transport costs and energy balance". *Biomass and Bioenergy*. 29(2) : 114-134.

Doman-Pytka, M. and Bardowski, J. 2004. "Pullulan degrading enzyme of bacterial

origin". *Critical Reviews in Microbiology*. 30(1): 107 – 121.

Dunn, I. J., Heinzle, E., Ingham, J. and Prenosil, J.E. 2003. **Biological reaction**

engineering. 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim. 58-60.

Ebrahimi, F., Khanahmadi, M., Roodpayma, S. and Taherzadeh, M.J. 2008. "Ethanol

production from bread residues". *Biomass Bioenergy*. 32: 333-337.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Goffeau, A. 2005. "Genomics: Multiple moulds". *Nature Research*. 438: 92–93.
- Hasirci, N., Aksoy, S. and Tunturk, H. 2006. "Activation of poly (dimmer acid-co-alkyl polyamine) particles for covalent immobilization of α -amylase". *Reactive Functional Polymers*. 66: 1546-1551.
- Ira, H. 1988. "Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Microbiological reviews*. 52(4): 536-553.
- Jamia, L., Ettayebi, K., Yamani, J.E.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.
- Keng, S., Smoski, M. J., Robins, C. J., Ekblad, A. G., and Brantley, J. G. 2012. "Mechanisms of change in mindfulness-based stress reduction: Self-compassion and mindfulness as mediators of intervention outcomes." *Journal of Cognitive Psychotherapy*. 26(3): 270–280.
- Masayuki, M., Osamu, Y., and Katsuya, G. 2008. "Genomics of *Aspergillus oryzae*: Learning from the history of koji mold and exploration of its future". *Journal of Genetics and DNA Research*. 15: 173–183.
- Martha, E., Jesus, B., Olga, M., Silvia, M. and Nicolas, O. 2016. "Performance of mixtures of *Saccharomyces* and non -*Saccharomyces* native yeasts during alcoholic fermentation of *Agave duranguensis* juice". *Food Microbiology*. 54(1) : 91 – 97.
- Miller, G.L. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar". *Analytical Chemistry*. 31: 426-428.
- Montesinos, T. and Navarro, J.M. 2000. "Production of alcohol from raw wheat flour by amyloglucosidase and *Saccharomyces cerevisiae*". *Enzyme and Microbial Technology*. 27: 362-370.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Montesde Oca, R., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Monroy, H., Perez, L.S., Zamora, J.L. and Gutierrez, A. (2016). **Yeast: description and structure**. Chapter 2, In book: *Yeast additive and animal production*. 14-20.
- Nand, L.S., Pradeep, S. and Mishra, P.K. 2009. "Studies on production using immobilized cells of *Kluyveromyces thermotolerants* in a packed bed reactor". *Journal of Scientific and Industrial Research*. 68: 617-623.
- Nigam, J.N. 2000. "Continuous ethanol production from pineapple cannery waste using immobilized yeast cells". *Journal Biotechnology*. 80: 189-93.
- Nikolskaya, A., Senko, O., Stepanov, N., Lyagin, I., Efremenko, E. and Varfolomeyev, S. 2012. **Hydrogen- producing immobilized biocatalyst: composition and properties**. *Modern problems in biochemical physics: New Horizons*. Nova Science Publishers, New York. 56: 163-170.
- Orlowski, M. and Sypherd, P.S. 1978. "Regulation of translation rate during morphogenesis in the fungus *Mucor*". *Biochemistry*. 17: 569-575.
- Panchal C.J. and Tavares, F.C.A. 1900. **Yeast strain selection**. New York: Marcel Dekker Inc. 225-243.
- Park, H.S., Jun, S.C., Han, K.H., Hong, S.B., and Yu, J.H. 2017. "Diversity, application, and synthetic biology of industrially important *Aspergillus* fungi". *Advances in Applied Microbiology*. 100: 1-42.
- Parmar, I. and Rupasinghe, H.P.V. 2013. "Bio-conversion of apple pomace into ethanol and acetic acid : Enzymatic hydrolysis and fermentation". *Bioresource Technology*. 130: 613-620.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Reddy, O.V.S. and Basappa, S.C. 1996. "Direct fermentation of cassava starch to ethanol by mixed cultures of *Endomycopsis fibuligera* and *Zymomonas mobilis*: Synergism and Limitations". *Biotechnology Letters*. 18 (11) : 1315-1318.
- Saito, K., Abe, A., Sujaya, I.N., Sone, T. and Oda, Y. 2004. "Comparison of *Amylomyces rouxii* and *Rhizopus oryzae* in lactic acid fermentation of potato pulp". *Food Science and Technology Research*. 10(2) : 224-226.
- Sharma, S.K., Kalra, K.L. and Grewal, H.S. 2002. "Fermentation of enzymatically saccharified sunflower stalks for ethanol production and its scale up". *Bioresource Technology*. 85: 31-33.
- Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M. 1997. "Ecology, where yeasts live." In *Yeasts in Natural and Artificial Habitats*. 33-57.
- Thalisa Yuwa-Amornpitak. 2010. "Ethanol production from cassava starch by selected fungi from Tan-Koji and *Saccharomyces cerevisiae*". *Biotechnology*. 9(1) : 84-88.
- Webster, J. 1979. *Introduction of fungi*. Biological Science, Cambridge University Press.
- Wen Shiang, L., I Chu, C., Cheng Hsiung, Chang. and Shang Shyng, Y. 2011. "Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*". *Renewable Energy*. 39: 216-222.
- Wendhausen, R. 1998. "Estudo sobre utilização de crisotila como suporte de células de *Saccharomyces cerevisiae* para uso em processo contínuo de fermentação alcoólica e biorreduções". Dissertation. University of Campinas – UNICAMP, Brazil.

Yarrow, D. 1998. "Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts". In *The Yeasts, a Taxonomic Study*, 4th edn. 77-100. Edited by C. P.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญตให้หน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
Kurtzman, & J. W. Fell. Amsterdam: Elsevier
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและตองอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Zhang, P., Chen, C., Shen, Y., Ding, T., Ma, D., Hua., Z and Sun, D. 2013. “Starch saccharification and fermentation of uncooked sweet potato roots for fuel ethanol production”. *Bioresource Technology*. 128: 835-838.
- Zhao, J. and Xia, L. 2010. “Ethanol production from corn stover hemicellulosichydrolysate using immobilized recombinant yeast cells”. *Biochemical Engineering*. 49 : 28–32.
- [Online]. Available: <https://socity.co/life/eat/why-does-alcohol-make-my-throat-burn/> (9 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0555/yeast-ยีสต์> (16 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: http://foodreference.about.com/od/Ingredients_Basics/a/What-Is-Yeast.html (16 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <http://www.thaieditorial.com/การสืบพันธุ์ของยีสต์-reproduction-of-ye/> (17 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <http://oservice.skru.ac.th/ebookft/295/chapter8.pdf> (17 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair49/Plant/p_05/ (21 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=17849> (16 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=17866> (16 กุมภาพันธ์ 2562).
- [Online]. Available: <http://www.vcharkarn.com/varticle/38199> (3 มีนาคม 2562).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

ประกอบด้วย

มันฝรั่ง (potato)	200 กรัม
น้ำตาลเดกซ์โตรส (dextrose)	20 กรัม
วุ้น (Agar)	20 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

วิธีการเตรียม

นำมันฝรั่งมาปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นขนาด 2 x 2 เซนติเมตร นำไปต้มในน้ำกลั่น อัตราส่วนมันฝรั่ง 200 กรัม ต่อน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 15 นาที กรองแยกส่วนน้ำออกมาน้ำมันฝรั่งที่กรองได้คือ potato infusion เติมน้ำตาลเดกซ์โตรส 20 กรัม ต้มจนวุ้นละลาย บรรจุขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ปรับ pH สุดท้าย 5.6 ± 0.2

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose Agar (YPD agar)

ประกอบด้วย

กลูโคส (glucose)	20 กรัม
เปปโตน (peptone)	20 กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	10 กรัม
วุ้น (Agar)	20 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียม

ละลายสารละลายทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปรับ pH สุดท้าย 5.6 ± 0.2

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose broth (YPD broth)

ประกอบด้วย

กลูโคส (glucose)	20 กรัม
เปปโตน (peptone)	20 กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	10 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายสารละลายทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปรับ pH สุดท้าย 5.6 ± 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยวิธี DNS (Dinitrosalicylic Method)

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2M ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 4 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 50 มิลลิลิตร

2. สารละลาย Dinitrosalicylic Acid

เตรียมโดยละลาย 3, 5-Dinitrosalicylic Acid (DNS) ปริมาณ 2.5 กรัมลงในสารละลาย 2 M NaOH ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Sodium Potassium Tartrate) ปริมาณ 75 กรัม นำไปอุ่นและกวนจนละลายหมดเติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 250 มิลลิลิตร เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

สารละลายมาตรฐานกลูโคส

ทำการอบกลูโคสที่ตู้อบ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบ 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร แล้วเจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่นตามตาราง

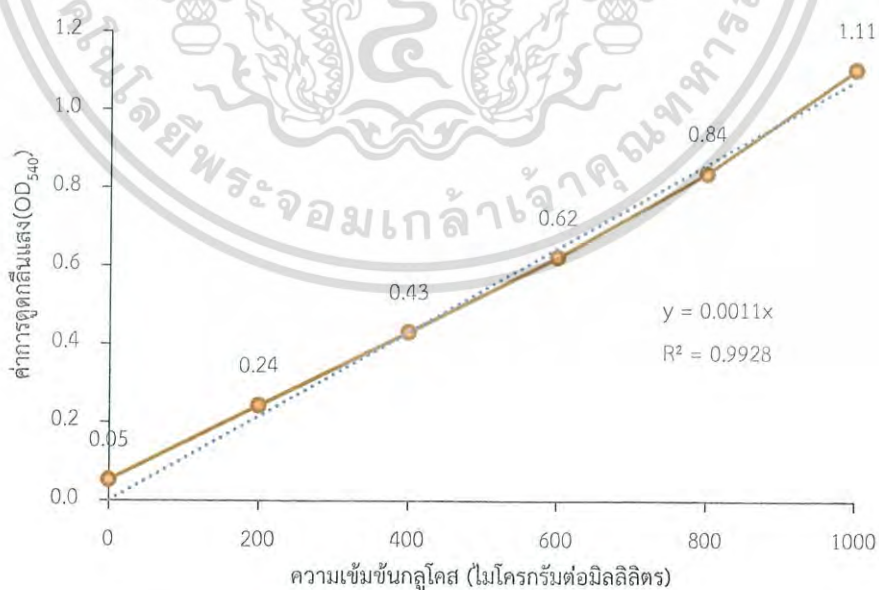
หลอดที่	ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายมาตรฐาน กลูโคส (มิลลิลิตร)
1	0	5	-
2	200	1	4
3	400	2	3
4	600	3	2
5	800	4	1
6	1000	5	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้เปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

นำสารละลายกลูโคสที่เตรียมไว้ แต่ละความเข้มข้นไปวิเคราะห์โดยใช้ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง โดยใช้น้ำกลั่น เป็น blank จากนั้นเติมสารละลาย DNS ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาทีและหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่น้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่าง แสดงดังตาราง

ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD ₅₄₀)
0	0.05
200	0.24
400	0.43
600	0.62
800	0.84
1000	1.11



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี DNS ที่ความยาวคลื่น 540

นาโนเมตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น } 540 \text{ nm}) \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน} \times 1000}$$

1. การวิเคราะห์ปริมาณของเอทานอลโดยใช้เครื่อง Gas chromatography (GC)

อุปกรณ์

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ยี่ห้อ SHIMADZU GC-2014

สารเคมี

สารละลายโพรพานอล (*n*-propanol) ความเข้มข้น ร้อยละ 10

สารละลายเอทานอล (ethanol 99.9%)

วิธีเตรียมกราฟมาตรฐานเอทานอล

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากน้ำหมักโดยใช้สารมาตรฐานภายใน (Internal Standard) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากน้ำหมัก ใช้สารละลายเอทานอล (ethanol 99.9%) เป็นสารละลายมาตรฐานเอทานอล เตรียมให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 8 12 16 20 และ 24 โดยใช้สารละลายโพรพานอล (*n*-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาณเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography เพื่อหาอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของตัวอย่างโดยนำตัวอย่างที่เก็บได้นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงมาผสมกับสารละลายโพรพานอลความเข้มข้นร้อยละ 10 และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography

สภาวะของเครื่อง ดังต่อไปนี้

- คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน
- อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารตัวตรวจวัดเป็นชนิด Flame Ionization Detector (FID) ญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวพา ใช้แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน ไนโตรเจน
- ความดันภายในคอลัมน์ 87.1 kPa

นำพื้นที่ใต้กราฟ (Peal Area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นซึ่งกำหนดให้ เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x

สูตรคำนวณปริมาณเอทานอล ได้จากกราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอล

กำหนดให้

x = ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)

y = อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อโพรพานอล

โดย

ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น ปริมาณเอทานอล = (x)(0.789)(10) กรัมต่อลิตร



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องโครมาโตกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมัก โดยใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

อุปกรณ์

เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ยี่ห้อ SCHOTT CG 842

สารเคมี

สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 4, 7 และ 10

การใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

1. ปรับค่ามาตรฐานของเครื่องมือควรทำก่อนการตรวจวัด โดยเทสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 4, 7 และ 10 ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 หรือ 100 มิลลิลิตร
2. ล้างอิเล็กโทรด และบริเวณรอบ ๆ ด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 2 ครั้ง และซับให้แห้งด้วยกระดาษ โดยมียิบเกอร์สำหรับน้ำทิ้งหรืออ่างที่รองรับอยู่
3. จุ่มแท่งอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 7 ให้ส่วนที่เป็นหัววัดจุ่มอยู่ในสารละลาย และอย่าจุ่มเครื่องมือวัดลงมากเกินไป
4. ใช้ปากกาวัดค่าพีเอชกวนน้ำตัวอย่างอย่างช้า ๆ และรอนจนค่าคงที่จึงกดปุ่ม HOLD/CON แล้วอ่านค่าพีเอช ซึ่งควรอ่านค่าได้เท่ากับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์นั้น คือ 7
5. ทำซ้ำในข้อ 2 – 4 โดยเปลี่ยนไปใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 4 และ 9
8. จุ่มแท่งอิเล็กโทรดลงในน้ำตัวอย่างและต้องแน่ใจว่าส่วนหัวของอิเล็กโทรดจุ่มอยู่ในน้ำ และควรหลีกเลี่ยงมิให้แท่งอิเล็กโทรดจุ่มลงมากเกินไป
9. กวนเบาๆ ด้วยแท่งอิเล็กโทรดและรอนจนกระทั่งตัวเลขที่ปรากฏบนหน้าจอปากกาวัดค่าพีเอช หรือเครื่องวัดค่าพีเอชคงที่
10. อ่านค่าพีเอชแล้วบันทึกลงในใบบันทึกข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF)

1.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

1.1.1 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 จากกระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	.6853	.01601	.00924	.6456	.7251	.67	.70
48hr	3	2.4350	.07281	.04204	2.2541	2.6159	2.35	2.50
72hr	3	27.3700	.69094	.39891	25.6536	29.0864	26.87	28.16
96hr	3	29.2633	.68074	.39302	27.5723	30.9544	28.55	29.91
120hr	3	25.5447	.59832	.34544	24.0584	27.0310	25.07	26.22
Total	18	14.2164	13.62927	3.21245	7.4387	20.9941	.00	29.91

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3155.263	5	631.053	2902.846	.000
Within Groups	2.609	12	.217		
Total	3157.871	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0hr	3	.0000				
24hr	3	.6853				
48hr	3		2.4350			
72hr	3			25.5447		
96hr	3				27.3700	
120hr	3					29.2633
Sig.		.097	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.1.2 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
24hr	3	.6073	.01002	.00578	.5825	.6322	.60	.62
48hr	3	2.2680	.17284	.09979	1.8387	2.6973	2.08	2.42
72hr	3	13.0967	1.53451	.88595	9.2847	16.9086	11.57	14.64
96hr	3	20.1163	1.92903	1.11373	15.3243	24.9083	18.19	22.05
120hr	3	20.6010	.69705	.40244	18.8694	22.3326	20.01	21.37
Total	18	9.4482	9.15441	2.15771	4.8958	14.0006	.00	22.05

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1411.470	5	282.294	256.952	.000
Within Groups	13.184	12	1.099		
Total	1424.654	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูผู้สอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การค้า
ไม่ว่าในรูปแบบใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามนำเอกสารนี้ไปทำซ้ำหรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0hr	3	.0000			
24hr	3	.6073	.6073		
48hr	3		2.2680		
72hr	3			13.0967	
96hr	3				20.1163
120hr	3				20.6010
Sig.		.491	.076	1.000	.582

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

1.1.3 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
24hr	3	.6837	.03711	.02143	.5915	.7759	.65	.72
48hr	3	2.2387	.06274	.03622	2.0828	2.3945	2.20	2.31
72hr	3	14.6487	.49260	.28440	13.4250	15.8724	14.19	15.17
96hr	3	21.3080	2.43190	1.40406	15.2668	27.3492	19.41	24.05
120hr	3	21.4767	.63070	.36413	19.9099	23.0434	20.95	22.18
Total	18	10.0593	9.69457	2.28503	5.2383	14.8803	.00	24.05

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1584.618	5	316.924	289.875	.000
Within Groups	13.120	12	1.093		
Total	1597.738	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับงานเพื่อการวิจัยเท่านั้น ไม่ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่าในรูปแบบใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ข้อมูลนี้แก่บุคคลอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0hr	3	.0000			
24hr	3	.6837	.6837		
48hr	3		2.2387		
72hr	3			14.6487	
96hr	3				21.3080
120hr	3				21.4767
Sig.		.439	.094	1.000	.847

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.2.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	1.0533	.01528	.00882	1.0154	1.0913	1.04	1.07
24hr	3	26.1667	.12583	.07265	25.8541	26.4792	26.05	26.30
48hr	3	31.8000	.60000	.34641	30.3095	33.2905	31.20	32.40
72hr	3	7.8033	.07371	.04256	7.6202	7.9864	7.72	7.86
96hr	3	2.2033	.04163	.02404	2.0999	2.3068	2.17	2.25
120hr	3	1.2700	.02000	.01155	1.2203	1.3197	1.25	1.29
Total	18	11.7161	12.88676	3.03744	5.3077	18.1245	1.04	32.40

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2822.400	5	564.480	8828.430	.000
Within Groups	.767	12	.064		
Total	2823.167	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญญาตีพิมพ์ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0hr	3	1.0533				
120hr	3	1.2700				
96hr	3		2.2033			
72hr	3			7.8033		
24hr	3				26.1667	
48hr	3					31.8000
Sig.		.315	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	1.1100	.01000	.00577	1.0852	1.1348	1.10	1.12
24hr	3	20.5000	.13229	.07638	20.1714	20.8286	20.35	20.60
48hr	3	27.3500	.27839	.16073	26.6584	28.0416	27.05	27.60
72hr	3	14.2067	.13614	.07860	13.8685	14.5449	14.10	14.36
96hr	3	7.1900	.04000	.02309	7.0906	7.2894	7.15	7.23
120hr	3	5.1067	.05508	.03180	4.9699	5.2435	5.05	5.16
Total	18	12.5772	9.39400	2.21419	7.9057	17.2487	1.10	27.60

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1499.967	5	299.993	15219.508	.000
Within Groups	.237	12	.020		
Total	1500.204	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0hr	3	1.1100					
120hr	3		5.1067				
96hr	3			7.1900			
72hr	3				14.2067		
24hr	3					20.5000	
48hr	3						27.3500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	22.3667	.28431	.16415	21.6604	23.0729	22.05	22.60
48hr	3	30.7500	.27839	.16073	30.0584	31.4416	30.50	31.05
72hr	3	12.9000	.06000	.03464	12.7510	13.0490	12.84	12.96
96hr	3	5.7200	.03606	.02082	5.6304	5.8096	5.69	5.76
120hr	3	3.4900	.02000	.01155	3.4403	3.5397	3.47	3.51
Total	18	13.0317	10.68603	2.51872	7.7176	18.3457	2.94	31.05

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1940.922	5	388.184	14196.100	.000
Within Groups	.328	12	.027		
Total	1941.250	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0hr	3	1.0923					
120hr	3		3.4900				
96hr	3			5.7200			
72hr	3				12.9000		
24hr	3					22.3667	
48hr	3						30.7500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าความเป็นกรด-ด่าง

1.3.1 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการ
ใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*
 TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศา
เซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

pH	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	5.5033	.02517	.01453	5.4408	5.5658	5.48	5.53
48hr	3	5.3700	.04583	.02646	5.2562	5.4838	5.32	5.41
72hr	3	4.9667	.04509	.02603	4.8547	5.0787	4.92	5.01
96hr	3	4.7267	.04726	.02728	4.6093	4.8441	4.69	4.78
120hr	3	4.6600	.02646	.01528	4.5943	4.7257	4.63	4.68
Total	18	5.1494	.39921	.09410	4.9509	5.3480	4.63	5.71

ANOVA

pH	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.690	5	.538	329.350	.000
Within Groups	.020	12	.002		
Total	2.709	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า
ไม่ว่าในรูปแบบใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาเผยแพร่ต่อผู้อื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120hr	3	4.6600				
96hr	3	4.7267				
72hr	3		4.9667			
48hr	3			5.3700		
24hr	3				5.5033	
0hr	3					5.6700
Sig.		.066	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3.2 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	5.4900	.02646	.01528	5.4243	5.5557	5.47	5.52
48hr	3	5.2200	.03000	.01732	5.1455	5.2945	5.19	5.25
72hr	3	4.9000	.02000	.01155	4.8503	4.9497	4.88	4.92
96hr	3	4.7433	.07095	.04096	4.5671	4.9196	4.68	4.82
120hr	3	4.6933	.02517	.01453	4.6308	4.7558	4.67	4.72
Total	18	5.1128	.37205	.08769	4.9278	5.2978	4.67	5.65

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.337	5	.467	347.657	.000
Within Groups	.016	12	.001		
Total	2.353	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120hr	3	4.6933				
96hr	3	4.7433				
72hr	3		4.9000			
48hr	3			5.2200		
24hr	3				5.4900	
0hr	3					5.6300
Sig.		.121	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3.3 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการ
ใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR
5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	5.7367	.04726	.02728	5.6193	5.8541	5.70	5.79
24hr	3	5.6000	.03000	.01732	5.5255	5.6745	5.57	5.63
48hr	3	5.3867	.03055	.01764	5.3108	5.4626	5.36	5.42
72hr	3	5.0100	.03000	.01732	4.9355	5.0845	4.98	5.04
96hr	3	4.8900	.06557	.03786	4.7271	5.0529	4.83	4.96
120hr	3	4.8200	.05292	.03055	4.6886	4.9514	4.76	4.86
Total	18	5.2406	.36565	.08618	5.0587	5.4224	4.76	5.79

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.249	5	.450	223.634	.000
Within Groups	.024	12	.002		
Total	2.273	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ไม่ว่าการเผยแพร่ในที่อื่น ๆ อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรนำไปใช้

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120hr	3	4.8200				
96hr	3	4.8900				
72hr	3		5.0100			
48hr	3			5.3867		
24hr	3				5.6000	
0hr	3					5.7367
Sig.		.080	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. กระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

2.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

2.1.1 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
24hr	3	4.0983	.01069	.00617	4.0718	4.1249	4.09	4.11
48hr	3	4.8933	.12560	.07251	4.5813	5.2053	4.77	5.02
72hr	3	4.9213	.51346	.29644	3.6458	6.1968	4.61	5.51
96hr	3	3.2750	.01375	.00794	3.2408	3.3092	3.26	3.29
120hr	3	2.7857	.06451	.03724	2.6254	2.9459	2.72	2.85
Total	18	3.3289	1.73938	.40998	2.4640	4.1939	.00	5.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50.865	5	10.173	215.016	.000
Within Groups	.568	12	.047		
Total	51.432	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0hr	3	.0000				
120hr	3		2.7857			
96hr	3			3.2750		
24hr	3				4.0983	
48hr	3					4.8933
72hr	3					4.9213
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.877

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.1.2 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
24hr	3	2.7913	.02554	.01475	2.7279	2.8548	2.77	2.82
48hr	3	3.2133	.66295	.38276	1.5665	4.8602	2.45	3.65
72hr	3	4.4950	.88521	.51108	2.2960	6.6940	3.92	5.51
96hr	3	3.1527	.11757	.06788	2.8606	3.4447	3.03	3.26
120hr	3	1.4617	.11763	.06791	1.1695	1.7539	1.37	1.59
Total	18	2.5190	1.52393	.35919	1.7612	3.2768	.00	5.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในวงจำกัดเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	36.977	5	7.395	35.458	.000
Within Groups	2.503	12	.209		
Total	39.480	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0h	3	.0000			
120hr	3		1.4617		
24hr	3			2.7913	
96hr	3			3.1527	
48hr	3			3.2133	
72hr	3				4.4950
Sig.		1.000	1.000	.303	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.1.3 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	3.4187	.15451	.08920	3.0349	3.8025	3.27	3.57
48hr	3	3.4773	.53943	.31144	2.1373	4.8173	2.86	3.81
72hr	3	3.8760	.57507	.33202	2.4474	5.3046	3.21	4.25
96hr	3	3.1160	.04583	.02646	3.0022	3.2298	3.07	3.16
120hr	3	3.0423	.07165	.04137	2.8643	3.2203	3.00	3.13
Total	18	2.8217	1.35670	.31978	2.1471	3.4964	.00	4.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ออกทงห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29.985	5	5.997	55.120	.000
Within Groups	1.306	12	.109		
Total	31.291	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0hr	3	.0000		
120hr	3		3.0423	
96hr	3		3.1160	
24hr	3		3.4187	3.4187
48hr	3		3.4773	3.4773
72hr	3			3.8760
Sig.		1.000	.160	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2.2.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	1.0267	.01155	.00667	.9980	1.0554	1.02	1.04
24hr	3	17.0200	.87790	.50685	14.8392	19.2008	16.44	18.03
48hr	3	9.5467	.14048	.08110	9.1977	9.8956	9.40	9.68
72hr	3	8.8533	.07572	.04372	8.6652	9.0414	8.80	8.94
96hr	3	3.9167	.02517	.01453	3.8542	3.9792	3.89	3.94
120hr	3	3.2000	.08000	.04619	3.0013	3.3987	3.12	3.28
Total	18	7.2606	5.47846	1.29129	4.5362	9.9849	1.02	18.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ควรตีพิมพ์หรือเผยแพร่ข้อมูลใดๆ ที่เกี่ยวข้องกับการค้าหรือการโฆษณาโดยไม่ได้รับอนุญาต

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	508.623	5	101.725	759.769	.000
Within Groups	1.607	12	.134		
Total	510.230	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0hr	3	1.0267					
120hr	3		3.2000				
96hr	3			3.9167			
72hr	3				8.8533		
48hr	3					9.5467	
24hr	3						17.0200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.2.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใส่เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	1.1033	.00577	.00333	1.0890	1.1177	1.10	1.11
24hr	3	13.0800	.22271	.12858	12.5268	13.6332	12.84	13.28
48hr	3	11.5800	.04000	.02309	11.4806	11.6794	11.54	11.62
72hr	3	9.5467	.08327	.04807	9.3398	9.7535	9.48	9.64
96hr	3	5.2533	.03055	.01764	5.1774	5.3292	5.22	5.28
120hr	3	4.5900	.15716	.09074	4.1996	4.9804	4.48	4.77
Total	18	7.5256	4.33433	1.02161	5.3701	9.6810	1.10	13.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	319.202	5	63.840	4570.912	.000
Within Groups	.168	12	.014		
Total	319.370	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0hr	3	1.1033					
120hr	3		4.5900				
96hr	3			5.2533			
72hr	3				9.5467		
48hr	3					11.5800	
24hr	3						13.0800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.2.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	1.1867	.01155	.00667	1.1580	1.2154	1.18	1.20
24hr	3	14.1400	.07211	.04163	13.9609	14.3191	14.08	14.22
48hr	3	10.0800	.12000	.06928	9.7819	10.3781	9.96	10.20
72hr	3	9.3533	.06110	.03528	9.2016	9.5051	9.30	9.42
96hr	3	5.0100	.10440	.06028	4.7506	5.2694	4.94	5.13
120hr	3	2.9400	.03606	.02082	2.8504	3.0296	2.91	2.98
Total	18	7.1183	4.60529	1.08548	4.8282	9.4085	1.18	14.22

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
 ไม่ว่าการตีพิมพ์สิ่งอื่นที่คัดลอกหรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัย

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	360.476	5	72.095	12128.168	.000
Within Groups	.071	12	.006		
Total	360.547	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0hr	3	1.1867					
120hr	3		2.9400				
96hr	3			5.0100			
72hr	3				9.3533		
48hr	3					10.0800	
24hr	3						14.1400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าความเป็นกรด-ด่าง

2.3.1 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 1 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการ
ใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	5.6633	.04509	.02603	5.5513	5.7753	5.62	5.71
48hr	3	5.3800	.04000	.02309	5.2806	5.4794	5.34	5.42
72hr	3	5.1267	.04726	.02728	5.0093	5.2441	5.09	5.18
96hr	3	4.9600	.07000	.04041	4.7861	5.1339	4.89	5.03
120hr	3	4.8767	.06110	.03528	4.7249	5.0284	4.81	4.93
Total	18	5.2928	.34620	.08160	5.1206	5.4649	4.81	5.84

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.996	5	.399	116.293	.000
Within Groups	.041	12	.003		
Total	2.038	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
120hr	3	4.8767			
96hr	3	4.9600			
72hr	3		5.1267		
48hr	3			5.3800	
24hr	3				5.6633
0hr	3				5.7500
Sig.		.107	1.000	1.000	.095

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.3.2 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 2 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการ
ใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมัก
ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา
120 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0hr	3		
24hr	3	5.4600	.11790	.06807	5.1671	5.7529	5.36	5.59
48hr	3	5.3167	.03055	.01764	5.2408	5.3926	5.29	5.35
72hr	3	5.0867	.06506	.03756	4.9250	5.2483	5.02	5.15
96hr	3	4.8767	.04041	.02333	4.7763	4.9771	4.84	4.92
120hr	3	4.7867	.03512	.02028	4.6994	4.8739	4.75	4.82
Total	18	5.1917	.31610	.07451	5.0345	5.3489	4.75	5.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.645	5	.329	73.189	.000
Within Groups	.054	12	.004		
Total	1.699	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120hr	3	4.7867				
96hr	3	4.8767				
72hr	3		5.0867			
48hr	3			5.3167		
24hr	3				5.4600	
0hr	3					5.6233
Sig.		.126	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2.3.3 ค่าพีเอชที่ได้จากชุดการทดลองที่ 3 กระบวนการหมักผงมันสำปะหลังโดยการ
ใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* F-1 หมักพร้อมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*
TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศา
เซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0hr	3	5.6933	.13429	.07753	5.3597	6.0269	5.54	5.79
24hr	3	5.5633	.07506	.04333	5.3769	5.7498	5.49	5.64
48hr	3	5.3667	.06028	.03480	5.2169	5.5164	5.31	5.43
72hr	3	5.1967	.05508	.03180	5.0599	5.3335	5.14	5.25
96hr	3	5.0667	.05686	.03283	4.9254	5.2079	5.02	5.13
120hr	3	4.8967	.02517	.01453	4.8342	4.9592	4.87	4.92
Total	18	5.2972	.29076	.06853	5.1526	5.4418	4.87	5.79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.369	5	.274	48.027	.000
Within Groups	.068	12	.006		
Total	1.437	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
120hr	3	4.8967			
96hr	3		5.0667		
72hr	3		5.1967		
48hr	3			5.3667	
24hr	3				5.5633
0hr	3				5.6933
Sig.		1.000	.057	1.000	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. การเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลจากกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) กับกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF)

3.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					SHF-1	3		
SHF-2	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
SHF-3	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
SSF-1	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
SSF-2	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
SSF-3	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	18	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูอาจารย์เท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่และต้องอ้างอิงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000		
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	.6853	.01601	.00924	.6456	.7251	.67	.70
SHF-2	3	.6073	.01002	.00578	.5825	.6322	.60	.62
SHF-3	3	.6837	.03711	.02143	.5915	.7759	.65	.72
SSF-1	3	4.0983	.01069	.00617	4.0718	4.1249	4.09	4.11
SSF-2	3	2.7913	.02554	.01475	2.7279	2.8548	2.77	2.82
SSF-3	3	3.4187	.15451	.08920	3.0349	3.8025	3.27	3.57
Total	18	2.0474	1.48204	.34932	1.3104	2.7844	.60	4.11

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.287	5	7.457	1696.588	.000
Within Groups	.053	12	.004		
Total	37.340	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
SHF-2	3	.6073			
SHF-3	3	.6837			
SHF-1	3	.6853			
SSF-2	3		2.7913		
SSF-3	3			3.4187	
SSF-1	3				4.0983
Sig.		.195	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในห้องเรียนเท่านั้น ไม่สามารถเผยแพร่หรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแบบลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงเลขที่ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	2.4350	.07281	.04204	2.2541	2.6159	2.35	2.50
SHF-2	3	2.2680	.17284	.09979	1.8387	2.6973	2.08	2.42
SHF-3	3	2.2387	.06274	.03622	2.0828	2.3945	2.20	2.31
SSF-1	3	4.8933	.12560	.07251	4.5813	5.2053	4.77	5.02
SSF-2	3	3.2133	.66295	.38276	1.5665	4.8602	2.45	3.65
SSF-3	3	3.4773	.53943	.31144	2.1373	4.8173	2.86	3.81
Total	18	3.0876	1.00910	.23785	2.5858	3.5894	2.08	5.02

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.740	5	3.148	24.050	.000
Within Groups	1.571	12	.131		
Total	17.311	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SHF-3	3	2.2387		
SHF-2	3	2.2680		
SHF-1	3	2.4350		
SSF-2	3		3.2133	
SSF-3	3		3.4773	
SSF-1	3			4.8933
Sig.		.539	.389	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	27.3700	.69094	.39891	25.6536	29.0864	26.87	28.16
SHF-2	3	13.0967	1.53451	.88595	9.2847	16.9086	11.57	14.64
SHF-3	3	14.6487	.49260	.28440	13.4250	15.8724	14.19	15.17
SSF-1	3	4.9213	.51346	.29644	3.6458	6.1968	4.61	5.51
SSF-2	3	3.7293	.44910	.25929	2.6137	4.8450	3.22	4.06
SSF-3	3	3.8760	.57507	.33202	2.4474	5.3046	3.21	4.25
Total	18	11.2737	8.69463	2.04934	6.9499	15.5974	3.21	28.16

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1277.401	5	255.480	396.009	.000
Within Groups	7.742	12	.645		
Total	1285.143	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
SSF-2	3	3.7293			
SSF-3	3	3.8760			
SSF-1	3	4.9213			
SHF-2	3		13.0967		
SHF-3	3			14.6487	
SHF-1	3				27.3700
Sig.		.109	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	29.2633	.68074	.39302	27.5723	30.9544	28.55	29.91
SHF-2	3	20.1163	1.92903	1.11373	15.3243	24.9083	18.19	22.05
SHF-3	3	21.3080	2.43190	1.40406	15.2668	27.3492	19.41	24.05
SSF-1	3	3.2750	.01375	.00794	3.2408	3.3092	3.26	3.29
SSF-2	3	3.0987	.06853	.03957	2.9284	3.2689	3.03	3.17
SSF-3	3	3.1160	.04583	.02646	3.0022	3.2298	3.07	3.16
Total	18	13.3629	10.95778	2.58277	7.9137	18.8121	3.03	29.91

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2021.029	5	404.206	239.987	.000
Within Groups	20.211	12	1.684		
Total	2041.241	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SSF-2	3	3.0987		
SSF-3	3	3.1160		
SSF-1	3	3.2750		
SHF-2	3		20.1163	
SHF-3	3		21.3080	
SHF-1	3			29.2633
Sig.		.877	.283	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	25.5447	.59832	.34544	24.0584	27.0310	25.07	26.22
SHF-2	3	20.6010	.69705	.40244	18.8694	22.3326	20.01	21.37
SHF-3	3	21.4767	.63070	.36413	19.9099	23.0434	20.95	22.18
SSF-1	3	2.7857	.06451	.03724	2.6254	2.9459	2.72	2.85
SSF-2	3	1.4617	.11763	.06791	1.1695	1.7539	1.37	1.59
SSF-3	3	3.0423	.07165	.04137	2.8643	3.2203	3.00	3.13
Total	18	12.4853	10.48421	2.47115	7.2717	17.6990	1.37	26.22

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1866.088	5	373.218	1770.508	.000
Within Groups	2.530	12	.211		
Total	1868.618	17			

Ethanol

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
SSF-2	3	1.4617				
SSF-1	3		2.7857			
SSF-3	3		3.0423			
SHF-2	3			20.6010		
SHF-3	3				21.4767	
SHF-1	3					25.5447
Sig.		1.000	.507	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	1.0533	.01528	.00882	1.0154	1.0913	1.04	1.07
SHF-2	3	1.1100	.01000	.00577	1.0852	1.1348	1.10	1.12
SHF-3	3	2.9633	.02082	.01202	2.9116	3.0150	2.94	2.98
SSF-1	3	1.0267	.01155	.00667	.9980	1.0554	1.02	1.04
SSF-2	3	1.1033	.00577	.00333	1.0890	1.1177	1.10	1.11
SSF-3	3	1.1867	.01155	.00667	1.1580	1.2154	1.18	1.20
Total	18	1.4072	.71803	.16924	1.0502	1.7643	1.02	2.98

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.763	5	1.753	9857.956	.000
Within Groups	.002	12	.000		
Total	8.765	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
SSF-1	3	1.0267				
SHF-1	3		1.0533			
SSF-2	3			1.1033		
SHF-2	3			1.1100		
SSF-3	3				1.1867	
SHF-3	3					2.9633
Sig.		1.000	1.000	.552	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	26.1667	.12583	.07265	25.8541	26.4792	26.05	26.30
SHF-2	3	20.5000	.13229	.07638	20.1714	20.8286	20.35	20.60
SHF-3	3	22.3667	.28431	.16415	21.6604	23.0729	22.05	22.60
SSF-1	3	17.0200	.87790	.50685	14.8392	19.2008	16.44	18.03
SSF-2	3	13.0800	.22271	.12858	12.5268	13.6332	12.84	13.28
SSF-3	3	14.1400	.07211	.04163	13.9609	14.3191	14.08	14.22
Total	18	18.8789	4.75401	1.12053	16.5148	21.2430	12.84	26.30

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	382.332	5	76.466	488.256	.000
Within Groups	1.879	12	.157		
Total	384.211	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
SSF-2	3	13.0800					
SSF-3	3		14.1400				
SSF-1	3			17.0200			
SHF-2	3				20.5000		
SHF-3	3					22.3667	
SHF-1	3						26.1667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	31.8000	.60000	.34641	30.3095	33.2905	31.20	32.40
SHF-2	3	27.3500	.27839	.16073	26.6584	28.0416	27.05	27.60
SHF-3	3	30.7500	.27839	.16073	30.0584	31.4416	30.50	31.05
SSF-1	3	9.5467	.14048	.08110	9.1977	9.8956	9.40	9.68
SSF-2	3	11.5800	.04000	.02309	11.4806	11.6794	11.54	11.62
SSF-3	3	10.0800	.12000	.06928	9.7819	10.3781	9.96	10.20
Total	18	20.1844	10.18271	2.40009	15.1207	25.2482	9.40	32.40

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1761.588	5	352.318	3838.346	.000
Within Groups	1.101	12	.092		
Total	1762.689	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
SSF-1	3	9.5467				
SSF-3	3	10.0800				
SSF-2	3		11.5800			
SHF-2	3			27.3500		
SHF-3	3				30.7500	
SHF-1	3					31.8000
Sig.		.052	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	7.8033	.07371	.04256	7.6202	7.9864	7.72	7.86
SHF-2	3	14.2067	.13614	.07860	13.8685	14.5449	14.10	14.36
SHF-3	3	12.9000	.06000	.03464	12.7510	13.0490	12.84	12.96
SSF-1	3	8.8533	.07572	.04372	8.6652	9.0414	8.80	8.94
SSF-2	3	9.5467	.08327	.04807	9.3398	9.7535	9.48	9.64
SSF-3	3	9.3533	.06110	.03528	9.2016	9.5051	9.30	9.42
Total	18	10.4439	2.36582	.55763	9.2674	11.6204	7.72	14.36

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	95.063	5	19.013	2594.595	.000
Within Groups	.088	12	.007		
Total	95.151	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
SHF-1	3	7.8033					
SSF-1	3		8.8533				
SSF-3	3			9.3533			
SSF-2	3				9.5467		
SHF-3	3					12.9000	
SHF-2	3						14.2067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	2.2033	.04163	.02404	2.0999	2.3068	2.17	2.25
SHF-2	3	7.1900	.04000	.02309	7.0906	7.2894	7.15	7.23
SHF-3	3	5.7200	.03606	.02082	5.6304	5.8096	5.69	5.76
SSF-1	3	3.9167	.02517	.01453	3.8542	3.9792	3.89	3.94
SSF-2	3	5.2533	.03055	.01764	5.1774	5.3292	5.22	5.28
SSF-3	3	5.0100	.10440	.06028	4.7506	5.2694	4.94	5.13
Total	18	4.8822	1.58867	.37445	4.0922	5.6722	2.17	7.23

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.872	5	8.574	3008.527	.000
Within Groups	.034	12	.003		
Total	42.906	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
SHF-1	3	2.2033					
SSF-1	3		3.9167				
SSF-3	3			5.0100			
SSF-2	3				5.2533		
SHF-3	3					5.7200	
SHF-2	3						7.1900
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	1.2700	.02000	.01155	1.2203	1.3197	1.25	1.29
SHF-2	3	5.1067	.05508	.03180	4.9699	5.2435	5.05	5.16
SHF-3	3	3.4900	.02000	.01155	3.4403	3.5397	3.47	3.51
SSF-1	3	3.2000	.08000	.04619	3.0013	3.3987	3.12	3.28
SSF-2	3	4.5900	.15716	.09074	4.1996	4.9804	4.48	4.77
SSF-3	3	2.9400	.03606	.02082	2.8504	3.0296	2.91	2.98
Total	18	3.4328	1.27023	.29940	2.8011	4.0644	1.25	5.16

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.357	5	5.471	906.024	.000
Within Groups	.072	12	.006		
Total	27.429	17			

Reducing Sugar

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
SHF-1	3	1.2700					
SSF-3	3		2.9400				
SSF-1	3			3.2000			
SHF-3	3				3.4900		
SSF-2	3					4.5900	
SHF-2	3						5.1067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	5.6700	.04583	.02646	5.5562	5.7838	5.62	5.71
SHF-2	3	5.6300	.02000	.01155	5.5803	5.6797	5.61	5.65
SHF-3	3	5.7367	.04726	.02728	5.6193	5.8541	5.70	5.79
SSF-1	3	5.7500	.07810	.04509	5.5560	5.9440	5.70	5.84
SSF-2	3	5.6233	.07095	.04096	5.4471	5.7996	5.56	5.70
SSF-3	3	5.6933	.13429	.07753	5.3597	6.0269	5.54	5.79
Total	18	5.6839	.08038	.01895	5.6439	5.7239	5.54	5.84

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.042	5	.008	1.488	.265
Within Groups	.068	12	.006		
Total	.110	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05
SSF-2	3	1
SHF-2	3	5.6233
SHF-1	3	5.6300
SSF-3	3	5.6700
SHF-3	3	5.6933
SSF-1	3	5.7367
SSF-1	3	5.7500
Sig.		.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	5.5033	.02517	.01453	5.4408	5.5658	5.48	5.53
SHF-2	3	5.4900	.02646	.01528	5.4243	5.5557	5.47	5.52
SHF-3	3	5.6000	.03000	.01732	5.5255	5.6745	5.57	5.63
SSF-1	3	5.6633	.04509	.02603	5.5513	5.7753	5.62	5.71
SSF-2	3	5.4600	.11790	.06807	5.1671	5.7529	5.36	5.59
SSF-3	3	5.5633	.07506	.04333	5.3769	5.7498	5.49	5.64
Total	18	5.5467	.08931	.02105	5.5023	5.5911	5.36	5.71

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.088	5	.018	4.437	.016
Within Groups	.048	12	.004		
Total	.136	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SSF-2	3	5.4600		
SHF-2	3	5.4900	5.4900	
SHF-1	3	5.5033	5.5033	
SSF-3	3	5.5633	5.5633	5.5633
SHF-3	3		5.6000	5.6000
SSF-1	3			5.6633
Sig.		.087	.070	.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					SHF-1	3		
SHF-2	3	5.2200	.03000	.01732	5.1455	5.2945	5.19	5.25
SHF-3	3	5.3867	.03055	.01764	5.3108	5.4626	5.36	5.42
SSF-1	3	5.3800	.04000	.02309	5.2806	5.4794	5.34	5.42
SSF-2	3	5.3167	.03055	.01764	5.2408	5.3926	5.29	5.35
SSF-3	3	5.3667	.06028	.03480	5.2169	5.5164	5.31	5.43
Total	18	5.3400	.06911	.01629	5.3056	5.3744	5.19	5.43

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.061	5	.012	7.248	.002
Within Groups	.020	12	.002		
Total	.081	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
SHF-2	3	5.2200	
SSF-2	3		5.3167
SSF-3	3		5.3667
SHF-1	3		5.3700
SSF-1	3		5.3800
SHF-3	3		5.3867
Sig.		1.000	.080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	4.9667	.04509	.02603	4.8547	5.0787	4.92	5.01
SHF-2	3	4.9000	.02000	.01155	4.8503	4.9497	4.88	4.92
SHF-3	3	5.0100	.03000	.01732	4.9355	5.0845	4.98	5.04
SSF-1	3	5.1267	.04726	.02728	5.0093	5.2441	5.09	5.18
SSF-2	3	5.0867	.06506	.03756	4.9250	5.2483	5.02	5.15
SSF-3	3	5.1967	.05508	.03180	5.0599	5.3335	5.14	5.25
Total	18	5.0478	.10979	.02588	4.9932	5.1024	4.88	5.25

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.179	5	.036	16.761	.000
Within Groups	.026	12	.002		
Total	.205	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
SHF-2	3	4.9000				
SHF-1	3	4.9667	4.9667			
SHF-3	3		5.0100	5.0100		
SSF-2	3			5.0867	5.0867	
SSF-1	3				5.1267	5.1267
SSF-3	3					5.1967
Sig.		.103	.274	.065	.310	.089

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	4.7267	.04726	.02728	4.6093	4.8441	4.69	4.78
SHF-2	3	4.7433	.07095	.04096	4.5671	4.9196	4.68	4.82
SHF-3	3	4.8900	.06557	.03786	4.7271	5.0529	4.83	4.96
SSF-1	3	4.9600	.07000	.04041	4.7861	5.1339	4.89	5.03
SSF-2	3	4.8767	.04041	.02333	4.7763	4.9771	4.84	4.92
SSF-3	3	5.0667	.05686	.03283	4.9254	5.2079	5.02	5.13
Total	18	4.8772	.13132	.03095	4.8119	4.9425	4.68	5.13

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.250	5	.050	14.090	.000
Within Groups	.043	12	.004		
Total	.293	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SHF-1	3	4.7267		
SHF-2	3	4.7433		
SSF-2	3		4.8767	
SHF-3	3		4.8900	
SSF-1	3		4.9600	
SSF-3	3			5.0667
Sig.		.738	.129	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SHF-1	3	4.6600	.02646	.01528	4.5943	4.7257	4.63	4.68
SHF-2	3	4.6933	.02517	.01453	4.6308	4.7558	4.67	4.72
SHF-3	3	4.8200	.05292	.03055	4.6886	4.9514	4.76	4.86
SSF-1	3	4.8767	.06110	.03528	4.7249	5.0284	4.81	4.93
SSF-2	3	4.7867	.03512	.02028	4.6994	4.8739	4.75	4.82
SSF-3	3	4.8967	.02517	.01453	4.8342	4.9592	4.87	4.92
Total	18	4.7889	.09628	.02269	4.7410	4.8368	4.63	4.93

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.138	5	.028	17.027	.000
Within Groups	.019	12	.002		
Total	.158	17			

pH

Duncan^a

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
SHF-1	3	4.6600			
SHF-2	3	4.6933			
SSF-2	3		4.7867		
SHF-3	3		4.8200	4.8200	
SSF-1	3			4.8767	4.8767
SSF-3	3				4.8967
Sig.		.331	.331	.111	.554

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. กระบวนการหมักเอทานอลด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF ของเซลล์อิสระ (free cell) เทียบกับเซลล์ตรึงรูปของเชื้อยีสต์ (immobilized cell)

4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	.0000	.00000 ^a	.00000
	Group 2	3	.0000	.00000 ^a	.00000

a. t cannot be computed because the standard deviations of both groups are 0.

ชั่วโมงที่ 24

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	.6810	.01044	.00603
	Group 2	3	.6960	.13908	.08030

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ethanol	Equal variances assumed	5.187	.085	-.186	4	.861	-.01500	.08053	-.23857	.20857
	Equal variances not assumed			-.186	2.023	.869	-.01500	.08053	-.35780	.32780

ชั่วโมงที่ 48

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	2.7263	.25659	.14814
	Group 2	3	2.4417	.11421	.06594

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ethanol	Equal variances assumed	3.380	.140	1.756	4	.154	.28467	.16216	-.16555	.73489
	Equal variances not assumed			1.756	2.763	.185	.28467	.16216	-.25741	.82675

ชั่วโมงที่ 72

Group Statistics

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	27.9130	.54801	.31639
	Group 2	3	6.1590	1.55570	.89818

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ethanol	Equal variances assumed	5.273	.083	22.844	4	.000	21.75400	.95228	19.11004	24.39796
	Equal variances not assumed			22.844	2.489	.001	21.75400	.95228	18.33896	25.16904

ชั่วโมงที่ 96

Group Statistics

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	29.8167	.04809	.02776
	Group 2	3	10.9953	1.49357	.86231

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ethanol	Equal variances assumed	7.489	.052	21.815	4	.000	18.82133	.86276	16.42593	21.21674
	Equal variances not assumed			21.815	2.004	.002	18.82133	.86276	15.11652	22.52614

ชั่วโมงที่ 120

Group Statistics

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ethanol	Group 1	3	25.5840	.68366	.39471
	Group 2	3	17.1293	.25551	.14752

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Ethanol	Equal variances assumed	1.944	.236	20.064	4	.000	8.45467	.42138	7.28473	9.62460
	Equal variances not assumed			20.064	2.548	.001	8.45467	.42138	6.96850	9.94084

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing	Group 1	3	1.0433	.00577	.00333
	Group 2	3	1.0333	.00577	.00333

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	.000	1.000	2.121	4	.101	.01000	.00471	-.00309	.02309
	Equal variances not assumed			2.121	4.000	.101	.01000	.00471	-.00309	.02309

ชั่วโมงที่ 24

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing Sugar	Group 1	3	26.3333	.30139	.17401
	Group 2	3	26.8833	.38188	.22048

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	.247	.646	-1.958	4	.122	-.55000	.28087	-1.32982	.22982
	Equal variances not assumed			-1.958	3.795	.126	-.55000	.28087	-1.34672	.24672

ชั่วโมงที่ 48

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing Sugar	Group 1	3	31.6667	.41633	.24037
	Group 2	3	30.9667	.94516	.54569

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ในการค้า
 ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	2.945	.161	1.174	4	.306	.70000	.59628	-.95555	2.35555
	Equal variances not assumed			1.174	2.748	.332	.70000	.59628	-1.30001	2.70001

ชั่วโมงที่ 72

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing Sugar	Group 1	3	6.9767	.14844	.08570
	Group 2	3	27.7000	.21794	.12583

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	.993	.375	-136.121	4	.000	-20.72333	.15224	-21.14603	-20.30064
	Equal variances not assumed			-136.121	3.527	.000	-20.72333	.15224	-21.16935	-20.27731

ชั่วโมงที่ 96

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing Sugar	Group 1	3	2.5767	.03215	.01856
	Group 2	3	24.4500	.13229	.07638

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	6.494	.063	-278.291	4	.000	-21.87333	.07860	-22.09156	-21.65511
	Equal variances not assumed			-278.291	2.235	.000	-21.87333	.07860	-22.17958	-21.56708

ข้าวโม่งที่ 120

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Reducing Sugar	Group 1	3	1.2867	.02517	.01453
	Group 2	3	16.0500	.13748	.07937

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Reducing Sugar	Equal variances assumed	4.996	.089	-182.960	4	.000	-14.76333	.08069	-14.98737	-14.53930
	Equal variances not assumed			-182.960	2.134	.000	-14.76333	.08069	-15.09046	-14.43621

4.3 ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชแต่ละข้าวโม่ง

ข้าวโม่งที่ 0

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	5.4867	.02082	.01202
	Group 2	3	5.5167	.06028	.03480

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	2.072	.223	-.815	4	.461	-.03000	.03682	-.13222	.07222
	Equal variances not assumed			-.815	2.470	.486	-.03000	.03682	-.16275	.10275

ชั่วโมงที่ 24

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	5.2833	.05508	.03180
	Group 2	3	5.3200	.04583	.02646

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	.045	.843	-.886	4	.425	-.03667	.04137	-.15152	.07818
	Equal variances not assumed			-.886	3.872	.427	-.03667	.04137	-.15303	.07970

ชั่วโมงที่ 48

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	5.1300	.04583	.02646
	Group 2	3	5.1733	.03512	.02028

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	.308	.609	-1.300	4	.263	-.04333	.03333	-.13588	.04921
	Equal variances not assumed			-1.300	3.747	.268	-.04333	.03333	-.13840	.05174

ชั่วโมงที่ 72

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	4.8933	.04163	.02404
	Group 2	3	4.9700	.05000	.02887

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	.013	.914	-2.041	4	.111	-.07667	.03756	-.18096	.02763
	Equal variances not assumed			-2.041	3.873	.113	-.07667	.03756	-.18233	.02899

ชั่วโมงที่ 96

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	4.7567	.04509	.02603
	Group 2	3	4.8767	.04726	.02728

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	.065	.812	-3.182	4	.033	-.12000	.03771	-.22471	-.01529
	Equal variances not assumed			-3.182	3.991	.034	-.12000	.03771	-.22480	-.01520

ชั่วโมงที่ 120

Group Statistics

	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pH	Group 1	3	4.6867	.03055	.01764
	Group 2	3	4.8067	.01528	.00882

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pH	Equal variances assumed	1.538	.283	-6.085	4	.004	-.12000	.01972	-.17475	-.06525
	Equal variances not assumed			-6.085	2.941	.009	-.12000	.01972	-.18347	-.05653

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้