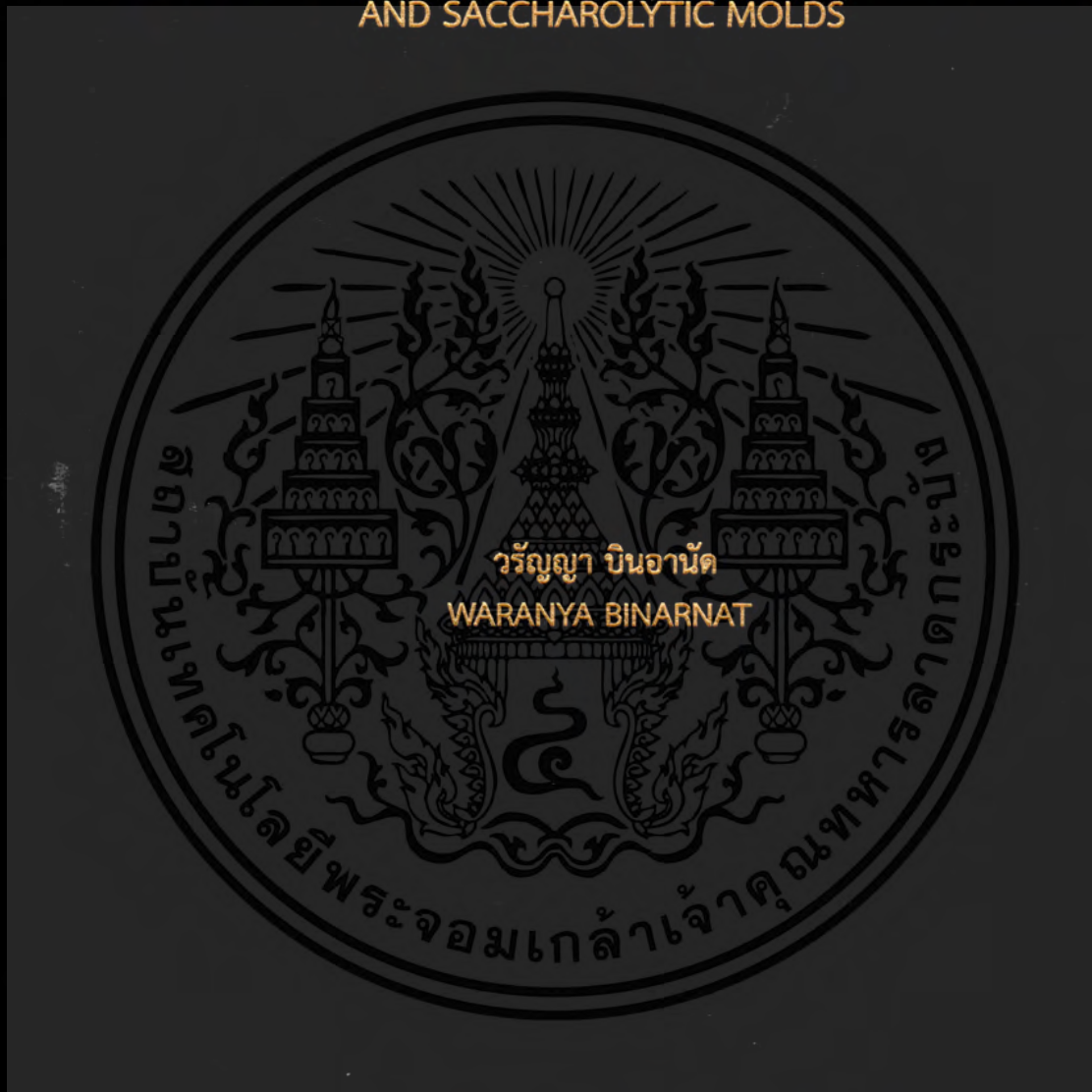


การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสม  
ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้ง

BIOETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO  
BY CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND SACCHAROLYTIC MOLDS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2560

KMITL-2017-SC-M-020-014

การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสม  
ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้ง

BIOETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO  
BY CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND SACCHAROLYTIC MOLDS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO  
BY CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088  
AND SACCHAROLYTIC MOLDS



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE  
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งาน KMUTL-2017-SC-M-020-014 ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2017

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

“การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ  
*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้ง”  
(BIOETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO BY USING  
CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND  
SACCHAROLYTIC MOLDS)

ชื่อนักศึกษา

นางสาวรัญญา บินอานัด

รหัสประจำตัว

58605054

ปริญญา


วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ประธานกรรมการ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) ผศ.ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	

วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ 6 ธันวาคม พ.ศ. 2560 เวลา 10.00 - 13.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง 439 ตึกจุฬารณ 1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.อิทธิพล แจ่มชัด)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 19 เดือน 12 พ.ศ. 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้ง

ชื่อนักศึกษา

นางสาววรรุญญา บินอานัด

รหัสประจำตัว

58605054

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

พ.ศ.

2560

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

### บทคัดย่อ

ไบโอเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพทดแทนที่น่าสนใจ เนื่องจากมีประสิทธิภาพการเผาไหม้สูงและสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่หลากหลาย งานวิจัยนี้เลือกใช้แป้งมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้เชื้อราย่อยแป้งทดแทนการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการผลิตเอทานอล วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษากระบวนการหมักที่เหมาะสมในผลิตเอทานอล ด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และราที่ย่อยแป้ง พบว่า กระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF) ของเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ในอัตราส่วน 1:1 ปั่นที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.35 \pm 0.18$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 ซึ่งกระบวนการ SSF มีขั้นตอนไม่ยุ่งยากและใช้ระยะเวลาสั้นกว่ากระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separated Hydrolysis and Fermentation, SHF) และเมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล โดยศึกษา 4 ปัจจัย ได้แก่ อัตราส่วนของหัวเชื้อยีสต์และรา ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ชนิดของแหล่งไนโตรเจน และค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก พบว่า การใช้เชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 อัตราส่วน 1 ต่อ 4 โดยปริมาตร หมักในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นแหล่งคาร์บอนร้อยละ 8 โดยปริมาตร ปรับพีเอชเริ่มต้น 6 และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่  $17.91 \pm 0.37$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 และมีค่าประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล 0.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติกับการหมักที่ใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยแป้งอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศจึงสามารถทดแทนการใช้เอนไซม์ทางการค้าได้

**คำสำคัญ :** เชื้อผสม เชื้อราที่ย่อยแป้ง ไบโอเอทานอล มันเทศ

Thesis Title	BIOETHANOL PRODUCTION FROM SWEET POTATO BY CO - CULTURE OF <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 AND SACCHAROLYTIC MOLDS
Student Name	Miss Waranya Binarnat
Student ID	58605054
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2017
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

### Abstract

Bioethanol is an interesting renewable biofuel due to its high combustion efficiency and can be produced from various raw materials. In this research, sweet potato has been used as a carbon source with saccharolytic molds instead of a commercial enzyme for bioethanol production. The objective of this research was to investigate on the optimization of the fermentation process for bioethanol production by co-culture of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and saccharolytic molds. The results showed that the optimized process was simultaneous saccharification and fermentation (SSF) process with co-culture of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 (1:1 ratio) and the cultivation conditions were at 150 rpm, 30 °C. The maximum ethanol concentration was 14.35 ±0.18 g/L obtained after 60 hour, which was higher than separated hydrolysis and fermentation (SHF) process. The SSF process was simpler and required less time than SHF process. The optimization of ethanol production were studied on inoculum ratio, carbon source concentration, type of nitrogen sources. and initial pH of medium. The result showed the ratio of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *A. rouxii* TISTR 3182 was 1:4, inoculated in 8% (w/v) sweet potato as carbon source, initial pH of 6 and no additional nitrogen source obtained the maximum ethanol concentration at 17.91 ± 0.37 g/L and ethanol productivity at 0.30 g/L/h. The maximum ethanol concentration of co-culture of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *A. rouxii* TISTR 3182 was significantly more than the maximum ethanol concentration of *S. cerevisiae* TISTR 5088 with commercial enzyme. Thus, the co-culture of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *A. rouxii* TISTR 3182 could produce bioethanol instead of using commercial enzymes.

**Keywords :** Co-culture fermentation, Saccharolytic molds, Bioethanol, Sweet potato.

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่านดังนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ประจำภาควิชา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทางในการทำ และตรวจทานการทำเล่มวิทยานิพนธ์ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สรัญญา พันธุ์พฤษกุล ประธานกรรมการสอบ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์บัณฑิตประจำในการสอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ แก้ไข ทำให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และคอยให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนและให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสามารถสำเร็จได้อย่างที่คาดหวัง หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ มีความผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ ด้วย

นางสาวสรัญญา บินอานัด

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	<b>4</b>
2.1 เอทานอล.....	4
2.1.1 การผลิตไบโอเอทานอล.....	4
2.1.2 วัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอล.....	6
2.1 มัณฑะ.....	7
2.2.1 องค์ประกอบของมัณฑะ.....	8
2.2.2 ลักษณะทั่วไปของมัณฑะ.....	9
2.3 เอนไซม์อะไมเลส.....	10
2.3.1 แอลฟาอะไมเลส.....	12
2.3.2 กลูโคอะไมเลส.....	13
2.4 ยีสต์.....	13
2.4.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์.....	13
2.4.2 สรีรวิทยาของยีสต์.....	13
2.4.3 การขยายพันธุ์ของยีสต์.....	14
2.4.4 นิเวศวิทยาของยีสต์.....	14
2.4.5 การใช้ยีสต์ในทางอุตสาหกรรม.....	15
2.4.6 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	15
2.5 เชื้อรา.....	17
2.5.1 ลักษณะสำคัญของเชื้อรา.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2	การจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา.....	17
2.5.3	<i>Amylomyces rouxii</i> .....	18
2.5.4	<i>Aspergillus oryzae</i> .....	19
2.6	กระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์และเชื้อรา.....	20
2.7	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	21
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย .....	24
3.1	เชื้อจุลินทรีย์.....	24
3.2	วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง .....	24
3.3	อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	24
3.3	วัสดุอุปกรณ์.....	25
3.5	ขั้นตอนการดำเนินการ.....	26
3.5.1	การเตรียมวัตถุดิบ.....	26
3.5.2	การเตรียมสารละลายเอนไซม์ .....	26
3.5.3	การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น.....	26
3.5.4	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	27
3.5.5	การหมักเอทานอลจากจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 กับเชื้อราจากผงมันเทศ.....	27
3.5.6	ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้ เชื้อผสมระหว่างเชื้อรากับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 .....	29
3.5.7	ศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล.....	29
3.5.8	การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	30
บทที่ 4	ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....	31
4.1	การวิเคราะห์องค์ประกอบของผงมันเทศ .....	31
4.2	การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อย พร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) .....	31
4.2.1	การศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการ SSF.....	31
4.2.2	การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการ ใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา ย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF .....	33
4.3	การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อย แยกจากกระบวนการหมัก (SHF).....	36

4.3.1 การศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการ SHF .....	36
4.3.2 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้ เชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา ย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF .....	38
4.4 เปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อผสม ระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วย กระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF .....	41
4.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ด้วยกระบวนการ SSF .....	44
4.5.1 ศึกษาอัตราส่วนของหัวเชื้อยีสต์และราที่เหมาะสม .....	44
4.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม .....	47
4.5.3 ศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม .....	49
4.5.4 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงที่เหมาะสม .....	50
4.6 เปรียบเทียบผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจาก แป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 .....	52
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....	55
5.1 สรุปผลการวิจัย .....	55
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	56
เอกสารอ้างอิง .....	57
ภาคผนวก .....	62
ภาคผนวก ก .....	63
ภาคผนวก ข .....	64
ภาคผนวก ค .....	71
ภาคผนวก ง .....	80
ภาคผนวก จ .....	108

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของมันเทศดิบ 100 กรัม .....	8
2.2 จุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละชนิด .....	12
4.1 ส่วนประกอบของผงมันเทศ .....	31
4.2 ปริมาณเอทานอลสูงสุดและอัตราการผลิตที่ได้ในกระบวนการหมักเอทานอล จากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา ย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF.....	50
4.3 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในกระบวนการ หมักแบบ SSF ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน.....	52
4.4 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยการใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มี ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF .....	55
4.5 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มี ชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF.....	58
4.6 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มี พีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน .....	61
4.7 ปริมาณเอทานอลสูงสุดและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการ หมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในชุดการทดลองที่แตกต่างกัน.....	64

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 มันทเทศ .....	7
2.2 ลักษณะทั่วไปของมันทเทศ.....	9
2.3 การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ .....	10
2.4 การทำงานของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละชนิด .....	11
2.5 รูปร่างยีสต์และโครงสร้างภายในเซลล์ของยีสต์ .....	13
2.6 การแตกหน่อของยีสต์.....	14
2.7 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศของยีสต์ .....	15
2.8 วัฏจักรการสังเคราะห์เอทานอลจากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำตาลกลูโคส .....	16
2.9 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา <i>Amylomyces rouxii</i> .....	19
2.10 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา <i>Aspergillus oryzae</i> .....	20
4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากแป้งมันทเทศ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF .....	32
4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากผงมันทเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF .....	33
4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากผงมันทเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. oryzae</i> TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF.....	35
4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากผงมันทเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 และ <i>A. oryzae</i> TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF .....	36
4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากแป้งมันทเทศ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF.....	37
4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมัก เอทานอลจากผงมันทเทศ โดยเชื้อร่วมกันระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF .....	38

4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยเชื้อร่ว่มกันระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. oryzae</i> TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF .....	39
4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยเชื้อร่ว่มกันระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และเชื้อราผสม <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 และ <i>A. oryzae</i> TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SF.....	40
4.9 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลจากการหมักผงมันเทศโดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และเชื้อราย่อยแบ่งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF.....	41
4.10 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลจากการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และเชื้อราย่อยแบ่งด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF .....	42
4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมที่มีอัตราส่วน <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ที่แตกต่างกัน .....	45
4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสม <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน .....	48
4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสม <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มีชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน .....	50
4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสม <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 และ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน .....	52
4.15 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในสภาวะที่แตกต่างกัน .....	54

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

นับตั้งแต่เข้าสู่ยุคของอุตสาหกรรม ความต้องการในการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลมีมากขึ้นแปรผันตามกับจำนวนประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นและอุตสาหกรรมที่มีมากขึ้นในหลายประเทศทั่วโลก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกปี โดยเฉพาะเชื้อเพลิงปิโตรเลียม ซึ่งการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลในปริมาณมากนี้ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและโลก เนื่องจากเชื้อเพลิงฟอสซิลมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ และการเผาไหม้ของเชื้อเพลิงฟอสซิลนั้นนำไปสู่การเพิ่มปริมาณของก๊าซเรือนกระจก ซึ่งทำให้โลกเกิดภาวะเรือนกระจกหรือภาวะโลกร้อน ดังนั้นเพื่อลดวิกฤตพลังงานและป้องกันมลพิษทางอากาศ หลายประเทศจึงเริ่มมองหาทางออกโดยคิดค้นและพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทน (Aditya และคณะ, 2015) ซึ่งพลังงานชีวภาพ เช่น เอทานอล ไบโอดีเซล และก๊าซชีวภาพ เป็นหนทางที่มีความเป็นไปได้และประหยัด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเผาไหม้สูงและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่ำ (Balat และคณะ, 2008)

เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ คือ แอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่มีสูตรเคมี  $C_2H_5OH$  มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ติดไฟง่าย ไวไฟและค่าออกเทนสูง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น ใช้ในการประกอบอาหารและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม ใช้เป็นเชื้อเพลิง เป็นต้น เอทานอลสามารถผลิตได้ทั้งจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยมีเอทิลีนเป็นวัตถุดิบ และกระบวนการทางชีวเคมี โดยใช้พืชผลหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีน้ำตาลสูงเป็นวัตถุดิบ ซึ่งกระบวนการนี้ได้รับความนิยม เพราะมีวัตถุดิบที่สามารถเลือกใช้ได้หลากหลายตามความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในแต่ละประเทศ เช่น อ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง กากน้ำตาล สาหร่าย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีความสนใจศึกษาวัตถุดิบที่มีเซลลูโลสสูง เช่น ฟางข้าว ชี้อ้อย หญ้า มาผลิตเป็นเอทานอลอีกด้วย

การผลิตเอทานอลจากพืชผลทางการเกษตรมี 2 กระบวนการหลัก คือ กระบวนการหมักและกระบวนการกลั่น ในกระบวนการหมักโดยใช้ยีสต์ น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการกลั่น โดยนำเอทานอลที่ได้จากการหมักไปกลั่นที่ความดันบรรยากาศ จะได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 95.6 โดยปริมาตร แต่ถ้านำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงต้องใช้เทคนิคอื่นๆมาช่วยแยกน้ำออกอีกครั้งเพื่อให้ได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร ซึ่งเรียกว่าเอทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Alcohol) หรือเอทานอลไร้น้ำ (Anhydrous Alcohol)

การนำเอทานอลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงมีหลายรูปแบบ ได้แก่ ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซินและดีเซลโดยตรง ซึ่งเครื่องยนต์ของรถยนต์ต้องได้รับการออกแบบเป็นพิเศษให้สามารถต้านทานการกัดกร่อนได้ หรือสามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินหรือดีเซลในสัดส่วนต่างๆ เช่น ผสมกับน้ำมันเบนซินร้อยละ 10 โดยปริมาตร เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ หรือผสมในสัดส่วนร้อยละ 85 เรียกว่า E85 เป็นต้น และใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซินได้ โดยค่าออกเทนจะเพิ่มขึ้นตามค่าสัดส่วนของเอทานอลที่ผสมลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้เอทานอลยังเป็นเชื้อเพลิงที่ไร้สารมลพิษ เช่น ซัลเฟอร์ และมีโมเลกุลของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก เมื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์จึงเกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงทั่วไป ระบบเครื่องยนต์ที่ใช้เอทานอลจึงสะอาดกว่าและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าใช้น้ำมันเบนซินหรือดีเซล แต่อย่างไรก็ตามการนำเอทานอลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์นั้นสามารถดำเนินการได้ดีในประเทศที่มีการผลิตพืชผลทางการเกษตรมากเพียงพอจนสามารถผลิตเอทานอลใช้กับยานพาหนะ เช่น ประเทศบราซิลใช้เอทานอลที่ผลิตจากอ้อย ประเทศสหรัฐอเมริกาใช้เอทานอลที่ผลิตจากข้าวโพด เป็นต้น (Cardona และคณะ, 2010)

มันเทศ (sweet potato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* Lamk จัดอยู่ในวงศ์ Convolvulaceae มันเทศเป็นพืชหัวประเภทคาร์โบไฮเดรตและมีคุณค่าทางอาหารสูงทั้งหัวและใบ ส่วนหัวสามารถนำมาปรุงอาหารทั้งคาวและหวานได้ ซึ่งผู้บริโภคจะนิยมพันธุ์มันเทศที่มีปริมาณน้ำตาลสูง และสามารถแปรรูปหรือเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมแปรรูปได้หลายชนิด เช่น เส้นหมี่ แป้งหมี่ น้ำตาลกลูโคส แอลกอฮอล์และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ น้ำส้มหรือกรดน้ำส้ม เนื่องจากมันเทศเป็นพืชที่มีประสิทธิภาพสูงในการเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์ไปสะสมอยู่ในรูปของแป้งและเป็นพืชที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง โดยพบว่ามีแป้ง 178 กรัมต่อกิโลกรัม น้ำตาลทั้งหมด 26 กรัมต่อกิโลกรัม และโปรตีน 3.2 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด (Tian และคณะ, 1991) แป้งสามารถถูกย่อยเป็นมอนอเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตและถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก โดยทั่วไปการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งเพื่อเป็นแหล่งเชื้อเพลิงในระดับอุตสาหกรรมจะเกี่ยวข้องกับ 3 กระบวนการด้วยกันดังนี้

1. Liquefaction ของแป้งโดยใช้เอนไซม์  $\alpha$ -amylase
2. Saccharification โดยใช้เอนไซม์ glucoamylase เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส
3. Fermentation ด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นเอทานอล

ซึ่งโดยทั่วไปในขั้นตอน Liquefaction และ Saccharification จะใช้เอนไซม์ทางการค้า และในขั้นตอนการหมักเอทานอลโดยวิธีดั้งเดิมจะใช้ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์หลักในการหมัก แต่ในปัจจุบันได้มีการพยายามหาเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ เช่น *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 มาใช้เลี้ยงร่วมกับเชื้อ *S. cerevisiae* เนื่องจากเชื้อราเหล่านี้สามารถเปลี่ยนสารที่โมเลกุลซับซ้อนในวัตถุดิบประเภทแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นกลูโคสจะเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ต่อไป (มณชัย, 2546) Uma และ Kalakodi (2011) ได้ใช้เชื้อผสมระหว่างยีสต์กับรา ได้แก่ *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oryzae* ในการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง พบว่า เชื้อผสมระหว่างยีสต์กับ *A. oryzae* ให้ผลผลิตเอทานอลดีกว่าเชื้อผสมระหว่างยีสต์กับ *R. oryzae*

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อลดขั้นตอนการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อร่วมกันของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับเชื้อราที่สามารถย่อยแป้งได้ ได้แก่ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสมาย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากเชื้อผสมเหล่านี้

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับ เชื้อราที่สามารถย่อยแป้งได้แก่ เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086

2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับเชื้อราที่สามารถย่อยแป้งได้ในการผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ

## 1.3 ขอบเขตวิทยานิพนธ์

ศึกษาความสามารถในการผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยเชื้อผสมระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 กับเชื้อราย่อยแป้ง ได้แก่ เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 และศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตไบโอเอทานอล ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างเชื้อราต่อ เชื้อยีสต์ ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ชนิดของแหล่งไนโตรเจน และค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหาร เลี้ยงเชื้อ จากนั้นเปรียบเทียบค่าจลนพลศาสตร์ของการหมัก โดยใช้เชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และการใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราที่สามารถย่อยแป้ง ได้แต่ละชนิด

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนการหมัก โดยใช้เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ แทนการนำเอนไซม์ทางการค้ามาใช้ รวมทั้งลดเวลาในกระบวนการหมักเอทานอลลง

2. เพิ่มประสิทธิภาพในการหมักเอทานอลโดยการนำเชื้อรามาใช้ร่วมกับเชื้อยีสต์ในการหมัก

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลกอฮอล์ มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดติดไฟและระเหยง่าย สามารถละลายได้ในน้ำและสารละลายอื่นๆ สูตรทางเคมี คือ  $C_2H_5OH$  สามารถนำมาบริโภคและใช้เป็นเชื้อเพลิงในรูปเอทานอลไร้น้ำ (Anhydrous ethanol) ที่มีความบริสุทธิ์สูง (เข้มข้นร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร) หรืออาจใช้เป็นเอทานอลที่มีน้ำ (hydrous ethanol) ซึ่งสามารถนำเอทานอลมาใช้ประโยชน์ได้หลายทาง ดังนี้

1. แอลกอฮอล์ที่ใช้รับประทานได้โดยตรง (Portable Alcohol) ได้แก่ ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ในอุตสาหกรรมสุราหรืออุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น

2. แอลกอฮอล์ที่ไม่ใช้รับประทานโดยตรง (Industrial Alcohol) ส่วนใหญ่นำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักสารอื่นๆ เช่น กรดอะซิติกและกรดมะนาว ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม หรือสารอินทรีย์อื่นๆ เช่น เอทิลอีเทอร์ เอทิลเอสเทอร์ เอทิลีน อะซิทัลดีไฮด์ ใช้เป็นสารละลายหรือสารสกัดในการผลิตแล็กเกอร์ และเครื่องสำอาง ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรคในทางการแพทย์ อุตสาหกรรมทางการแพทย์ นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเส้นใยและโลหะอีกด้วย

3. แอลกอฮอล์ที่ใช้เป็นเชื้อเพลิง มีความบริสุทธิ์สูงร้อยละ 95 หรือร้อยละ 99.5-99.6 แอลกอฮอล์ที่มีความบริสุทธิ์แตกต่างกันนี้ สามารถนำมาใช้ผลิตเป็นเชื้อเพลิงได้ 3 แบบ ดังนี้

3.1 เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซินหรือดีเซล ใช้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง โดยแอลกอฮอล์มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 95

3.2 ใช้ผสมกับน้ำมันชนิดอื่นๆ โดยสัดส่วนการผสมเอทานอลกับน้ำมันนั้นมีใช้กันอยู่หลายประเภท เช่น แก๊สโซฮอล์ 95 เป็นการผสมน้ำมันเบนซิน 95 กับเอทานอล ในสัดส่วน 9 : 1 เพื่อที่ยังรักษาค่าออกเทนไว้ได้ในระดับเดิม E85 เป็นเชื้อเพลิงที่ได้จากการผสมน้ำมันกับเอทานอล โดยมีสัดส่วนของเอทานอลสูงถึงร้อยละ 85 และมีค่าออกเทนสูง มีใช้กันในประเทศในแถบบราซิล อเมริกาและยุโรป ซึ่งน้ำมันชนิดนี้ต้องใช้กับรถยนต์ที่มีเครื่องยนต์ทนต่อการกัดกร่อนสูงกว่าปกติ ดังนั้นในการใช้น้ำมันชนิดนี้จึงจำเป็นต้องใช้เวลาในการเตรียมความพร้อมทั้งในด้านของผู้ใช้รถยนต์ และรวมถึงผู้จำหน่ายน้ำมันที่ต้องคำนึงถึงกระบวนการผลิตและขั้นตอนการจัดจำหน่ายด้วย

3.3 เป็นสารเคมีที่ช่วยเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมัน โดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลเป็น ETBE (Ethyl Tertiary Butyl Ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งเป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้ เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศสูงกว่าสารเติมแต่งอื่นๆ (Cardona และคณะ, 2010)

#### 2.1.1 การผลิตไบโอเอทานอล

เอทานอลสามารถผลิตได้ทั้งจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยมีเอทิลีนเป็นวัตถุดิบ และกระบวนการทางชีวเคมี โดยใช้พืชผลหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีน้ำตาลสูงเป็นวัตถุดิบ ซึ่งกระบวนการนี้ได้รับความนิยม เพราะมีวัตถุดิบที่สามารถเลือกใช้ได้หลากหลายตามความเหมาะสม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสภาพแวดล้อมในแต่ละประเทศ โดยกระบวนการผลิตเอทานอล ประกอบไปด้วยขั้นตอนการผลิตหลักๆ 3 ขั้นตอน ได้แก่

### 1. การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมัก

การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมักจะขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ ถ้าเป็นวัตถุดิบที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้ย่อยได้ง่าย การจัดเตรียมก็ทำได้ง่าย เช่น กากน้ำตาลหรือน้ำอ้อย เพียงเจือจางความเข้มข้นของวัตถุดิบให้เหมาะสมด้วยน้ำก็สามารถนำไปหมักได้ สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ย่อยได้ยาก เช่น หัวมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทแป้ง หรือชานอ้อยซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทเส้นใยเซลลูโลส จะต้องนำวัตถุดิบไปผ่านกระบวนการลดขนาดเชิงกลด้วยการหั่น ตัดหรือบด และอาจมีการใช้ความร้อนร่วมด้วยเพื่อเปลี่ยนสภาพวัตถุดิบให้เหมาะต่อการนำไปย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ วัตถุดิบต้องผ่านหรือไม่ผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับชนิดของการหมักและวัตถุดิบที่ใช้แล้วเข้าสู่กระบวนการหมักต่อไป

### 2. การเตรียมหัวเชื้อ (Inoculum)

เตรียมหัวเชื้อเพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่แข็งแรง และมีปริมาณมากเพียงพอสำหรับใช้ในการหมัก รวมทั้งต้องปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ โดยทั่วไปหัวเชื้อที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมักเอทานอล คือ เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* เชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตเอทานอล จะต้องเป็นยีสต์สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว กล่าวคือเมื่อใช้วัตถุดิบต่างประเภทกัน อาจต้องใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันด้วย เมื่อเตรียมหัวเชื้อแล้วจึงถ่ายลงในถังหมักผสมกับวัตถุดิบ จากนั้นทำการปรับและควบคุมสภาวะของการหมัก เช่น อัตราการให้อากาศ (Aeration rate) อัตราการกวน (Agitation rate) ค่าความเป็นกรดเบส (pH) และอุณหภูมิในระหว่างการหมัก ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของการหมัก ชนิดของผลิตภัณฑ์และชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้

### 3. การหมัก (Fermentation)

ขั้นตอนการหมักเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดจากการทำงานของเชื้อยีสต์ในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นแอลกอฮอล์ภายใต้สภาพที่ปราศจากออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย โดยทั่วไปการหมักแอลกอฮอล์แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

1. การหมักแบบครั้งคราว (Batch fermentation) เป็นกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์โดยอาศัยการเติมวัตถุดิบ สารอาหารและหัวเชื้อลงไปในถังหมักเพียงครั้งเดียวตลอดการหมัก

2. การหมักแบบกึ่งครั้งคราว (Fed batch fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารลงไปในถังหมักมากกว่า 1 ครั้งขึ้นไป เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบและสารอาหารได้ในปริมาณสูงขึ้น

3. การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นกระบวนการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหารเข้าไปในถังหมักตลอดเวลา ขณะเดียวกันก็มีการแยกเอาผลิตภัณฑ์ออกมามาตลอดเวลาเช่นกัน ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูงสุดในระยะเวลาเท่ากันเมื่อเทียบกับการหมักทั้งสองชนิดที่กล่าวมา

### 4. การแยกผลิตภัณฑ์เอทานอล และทำให้บริสุทธิ์

น้ำหมักที่ได้จากการหมักจะนำมาแยกเอทานอลออก โดยใช้กระบวนการกลั่นลำดับส่วน ซึ่งสามารถแยกเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์ประมาณร้อยละ 95 โดยปริมาตร จากนั้นจึงเข้าสู่

กรรมวิธีในการแยกน้ำโดยการใช้อนุภาคซีฟ (Molecular sieve separation) ทำให้เอทานอลมีความบริสุทธิ์ขึ้น โดยมีความเข้มข้นถึงร้อยละ 99.5 (Cardona และคณะ, 2010)

### 2.1.2 วัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอล

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตรสามารถแบ่งตามกลุ่มพืชผลการเกษตรที่ใช้ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Sugar) ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาลและหัวผักกาดหวาน โดยวัตถุดิบเหล่านี้จะมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบหลัก ยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการใดๆก่อนการหมัก

2. วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starch) ได้แก่ มันสำปะหลัง ธัญพืชและมันฝรั่ง เป็นต้น แป้งเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักได้ ดังนั้นแป้งจะต้องผ่านการย่อยให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ยีสต์จึงจะสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ ซึ่งการย่อยแป้งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

การย่อยครั้งแรกหรือการทำให้เหลว (Liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (Alpha-amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิประมาณ 100-105 องศาเซลเซียสให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลง ของเหลวที่ได้จะมีค่าสมมูลเด็กโทรส (Dextrose equivalent ; DE) อยู่ในช่วงร้อยละ 10 -15 เรียกว่า มอลโตเด็กซ์ทริน (Maltodextrin)

การย่อยครั้งสุดท้ายหรือการทำให้หวาน (Saccharification) สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งควรมีสมมูลเด็กซ์โทรสสูง ยีสต์จึงจะทำงานได้ดี ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เข้าไปย่อยให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยจะใช้เวลาในการย่อยระหว่าง 60-72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการย่อยจะให้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์และฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนก่อนที่จะเข้ากระบวนการหมัก ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลเมื่ออยู่ในสภาพปราศจากอากาศหรือมีอากาศจำกัด

3. วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ส่วนมากจะเป็นผลพลอยได้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบกลุ่มนี้มีส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนินและสารประกอบอื่นๆ เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายยาวและอยู่ในรูปผลึกมีลักษณะเป็นเส้นใย เหนียวและไม่ละลายน้ำ เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (Pentose) หลายชนิด เช่น ไซโลส แมนโนส และอะราบิโนส เป็นต้น ไม่ละลายน้ำและเสถียรน้อยกว่าเซลลูโลสมาก ลิกนินเป็นพอลิเมอร์ของฟีนิลโพรเพน ซึ่งทนต่อการย่อยสลายอย่างมาก ดังนั้นการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสจึงประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก ดังนี้ (Hamelinck และคณะ, 2005)

ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ (Pretreatment) เป็นการแตกพันธะที่เซลลูโลสจับกับสารประกอบอื่นๆออก เพื่อให้เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) สามารถเข้าถึงและย่อยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น ซึ่งสามารถทำได้มีหลายวิธี ได้แก่ การย่อยด้วยกรดเจือจาง ย่อยด้วยกรดเข้มข้นและย่อยด้วยด่าง เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบเป็นสำคัญ

ขั้นตอนการย่อย (Hydrolysis) มี 2 วิธี คือ การย่อยด้วยกรดและการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งการย่อยมี 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกจะเป็นการย่อยเฮมิเซลลูโลสให้น้ำตาลเพนโตส ขั้นตอนที่สองจะเป็นการย่อยเซลลูโลสได้น้ำตาลกลูโคส

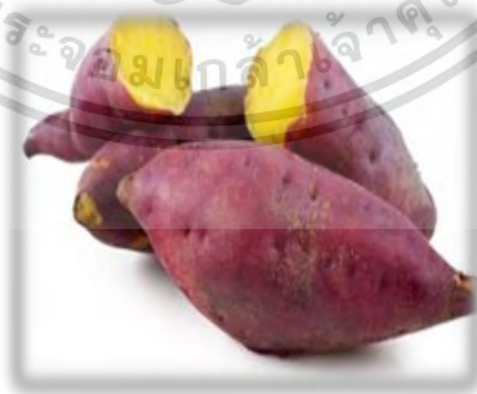
ขั้นตอนการหมักน้ำตาลที่ได้ให้เป็นเอทานอล โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลชนิดนั้นๆได้ เช่น ใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* หมักน้ำตาลกลูโคส หรือใช้เชื้อ *Pichia stipitis* หมักน้ำตาลเพนโตส เป็นต้น (Cardona และคณะ, 2010)

## 2.2 มันเทศ

มันเทศ (Sweet potato) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* L. เป็นพืชเถาเลื้อยราบไปบนพื้นดิน ปลูกเป็นพืชไร่ มีอายุยืน มีรากที่ขยายใหญ่เพื่อสะสมอาหาร มีรูปร่าง ขนาด จำนวนและสีของหัวต่างกันตามสายพันธุ์ มันเทศมีการจัดลำดับชั้นอนุกรมวิธาน ดังนี้

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

มันเทศเป็นพืชหัวที่มีคุณค่าอาหารสูง มีประโยชน์ในด้านการบริโภคใช้เป็นอาหารของมนุษย์และอาหารสัตว์ได้ทั้งหัว เถา ใบ และยอดอ่อน ในประเทศไทยมันเทศใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิด ทั้งคาวหวาน สามารถทำเป็นแป้งมันเทศ เป็นส่วนผสมของอาหารเด็ก อาหารว่างชนิดต่าง ๆ เส้นก๋วยเตี๋ยวมันเทศ แอลกอฮอล์ สุรา มันเทศ และทำเป็นกาว เป็นต้น นอกจากนี้มันเทศยังสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้หลายชนิด เช่น วัว ควาย แพะ สุกร กระต่าย เป็ด ไก่ และปลา เป็นต้น แป้งมันเทศมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับแป้งมันฝรั่ง สามารถใช้แป้งมันเทศแทนมันฝรั่งได้ (มาลินี และคณะ, 2542)



### รูปที่ 2.1 มันเทศ

ที่มา : <http://www.agriculturesource.com/p-yam-sweet-potato-887988.html> (สืบค้นวันที่ 8 ตุลาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.1 องค์ประกอบของมันเทศ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของมันเทศ (Salunkhe and Kadam, 1998) พบว่ามีส่วนประกอบที่สำคัญดังนี้

1. แป้ง (Starch) หัวของมันเทศมีแป้งสูง
2. น้ำตาล (Sugars) ได้แก่ น้ำตาลฟรุคโตส กาแลคโตส ซูโครส กลูโคส มอลโทส และอินโนซิทอล
3. เอนไซม์ (Enzymes) มีเอนไซม์แอลฟาและเบต้าอะไมเลส ซึ่งสามารถทนความร้อนได้และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้ในโรงเก็บ
4. กรดอินทรีย์ (Organic acid) เป็นกลุ่มสารที่ไม่ระเหย มีผลต่อรสชาติของมันเทศเพียงเล็กน้อย เช่น กรดซัคซินิก มาลิก ซิตริก เป็นต้น ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์
5. โปรตีน (Proteins) หัวมันเทศมีโปรตีนประมาณร้อยละ 1.0 – 5.0 ของน้ำหนักแห้ง โดยเฉพาะที่บริเวณผิวหรือเปลือก และมีกรดอะมิโนที่สำคัญ
6. วิตามินและแร่ธาตุ (Vitamins and minerals) มันเทศมีวิตามินเอและบีสูง (Yoshimoto, 1998) มันเทศที่มีเนื้อสีเหลืองหรือส้ม จะมีปริมาณของเบต้าแคโรทีนสูง ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตวิตามินเอ และยังมีแร่ธาตุพวกโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสในปริมาณมากอีกด้วย
7. สารระเหย (Volatile compounds) สกัดได้จากผิวเปลือกของมันเทศ มีโครงสร้างเป็นวงแหวนกลุ่มอะโรมาติก ได้แก่ สารพวกแอลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ คีโตน กรดปาล์มิติก เป็นต้น
8. รงควัตถุ (Pigments) ในมันเทศมีเบต้าแคโรทีนสูงโดยเฉพาะมันเทศที่มีเนื้อสีส้ม หรือเหลืองมากกว่าในมันเทศที่มีเนื้อสีขาว สำหรับมันเทศที่มีเนื้อสีแดงและสีม่วงจะมีแอนโทไซยานินในปริมาณสูง

#### ตารางที่ 2.1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของมันเทศดิบ 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการต่อ 100 กรัม (3.5 ออนซ์)					
สารอาหาร		วิตามิน		แร่ธาตุ	
พลังงาน	359 kJ (86 kcal)	วิตามินเอ	0.71 mg	แคลเซียม	30 mg
		บีตา-แคโรทีน	0.85 mg	เหล็ก	0.61 mg
คาร์โบไฮเดรต	20.1 g	ไทอามีน(บี1)	0.078 mg	แมกนีเซียม	25 mg
แป้ง	12.7 g	ไรโบเฟลวิน(บี2)	0.061 mg	แมงกานีส	0.258 mg
น้ำตาล	4.2 g	ไนอาซิน(บี3)	0.557 mg	ฟอสฟอรัส	47 mg
ใยอาหาร	3 g	กรดแพนโทเทนิก(บี5)	0.8 mg	โพแทสเซียม	337 mg
ไขมัน	0.1 g	วิตามินบี6	0.209 mg	โซเดียม	55 mg
โปรตีน	1.6 g	โฟเลต (บี9)	0.01 mg	สังกะสี	0.3 mg
		วิตามินซี	2.4 mg		
		วิตามินอี	0.26 mg		

ที่มา : USDA National Nutrient Database for Standard Reference

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2.2 ลักษณะทั่วไปของมันเทศ

มันเทศมีถิ่นกำเนิดในบริเวณเขตร้อนของทวีปอเมริกา โดยจัดเป็นไม้ล้มลุก เลื้อยพันมีความยาวได้ถึง 5 เมตร มีน้ำยางสีขาว ลำต้นทอดเลื้อย รากมันเทศมีระบบรากเป็นแบบรากฝอย ซึ่งจะเกิดจากข้อของลำต้นที่ปลูกลง หรือเกิดจากลำต้นที่ทอดเลื้อยไปตามพื้นดิน รากมันเทศมีการขยายตัวเพื่อสะสมอาหาร เรียกว่า หัวมันเทศ โดยลักษณะของหัวส่วนมากจะมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก หัวเรียวยาว ท้ายเรียวยาว ส่วนตรงกลางป่องออก และสีผิวของหัวและสีของเนื้อในหัวจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ โดยอาจจะเป็นสีแดง สีเหลือง สีขาว หรือสีน้ำตาล และมักจะมีรากแขนงเกิดในร่องของหัว ผิวของหัวอาจจะมีเรียบหรือขรุขระ หัวมันเทศนอกจากจะให้อาหารจำพวกแป้งแล้ว ยังอุดมไปด้วยวิตามินเอ (โดยเฉพาะในหัวสีเหลือง) วิตามินบี และวิตามินซีซึ่งมีประโยชน์ และสามารถได้รับประทานได้ ใบมันเทศจะมีขนาดและรูปร่างต่างกันแม้จะอยู่ในต้นเดียวกันก็ตาม โดยปกติแล้วขอบใบจะเว้าลึกเป็นแฉก 3-7 แฉก ผิวใบเรียบหรือมีขนเล็กน้อย และมักจะมีสีม่วงตามเส้นใบ ก้านใบอาจยาวหรือสั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ต้นที่ปลูกลงในเขตอบอุ่นมักจะไม่มีการออกดอก ส่วนต้นที่ปลูกลงในเขตร้อนจะออกดอก แต่มักจะไม่ติดเมล็ด ออกดอกเป็นช่อ

มันเทศเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุยระบายน้ำดี และชอบแสงแดดจัด โดยพืชที่อยู่ในวงศ์นี้จะพบได้มากในแถบเส้นศูนย์สูตรและภายใต้แถบศูนย์สูตร ส่วนในประเทศไทยมีปลูกกันทั่วไป แต่ส่วนใหญ่แหล่งปลูกจะเป็นจังหวัดในภาคกลาง โดยจังหวัดที่ปลูกมันเทศมากที่สุดได้แก่ เชียงใหม่ เลย นครสวรรค์ พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี นครปฐม เพชรบุรี นครศรีธรรมราช สงขลา และตรัง (มาลินี และคณะ, 2542)



รูปที่ 2.2 ลักษณะทั่วไปของมันเทศ

ที่มา : มาลินี และคณะ (2542)

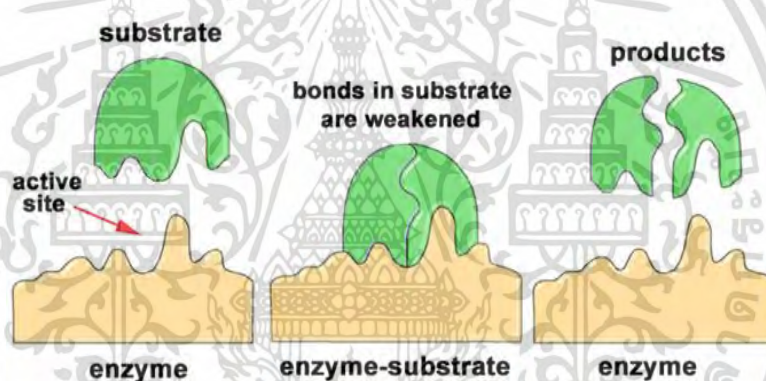
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 เอนไซม์อะไมเลส (Amylase)

เอนไซม์ คือ กลุ่มโปรตีน (Protein) ที่ผลิตโดยเซลล์สิ่งมีชีวิตพบได้ทั้งในพืช สัตว์และจุลินทรีย์ มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ เช่น การสังเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ ระบบการย่อยอาหาร โดยย่อยสลายโมเลกุลของอาหารที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลง เป็นต้น

เอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อซับสเตรตและทำปฏิกิริยากับซับสเตรตในตำแหน่งเฉพาะ เรียกว่า บริเวณเร่ง (Active site) การรวมตัวของเอนไซม์และซับสเตรต (Enzyme and substrate complex) จะไม่เกิดหากรูปร่างหรือตำแหน่งของเอนไซม์หรือซับสเตรตที่บริเวณเร่งเปลี่ยนไป เปรียบได้กับแม่กุญแจกับลูกกุญแจ (Lock and key model) เมื่อรวมตัวแล้วเอนไซม์จะทำให้พันธะเคมีในโมเลกุลของซับสเตรตสลายตัวและแตกตัวเป็นโมเลกุลใหม่ที่มีขนาดเล็กลง แสดงดังรูปที่ 2.3

เอนไซม์จะเร่งปฏิกิริยา ทำให้มีการเคลื่อนย้ายพลังงานจากสถานะหนึ่งไปอีกสถานะหนึ่งซึ่งเอนไซม์จะปลดค่าพลังงานกระตุ้น (Activation energy) ของปฏิกิริยานั้นๆ ทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วขึ้น โดยไม่มีผลต่อค่าคงที่สมดุลของปฏิกิริยา (จิตติมา, 2553)



รูปที่ 2.3 การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0680/enzyme> (วันที่ 10 ตุลาคม 2559)

อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่สามารถไฮโดรไลซ์พันธะในโมเลกุลของแป้งให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง ทำให้ได้เป็นเดกซ์ทรินและน้ำตาล เช่น มอลโทส และ กลูโคส เอนไซม์อะไมเลสถูกค้นพบขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ.1831 โดยศุนย์ฟรีดริช ซึ่งได้อธิบายการย่อยสลายแป้งด้วยน้ำลาย โดยอาศัยเอนไซม์ที่มีชื่อว่า ไทยาลิน (Ptyalin) หรือ อะไมเลส (Amylase) ต่อมาในปี ค.ศ. 1833 Anselme Payen และ Jean-Francois Persoz นักเคมีชาวฝรั่งเศสสามารถแยกเอนไซม์อะไมเลสออกจากข้าวบาร์เลย์งอก และตั้งชื่อเอนไซม์อะไมเลสที่พบในข้าวบาร์เลย์งอกว่า diastase หลังจากนั้นในปี ค.ศ.1862 Alexander Jakulowitsch Danilewsky สามารถแยกเอนไซม์อะไมเลสออกจากเอนไซม์เทปซินในตับอ่อนได้ อะไมเลสส่วนใหญ่จึงพบได้ในน้ำลาย ตับอ่อน โดยอะไมเลสที่พบในน้ำลายเรียกว่า ไทยาลิน ซึ่งสามารถพบได้ในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Colon Institute, 2016)

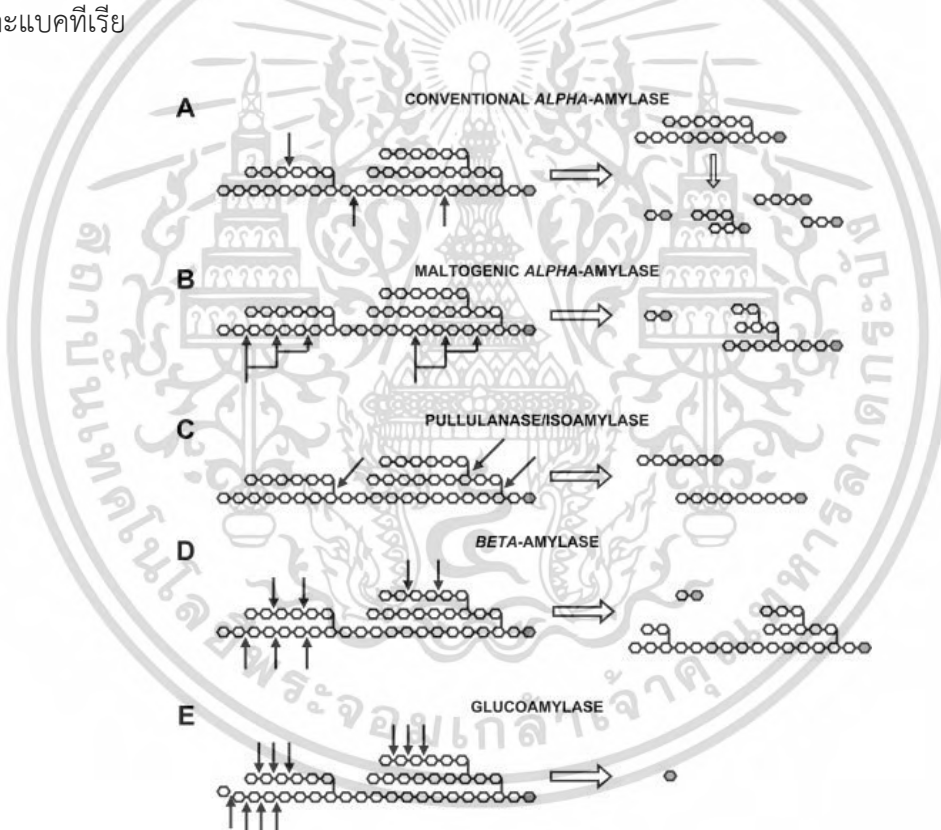
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส สามารถแบ่งได้ 3 ชนิดคือ

1. แอลฟา-อะไมเลส (Alpha-amylase) เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลแป้งที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 แบบสุ่ม ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทสและกลูโคสอย่างรวดเร็ว

2. เบตา-อะไมเลส (Beta-amylase) เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ของโมเลกุลแป้งที่ตำแหน่งแอลฟา 1,4 ที่เฉพาะส่วนปลายสายด้านที่เป็นนอนรีดิวส์ (Non reducing end) เข้ามาทีละ 2 หน่วย ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส

3. แกมมา-อะไมเลส (Gamma-amylase) หรือ กลูโคอะไมเลส หรือ อะมิโลกลูโคซิเดส เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ของโมเลกุลแป้งได้ทั้งตำแหน่งแอลฟา 1,4 และ 1,6 จึงสามารถไฮโดรไลซ์โมเลกุลของอะไมโลเพกทิน ซึ่งเป็นโมเลกุลมีสายแขนง โดยจะไฮโดรไลซ์จากส่วนปลายด้านนอนรีดิวส์ (Non reducing end) เข้ามาทีละ 1 หน่วยได้น้ำตาลกลูโคส โดยสามารถผลิตได้ในราและแบคทีเรีย



รูปที่ 4 การทำงานของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละชนิด

ที่มา : <https://craftdistilleredu.wordpress.com/tag/beta-amylase> (10 ตุลาคม 2559)

ในปัจจุบันเอนไซม์ได้เข้ามามีบทบาทในวงการอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถควบคุมกระบวนการผลิตให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และช่วยลดต้นทุนในการผลิตจากสารเคมีสังเคราะห์ ซึ่งนอกจากจะมีราคาสูงแล้ว ยังอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมในทางอ้อมอีกด้วย ในอุตสาหกรรมอาหารเอนไซม์อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมที่ใช้วัตถุดิบเป็นแป้ง โดยใช้เอนไซม์อะไมเลสร่วมกับเอนไซม์อื่นเพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้จัดทำ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคส ในประเทศไทยอุตสาหกรรมอาหารที่มีการใช้เอนไซม์ ได้แก่ อุตสาหกรรมการแปรรูปแป้ง ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ สารปรุงแต่งรสชาติอาหาร เครื่องดื่มและนม ซึ่ง อุตสาหกรรมการแปรรูปแป้งและผลิตไซรัปนั้นเป็นอุตสาหกรรมแรกที่ได้นำเข้าเอนไซม์มาใช้ โดยเฉพาะ สถิติในช่วง 3 ปี พ.ศ. 2546-2548 พบว่าประเทศไทยนำเข้าเอนไซม์จากต่างประเทศจำนวนมาก เนื่องจากประเทศไทยยังไม่สามารถผลิตเอนไซม์ที่ต้องการใช้ได้ (พัคตร์ประไพ และ วิเชียร, 2546)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งของเอนไซม์อะไมเลสแต่ละชนิด

เชื้อจุลินทรีย์	มวลโมเลกุล	อุณหภูมิที่เหมาะสม (°C)
<b><u>α-amylase</u></b>		
<i>Bacillus subtilis</i>	41,000	
<i>B. amyloliquefaciens</i>	49,000	70
<i>B. licheniformis</i>	62,000	90
<b><u>β-amylase</u></b>		
<i>B. cereus</i>	35,000	50
<i>B. circulans</i>	53-63,000	60
<i>Pseudomonas</i> sp. BQ 6	37,000	45-55
<b><u>Glucoamylase</u></b>		
<i>Aspergillus awamori</i>	83,700-88,000	60
<i>A. niger</i> I	99,000	
<i>A. oryzae</i> I	76,000	60
<i>A. oryzae</i> II	38,000	40
<i>Penicillium oxalicum</i> I	84,000	55-66
<i>Rhizopus delemar</i>	100,000	40

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0680/enzyme> (วันที่ 8 ตุลาคม 2559)

### 2.3.1 แอลฟาอะไมเลส

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลแป้งและไกลโคเจนที่ ตำแหน่งแอลฟา 1,4 แบบสุ่มทำให้โมเลกุลของแป้งและไกลโคเจนถูกย่อยได้น้ำตาล เช่น น้ำตาล มอลโทส (Maltose) และกลูโคสอย่างรวดเร็ว เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสพบทั่วไปในระบบการย่อย อาหาร (Digestive system) ของมนุษย์และสัตว์ เช่น ในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อน

ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์นี้ในการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis) ในขั้นตอนการทำ Liquefaction เพื่อลดความหนืดของสารละลายแป้งภายหลังการเกิดเจลลาติไนซ์ (Gelatinization) เพื่อผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้ แสดงดัง ตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.2 กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase)

มีอีกชื่อ เรียกว่า อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะไกลโคไซด์ที่แอลฟา 1,4 และ 1,6 จึงสามารถไฮโดรไลซ์โมเลกุลของอะไมโลเพกทิน ซึ่งเป็นโมเลกุลมีสายแขนง โดยจะไฮโดรไลซ์จากส่วนปลายด้านนอนรีดิวิส (Non reducing end) เข้ามาทีละ 1 หน่วยได้น้ำตาลกลูโคส สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori* และ *Rhizopus oryzae* เป็นต้น ซึ่งมีความสำคัญในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม (Coutinho และ Reilly, 1997)

## 2.4 ยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอยู่ในอาณาจักรฟังไจ (Fungi) เช่นเดียวกับบรา ยีสต์เป็นเซลล์ชนิดยูคาริโอต (Eukaryote) (สาวิตรี, 2540)

### 2.4.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์

โดยทั่วไปขนาดเซลล์ยีสต์ใหญ่กว่าแบคทีเรีย ขนาดของยีสต์แตกต่างกันตั้งแต่ความกว้าง 1-5 ไมโครเมตร และความยาว 5-30 ไมโครเมตรหรือมากกว่า มักมีรูปไข่ แต่บางชนิดมีรูปร่างยาวและบางชนิดเป็นทรงกลม ยีสต์แต่ละชนิดจะมีรูปร่างเฉพาะ แม้จะเลี้ยงเป็นเชื้อบริสุทธิ์ก็ยังคงมีความแตกต่างที่ขนาดรูปร่างของแต่ละเซลล์ ซึ่งขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีอวัยวะในการเคลื่อนที่ โดยมีรูปร่างลักษณะดังรูปที่ 2.5 (สาวิตรี, 2540)



รูปที่ 2.5 รูปร่างยีสต์และโครงสร้างภายในเซลล์ของยีสต์  
ที่มา : เมทินี (2554)

### 2.4.2 สรีรวิทยาของยีสต์

กระบวนการที่นิยมมากที่สุดของยีสต์ คือการย่อยสลายสารแบบไม่ใช้ออกซิเจน หรือกระบวนการหมักซึ่งผลิตสุดท้ายจะได้เอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ ยีสต์จะได้รับไนโตรเจนจากสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ในโตรเจน เพื่อนำไปสร้างโปรตีนและยีสต์ส่วนใหญ่

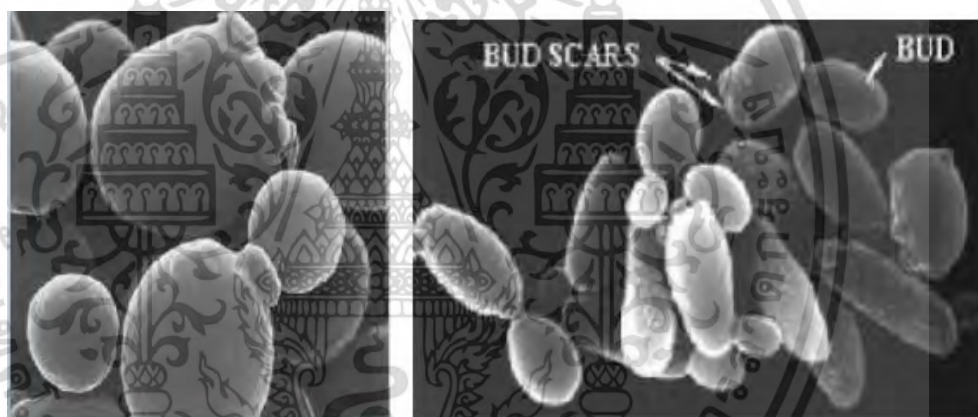
สามารถใช้แอมโมเนียมไอออนได้ ความสามารถในการใช้ในเตรตและไนโตรต์ และสามารถดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโน ช่วยแยกความแตกต่างของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ได้

ยีสต์พวกที่ชอบบออสโมซิสสูงสามารถเจริญในที่ที่มีความเข้มข้นของเกลือหรือน้ำตาลสูงได้ โดยมีความชื้นจำกัด และยีสต์สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 0-27 องศาเซลเซียส บางชนิดจะไม่เจริญที่อุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส ในขณะที่บางชนิดจะไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ส่วนใหญ่อยู่ที่ 20-30 องศาเซลเซียส

ยีสต์ที่ก่อโรคเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปยีสต์เจริญได้ดีในอาหารที่มีความเป็นกรดระหว่างพีเอช 3.5-3.8ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียส่วนใหญ่ (ธีระพงษ์ และคณะ, 2549)

### 2.4.3 การขยายพันธุ์ของยีสต์

ยีสต์ส่วนมากขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (Budding) แต่ยีสต์บางชนิดอาจขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ที่เรียกว่า แอสโคสปอร์ (Ascospore) หรือเบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) (สาวิตรี, 2540) การขยายพันธุ์ของยีสต์แสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 การแตกหน่อของยีสต์

ที่มา : เมทินี (2554)

### 2.4.4 นิเวศวิทยาของยีสต์

ยีสต์พบทั่วไปในธรรมชาติและแพร่กระจายไปโดยอาศัยแมลงและกระแสนลม ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นแซโพรไฟต์ (Saprophyte) อาศัยอยู่บนสารอินทรีย์ที่ตายแล้ว บางชนิดเป็นปรสิตอาศัยโฮสต์ (Host) ที่มีชีวิตและทำให้เกิดโรคแก่คนและพืชได้ จากการสำรวจพบว่ายีสต์สามารถทนอยู่ในสภาพแวดล้อมทุกชนิดทั้งน้ำจืด น้ำเค็ม ปากอ่าว และพบมากที่สุดที่ชายฝั่ง เนื่องจากมีสารอาหารสะสมมาก (ธีระพงษ์ และคณะ, 2549)

## 2.4.5 การใช้ยีสต์ในทางอุตสาหกรรม

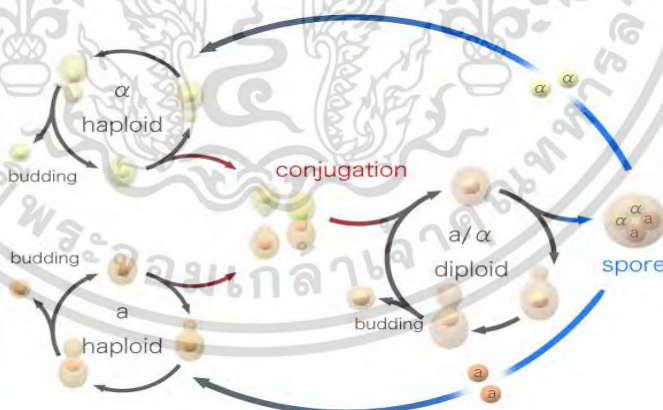
ยีสต์นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมมากมาย ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม เช่น การผลิตขนมปังและซีอิ๊ว เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และ อุตสาหกรรมอาหารเสริมของสัตว์จากน้ำเสียของโรงงานกระดาษ เป็นต้น

## 2.4.6 *Saccharomyces cerevisiae*

การจัดลำดับชั้นอนุกรมวิธานของ *Saccharomyces* sp. (ธีระพงษ์ และคณะ, 2549) เป็น การจำแนกยีสต์ออกเป็นหมวดหมู่ตามสายวิวัฒนาการดังนี้

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina (true yeasts)
Class	: Ascomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>

*Saccharomyces cerevisiae* จัดเป็นยีสต์แท้ มีวงจรชีวิตได้ทั้งแบบ Haploid (n) และ Diploid (2n) แสดงดังรูปที่ 2.7 แต่ส่วนมากจะพบในรูปของ Diploid ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงรี มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-6 ไมโครเมตร สำหรับ Haploid จะมีรูปร่างค่อนข้างกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร แต่ในระยะ Exponential phase นั้นมักจะพบวงจรชีวิตแบบ Haploid มากกว่า Diploid ซึ่งทั้งสองแบบนี้สามารถแตกหน่อ (Budding) ได้โดยเซลล์ลูกนั้นจะยื่นหน่อออกมาจากเซลล์แม่



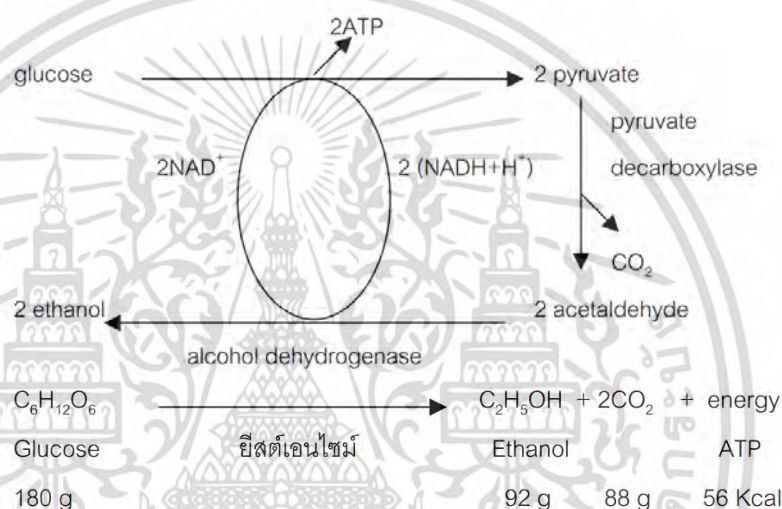
รูปที่ 2.7 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศของยีสต์

ที่มา : [http://wiki.yeastgenome.org/index.php/File:Yeast\\_life\\_cycle.png](http://wiki.yeastgenome.org/index.php/File:Yeast_life_cycle.png) (8 ตุลาคม 2559)

*Saccharomyces cerevisiae* มี Generation time สั้น เจริญได้ง่าย การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้างแอสโคสปอร์ ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังการคอนจูเกชัน (Conjugation) หรืออาจพัฒนาจากเซลล์ที่พลอยที่อยู่ในระยะเวเจตเททีฟ (Vegetative) แอสโคสปอร์มักมีรูปกลมหรือไข่ มีจำนวนไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1-4 แอสโคสปอร์ต่อแอสคัส สปอร์มีลักษณะกลมถึงรี ผิวสปอร์เรียบ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้แต่ใช้เกลือไนเตรตไม่ได้ ยีสต์ชนิดนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารต่างๆ เช่น ผลไม้ น้ำผลไม้ น้ำเชื่อม และน้ำผึ้งเกิดการเน่าเสีย ในขณะที่เดียวกันยีสต์นี้มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงจึงมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล (สาวิตรี, 2549)

การหมักเอทานอลของยีสต์นั้นเกิดจากการที่น้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปตามวิถีไกลโคไลซิสจนได้ไพรูเวต จากน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล จะให้ไพรูเวต 2 โมเลกุล จากนั้นไพรูเวตเกิด Decarboxylation โดยเอนไซม์ Pyruvate decarboxylase เป็นตัวเร่งการสร้างอะซีตัลดีไฮด์ ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นเอทานอล โดยมีเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการ รูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 วัฏจักรการสังเคราะห์เอทานอลจากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำตาลกลูโคส  
ที่มา : สาวิตรี, (2540) ; Panchal และTavares (1990)

จากสมการให้ผลสรุปทางทฤษฎีได้ว่า การผลิตเอทานอลจากกลูโคส 1 กรัม ให้เอทานอล 0.511 กรัม และคาร์บอนไดออกไซด์ 0.498 กรัม นั่นคือมีผลผลิตทางทฤษฎี (Theoretical yield) สำหรับการผลิตเอทานอลมีผลผลิตทางทฤษฎีร้อยละ 51.1 เนื่องจากน้ำตาลร้อยละประมาณ 6-12 จะถูกยีสต์ใช้เพื่อการเจริญและบางส่วนถูกเปลี่ยนไปเป็นผลผลิตพลอยได้บางชนิด เช่น กลีเซอรอล ซัคซิเนต และ Higher alcohol หรือ Fusel oil ทำให้ปริมาณเอทานอลที่ได้ต่ำกว่าผลผลิตทางทฤษฎีเสมอ ในทางปฏิบัติเอทานอลที่ได้อยู่ในช่วงไม่เกินร้อยละ 90-95 ของผลผลิตทางทฤษฎี โดยผลผลิตพลอยได้ที่เกิดขึ้น เกิดจากการใช้สารตั้งต้นร้อยละ 4-5 และถ้าสามารถป้องกันไม่ให้เกิดการสร้างผลผลิตพลอยได้เหล่านั้นจะได้เอทานอลเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.7 ปัจจุบันการผลิตระดับอุตสาหกรรมเอทานอลที่ได้จะมีค่าเพียงร้อยละ 80-90 ของผลผลิตทางทฤษฎี ซึ่งกระบวนการหมักเอทานอลของยีสต์นอกจากจะให้ผลผลิตที่ต้องการแล้วยังมีการปลดปล่อยพลังงานความร้อนในรูปของ ATP ด้วย (สาวิตรี, 2540 ; Panchal และTavares, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 เชื้อรา

### 2.5.1 ลักษณะสำคัญของเชื้อรา

เส้นใยของรามีผนังทอหุ้ม ส่วนใหญ่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง (Non-motile) ประกอบด้วย Filament มีลักษณะยาว เรียกว่า เส้นใย (Hypha) อาจมีผนังกันตามแนวขวาง ระยะผนังกันเรียกว่า Septum ซึ่งแบ่งเส้นใยออกเป็นช่องๆ แต่ละช่องเรียกว่า Hyphal segment ผนังของเส้นใยในราส่วนใหญ่ประกอบด้วย Microfibrill ของสารไคติน ราไม่มีคลอโรพิลล์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงหรือสร้างอาหารได้เอง ดังนั้นราจะได้รับอาหารจากแหล่งภายนอก เรียกว่า Heterotrophic โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 จำพวกตามลักษณะการได้รับอาหาร ได้แก่ Obligate parasite คือ ได้รับอาหารจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น และดำรงชีวิตเป็นปรสิตเพียงอย่างเดียวตลอดชีวิต Obligate saprobe คือ ได้รับอาหารจากอินทรีย์วัตถุต่างๆที่ตายแล้ว และดำรงชีวิตเป็นตัวย่อยสลายเพียงอย่างเดียวตลอดชีวิต และอีกพวกสามารถเป็นได้ทั้งปรสิตและตัวย่อยสลายในช่วงชีวิต อาหารสะสมของราพบได้ในรูปของไกลโคเจนและลิปิดเท่านั้น

นิวเคลียสของราสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ การแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส (Mitosis) ของรา แตกต่างไปจากพืชและสัตว์อื่นๆ คือ ตลอดระยะการแบ่งนิวเคลียส เยื่อหุ้มนิวเคลียสจะคงอยู่ตลอดเวลา ราส่วนใหญ่มีโครโมโซมรูปร่างเป็นเส้นยาว (Thread-like)

การสืบพันธุ์ของรา สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ

ระบบการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (Asexual reproductive system) สปอร์ที่ได้จากการสืบพันธุ์แบบนี้ไม่ผ่านขั้นตอนการรวมตัวกันของนิวเคลียส และนิวเคลียสมีการแบ่งตัวแบบ Mitosis ได้แต่เพียงอย่างเดียว

ระบบการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ (Sexual or perfect reproductive system) มีการผสมระหว่าง Sex cell และนิวเคลียส จึงมีระยะที่นิวเคลียสมีลักษณะเป็น Diploid (2N) และในขั้นสุดท้ายนิวเคลียส 2N มีการแบ่ง meiosis ลดจำนวนโครโมโซม จาก 2N เป็น N ทำให้ได้สปอร์ที่มีลักษณะเป็น Haploid, Sexual spore ที่สร้างโดยรา ได้แก่ Oospore, Zygospor, Ascospore และ Basidiospore (วิจิัย, 2551)

### 2.5.2 การจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อรา

เชื้อราอยู่ใน Division Eumycophyta ซึ่งแบ่งเป็น 4 คลาส ได้แก่ (Ainsworth และคณะ, 1983)

#### 1. Class Phycomycetes

เชื้อราในคลาสนี้มีลักษณะที่สำคัญคือ เส้นใยไม่มีผนังกัน มีนิวเคลียสกระจายทั่วเส้นใย เรียกว่า Coenocytic hypha สร้างสปอร์ภายในอับสปอร์ไม่จำกัดจำนวน Resting spore เกิดจากการสืบพันธุ์แบบมีเพศ มีผนังหนาทำให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี ต้องการความชื้นสูงในการเจริญ ส่วนมากเป็นพวกที่อาศัยอยู่ในน้ำ การดำรงชีวิตเป็นแบบ Saprophyte และ Parasite ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Allomyces sp.*, *Aprolegnia sp.* และ *Aibugo sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้ใช้โดยไม่มีการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Class Ascomycetes เชื้อราในคลาสนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ เส้นใยมีผนังกัน สปอร์แบบมีเพศสร้างภายในแอสคัส ในแอสคัสมี 8 แอสโคสปอร์ สปอร์แบบไม่มีเพศจะไม่สร้างในแอสคัส และไม่เคลื่อนที่ ไม่ต้องการความชื้นมากในการเจริญ ได้แก่ ยีสต์ *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp.

3. Class Basidiomycetes เชื้อราในคลาสนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ เส้นใยมีผนังกัน สปอร์ไม่เคลื่อนที่ สปอร์แบบมีเพศสร้างบนแบซิเดียม โดยแต่ละแบซิเดียมมี 4 Basidiospore เส้นใยเป็นชนิด Binucleate mycelium คือ มีสองนิวเคลียสในแต่ละเซลล์ ได้แก่ เห็ดชนิดต่างๆ

4. Class Deuteromycetes เชื้อราในคลาสนี้มีลักษณะที่สำคัญ คือ เส้นใยมีผนังกัน การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศจะสร้างสปอร์แบบโคนิเดีย ส่วนการสืบพันธุ์แบบมีเพศยังไม่พบ ถ้ามีการศึกษาพบว่าเชื้อราเหล่านี้มีการสืบพันธุ์แบบมีเพศก็จัดไว้ในคลาสอื่นๆ ได้แก่ พวกที่เป็นสาเหตุของโรคกลากเกลื้อน Hongkong foot

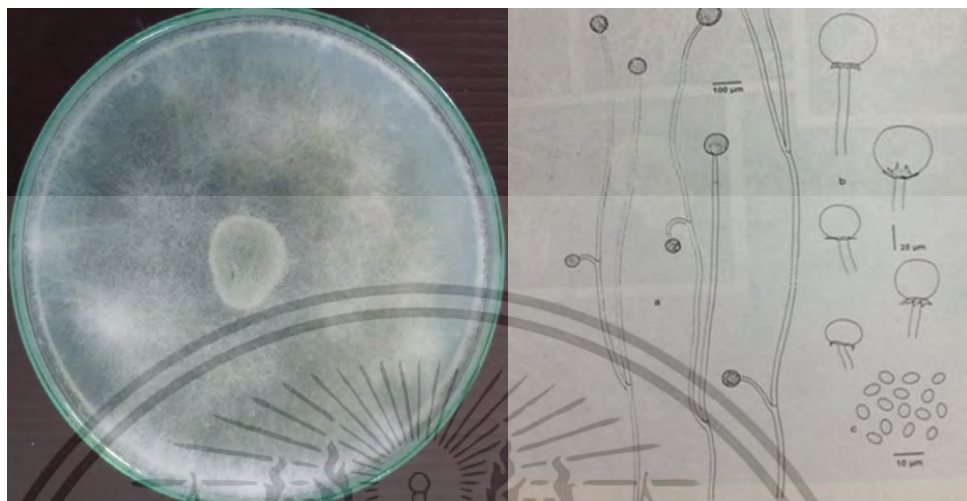
### 2.5.3 *Amylomyces rouxii* (Hong และ Guarro, 2001)

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

*Amylomyces rouxii* หรือ *Mucor rouxii* เป็นราใน Class Zygomycetes ที่เจริญเติบโตได้เร็ว สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง Sporangiospore และแบบอาศัยเพศโดยการสร้าง Zygosporangium แต่โดยทั่วไปพบว่าการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะมีบทบาทสำคัญต่อการสืบพันธุ์มากกว่าแบบอาศัยเพศ สร้าง sporangiophores ยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร กว้าง 14 ไมโครเมตร sporangia มีขนาดยาว 85 ไมโครเมตร สูง 40-50 ไมโครเมตร zygosporangium มีรูปร่างกลมหรือรีแบน ขนาดประมาณ 100 ไมโครเมตร บริเวณผนังชั้นนอกของสปอร์จะมีโปรตีนและไขมันสะสมอยู่ในปริมาณสูง

นอกจากนี้ *A. rouxii* มีคุณสมบัติที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างในระหว่างการเจริญเติบโตได้ทั้งแบบเส้นใย (Mycelium) และแบบเซลล์ยีสต์ (Yeast-like) ตามสภาวะแวดล้อมของการเจริญ (Orlowski และ Sypherd, 1978) คุณสมบัติต่างๆเป็นข้อได้เปรียบอย่างมากในการเพาะเลี้ยงราชนิดนี้ในถังหมัก เพราะช่วยลดปัญหาในเรื่องการถ่ายเทออกซิเจนและการส่งผ่านสารอาหาร และลดการถูกทำลายของเซลล์เนื่องจากแรงเฉือนได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเมื่อเทียบกับราชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ *A. rouxii* ยังใช้ในการย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลก่อนเข้าสู่การหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ เพื่อลดการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายแป้งก่อนการหมัก (Webster, 1979) *Amylomyces rouxii* มีความใกล้เคียงกับ *Rhizopus oryzae* (Montiel และคณะ, 2004; Kito และคณะ, 2009) แต่การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะใช้ คลาไมโดสปอร์ (chlamydospores) ซึ่งเป็นสปอร์ที่เกิดจาก

เส้นใยในการแพร่กระจายมากกว่า สปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) ที่เกิดภายในถุงสปอร์แรงเจียม (sporangium) (Tanimura และคณะ, 1977)



รูปที่ 2.9 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus rouxii*  
ที่มา : Hong และ Guarro, (2001)

#### 2.5.4 *Aspergillus oryzae*

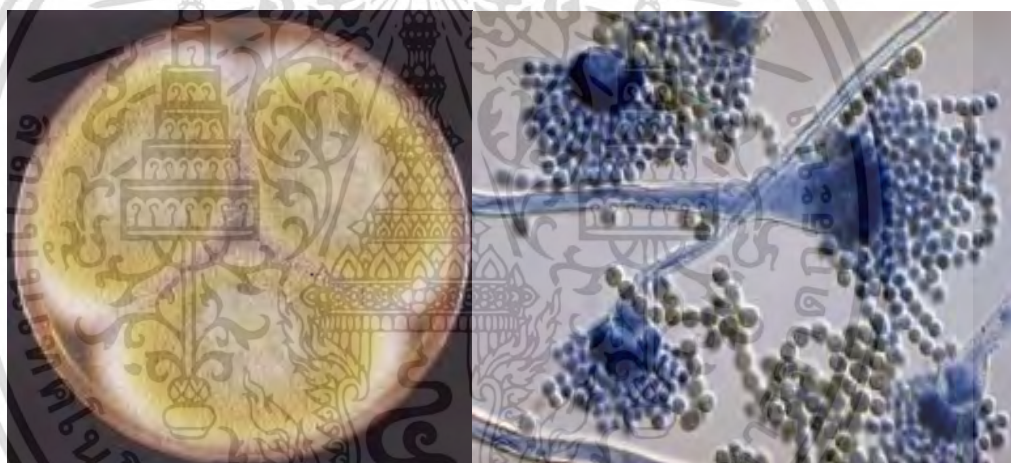
Kingdom	: Fungi
Division	: Ascomycota
Class	: Eurotiomycetes
Order	: Eurotiales
Family	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Species	: <i>Aspergillus oryzae</i>

*Aspergillus oryzae* เป็นเชื้อราใน Family Trichocomaceae จัดเป็นราในกลุ่ม Ascomycetes โคลนินของเชื้อรา *Aspergillus* มีสีเขียว มีเส้นใยที่แตกแขนง มีผนังกัน และไม่มีเซลล์ของเส้นใยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นรูปตัวแอลหรือตัวที มีเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนินเดียม (Conidia) มีรูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 – 4.5 ไมโครเมตร สวนปลายของก้านชูโคนินเดียมก้านชูมีผนังหนา เรียบ จะเจริญไปงอกเป็นเวสซิเคิล (Vesicle) ซึ่งมีรูปร่างค่อนข้างกลมและมีขนาดใหญ่ โคนินเดียมที่สร้างขึ้นภายหลังจะดันโคนินเดียมอันแรกๆออกมา และยังติดต่อกันอยู่จึงเกิดเป็นสายของโคนินเดียม (Klich,2002) ดังแสดงในรูปที่ 2.10 เชื้อราชนิดนี้ที่มีความสำคัญในการแปรรูปอาหารหลายชนิดในระบบนิเวศ โดยมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้พบทั่วไปใน ดิน พืช เมล็ดพืช และอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Aspergillus oryzae* เป็นเชื้อราประเภทที่มีเส้นใย อยู่ในสกุล *Aspergillus* ซึ่งนิยมนำมาใช้ประโยชน์ในการหมักอาหาร โดยราชนิดนี้จะนิยมใช้ในอาหารจีนและอาหารญี่ปุ่น สำหรับการหมักซีอิ้วจากถั่วเหลือง โดยเตรียมหัวเชื้อที่ใช้เพื่อการหมักอยู่ในรูปของโคจิ (Koji) นอกจากนี้ยังใช้กับกระบวนการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลในข้าว ธัญพืช และมันฝรั่งในการทำเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น สาเก และมัทก้อลลี ซึ่งการนำ *A. oryzae* มาใช้นั้นมีมาตั้งแต่ 2,000 ปีที่ผ่านมา ซึ่งใช้ในการทำน้ำส้มสายชูที่หมักจากข้าว

ลักษณะทางชีวเคมีของราสายพันธุ์นี้ คือ สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีแอกติวิตีสูงพร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟูมาลิก กรดซิตริก และกรดแลคติก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้กำจัดกลูโคสออกจากอาหาร จึงใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหารนอกจากยังใช้ผลิตเอนไซม์เซลลูโลสใช้ในการย่อยเซลลูโลสจากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร สามารถเจริญได้ถ้าเติมเมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งของไนโตรเจน นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งได้ ได้แก่ สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ได้อีกด้วย (Coutinho และ Reilly, 1997)



รูปที่ 2.10 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus oryzae*  
ที่มา : [foodnetworksolution.com/wiki/word/1438/aspergillus](http://foodnetworksolution.com/wiki/word/1438/aspergillus) (10 ตุลาคม 2559)

## 2.6 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์และเชื้อรา

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก ประกอบด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มของฟังไจ 2 ประเภทคือ รา และยีสต์ ซึ่งเป็นการใช้แป้งมันเทศทำปฏิกิริยาในการหมักแอลกอฮอล์จัดเป็น Multiparallel fermentation หมายถึง กระบวนการหมักที่มีหลายปฏิกิริยาและเกิดขึ้นพร้อมๆกัน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนหลักตามสภาวะของการหมักและประเภทของจุลินทรีย์ โดยขั้นตอนแรก เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาล (Saccharification) โดยราจะสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส ประกอบด้วย แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ย่อยโครงสร้างแอลฟาพอร์มโนโมเลกุลของเม็ดแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ น้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ตามลำดับ สำหรับราแล้วสภาวะการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อรู้เหตุเห็นไปใช้ประโยชน์ทางอื่นถือว่าผิดกฎหมาย  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องการอากาศ กลุ่มที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมาก ได้แก่ จีนิส *Rhizopus* sp. เช่น *R. oligosporus* *R. oryzae* *R. japonicas* *R. arrhizus* จีนิส *Mucor* sp. เช่น *M. rouxii* (*Amylomyces rouxii*) *M. fragilis* เป็นต้น สำหรับยีสต์ในระยะแรกจะยังไม่เกิดกระบวนการหมัก แต่จะมีการแตกหน่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วจนมีปริมาณที่มากพอ ประกอบกับสภาวะความเป็นกรดที่ราสร้างให้ ราซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ (Strictly Aerobe) ในการเจริญจะหยุดกิจกรรม ส่วนยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งสองสภาวะ (Facultative Anaerobe) ก็จะเปลี่ยนรูปแบบการสร้างพลังงานจากการหายใจที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic Respiration) มาเป็นกระบวนการหมักหรือการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Alcoholic Fermentation หรือ Anaerobic Respiration) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สอง ที่เป็นกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลดีทริกซ์ให้เป็นแอลกอฮอล์ ยีสต์ที่สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ซึ่งผลิตแอลกอฮอล์ได้ คือ ยีสต์ในกลุ่ม Ascomycetes ได้แก่ *Saccharomyces* sp. เช่น *S. cerevisiae* และ *S. diastaticus* ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในถังหมักจึงเรียงลำดับจาก Saccharification ของแป้งเป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ชนิดต่างๆและกลูโคส โดยเอนไซม์อะไมเลสจากรา ตามด้วยยีสต์ที่จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และความร้อนพร้อมๆกับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดแอสซิดิก (มณฑล, 2546)

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิมลลักษณ์ (2549) ศึกษาเชื้อราและยีสต์ที่คัดแยกได้จากลูกแป้งเหล้า 20 ตัวอย่างในอาหารเหลว คัดแยกเชื้อราได้ 87 ไอโซเลทและเชื้อยีสต์ได้ 30 ไอโซเลท เชื้อรา 3 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการย่อยแป้งได้สูงคือ MNT 037 MNT 029 และ MNT 006 โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสอยู่ในช่วง 0.69-8.97 ยูนิตต่อมิลลิเมตร จากการจัดจำแนกพบว่าเชื้อรา MNT 037 คือ *Amylomyces rouxii* เชื้อรา MNT 029 คือ *Aspergillus oryzae* และเชื้อรา MNT 006 คือ เชื้อรา *Rhizopus oryzae* ยีสต์ 2 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการหมักเอทานอลสูง คือ YRK 017 และ YRK 025 จากการจัดจำแนกพบว่าเป็นเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida pelliculosa* จากนั้นนำเชื้อราและยีสต์มาศึกษาความสามารถในการหมักสาโทโดยใช้เชื้อผสมในอัตราส่วนต่างๆพบว่าจากการหมักโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* sp. ร่วมกับ *S. cerevisiae* ในอัตราส่วน 1:1 จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดคือร้อยละ 14.23 จากการหมักที่อุณหภูมิ  $28 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

Tian และคณะ (1991) ได้ศึกษาส่วนประกอบของแป้งมันเทศเนื่องด้วยมันเทศเป็นผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากในแถบประเทศที่มีภูมิอากาศร้อน มันเทศสามารถนำมาทำเป็นอาหารให้ทั้งคนและสัตว์ แป้งมันเทศเป็นส่วนผสมสำคัญที่ใช้ในทางอุตสาหกรรมในการศึกษานี้ศึกษาองค์ประกอบของแป้งมันเทศและนำไปเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีกับแป้งอื่นๆโดยหว่านมันเทศสดจะประกอบด้วยแป้ง 178 กรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 26 กรัมต่อกิโลกรัม และโปรตีน 3.2 กรัมต่อกิโลกรัม

Jeon และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันฝรั่ง โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* และเชื้อรา *Aspergillus niger* ในถังหมัก พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยง *A. niger* ในสภาวะที่มีอากาศ เชื้อชนิดนี้จะสามารถผลิตเอนไซม์กลูโคสไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ภายนอก (extracellular enzyme) เอนไซม์ชนิดนี้จะเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลกลูโคส เมื่อเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศเชื้อชนิดนี้ไม่สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์ได้ ดังนั้นการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และเชื้อรา *A. niger* ปริมาณออกซิเจนจะมีผลทางลบต่อการผลิตเอทานอลของเชื้อยีสต์ แต่ทำให้การเจริญของเชื้อราสูงขึ้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตเอทานอลจากการใช้เชื้อผสม การใช้กระแสไฟฟ้าเพิ่มเข้ามาในถังหมัก ทำให้การผลิตเอทานอลสูง การใช้แป้งมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตรหมักโดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และเชื้อรา *A. niger* ให้ปริมาณเอทานอล 5 กรัมต่อลิตร เมื่อให้กระแสไฟฟ้าเข้าไปในถังหมัก 4 และ 5 โวลท์ ทำให้ปริมาณเอทานอลที่ได้สูงขึ้นเป็น 19 และ 9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อหมักเป็นเวลา 5 วัน

Manikandan และ Viruthagiri (2009) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากรำข้าวสาลีในการหมักเอทานอล โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อราย่อยแบ่ง *Aspergillus niger* และยีสต์ทนความร้อน *Kluyveromyces marxianus* วางแผนการทดลองแบบ central composite design (CCD) ศึกษาปัจจัยต่างๆ เช่น ความเข้มข้นซัสเตรท พีเอช อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเอนไซม์ ในการทำให้ได้น้ำตาลสูงสุด พบว่าความเข้มข้นซัสเตรทที่เหมาะสมในการหมัก คือ 200 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.5 หมักที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 7.5 IU และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเอทานอล พบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสพีเอช 5.5 และใช้รำข้าวสาลีความเข้มข้นร้อยละ 6 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 23.1 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว

Lee และคณะ (2012) ศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อราตรึงรูปที่สามารถย่อยแบ่งได้ คือ *Aspergillus oryzae* และ *Monascus purpureus* ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* โดยยีสต์ที่เจริญในอาหาร YPD (yeast extract peptone dextrose) ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 จะมีอัตราการหมักสูงสุดร้อยละ 6.0 การตรึงรูปของเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* หรือ *M. purpureus* เม็ดเจลใช้เวลาในการแข็งตัว 15-60 นาที จากการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* กับเชื้อผสมของ *A. oryzae* และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ที่พีเอช 4.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 11 วัน ความสามารถในการผลิตเอทานอลร้อยละ 3.84 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และค่าผลได้ของเอทานอลต่อปริมาณแป้งที่ใช้ไป ( $Y_{E/S}$ ) มีค่าเท่ากับ 0.39 เมื่อใช้ *S. cerevisiae* กับเชื้อผสมระหว่าง *A. oryzae* และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 1:2 จะมีค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลร้อยละ 4.08 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และค่าผลได้ของเอทานอลต่อปริมาณแป้งที่ใช้ไปเท่ากับ 0.41 หลังจากการหมัก 9 วัน

Swain และคณะ (2013) ศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *Trichoderma* sp. และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 172 กรัมต่อซัสเตรท 1 กิโลกรัม ในอาหารที่มีความชื้นร้อยละ 80 ใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.2 พีเอช 5.0 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 หมักที่ 30 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 72 ชั่วโมง ความสามารถในการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อร่วมกันจะสูงกว่าการใช้ *S. cerevisiae* เพียงชนิดเดียวร้อยละ 65

Wu และคณะ (2016) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกที่เหลือทิ้ง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเปลือกของเปลือกที่หลงเหลือจากกระบวนการทางอุตสาหกรรมอาหาร พบว่า สามารถใช้เปลือก 170 กรัมต่อลิตร แทนการให้น้ำตาลกลูโคส และสามารถใส่ Corn gluten meal เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก หรือ Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ด้วยหัวเชื้อ *Kluyveromyces marxianus* K21 ซึ่งเป็นยีสต์สายพันธุ์ที่ทนความร้อนได้สูง เติมหักเชื้อร้อยละ 5 บ่มที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าเมื่อผ่านไป 22 ชั่วโมง ให้ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดที่ 48.98 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการผลิตเอทานอล 2.23 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และสถานะที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความเสถียรเมื่อนำมาหมักในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

Izmirlioglu และ Demirci (2016) ได้ศึกษาการปรับปรุงกระบวนการย่อยพร้อมหมัก (SSF) เพื่อผลิตเอทานอลจากมันฝรั่งเหลือทิ้ง ด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* และเชื้อราย่อยแป้ง *Aspergillus niger* พบว่า ใช้วัตถุดิบเป็นมันฝรั่งเหลือทิ้ง 92.37 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 59.42 กรัมต่อลิตร และเติมไอออนซัลเฟต 0.159 กรัมต่อลิตร หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ 35.19 กรัมต่อลิตร

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงาน

#### 3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

3.1.2 *Amylomyces rouxii* TISTR 3182

3.1.3 *Aspergillus oryzae* TISTR 3086

จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

#### 3.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

มันเทศ (*Ipomoea batatas* (L.) Poir.) สายพันธุ์เกษตร ซึ่งมีเนื้อสีเหลืองจากตลาดหัวตะเข้ กรุงเทพมหานคร

#### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 อาหาร Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) broth แสดงในภาคผนวก ก

3.3.2 อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แสดงในภาคผนวก ก

3.3.3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 มวลต่อปริมาตร

3.3.4 สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.5 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 แสดงในข้อ 3.5.2

3.3.6 สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก *Aspergillus oryzae* 31.2 U/mg (Sigma, Aldrich CO. Ltd) แสดงในข้อ 3.5.2

3.3.7 สารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสจาก *Aspergillus niger* 31.2 U/mg (Sigma, Aldrich CO. Ltd) แสดงในข้อ 3.5.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 วัสดุอุปกรณ์

3.4.1 อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ปีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ เป็นต้น

3.4.2 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) ยี่ห้อ OLYMPUS

3.4.3 Milipore filter เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอน

3.4.4 ไมโครปิเปต (Micropipette) ยี่ห้อ GILSON

3.4.5 ตะแกรงร่อนแบ่งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 300 ไมครอน

3.4.6 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น High-Pressure steam sterilizer ES-315 ยี่ห้อ TOMY

3.4.7 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น Bio II Advance ยี่ห้อ Telstar

3.4.8 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น INB 500 ยี่ห้อ Memmert

3.4.9 เครื่องบด รุ่น SK100/C Gusseisen ยี่ห้อ Retsh

3.4.10 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น TE 2145 ยี่ห้อ Sartorius

3.4.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น CG 842 ยี่ห้อ Schott

3.4.12 เครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Incubator shaker)

3.4.13 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Z 383K ยี่ห้อ HERMLE

3.4.14 ไมโครเวฟ (Microwave) รุ่น T.D.S. Triple Distribution System ยี่ห้อ SAMSUNG

3.4.15 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) รุ่น UV-1601 ยี่ห้อ SHIMADZU

3.4.16 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) รุ่น GC-2014 ยี่ห้อ SHIMADZU

3.4.18 เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High pressure liquid chromatography) รุ่น LC-20A ยี่ห้อ SHIMADZU

3.4.17 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ยี่ห้อ Memmert

3.4.18 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น UN 110 ยี่ห้อ Memmert

3.4.19 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5. ขั้นตอนการดำเนินการ

#### 3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบ

มันเทศซื้อจากตลาดหัวตะเข้ โดยคัดเลือกมันเทศที่มีเปลือกสีแดง เนื้อสีเหลือง ซื้อในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน 2558 นำมาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนออก นำมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นบางๆ นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน จนแห้ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดโดยใช้โถปั่นไฟฟ้า นำผงมันเทศมากรองผ่านตะแกรงจะได้ผงมันเทศที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 300 ไมโครเมตร เก็บผงมันเทศที่ได้ใส่ถุงพลาสติก เก็บเข้าตู้เย็น 8 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

#### 3.5.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์

##### 3.5.2.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์

เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตต ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต 27.22 กรัม ละลายน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ และเตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 11.55 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์โดยนำสารละลายโซเดียมอะซิเตตปริมาตร 352 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดอะซิติกปริมาตร 148 มิลลิลิตร และนำไปปรับพีเอชเป็น 5.0 โดยใช้สารละลายกรดอะซิติก 0.05 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมอะซิเตต 0.05 โมลาร์ (สุวภัทร และคณะ, 2555)

##### 3.5.2.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.05 กรัม นำมาละลายในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปกรองด้วย Milipore filter เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เก็บสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (สุวภัทร และคณะ, 2555)

##### 3.5.2.3 การเตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

ชั่งเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 0.06 กรัม นำมาละลายด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร นำไปกรองด้วย Milipore filter ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเก็บสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (สุวภัทร และคณะ, 2555)

#### 3.5.3 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

##### 3.5.3.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

นำ *S. cerevisiae* TISTR 5088 จากอาหารแข็งเยือก PDA 1 ลูกปิ้งในอาหารเหลว Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) (ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร) ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บเข้าตู้เย็น 8 องศาเซลเซียส ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร และกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไป บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายยีสต์มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ 0.5 (จะมี เซลล์ยีสต์  $1 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จะได้หัวเชื้อยีสต์ (starter) ในการทดลองต่อไป (Petrea, 2008)

### 3.5.3.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อรา

นำเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เลี้ยงในอาหารแข็งเอียง PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใส่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการเชื้อแล้ว ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อหลอด ใช้ลูปขูดเพื่อให้สปอร์หลุดจากเส้นใยและกรอง ด้วยสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำสารแขวนลอยสปอร์มาวัดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ให้มีจำนวนสปอร์  $1 \times 10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการทดลองต่อไป โดยวิธีการเตรียมหัวเชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 นั้นเตรียมด้วยวิธีการดังกล่าวเช่นเดียวกัน

### 3.5.4 การเตรียมอาหารหมัก

#### 3.5.4.1 การเตรียมอาหารหมัก

ซึ่งผงมันเทศจากข้อ 3.5.1 มาเตรียมสารละลายผงมันเทศที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 (น้ำหนัก โดยปริมาตร) ในน้ำกลั่น จากนั้นคนให้ผงมันเทศละลายแล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยในระหว่างการให้ความร้อนต้องคนสารละลายผงมันเทศ ตลอดเวลาเพื่อไม่ให้เกิดการไหม้ นำสารละลายผงมันเทศใส่ลงในพลาสติกๆละ 80 มิลลิลิตร จำนวน 3 พลาสติก ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 3.5.4.2 การเตรียมอาหารหมักที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 มาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น ร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่เตรียมจากข้อ 3.5.2.2 บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้สารละลายผงมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

### 3.5.5 การหมักเอทานอลจากมันเทศ ด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)

3.5.5.1 การหมักเอทานอลจากมันเทศ ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้า โดยใช้กระบวนการ SSF

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *A. oryzae* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 37.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงถึงประมาณ 40 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส(เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 72 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Ochaikul และ Suwannaposri (2014) เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง Gas chromatography ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสด้วยเครื่อง High pressure liquid chromatography การทดลองในหัวข้อนี้ใช้เป็นชุดควบคุม (Control)

3.5.5.2 การหมักเอทานอลจากมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราย่อยแป้ง โดยใช้กระบวนการหมักแบบ SSF

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราและสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ใช้แต่ละสายพันธุ์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (เชื้อรา  $1 \times 10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตรและเชื้อยีสต์  $1 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร) โดยใช้อัตราส่วนเชื้อยีสต์ต่อเชื้อรา 1:1 โดยปริมาตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดที่ 1 หมักด้วยเชื้อผสมยีสต์และ *A. rouxii* TISTR 3182

ชุดที่ 2 หมักด้วยเชื้อผสมยีสต์และ *A. oryzae* TISTR 3086

ชุดที่ 3 หมักด้วยเชื้อผสมยีสต์และราทั้ง 2 สายพันธุ์

3.5.6 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศ ด้วยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separated Hydrolysis and Fermentation, SHF)

3.5.6.1 การหมักเอทานอลจากมันเทศ ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้าโดยใช้กระบวนการ SSF

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงถึงประมาณ 40 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมสารละลายหัวเชื้อยีสต์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มต่อจนครบ 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

3.5.6.2 การหมักเอทานอลจากมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้ง โดยใช้กระบวนการ SHF

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมสารละลายหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดที่ 1 หมักด้วย *A. rouxii* TISTR 3182 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์

ชุดที่ 2 หมักด้วย *A. oryzae* TISTR 3086 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์

ชุดที่ 3 หมักด้วยราทั้ง 2 สายพันธุ์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์

3.5.7 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งในแต่ละชุดการทดลอง และคัดเลือกมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.5.8 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อรากับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

3.5.8.1 อัตราส่วนของเชื้อราต่อเชื้อยีสต์

ทำการหมักเหมือนหัวข้อ 3.5.5.2 โดยแปรผันอัตราส่วนของเชื้อราต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เชื้อราต่อเชื้อยีสต์) ดังนี้ 1:1 1:2 1:3 1:4 2:1 3:1 และ 4:1 ทำอัตราส่วนละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที หมักนาน 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง Gas chromatography ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสด้วยเครื่อง High pressure liquid chromatography คัดเลือกการใช้อัตราส่วนของเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ที่เหมาะสมซึ่งให้ปริมาณเอทานอลสูงใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.5.8.2 ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน

ทำการหมักเหมือนหัวข้อ 3.5.5.2 โดยใช้อัตราส่วนของเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.8.1 แปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ดังนี้ ร้อยละ 4 6 8 และ 10 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักนาน 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ทำการทดลองและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.8.1

3.5.8.3 ชนิดของแหล่งไนโตรเจน

ทำการหมักเหมือนหัวข้อ 3.5.5.2 โดยใช้ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ได้จากหัวข้อ 3.5.8.2 จากนั้นแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจน ดังนี้ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ และยีสต์สกัด ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน โดยใช้อัตราส่วนเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ที่ได้จากหัวข้อ 3.5.8.1 ทำการทดลองและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.8.1

3.5.8.4 ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการหมักเหมือนหัวข้อ 3.5.5.2 โดยใช้ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ได้จากหัวข้อ 3.5.8.2 และ 3.5.8.3 จากนั้นแปรผันค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้ พีเอช 4, 5, 6 และ 7 โดยใช้อัตราส่วนเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ที่ได้จากหัวข้อ 3.5.8.1 ทำการทดลองและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.8.1

3.5.9 ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งในสภาวะที่เหมาะสม

เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุด A หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้า

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงถึงประมาณ 40 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น

ร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมหัวเชื้อยีสต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

ชุด B หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้ง

นำสารละลายผงมันเทศจากข้อ 3.5.4.1 เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราและสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ใช้แต่ละสายพันธุ์ร้อยละ 10 โดยปริมาตร โดยใช้อัตราส่วนเชื้อยีสต์ต่อเชื้อรา 1:1 โดยปริมาตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

ชุด C หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งในสภาวะที่เหมาะสม

นำสารละลายผงมันเทศที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม (ร้อยละโดยปริมาตร) จากการทดลองข้อ 3.5.8.2 นำมาเติมแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากการทดลองข้อ 3.5.8.3 ทำการปรับพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.5.8.4 จากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราและสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตรรวม 20 มิลลิลิตร โดยใช้อัตราส่วนเชื้อยีสต์ต่อเชื้อราที่เหมาะสม (โดยปริมาตร) จากการทดลองข้อ 3.5.8.1 บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเหมือน 3.5.5.1

### 3.5.7 ศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล

ศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมของเชื้อรากับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสมโดยวิเคราะห์ค่าความสามารถในการผลิตเอทานอล (Productivity of ethanol) เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 คำนวณตามสูตรดังนี้

$$\text{ค่าความสามารถในการผลิตเอทานอล} = \frac{\text{ปริมาณของเอทานอลสูงสุด} - \text{ปริมาณของเอทานอลเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาในการหมัก}}$$

(กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

### 3.5.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design , CRD ) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของผงมันเทศ

จากการนำมันเทศมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำมาบดละเอียด กรองผ่านตะแกรงให้ผงมันเทศมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 300 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด ปริมาณเถ้า ปริมาณความชื้น ปริมาณพลังงาน และวิเคราะห์หาพลังงานทั้งหมดจากไขมัน ตามวิธีการในภาคผนวก ข พบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 85.73 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.37 ไขมันร้อยละ 0.37 เถ้าร้อยละ 2.90 และความชื้นร้อยละ 7.63 แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ส่วนประกอบของผงมันเทศ

ส่วนประกอบของผงมันเทศ	ปริมาณ
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (ร้อยละโดยมวล)	85.73
ความชื้น (ร้อยละโดยมวล)	7.63
โปรตีน (ร้อยละโดยมวล)	3.37
เถ้า (ร้อยละโดยมวล)	2.90
ไขมัน (ร้อยละโดยมวล)	0.37
พลังงานจากไขมัน (กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม)	359.73
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม)	3.33

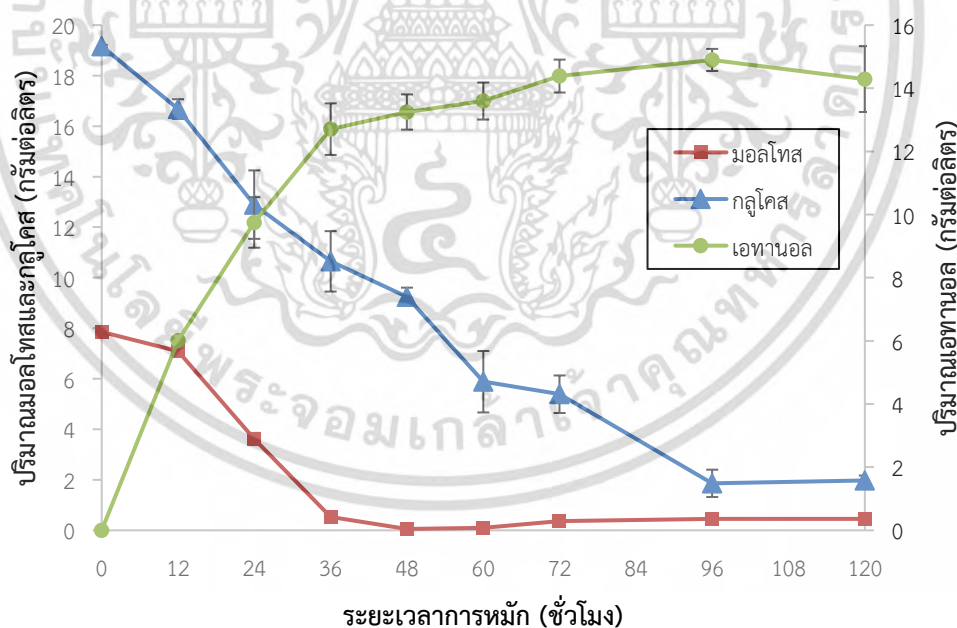
#### 4.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อยพร้อมกับการกระบวนการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation หรือ SSF)

##### 4.2.1 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF (ชุดควบคุม)

จากการนำมันเทศอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้เป็นผงละเอียด กรองผ่านตะแกรงให้ขนาดของแป้งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 300 ไมโครเมตร นำมาเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสารละลายผงมันเทศที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ในน้ำกลั่น นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จนได้สารละลายผงมันเทศมีลักษณะเหนียวและข้น นำสารละลายผงมันเทศแบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ ขวดละ 80 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์แอล

ฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ลดอุณหภูมิลงประมาณ 40 องศาเซลเซียส นำมาทำการย่อยพร้อมหมัก (SSF) ด้วยเอนไซม์กลูโคสไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง น้ำหมัก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส จากการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสในอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงตลอดระยะเวลาในการหมัก โดยน้ำตาลมอลโทสจะลดลงจนหมดในช่วง 36 ชั่วโมงแรก เพราะกลูโคสย่อยจนเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือน้ำตาลกลูโคส สำหรับน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 72 ชั่วโมงแรก และในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก (120 ชั่วโมง) จะเหลือน้ำตาลกลูโคส  $1.97 \pm 0.34$  กรัมต่อลิตร

สำหรับปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้น และมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ  $14.90 \pm 0.61$  กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลค่อนข้างคงที่ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ใช้น้ำตาลกลูโคสในการผลิตเอทานอล (Van der Maarel และคณะ, 2002) มีผลทำให้น้ำตาลกลูโคสลดลงและแปรผกผันกับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น แสดงดังรูปที่ 4.1

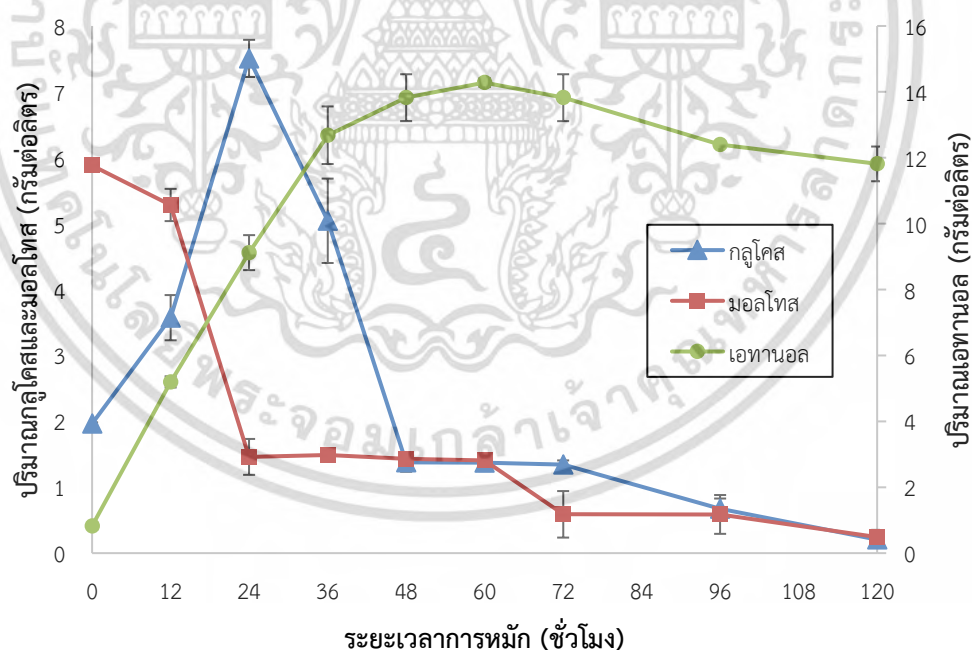


**รูปที่ 4.1** การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

#### 4.2.2 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้อเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

##### 4.2.2.1 ผลการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้อเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF (ชุดการทดลองที่ 1)

จากการนำอาหารหมักเต็มสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และสารแขวนลอยสปอร์ของ *A. rouxii* TISTR 3182 โดยใช้ปริมาตร 10 มิลลิลิตรในแต่ละสายพันธุ์ อัตราส่วนเชื้อยีสต์ต่อเชื้อรา 1:1 โดยปริมาตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ผล จากการทดลองพบว่า ในระยะแรกของการหมัก ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งให้ผลผลิตสูงสุด  $14.35 \pm 0.18$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 แสดงดังรูปที่ 4.2 จากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการหมัก ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก พบว่า ปริมาณน้ำตาลมอลโทสจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเกือบหมดในช่วง 48 ชั่วโมงแรก ส่วนน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก เนื่องจากในสภาวะที่มีอากาศเพียงพอ เชื้อราจะมีการเจริญและสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสเพื่อทำปฏิกิริยาย่อยแป้งหรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ (น้ำตาลมอลโทส) ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลกลูโคส)

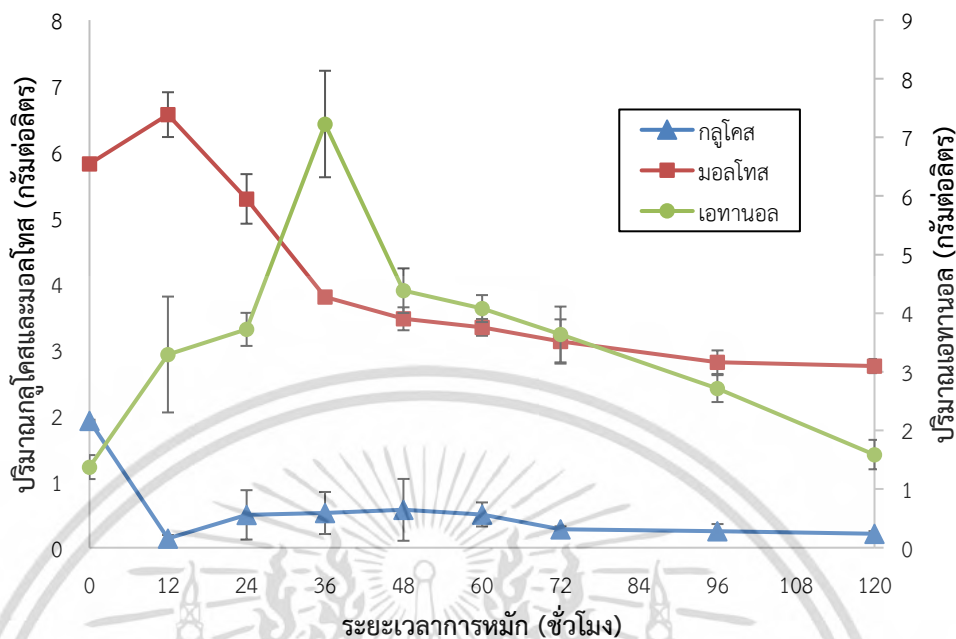


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้อเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

สำหรับยีสต์นั้นจะเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วในระยะแรกของการหมัก เมื่อปริมาณออกซิเจนเหลือน้อยในกระบวนการหมัก เชื้อราจะมีการเจริญและผลิตเอนไซม์ลดลงมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงหลังจากชั่วโมงที่ 24 ยีสต์จะเปลี่ยนรูปแบบมาเป็นการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนหรือกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล จึงทำให้ปริมาณกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็ว (มณชัย, 2546) จนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 ปริมาณกลูโคสและมอลโทสจึงค่อยๆลดลงอย่างช้าๆ จนสิ้นสุดการหมัก ดังรูปที่ 4.2 เมื่อน้ำตาลในกระบวนการหมักหมดไป ยีสต์จึงไม่มีสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล ดังนั้นปริมาณเอทานอลจึงไม่เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการหมัก ขณะที่การทดลองของ Swain และคณะ (2013) ศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *Trichoderma* sp. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณน้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็วด้วยอัตราคงที่ในช่วง 72 ชั่วโมงแรกของการหมัก จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆเช่นเดียวกัน โดยปริมาณน้ำตาลจะแปรผกผันกับน้ำหนักเซลล์แห้งและเอทานอลที่เพิ่มขึ้น โดยให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72

#### 4.2.2.2 ผลการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF (ชุดการทดลองที่ 2)

จากการนำอาหารหมักเต็มสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และสารแขวนลอยสปอร์ของ *A. oryzae* TISTR 3086 โดยใช้ปริมาตร 10 มิลลิลิตรในแต่ละสายพันธุ์ บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงใน 12 ชั่วโมงแรก อาจเนื่องจากยังไม่มีการผลิตน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้น จึงทำให้ยีสต์ใช้กลูโคสเริ่มต้นที่มีเพียงเล็กน้อยจนหมดไป สำหรับปริมาณน้ำตาลมอลโทสนั้นจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน 12 ชั่วโมงแรก เมื่อน้ำตาลกลูโคสหมดไป น้ำตาลมอลโทสจะลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเชื้อราผลิตเอนไซม์ย่อยน้ำตาลมอลโทสเป็นกลูโคส มีผลให้ปริมาณกลูโคสค่อยๆเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มในปริมาณเล็กน้อย เพราะในระหว่างที่มอลโทสถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคส กลูโคสก็ถูกยีสต์ใช้ไปด้วยเช่นกัน สำหรับปริมาณเอทานอลนั้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนให้ผลผลิตสูงสุด  $7.23 \pm 1.57$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 36 ดังแสดงในรูปที่ 4.3 หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะค่อยๆลดลง เนื่องจากเชื้อรา *A. oryzae* TISTR 3086 เป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้มากกว่าเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Carlsen และคณะ, 1996) จึงอาจผลิตกลูโคสได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อยีสต์ ยีสต์จึงเริ่มหันมาใช้เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นลักษณะ diauxic growth กล่าวคือเมื่อน้ำตาลกลูโคสเหลือน้อยหรือหมดลง เชื้อจึงเริ่มใช้แหล่งคาร์บอนชนิดอื่นทดแทนเพื่อการเจริญเติบโต ดังรูปที่ 4.3



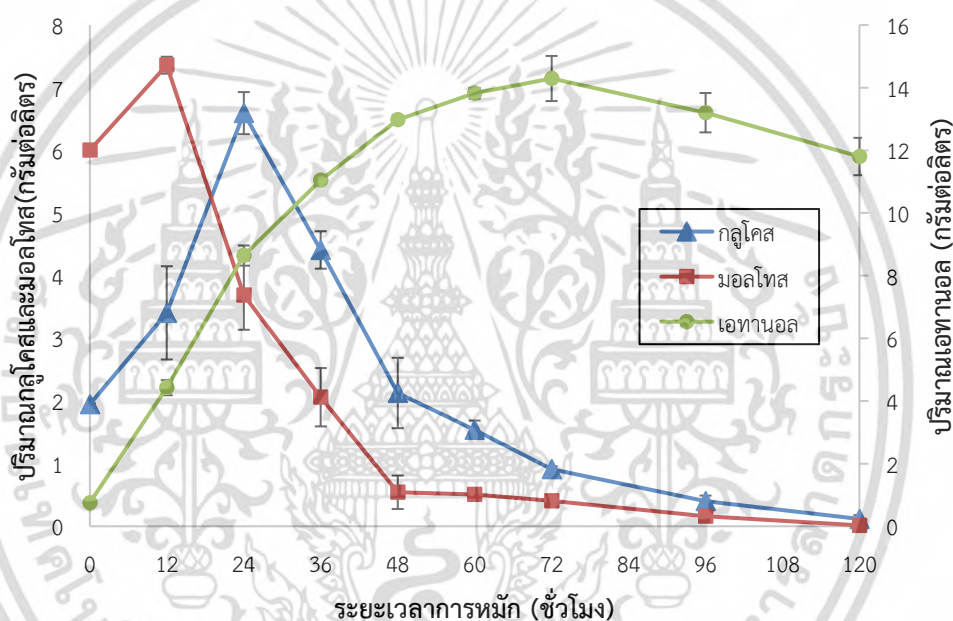
รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

#### 4.2.2.3 ผลการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราผสม *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF (ชุดการทดลองที่ 3)

จากการนำอาหารหมักเต็มสารละลายยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราทั้ง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 โดยใช้ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในแต่ละสายพันธุ์ หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง พบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล และน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส มีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับการหมักในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 โดยในระยะแรกของการหมักปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12-36 ชั่วโมง และมีปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.29 \pm 1.25$  กรัมต่อลิตร ในช่วง 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลลดลง สำหรับปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก พบว่าปริมาณน้ำตาลมอลโทสจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 48 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นจะลดลงเล็กน้อย วันสุดท้ายของการหมักมีน้ำตาลมอลโทส  $0.01 \pm 0.01$  กรัมต่อลิตร สำหรับน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก เนื่องจากเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 มีการเจริญและสร้างเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งเป็นน้ำตาล หลังจาก

นั้นปริมาณกลูโคสและมอลโทสลดลง อาจเนื่องจากเชื้อยีสต์และราที่นำมาใช้ในการทดลองใช้น้ำตาลทั้งสองชนิดในการเจริญและผลิตเอทานอล (Saito และคณะ, 2014) และใช้น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสเกือบหมดในชั่วโมงที่ 120 แสดงดังรูปที่ 4.4

Izmirlioglu และ Demirci (2016) ศึกษาผลิตเอทานอลจากเศษมันฝรั่งเหลือทิ้ง ด้วยกระบวนการ SSF โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และเชื้อราย่อยแป้ง *Aspergillus niger* หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ 35.19 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้แตกต่างกัน อาจเกิดจากสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ กระบวนการหมักรวมทั้งสภาวะที่ใช้ในการหมักที่แตกต่างกัน (Chen และคณะ, 2007)



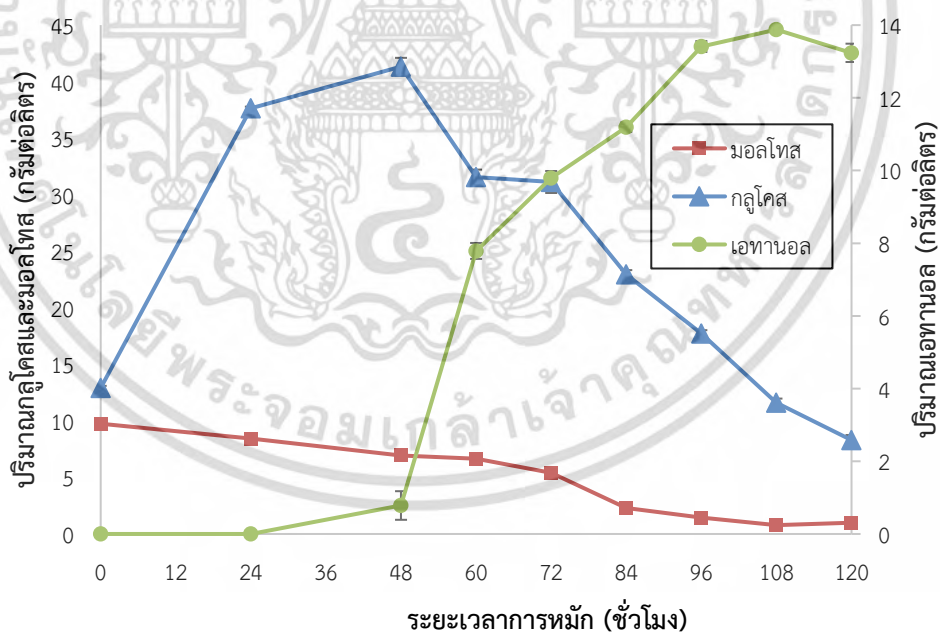
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราผสม *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

#### 4.3 ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (Separate Hydrolysis and Fermentation หรือ SHF)

##### 4.3.1 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF (ชุดควบคุม)

จากการนำอาหารหมักมาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิ

ลงประมาณ 40 องศาเซลเซียส นำมาเติมเอนไซม์กลูโคสไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส จากการทดลอง พบว่า ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลมอลโทสที่ลดลงเรื่อยๆ ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์กลูโคสไมเลสที่เติมลงไป ได้ไปทำการเปลี่ยนน้ำตาลมอลโทสเป็นน้ำตาลกลูโคส จนทำให้มีปริมาณกลูโคสสูงสุดถึง  $41.33 \pm 0.28$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งมีปริมาณมากกว่ากลูโคสสูงสุดในกระบวนการหมักแบบ SSF หลายเท่า เนื่องจากกระบวนการ SSF นั้นเป็นการย่อยพร้อมๆกับการหมัก ทำให้เมื่อน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้นจะถูกเชื้อยีสต์ใช้ไปทันที แต่สำหรับกระบวนการ SHF นั้นเป็นการย่อยแยกจากการหมัก ดังนั้นในระหว่างขั้นตอนการย่อย จะไม่มีเชื้อยีสต์เจริญอยู่ ดังนั้นน้ำตาลจึงไม่ถูกใช้ไปส่งผลให้มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงสะสมอยู่ในกระบวนการ ภายหลังจากเติมหัวเชื้อยีสต์ในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 108 เท่ากับ  $13.87 \pm 0.16$  กรัมต่อลิตร สำหรับน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างต่อเนื่องจากการใช้ของเชื้อยีสต์ และปริมาณน้ำตาลมอลโทสจะลดลงเรื่อยๆและใช้เกือบหมดในที่สุด ดังรูปที่ 4.5

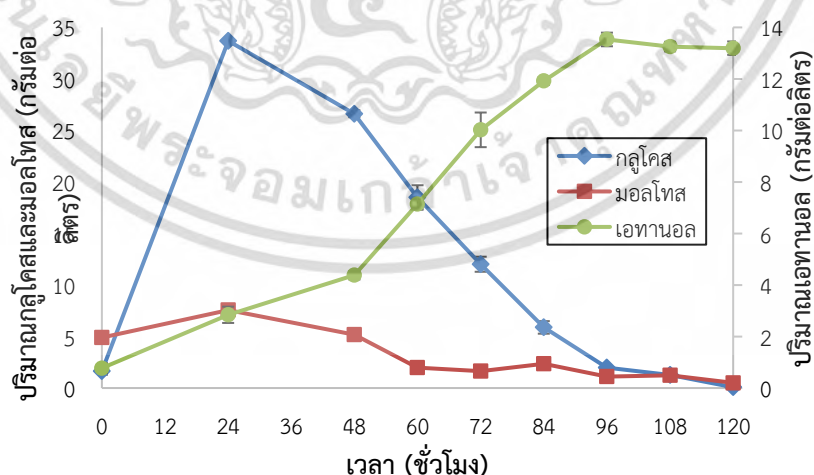


**รูปที่ 4.5** การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

#### 4.3.2 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

##### 4.3.2.1 ผลการหมักเอทานอลจากมันเทศโดยการใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF (ชุดการทดลองที่ 1)

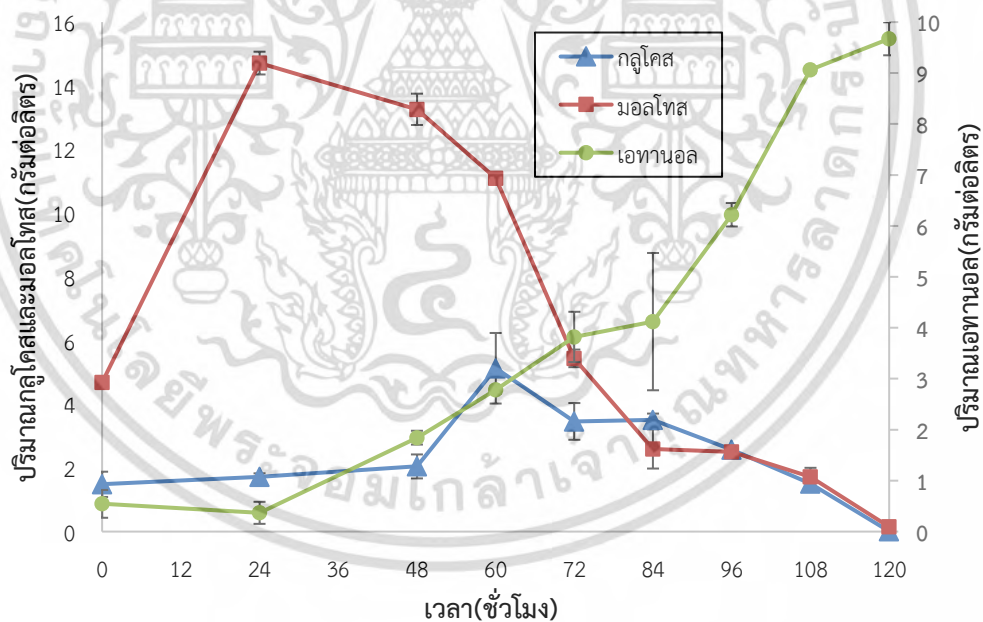
จากการนำอาหารหมักมาเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า ระหว่างการหมักด้วยเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 เพียงเชื้อเดียวใน 48 ชั่วโมงแรก ปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกเช่นเดียวกับการหมักแบบ SSF แต่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงถึง  $33.69 \pm 0.22$  กรัมต่อลิตร เนื่องจากในกระบวนการนี้มีเชื้อราเพียงชนิดเดียวที่เจริญเติบโต จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสสะสมมาก เพราะไม่มีเชื้ออื่นนำไปใช้ เมื่อปริมาณออกซิเจนลดลง การเจริญและผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งของเชื้อราจะลดลง มีผลทำให้ปริมาณกลูโคสลดลงไปด้วย ในช่วง 48 ชั่วโมงแรกก่อนเติมเชื้อยีสต์ ตรวจพบมีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ อาจเนื่องจากเชื้อรา *A. rouxii* เป็นเชื้อราสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้ โดยให้ผลผลิตไม่มากนัก (Saito และคณะ, 2004) มีผลให้มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในกระบวนการหมัก เมื่อเติมหัวเชื้อยีสต์ในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 108 เนื่องจากยีสต์ที่เติมลงไปใช้น้ำตาลเพื่อผลิตเอทานอล สอดคล้องกับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $13.53 \pm 0.46$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการหมัก ดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

#### 4.3.2.2 ผลการหมักเอทานอลจากมันเทศโดยการใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF (ชุดการทดลองที่ 2)

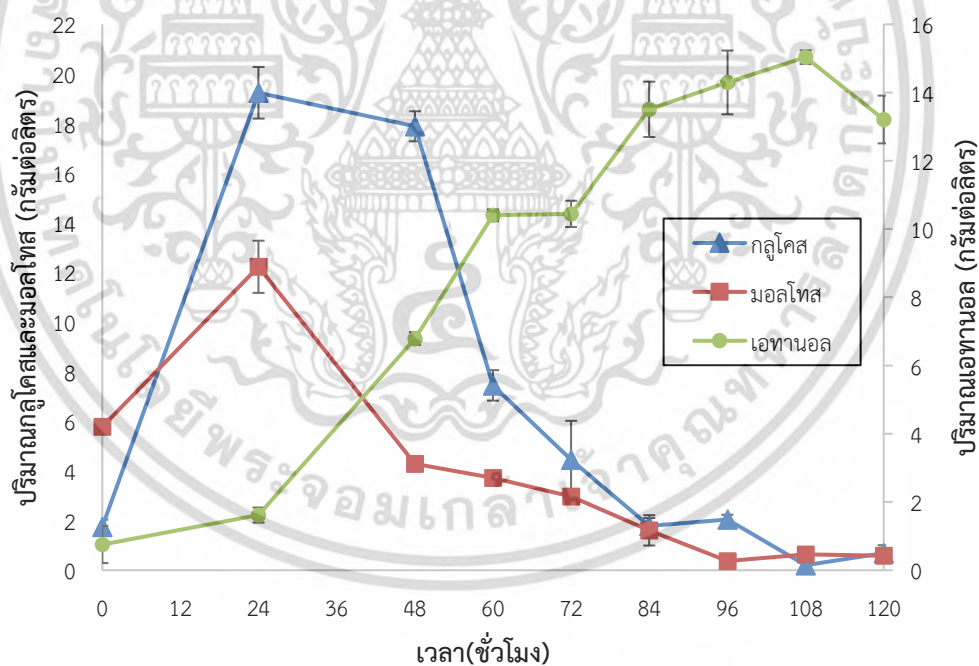
จากการหมักเอทานอลโดยเติมสารละลายแขวนลอยของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง พบว่า ในระยะแรกของการหมักมีปริมาณน้ำตาลมอลโทสสูง เนื่องจากในชุดการทดลองนี้มีเชื้อรา *A. oryzae* TISTR 3086 เจริญอยู่เพียงชนิดเดียว ซึ่งเชื้อราสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสูง มีผลให้เกิดปริมาณน้ำตาลมอลโทสสูง ในระยะนี้มีปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เนื่องจากเชื้อราสายพันธุ์นี้มีความสามารถผลิตเอทานอลได้เล็กน้อยในระหว่างเกิดกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล (Carlsen และคณะ, 1996) หลังจากเติมเชื้อยีสต์ในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณน้ำตาลมอลโทสจะลดลงอย่างรวดเร็วและมีปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แต่ปริมาณกลูโคสสะสมไม่มากนักเนื่องจากถูกยีสต์ใช้เพื่อผลิตเอทานอล จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $9.67 \pm 0.56$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 120 ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

#### 4.3.2.3 ผลการหมักเอทานอลจากมันเทศโดยการใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราผสม *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF (ชุดการทดลองที่ 3)

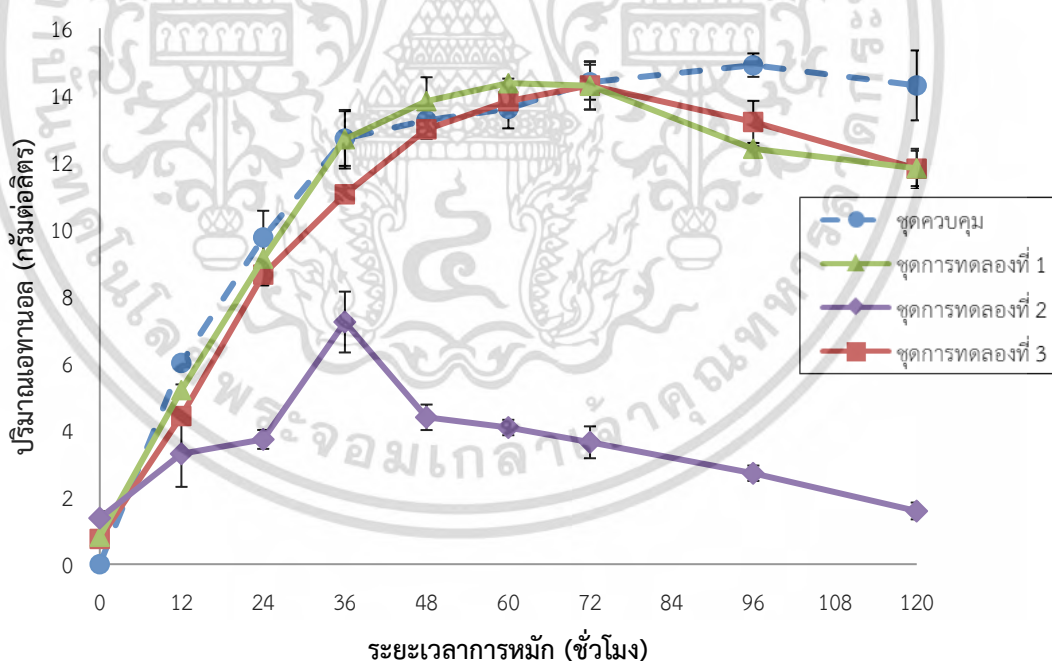
จากการหมักเอทานอลโดยเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราผสม *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในแต่ละสายพันธุ์ บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มต่อจนครบเวลา 120 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า ชุดการทดลองนี้มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับชุดการทดลองที่ 1 คือ ปริมาณกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนให้ปริมาณกลูโคสสูงสุด  $19.24 \pm 1.80$  กรัมต่อลิตรใน 24 ชั่วโมงแรก ปริมาณมอลโทสที่เกิดขึ้นจะสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 เช่นเดียวกัน โดยมีค่า  $12.23 \pm 1.82$  กรัมต่อลิตร ภายหลังจากเติมยีสต์ปริมาณน้ำตาลทั้งสองจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเกือบหมด สอดคล้องกับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $15.04 \pm 0.35$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 108 จากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อย ดังรูปที่ 4.8



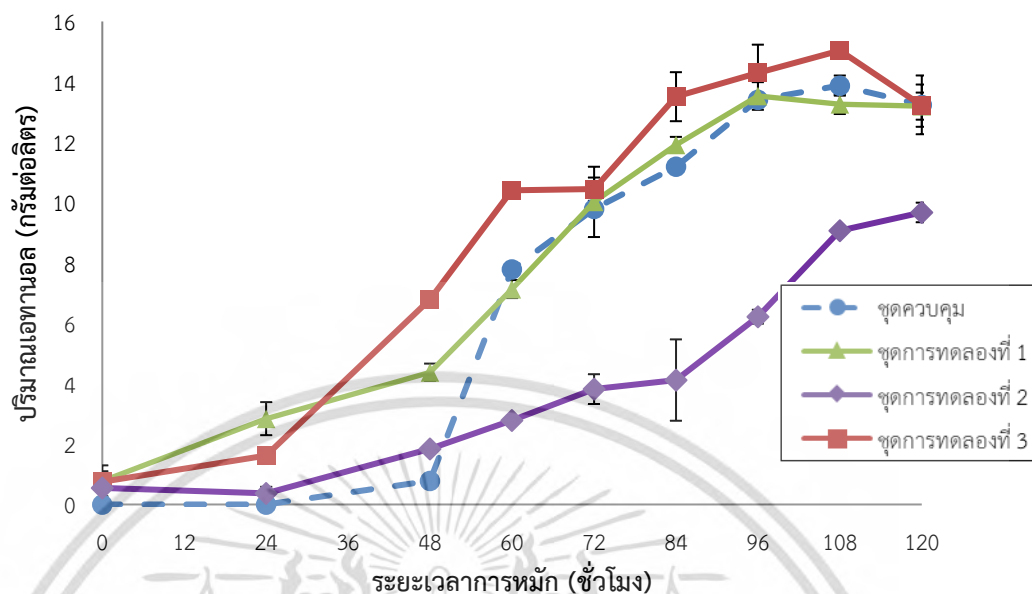
รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล น้ำตาลกลูโคสและมอลโทสได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราผสมทั้งสองสายพันธุ์ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

#### 4.4 เปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมัก แบบ SSF และ SHF

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองการหมักแบบ SSF กับชุดควบคุม (ชุดการทดลองที่หมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์) พบว่า ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งหมักด้วยเชื้อผสมยีสต์และ *A. rouxii* TISTR 3182 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.35 \pm 0.18$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 กับชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งหมักด้วยเชื้อผสมยีสต์และเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3086 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.29 \pm 1.25$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้จาก 2 ชุดการทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับปริมาณเอทานอลที่ได้ในชุดควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบการหมักแบบ SHF พบว่า ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งหมักด้วย *A. rouxii* TISTR 3182 เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนเติมหัวเชื้อยีสต์ ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $13.53 \pm 0.46$  กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 และชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งหมักด้วย *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนเติมหัวเชื้อยีสต์ ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $15.04 \pm 0.35$  กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 108 โดยทั้งสองชุดการทดลองนั้นให้ปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมเช่นเดียวกัน



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลจากการหมักผงมันเทศ โดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราสายย่อยแบ่งด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักแบบ SSF นั้นใช้ระยะเวลาในการหมักเอทานอลที่สั้นกว่ากระบวนการหมักแบบ SHF นอกจากนั้นการหมักแบบ SSF ยังมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ค่าใช้จ่ายในการเตรียมการต่ำกว่า มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนน้อยกว่า (Keng และคณะ, 2012) สามารถเกิดกระบวนการหลายกระบวนการไปพร้อมกันในเวลาเดียว กล่าวคือน้ำตาลกลูโคสจะเกิดขึ้นจากกระบวนการ saccharification ไปพร้อมกับการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยยีสต์ ทำให้ไม่เกิดปัญหาของความดันออสโมติกซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ยับยั้งกระบวนการหมักเอทานอลอีกด้วย (D'Amore และคณะ, 1988) ดังนั้นจึงเลือกใช้กระบวนการหมักแบบ SSF มาใช้ในการศึกษาในหัวข้อถัดไป สำหรับชุดการทดลองที่จะถูกคัดเลือกไปใช้ในการศึกษาในหัวข้อถัดไป จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และชุดการทดลองที่ 3 เป็นการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ของกระบวนการหมักทั้งแบบ SSF และ SHF นั้นให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4.12 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Swain และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษากการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* และ *Trichoderma* sp. พบว่าผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์เดียวจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า ดังนั้นจากการศึกษานี้ พบว่า การใช้เชื้อราสามารถทดแทนเอนไซม์ทางการค้าในการหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งได้ สำหรับชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นการหมักโดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 นั้นให้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าอีกสองชุดการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเชื้อรา *A. oryzae* TISTR 3086 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสต่ำกว่าเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 มีผลทำให้ความสามารถในการผลิตน้ำตาลกลูโคสต่ำกว่าและส่งผลให้เกิดการผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 (นวพรและคณะ, 2559) ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าว จึงเลือกกระบวนการหมักแบบ SSF ด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ซึ่งเป็นวิธีที่เตรียมการได้ง่าย ไม่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลาสั้นกว่าไปใช้ในการศึกษาอัตราส่วนของหัวเชื้อต่อไป

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณเอทานอลสูงสุดและอัตราการผลิตที่ได้ในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF

กระบวนการหมัก	ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล สูงสุด (กรัมต่อลิตร)
กระบวนการย่อยแป้งพร้อม กระบวนการหมัก (SSF)	ชุดควบคุม	96	14.90±0.61 <sup>a</sup>
	ชุดการทดลองที่ 1	60	14.36±0.19 <sup>a</sup>
	ชุดการทดลองที่ 2	36	7.23±1.57 <sup>c</sup>
	ชุดการทดลองที่ 3	72	14.29±1.25 <sup>a</sup>
กระบวนการย่อยแป้งแยก จากกระบวนการหมัก (SHF)	ชุดควบคุม	108	13.87±0.16 <sup>a</sup>
	ชุดการทดลองที่ 1	96	13.53±0.46 <sup>a</sup>
	ชุดการทดลองที่ 2	120	9.67±0.56 <sup>b</sup>
	ชุดการทดลองที่ 3	108	15.04±0.35 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ :** ชุดควบคุม : เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088  
 ชุดการทดลองที่ 1 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182  
 ชุดการทดลองที่ 2 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3086  
 ชุดการทดลองที่ 3 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และ  
*A. oryzae* TISTR 3086

เมื่อพิจารณาในคอลัมน์เดียวกัน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

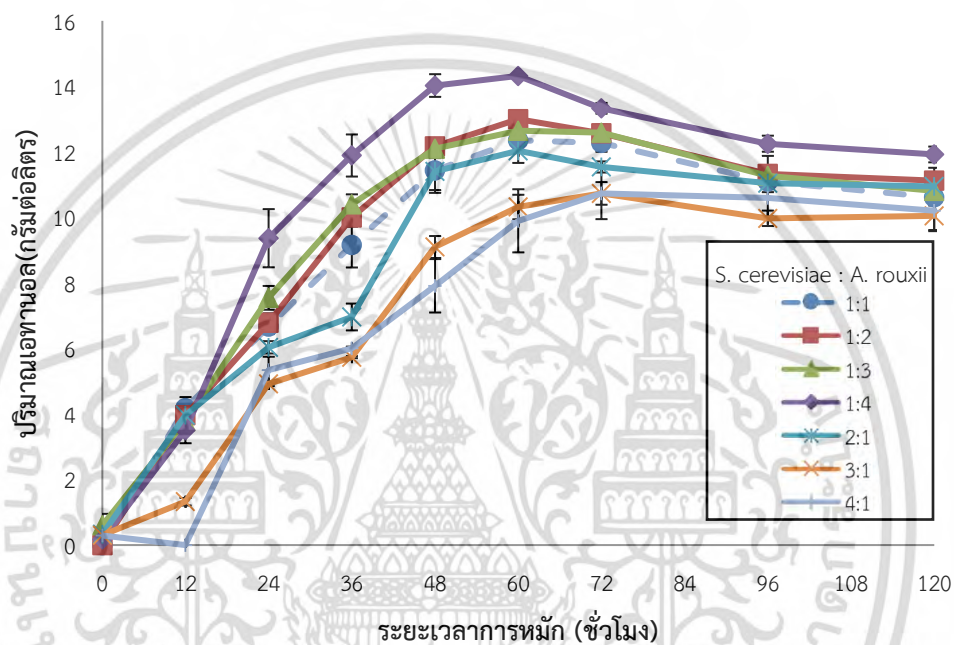
## 4.5 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการSSF

### 4.5.1 ผลการศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ

จากการศึกษาการหมักเอทานอลจากมันเทศด้วยกระบวนการSSF โดยใช้เชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 โดยเติมหัวเชื้อทั้งหมดร้อยละ 20 ในอัตราส่วนยีสต์และราที่แตกต่างกัน ได้แก่ อัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 1:4 2:1 3:1 และ 4:1 โดยปริมาตร พบว่า ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ในระยะแรกของการหมักปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60-72 หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อยและคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก โดยอัตราส่วนหัวเชื้อยีสต์ต่อรา 1:4 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.32 \pm 0.64$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 ซึ่งให้ผลผลิตแตกต่างจากอัตราส่วนอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดรองลงมาคือ การใช้อัตราส่วน 1:2 1:3 1:1 2:1 3:1 และ 4:1 โดยปริมาตร ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $13.00 \pm 0.21$   $12.65 \pm 0.53$   $12.35 \pm 0.65$   $12.03 \pm 0.53$   $10.73 \pm 0.60$  และ  $10.73 \pm 1.36$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสที่เกิดขึ้นในการหมัก พบว่า การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในกระบวนการหมักในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ปริมาณน้ำตาลมอลโทสจะลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งใช้จนหมดไปมากที่สุด ปริมาณน้ำตาลจะลดลงเล็กน้อยในช่วง 12 ชั่วโมงแรก จากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 12-36 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็วและใช้จนหมดในที่สุดเช่นเดียวกัน แต่ถึงแม้ว่าทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลไปในแนวทางเดียวกัน แต่ยังสามารถสังเกตเห็นได้ว่าในแต่ละชุดการทดลองมีระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันเล็กน้อย กล่าวคือ อัตราส่วนที่หัวเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณหัวเชื้อราที่มากกว่ายีสต์นั้น จะใช้น้ำตาลได้รวดเร็วกว่า อัตราส่วนที่หัวเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณหัวเชื้อราที่น้อยกว่ายีสต์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่หัวเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณหัวเชื้อราที่มากกว่ายีสต์ ส่งผลให้เกิดการย่อยแป้งสูง จึงเกิดน้ำตาลซึ่งเป็นซับสเตรทของเอทานอลในปริมาณมาก ยีสต์มีน้ำตาลมากพอสำหรับผลิตเอทานอล ขณะเดียวกันการที่หัวเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณเชื้อยีสต์ที่มากกว่าปริมาณเชื้อราที่น้อยไม่สามารถย่อยแป้งได้รวดเร็วในระยะแรกของการหมัก อาหารจึงยังมีความหนืดสูงและเซลล์ยีสต์ที่เติมลงไปยังคงมีความหนาแน่นของเซลล์สูง ซึ่งส่งผลไม่ดีนักต่อการเจริญและการย่อยสลายสาร เนื่องจากข้อจำกัดด้านการเข้าถึงของสารอาหาร ปริมาณอากาศ และปฏิกิริยาระหว่างเซลล์ (Laluce และคณะ, 2009) เป็นผลทำให้เกิดการผลิตเอทานอลช้ากว่าหัวเชื้อที่มีอัตราส่วนเชื้อรามากกว่ายีสต์ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Lee และคณะ (2012) ซึ่งได้ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้กระบวนการหมักใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อราตริงรูปที่สามารถย่อยสลายแป้งได้ คือ *Aspergillus oryzae* และ *Monascus purpureus* ร่วมกับยีสต์ที่ผลิตเอทานอล คือ *S. cerevisiae* ผลที่ได้จากกระบวนการหมักที่ใช้เชื้อร่วมของ *S. cerevisiae* กับเชื้อผสม *A. oryzae* และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.84 (โดยปริมาตร) และการใช้ *S.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*cerevisiae* กับเชื้อผสมระหว่าง *A. oryzae* และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 จะให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 4.08 (โดยปริมาตร) ขณะที่วิมลลักษณ์ (2549) ทำการศึกษาการหมักสาโทโดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อรา *Amylomyces rouxii* *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oryzae* ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ เท่ากับ 1ต่อ1 1ต่อ2 และ 2ต่อ1 ใส่ในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว หมักที่อุณหภูมิห้อง ( $28 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน พบว่าที่อัตราส่วนราต่อยีสต์เท่ากับ 1ต่อ1 ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดคือร้อยละ 12.65 (มวลต่อปริมาตร)



รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมที่มีอัตราส่วน *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในกระบวนการหมักแบบ SSF ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน

ระยะเวลา การหมัก (ชม.)	ปริมาณเอทานอลที่ได้จากอัตราส่วน <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ต่อ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 (กรัมต่อลิตร)						
	1:1	1:2	1:3	1:4	2:1	3:1	4:1
0	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.60±0.61 <sup>a</sup>	0.18±0.29 <sup>a</sup>	0.33±0.24 <sup>a</sup>	0.30±0.26 <sup>a</sup>	0.29±0.25 <sup>a</sup>
12	4.18±0.59 <sup>a</sup>	3.97±0.30 <sup>a</sup>	3.78±0.31 <sup>a</sup>	3.51±0.29 <sup>a</sup>	3.96±0.24 <sup>a</sup>	1.32±0.20 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
24	6.67±0.40 <sup>bc</sup>	6.79±0.49 <sup>bc</sup>	7.55±0.63 <sup>b</sup>	9.37±0.33 <sup>a</sup>	6.04±0.27 <sup>cde</sup>	4.92±0.1 <sup>e</sup>	5.34±0.71 <sup>de</sup>
36	9.16±1.20 <sup>b</sup>	10.00±0.50 <sup>b</sup>	10.40±0.53 <sup>b</sup>	11.89±0.71 <sup>a</sup>	6.96±0.58 <sup>c</sup>	5.74±0.06 <sup>c</sup>	6.01±0.09 <sup>c</sup>
48	11.43±1.18 <sup>b</sup>	12.17±0.17 <sup>b</sup>	12.10±0.49 <sup>b</sup>	14.03±0.98 <sup>a</sup>	11.40±0.80 <sup>b</sup>	9.10±0.58 <sup>c</sup>	7.91±1.41 <sup>c</sup>
60	12.35±0.65 <sup>b</sup>	13.00±0.21 <sup>ab</sup>	12.65±0.53 <sup>b</sup>	14.32±0.64 <sup>a</sup>	12.03±0.53 <sup>b</sup>	10.32±0.65 <sup>c</sup>	9.90±1.67 <sup>c</sup>
72	12.28±0.48 <sup>ab</sup>	12.57±0.33 <sup>ab</sup>	12.59±0.44 <sup>ab</sup>	13.33±0.29 <sup>a</sup>	11.54±0.24 <sup>bc</sup>	10.73±0.60 <sup>c</sup>	10.73±1.36 <sup>c</sup>
96	11.10±0.29 <sup>bc</sup>	11.33±0.96 <sup>ab</sup>	11.27±0.54 <sup>ab</sup>	12.25±0.14 <sup>a</sup>	11.04±0.11 <sup>bc</sup>	9.97±0.41 <sup>c</sup>	10.59±0.98 <sup>bc</sup>
120	10.61±0.65 <sup>ab</sup>	11.13±0.67 <sup>ab</sup>	10.81±0.77 <sup>ab</sup>	11.92±0.44 <sup>a</sup>	10.95±0.36 <sup>ab</sup>	10.05±0.76 <sup>b</sup>	10.21±1.09 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

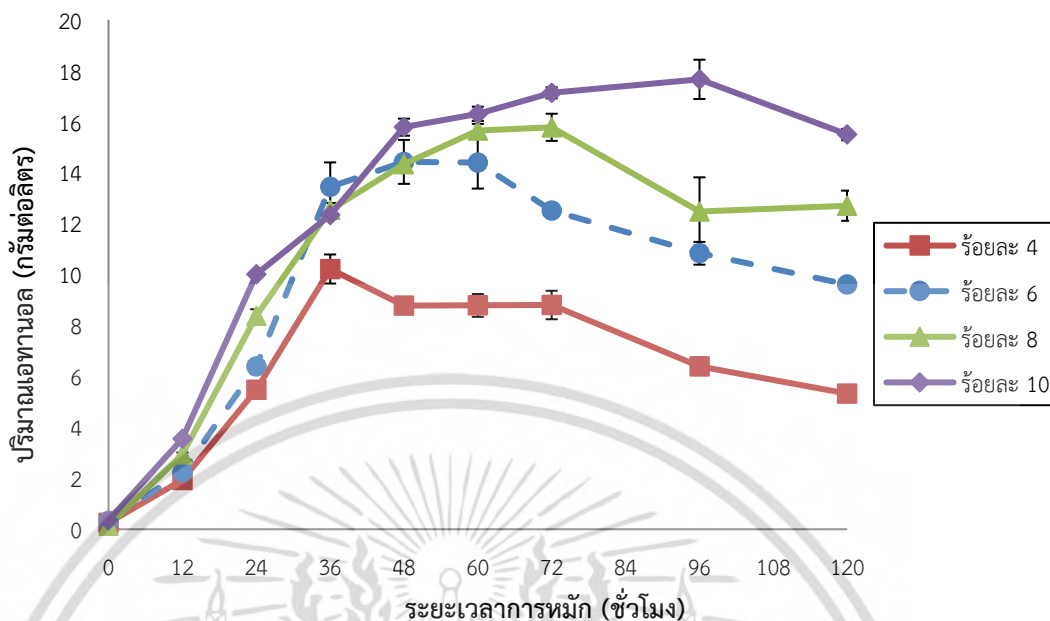
#### 4.5.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

จากการศึกษาการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมยีสต์และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน(แป้งมันเทศ)แตกต่างกัน ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 และ 10 พบว่า การใช้สารละลายมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $17.66 \pm 1.34$  กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 รองลงมาเป็นการใช้สารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 6 และ 4 ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล  $15.78 \pm 0.92$   $14.42 \pm 1.49$  และ  $10.21 \pm 0.99$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 60 และ 36 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.4 หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลง เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก พบว่า สารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 10 มีปริมาณกลูโคสและมอลโทสสูงกว่าการใช้สารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นอื่น ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่จุลินทรีย์ผลิตได้

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณเอทานอลที่ได้ (กรัมต่อลิตร)			
	ร้อยละ 4	ร้อยละ 6	ร้อยละ 8	ร้อยละ 10
0	$0.26 \pm 0.22^a$	$0.33 \pm 0.56^a$	$0.14 \pm 0.24^a$	$0.36 \pm 0.31^a$
12	$1.93 \pm 0.15^d$	$2.24 \pm 0.13^c$	$2.94 \pm 0.13^b$	$3.55 \pm 0.21^a$
24	$5.47 \pm 0.43^d$	$6.39 \pm 0.27^c$	$8.37 \pm 0.45^b$	$10.02 \pm 0.12^a$
36	$10.21 \pm 0.99^b$	$13.44 \pm 1.66^a$	$12.53 \pm 0.48^a$	$12.34 \pm 0.15^a$
48	$8.78 \pm 0.21^b$	$14.39 \pm 1.76^a$	$14.34 \pm 0.14^a$	$15.78 \pm 0.58^a$
60	$8.79 \pm 0.78^b$	$14.42 \pm 1.49^a$	$15.65 \pm 0.46^a$	$16.31 \pm 0.49^a$
72	$8.80 \pm 0.97^c$	$12.51 \pm 0.39^b$	$15.78 \pm 0.92^a$	$17.13 \pm 0.38^a$
96	$6.40 \pm 0.59^d$	$10.83 \pm 0.77^c$	$12.47 \pm 2.32^b$	$17.66 \pm 1.34^a$
120	$5.32 \pm 0.10^d$	$9.60 \pm 0.23^c$	$12.70 \pm 1.03^b$	$15.49 \pm 0.38^a$

**หมายเหตุ :** เมื่อพิจารณาแนวอน  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95  
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักไปเอทานอลด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu และคณะ (2016) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเศษเปลือกที่เหลือทิ้งด้วยเชื้อยีสต์ทนร้อน *Kluyveromyces marxianus* K21 โดยศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ 40 50 75 และ 100 กรัมต่อลิตร พบว่า มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุด ดังนี้ 19.96 21.45 31.52 และ 40.68 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนมากขึ้น Ji และคณะ (2015) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเศษมันฝรั่งและเฟอฟูรอลเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ ร้อยละ 6 8 12 และ 20 พบว่า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 6-12 ปริมาณเอทานอลที่ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาณเอทานอลกลับลดลงเนื่องจากอาหารมีความหนืดสูงและปริมาณน้ำตาลที่มากเกินไปส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ

ดังนั้นจากผลการทดลอง จะพบว่าการใช้สารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 จะให้ปริมาณเอทานอลสูง แต่ลักษณะอาหารจะมีความหนืดสูง ซึ่งส่งผลต่อการถ่ายเทออกซิเจนในการหมัก ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญลดลง ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่ามีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือในอาหารหมักค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของสารละลายแป้งมันเทศร้อยละ 8 ในการศึกษาต่อไป

#### 4.5.3 ผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักแบบ SSF

จากการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ 4 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ร้อยละ 8 และเติมแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ยีสต์สกัด แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.2 ลงในอาหารหมัก พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมยีสต์สกัดให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $15.38 \pm 0.42$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 96 โดยให้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับอาหารที่ไม่เติมไนโตรเจนที่ให้ความเข้มข้นเอทานอลสูงสุด  $16.79 \pm 0.40$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 อาหารหมักที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมซัลเฟตให้ปริมาณเอทานอล  $8.22 \pm 1.54$  และ  $8.18 \pm 0.05$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และ 60 ของการหมัก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Izmirliglu และ Demirci (2016) ศึกษาและปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเศษมันฝรั่งเหลือทิ้งด้วยเชื้อผสม *Aspergillus niger* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่า การเติมยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล โดยการใช้เชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* เมื่อหมักด้วยเชื้อผสม ยีสต์สกัดไม่ได้ช่วยส่งเสริมการผลิตเอทานอล

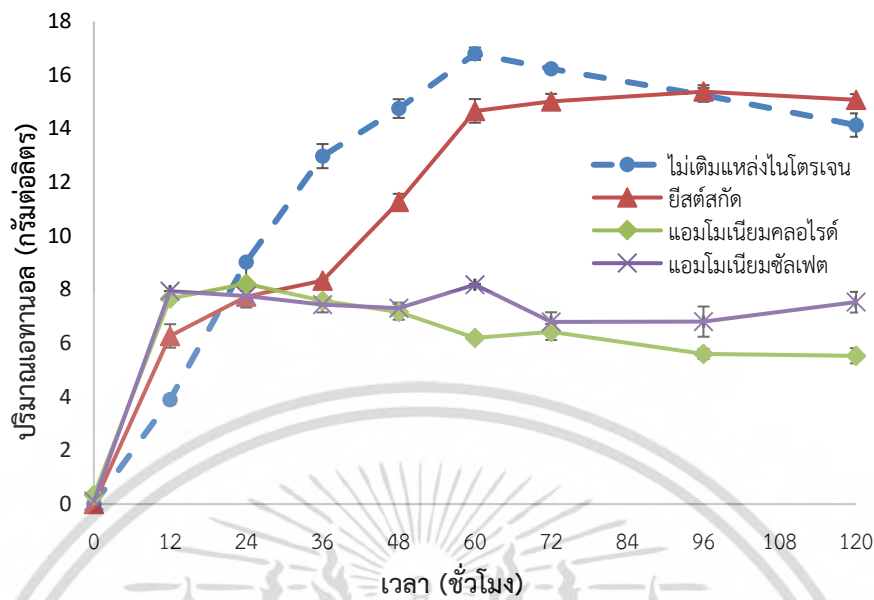
ตารางที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
	ไม่เติมไนโตรเจน	ยีสต์สกัด	แอมโมเนียมคลอไรด์	แอมโมเนียมซัลเฟต
0	$0.00 \pm 0.00^b$	$0.00 \pm 0.00^b$	$0.34 \pm 0.02^a$	$0.11 \pm 0.19^b$
12	$3.89 \pm 0.29^c$	$6.27 \pm 0.76^b$	$7.66 \pm 0.06^a$	$7.94 \pm 0.00^a$
24	$9.03 \pm 0.17^a$	$7.74 \pm 0.36^a$	$8.22 \pm 1.54^a$	$7.76 \pm 0.63^a$
36	$12.98 \pm 0.78^a$	$8.33 \pm 0.09^b$	$7.58 \pm 0.23^b$	$7.44 \pm 0.50^b$
48	$14.75 \pm 0.60^a$	$11.27 \pm 0.53^c$	$7.17 \pm 0.50^c$	$7.31 \pm 0.35^c$
60	$16.79 \pm 0.40^a$	$14.66 \pm 0.76^b$	$6.19 \pm 0.23^d$	$8.18 \pm 0.05^c$
72	$16.24 \pm 0.19^a$	$15.01 \pm 0.49^b$	$6.42 \pm 0.52^c$	$6.79 \pm 0.62^c$
96	$15.26 \pm 0.44^a$	$15.38 \pm 0.42^a$	$5.60 \pm 0.33^c$	$6.80 \pm 0.98^b$
120	$14.13 \pm 0.76^a$	$15.08 \pm 0.37^a$	$5.53 \pm 0.49^c$	$7.53 \pm 0.67^b$

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

ขณะที่ Swift และคณะ (2000) ได้ศึกษาผลกระทบของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่มีต่อการผลิตเอโนไซม์กลูโคสไมเลสของเชื้อรา *A. oryzae* พบว่า แหล่งไนโตรเจนบางชนิดมีผลให้การปลดปล่อยเอโนไซม์กลูโคสไมเลสของเชื้อรา *A. oryzae* ลดลง ได้แก่ แอล-อะลานีน แอล-เมทไทโอนีน กรดคาซามิโน เป็นต้น Yue และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตเอทานอล โดยนำน้ำจากต้นข้าวฟ่างหวานหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ชั่วโมง แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการหมัก คือ ยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต ชุดการทดลองที่ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่าชุดการทดลองที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต โดยให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 135 กรัมต่อลิตร

#### 4.5.4 ผลการศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

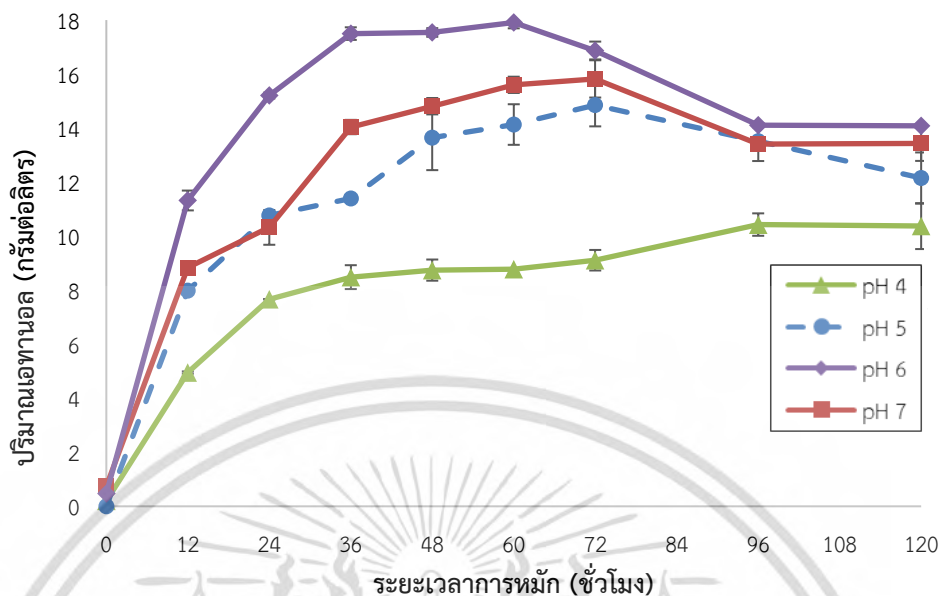
จากการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ 4 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน ได้แก่ พีเอช 4 5 6 และ 7 จากผลการศึกษาพบว่า ในแต่ละชุดการทดลองให้ปริมาณเอทานอลแตกต่างกัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับพีเอช 6 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $17.91 \pm 0.38$  กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 60 รองลงมาคือ พีเอช 7 5 และ 4 ที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $15.82 \pm 1.19$   $14.85 \pm 1.36$  และ  $10.43 \pm 0.72$  กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 72 และ 96 ตามลำดับ ดัง

แสดงในตารางที่ 4.6 ได้มีการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของ แอลฟาอะไมเลส คือ ช่วงพีเอช 5.0-8.0 (Carlsen และคณะ, 1996) และค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของกลูโคอะไมเลส คือ ช่วงพีเอช 4.0-5.0 (Okazaki และ Sugama, 1979) สำหรับในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการใช้เชื้อร่วมกันระหว่างยีสต์และรา จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ด้วย จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ายิ่งอาหารที่ปรับพีเอชเริ่มต้นด้วยพีเอชต่ำ ยิ่งให้ปริมาณเอทานอลต่ำลงไปด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเป็นกรด มีผลทำให้เชื้อราเจริญได้น้อยลง เมื่อเชื้อราเจริญได้น้อยจึงส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้น้อยและเกิดน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลได้น้อยด้วย ดังนั้นจึงไม่ควรปรับค่าพีเอชเริ่มต้นให้สูงหรือต่ำจนเกินไป เพราะค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการผลิตเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ (Clarence และ Emmanuel, 2010) Lee และคณะ (2012) ทำการศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้กระบวนการหมักใช้เชื้อผสมตรีงูประหว้าง *S. cerevisiae* ร่วมกับ *A. oryzae* และ *M. purpureus* พบว่า ชุดการทดลองที่มีการผลิตเอทานอลสูงที่สุด คือชุดการทดลองปรับค่าพีเอชเริ่มต้น 4 รองลงมาคือพีเอช 5 และ 3 โดยให้ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 3.05 2.65 2.37 และ 1.59 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.6** ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากมันเทศโดยการใช้อินทรีย์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
0	0.20±0.34 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.48±0.10 <sup>ab</sup>	0.74±0.37 <sup>a</sup>
12	4.95±0.08 <sup>d</sup>	7.99±0.25 <sup>c</sup>	11.32±0.64 <sup>a</sup>	8.84±0.23 <sup>b</sup>
24	7.66±0.01 <sup>c</sup>	10.77±0.15 <sup>b</sup>	15.21±0.19 <sup>a</sup>	10.33±1.11 <sup>b</sup>
36	8.48±0.77 <sup>d</sup>	11.40±0.18 <sup>c</sup>	17.50±0.40 <sup>a</sup>	14.04±0.46 <sup>b</sup>
48	8.74±0.68 <sup>c</sup>	13.64±2.08 <sup>b</sup>	17.54±0.58 <sup>a</sup>	14.81±0.53 <sup>b</sup>
60	8.77±0.02 <sup>d</sup>	14.13±1.30 <sup>c</sup>	17.91±0.38 <sup>a</sup>	15.60±0.52 <sup>b</sup>
72	9.11±0.66 <sup>c</sup>	14.85±1.36 <sup>b</sup>	16.87±0.57 <sup>a</sup>	15.82±1.19 <sup>ab</sup>
96	10.43±0.72 <sup>b</sup>	13.52±0.27 <sup>a</sup>	14.11±0.12 <sup>a</sup>	13.41±1.08 <sup>a</sup>
120	10.37±1.47 <sup>b</sup>	12.15±1.64 <sup>ab</sup>	14.08±0.13 <sup>a</sup>	13.43±1.11 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ :** เมื่อพิจารณาแนวนอน  
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95  
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

ขณะที่ Dash และคณะ (2017) ศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกันต่อการผลิตเอทานอลในการหมักจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* และ *Pichia* sp. โดยศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นตั้งแต่พีเอช 3-5.5 พบว่า อาหารที่มีพีเอช 5 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่  $129.4 \pm 5$  กรัมต่อลิตร Manikandan และ Viruthagiri (2009) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งข้าวสาลีด้วยเชื้อผสม *Aspergillus niger* และ *Kluyveromyces marxianus* พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสม คือพีเอช 5.5 Carlsen และคณะ (1996) ได้ศึกษาสัณฐานและสรีระวิทยาของเชื้อรา *A. oryzae* ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่า ช่วงพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญคือ พีเอช 3-7 สำหรับพีเอชที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเอนไซม์ คือ พีเอช 6 และอัตราการผลิตเอนไซม์จะลดลงอย่างมาก ที่พีเอช 4 หรือสูงกว่า 7

#### 4.6 เปรียบเทียบผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

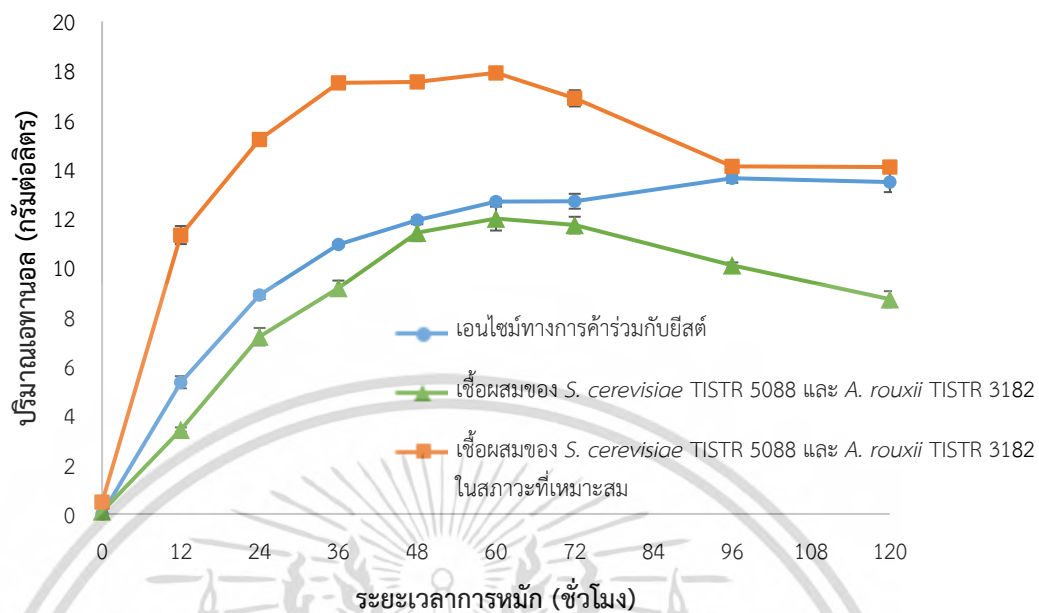
เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ การหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (ชุด A) การหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 (ชุด B) และการหมักเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในสภาวะที่เหมาะสม โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศ(แหล่ง

คาร์บอน) ร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมหัวเชื้อยีสต์ต่อเชื้อรา ด้วยอัตราส่วน 1:4 โดยปริมาตร (ชุด C) บ่มที่สภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จะมีค่าเท่ากับ  $13.63 \pm 0.31$   $11.99 \pm 0.84$  และ  $17.91 \pm 0.37$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่าประสิทธิภาพหรือค่าความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.14 0.20 และ 0.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้กระบวนการหมักแบบกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (SSF) โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในสภาวะที่เหมาะสม (ชุด C) ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด คือ  $17.91 \pm 0.37$  กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณเอทานอลที่ได้มีความแตกต่างกับการหมักด้วยชุดการทดลองอื่น (ชุด A และ B) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ค่าประสิทธิภาพหรือความสามารถในการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

**ตารางที่ 4.7** ปริมาณเอทานอลสูงสุดและประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ในชุดการทดลองที่แตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
ชุด A : เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	96	$13.63 \pm 0.31^b$	0.14
ชุด B : <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182	60	$11.99 \pm 0.84^c$	0.20
ชุด C : <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ในสภาวะที่เหมาะสม	60	$17.91 \pm 0.37^a$	0.30

**หมายเหตุ :** เมื่อพิจารณาแนวตั้ง ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในสภาวะที่แตกต่าง

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษากระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันเทศ ด้วยเชื้อผสมระหว่างยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้งได้ โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุด การทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 1 การหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ชุดการทดลองที่ 2 การหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 และชุดการทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 เปรียบเทียบกับการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ซึ่งเป็นชุดควบคุม หมักในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยศึกษาด้วยกระบวนการหมัก 2 แบบคือ กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) จากการทดลองพบว่า กระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมักของชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ให้ผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ  $14.36 \pm 0.19$  กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมง 60 ประสิทธิภาพการผลิตเท่ากับ 0.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบกระบวนการหมักสองรูปแบบของกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก และกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก พบว่ากระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมักมีประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเอทานอลได้ดี สามารถประหยัดเวลาในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลรวมทั้งสามารถใช้เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ในการผลิตเอนไซม์แทนการใช้เอนไซม์ทางการค้า ซึ่งเป็นการลดต้นทุนในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล

จากการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 โดยใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เชื้อราย่อยแป้งแทนการใช้เอนไซม์ ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักเอทานอล พบว่า การใช้อัตราส่วนเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 เท่ากับ 1ต่อ4 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $14.32 \pm 0.64$  กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 จากนั้นศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 อัตราส่วน 1:4 พบว่าการ

ใช้ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนร้อยละ 10 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่  $17.66 \pm 1.34$  กรัมต่อลิตรใน ชั่วโมงที่ 96 แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 มีความหนืดสูงยากต่อการหมักและเก็บผลการทดลอง จึงเลือก ความเข้มข้นร้อยละ 8 มาใช้ในการศึกษาต่อไป ต่อมาศึกษาการเติมแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิต เอทานอล พบว่า ชุดการทดลองที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่  $16.79 \pm 0.40$  กรัมต่อ ลิตร ในชั่วโมงที่ 60 เมื่อศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสม พบว่า พีเอช 6 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $17.91 \pm 0.38$  กรัมต่อลิตร เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ เชื่อมันร้อยละ 95

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 โดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก พบว่าการใช้อัตราส่วนเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 เท่ากับ 1:4 ใช้ ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้นอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 6 หมักในสภาวะเขย่าที่ ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีปริมาณเอทานอล  $17.91 \pm 0.38$  กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้า และกระบวนการหมักที่ใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 หมักในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น โดยใช้กระบวนการหมัก แบบ SSF พบว่าการใช้เชื้อผสมระหว่าง ระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เพียงชนิดเดียว โดยพบว่าการใช้เชื้อ ผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอล  $17.91 \pm 0.37$  กรัมต่อลิตร และมีค่าความสามารถในการผลิตเอทานอล (Productivity) 0.30 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การหมักโดยใช้ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด  $13.63 \pm 0.31$  กรัมต่อลิตร และมีค่าความสามารถในการผลิตเอทานอล 0.16 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศจึงสามารถ ทดแทนการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการนำมาย่อยแป้งเพื่อผลิตเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรพัฒนาสภาวะในกระบวนการหมัก โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลส จากนั้นทำการสกัดเพื่อให้ได้เอนไซม์บริสุทธิ์แล้วนำมาใช้ในกระบวนการ ผลิตไบโอเอทานอล เพื่อหลีกเลี่ยงสภาวะการเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสมของเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมัก

## เอกสารอ้างอิง

- จิตติมา เจริญพานิช. 2553. **เอนไซม์วิทยา**. กรุงเทพมหานคร : โอ. เอส. พรีนติ้ง เฮ้าส์.
- ธีระพงษ์ สิงหาปัด กรรณิการ์ แสงศรีเรือง และสุรัสวดี ปันรัตน์. 2549. “การผลิตแอลกอฮอล์โดยการหมักจากน้ำอ้อย.” ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นวพร รุ่งโรจน์มงคล, วิชาพรพรณ ชนนานาญ และสุณัฐฐา ศิลป์วัฒนจินดา. 2559. “การผลิตไบโอเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088” โครงการงานพิเศษสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- พัทธ์ประไพ ประจำเมือง และ วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2546. “เอนไซม์ที่เกี่ยวกับการย่อยแป้ง.” *วารสารศูนย์บริการวิชาการ*. 11(4).
- มณชัย เดชสังกรานนท์. 2546. “คุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เมทินี มาเวียง. 2554. **ชีววิทยาของยีสต์**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก [http://sites.google.com/site/biotech\\_rmutisurin/yeast-technology](http://sites.google.com/site/biotech_rmutisurin/yeast-technology).
- มาลินี พิทักษ์, สมศรี บุญเรือง และรังสิมันต์ สัมฤทธิ์. 2542. **การปลูกมันเทศ**. อุดรธานี : ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- สุภภัทร เจียมทวีทรัพย์, สุกพัฒน์ ผลิตภักดิ์ และโสภวิสา ทองปลอด. 2555. “การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ทนอุณหภูมิและเอทานอลสูง เพื่อใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันเทศ.” โครงการงานพิเศษสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- สาวิตรี ลิ้มทอง. 2540. **ยีสต์ และยีสต์เทคโนโลยี**. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. **ราวิทยาเบื้องต้น**. นครปฐม : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- วิมลลักษณ์ รัตนปรีดากุล. 2549. “การศึกษาเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าเปรียบเทียบกับยีสต์บริสุทธิ์ในการผลิตสาโท.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Aditiya, H.B. Chong, W.T. Mahlia, T.M.I. Sebayang, A.H. Berawi, M.A. and Nur, H. 2015. “Second generation bioethanol potential from selected Malaysia’s biodiversity biomasses: a review.” *Waste Manage.* 47 : 46–61.
- Ainsworth, G.C. Sutton, B.C. and Hawksworth, D.L. 1983. **Ainsworth and Bisby’s Dictionary of the fungi**. 7<sup>th</sup> Ed. Surrey : Commonwealth Mycological Institute.

- Balat, M. Balat, H. and Oz, C. 2008. "Progress in bioethanol processing." *Progress in Energy and Combustion Science*. 34 : 551-573.
- Cardona, C.A. Sanchez, O.A. and Gutierrez, L.F. 2010. **Process synthesis for fuel ethanol production**. United State of America : CRC Press
- Carlsen, M. Spohr, A.B. Nielsen, J. and Villadsen, J. 1996. "Morphology and physiology of an  $\alpha$ -amylase producing strain of *Aspergillus oryzae* during batch cultivations." *Biotechnology and Bioengineering*. 49 : 266-276.
- Chen, H.Z. Xu, J. and Li, Z.H. 2007. "Temperature cycling to improve the ethanol production with solid-state simultaneous saccharification and fermentation." *Applied Biochemistry and Microbiology*. 43 : 57-60.
- Clarence, S.Y. Sunny, E.I. and Emmanuel, I.U. 2010. "Temperature optimization for bioethanol production from corn cobs using mixed yeast strains." *Journal of Biological Sciences*. 10 : 103-108.
- Colon Institute. 2016. **Amylase**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://coloninstitute.org/supplements/amylase>.
- Coutinho, P.M. and Reilly, P.J. 1997. "Automated docking of glucosyl disaccharides in the glucoamylase active site." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 28(2) : 162-173
- Dash, P.K. Mohaptra, S. Swain, R.M. and Thatoi, H. 2017. "Optimization of bioethanol production from saccharified sweet potato root flour by co-fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia* sp. using OVAT and response surface methodologies." *Acta Biologica Szegediensis*. 61(1) : 13-23.
- Diaz, M. Garcia, Al. and Garcia, LA. 1996. "Mixing power, external convention, and effectiveness in bioreactors." *Biotechnology Bioengineer*. 51 : 131-40
- D'Amore, T. Panchal, C. J. Russeil, I. and Stewart, G.G. 1988. "Osmotic pressure effects and intracellular accumulation of ethanol in yeast during fermentation." *Journal of Industrial Microbiology*. 2(6) : 365-372.
- Hamelinck, C.N. Suurs, R.A.A. and Faaij, A.P.C. 2005. "International bioenergy transport costs and energy balance." *Biomass and Bioenergy*. 29(2) : 114-134.
- Hong, G.S. and Guarro, J. 2001. "Atlas of clinical fungi." *International Microbiology*. 4 : 260-261.
- Izmirlioglu, G. and Demirci, A. 2016. "Improved simultaneous saccharification and fermentation of bioethanol from industrial potato waste with co-cultures of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* by medium optimization." *Fuel*, 185 : 684-691.

- Jeon, B.Y. Kim, D.H. Na, B.K. Ahn, D.H. and Park, D.H. 2008. "Production of ethanol directly from potato starch by mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger* using electrochemical bioreactor." *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 18(3) : 545-51.
- Ji, L. Yu, H. Liu, Z. Jiang, J. and Sun, D. 2015. "Enhanced ethanol production with mixed lignocellulosic substrates from commercial furfural and cassava residues." *Bioresources*. 10(1) : 1162-1173.
- Kito, H. Abe, A. Sujaya, I.N. Oda, Y. Asano, K. and Sone, T. 2009. "Molecular characterization of the relationship among *Amylomyces rouxii*, *Rhizopus oryzae*, and *Rhizopus delemar*." *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 73 : 861–864.
- Klich, M. A. 2002. **Identification of Common Aspergillus Species**. Utrecht : Centraal bureau voor Schimmelcultures.
- Laluce, C. Tognolli, J.O. Oliveira, K.F. Souza, C.S. and Morais, M.R. 2009. "Optimization of temperature, sugar concentration, and inoculum size to maximize ethanol production without significant decrease in yeast cell viability." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 83 : 627–637.
- Lee, W.C. Chen, I.C. Chang, C.H. and Yang, S. 2012. "Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*." *Renewable Energy*. 39 : 216-222.
- Manikandan, K. and Viruthagiri, T. 2009. "Simultaneous saccharification and fermentation of wheat bran flour into ethanol using coculture of amyloytic *Aspergillus niger* and thermotolerant *Kluyveromyces marxianus*." *Frontiers of Chemical Engineering in China*. 3(3) : 240–249.
- Montiel, A.M. Fernández ,F.J. Marcial, J. Soriano, J. Barrios–González, J. and Tomasini, A. 2004. "A fungal phenoloxidase (tyrosinase) involved in pentachlorophenol degradation." *Biotechnology Letters*. 26 : 1353–1357.
- Narendranath, N.V. and Power R. 2005. "Relationship between pH and medium dissolved solids in term of growth and metabolism of lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production." *Applied and Environmental Microbiology*. 71 : 2239–2243.
- Ochaikul, D. and Suwannaposri, A. 2014. "Ethanol production from sweet potato by enzymatic hydrolysis and *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 fermentation." *KMTTL science and technology journal*. 14(2) : 92-98.

- Ohta, K., and Hayashida, S. 1983. "Role of tween 80 and monoolin in a lipid-sterol-protein complex which enhances ethanol tolerance of sake yeast." *Appl. Environ. Microb.* 46 : 821-825
- Okazaki N. and Sugama S. 1979. "A new apparatus for automatic growth estimation of mold cultured on solid media." *Journal of fermentation technology.* 57 : 413-417.
- 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 Tevares, F.C. 1990. "Yeast strain selection for fuel ethanol production." *Yeast Strain Selection.* 8 : 225-236.
- Petrea, L. 2008. "Characterization of two *Saccharomyces cerevisiae* strain obtained by UV mutagenesis." *Innovative Romanian Food Biotechnology.* 2 : 40-47.
- 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.
- Salunkhe, D.K., and Kadam, S.S. 1998. **Handbook of vegetable science and technology: production, composition, storage, and processing.** New York : Marcel Dekker.
- Somogyi, N. 1952. "Notes on sugar determination." *Journal of Biological Chemistry.* 195 : 19-23.
- Swain, M.R. Mishra, J. and Thatoi, H. 2013. "Bioethanol production from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) flour using co-culture of *Trichoderma* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation." *The Brazilian Archives of Biology and Technology.* 56 : 171-179.
- Swanson, K.M.J. Busta, F.F. Peterson, E.H. and Johnson, M.G. 1992. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** Washington D.C. : American Public Health Association.
- Swift, R.J. Karandikar, A. Griffen, A.M. Punt, P.J. van den Hondel, C.A.M.J.J. Robson, G.D. Trinci, A.P.J. and Wiebe, M.G. 2000. "The effect of organic nitrogen sources on recombinant glucoamylase production by *Aspergillus niger* in chemostat culture." *Fungal Genetics and Biology.* 31 : 125-133
- Tanimura, W. Sanchez, P. C. and Kozaki, M. 1977. "The fermented food in the Philippines Tapuy {rice wine}." *J. agric. Sci. Jap.* 2 : 118-34.
- Tian, S.J. Rickard, J.E. and Blanshard, J.M.V. 1991. "Physicochemical properties of sweet potato starch." *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 57 : 459-491.

- Uma Maheswari, N. and Kalaikodi, M. 2011. "Ethanol production from cassava by co-cultures of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae*." *Biomedical and Pharmacology Journal*. 4(1) : 135-140.
- Van der Maarel, MJEC. Van der Veen, B and Uitdehaag, JCM. 2002. "Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family." *Journal Biotechnology*. 94 : 137-155.
- Webster, J. 1979. **Introduction to Fungi**. Biological Science, Cambridge University Press.
- Wu, W.H. Hung, W.C. Lo, Y.K. Chen, Y.K. Wan, H.P. and Cheng, K.C. 2016. "Bioethanol production from taro waste using thermo-tolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* K21." *Bioresource Technology*. 201 : 27-32.
- Yoshimoto, M. 1998. "Sweet potato as a multifunctional food." 273-283. In **Proceedings of International workshop on sweet potato production system towards the 21st century**. Miyazaki : Kyushu National Experimental Experiment Station.
- Yue, G. Yu, J. Zhang, X. and Tan, T. 2012 "The influence of nitrogen sources on ethanol production by yeast from concentrated sweet sorghum juice." *Biomass and Bioenergy*. 39 : 48-52.



## ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### อาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1.อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Broth (Yeast Extract Peptone Dextrose broth )

ประกอบด้วย

กลูโคส	20	กรัม
เปป्टอน	20	กรัม
ยีสต์สกัด	10	กรัม

วิธีการเตรียม

1. ละลายสารละลายทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรคนให้เข้ากัน
2. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 121 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เป็นเวลา 15 นาที

#### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA ( Potato Dextrose Agar )

ประกอบด้วย

Potato Dextrose Agar	24	กรัม
----------------------	----	------

วิธีการเตรียม

1. ละลายสารละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรคนให้เข้ากัน
2. ให้ความร้อนจนวันละลายหมด
3. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์

#### 1. การวิเคราะห์องค์ประกอบของผงมันเทศ

##### 1.1 การวิเคราะห์ความชื้น

1. อบภาชนะพร้อมฝาสำหรับใส่ตัวอย่าง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล
2. เตรียมตัวอย่างโดยบดตัวอย่างให้มีขนาดเล็ก ซึ่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม บันทึกเป็นน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ ใส่ในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝาภาชนะ ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ปิดฝาภาชนะ นำออกจากตู้อบและวางไว้ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล
3. นำไปอบซ้ำอีกประมาณครั้งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักที่ได้
4. คำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \times 100$$

##### 1.2 การวิเคราะห์ไขมัน

1. อบปีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไขมันพร้อม Boiling ship ที่ใส่ลงในปีกเกอร์ประมาณ 5-6 เม็ดในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วางทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน บันทึกผล
2. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียดแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม ลงบนกระดาษกรอง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ท่อตัวอย่างด้วยกระดาษกรองให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง (thimble)
3. วางหลอดรองหลอดใส่ตัวอย่างลงในปีกเกอร์ไขมัน แล้วนำหลอดใส่ตัวอย่างใส่ลงในหลอดรองหลอดตัวอย่างที่วางอยู่ในปีกเกอร์ไขมัน
4. เปิดเครื่องสกัดไขมัน โดยเปิดปั๊มทิ้งไว้จนไม่มีเสียงดัง จากนั้นเปิดสวิทช์เครื่องสกัดไขมัน ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส และตั้งอุณหภูมิเครื่อง cooling bath ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส
5. เติมนิโตรเลียมอีเทอร์จำนวน 150 มิลลิลิตรลงในปีกเกอร์ไขมันที่มีตัวอย่างอยู่ แล้วต่อปีกเกอร์เข้ากับตัวเครื่องสกัดไขมัน เมื่ออุณหภูมิถึงอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ให้เริ่มจับเวลาในการสกัดประมาณ 30 นาที (ปั๊มอยู่ที่ตำแหน่ง circulation)
6. เมื่อครบกำหนดเวลา ให้หมุนปั๊มจากตำแหน่ง circulation ไปที่ตำแหน่ง recovery โดยค้างไว้ประมาณ 10-15 นาที โดยดูจากระดับ solvent เป็นหลัก ซึ่งระดับของ solvent ต้องลดลงอยู่ต่ำกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับหลอดใสตัวอย่าง เมื่อระดับ solvent ลดลงอยู่ต่ำกว่าหลอดใสตัวอย่าง ให้หมุนป้อนกลับไป circulation จากนั้นทำการ rinsing ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยและกลั่นตัวไหลชะผ่านตัวอย่างลงมา

7. เมื่อครบกำหนดเวลา ให้หมุนป้อนมาที่ recovery และค้างไว้จนตัวทำละลายแห้งหมด แล้วจึงหมุนป้อน กลับมาที่ circulation
8. ยกปีกเกอร์ขึ้นจากเตาให้ความร้อน และค้างไว้ประมาณ 15 นาที
9. ตั้งอุณหภูมิของเครื่องสกัดไขมันจาก 150 องศาเซลเซียส ให้ลดลงเหลือ 0 องศาเซลเซียส ยกปีกเกอร์ออกจากเครื่องสกัดไขมัน นำปีกเกอร์ไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100-102 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่ได้
10. คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}} \times 100$$

### 1.3 การวิเคราะห์โปรตีน

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 5 กรัมใส่ลงในหลอดย่อย (kjeldahl flask) เติม mixed catalyst จำนวน 10 กรัม ( $\text{CuSO}_4 : \text{K}_2\text{SO}_4$  อัตราส่วน 1:10) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร และใส่ Boiling chip 2-3 เม็ด
2. นำ insert react ที่มีหลอดย่อยตัวอย่างวางครบทุกช่องวางประกอบเข้ากับเครื่องย่อย และเปิดเครื่องกำจัดไอน้ำ ตั้งอุณหภูมิในการย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 350 องศาเซลเซียส ทำการย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 60 นาที รอให้ไอน้ำถูกดูดไปจนหมดและทิ้งไว้ให้เย็น
3. เปิดน้ำเข้าเครื่องกลั่น เปิดสวิตซ์เครื่องกลั่น รอสัญญาณที่เครื่องเปลี่ยนจาก H เป็น P ตรวจสอบปริมาณน้ำกลั่นและสารละลาย NaOH 40% ในถัง ตลอดจนสายน้ำกลั่นและสาย NaOH ว่าจุ่มในถังถูกต้องหรือไม่ กดปุ่ม  $\text{H}_2\text{O}$  และ NaOH ให้น้ำกลั่นและสารละลาย NaOH ไหลเต็มสาย โดยอาจใช้หลอดย่อยโปรตีนรองรับ
4. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อยที่วางทิ้งไว้จนเย็นแล้วประมาณ 75 มิลลิลิตร ให้ปริมาตรรวมในหลอดเท่ากับ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดย่อยมาต่อเข้ากับเครื่องกลั่น
5. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4 % ปริมาตร 25 มิลลิลิตร หยด mixed indicator 2-3 หยด ไปวางไว้ที่ตำแหน่งรองรับของเครื่องกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควมแน่นจุ่มอยู่ในสารละลาย
6. ตั้ง program เครื่องกลั่น โดย
  - กด program จากนั้นเติมน้ำกลั่น (อัตราการไหล 10 ml/วินาที) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 % 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วินาที (อัตราการไหล 10 ml ต่อวินาที)
  - รอทำปฏิกิริยา จากนั้นกลั่น เป็นเวลา 7 นาที Steam ตั้งเวลา 70 วินาที จากนั้นดูดทิ้ง 30 วินาที
7. กด Run เครื่องจะเริ่มทำงานตาม Step ที่ตั้งโปรแกรมไว้ โดยใน Step 2 เมื่อเติมสารละลาย NaOH ลงไป สารละลายในหลอดจะเปลี่ยนจากสารละลายสีเขียวใสเป็นสีน้ำเงินเข้ม หาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายไม่เปลี่ยนสีให้เติมสารละลาย NaOH เพิ่มโดยกดปุ่ม NaOH จนสารละลายในหลอดย่อยเปลี่ยนสีเป็นสีดำหรือสีน้ำเงินเข้ม

8. หลังกลั่นเสร็จ นำหลอดย่อยและสารละลายกรดบอริกในขวดรูปชมพู่ออกล้างส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในภาชนะรองรับ และกลั่นล้างระบบทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนตัวอย่าง โดยใส่น้ำกลั่นในหลอดย่อยแล้วทำการกลั่นโดยไม่เติมต่างประมาณ 3 นาที (วางขวดรูปชมพู่เปล่าในตำแหน่งที่รองรับ)

9. ไทเทรตสารละลายกรดบอริกด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู (ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

10. ทำ blank ตามวิธีการในข้อ 1-9 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง (หลังกลั่น Blank ไม่เปลี่ยนสี)

11. หลังกลั่นตัวอย่างสุดท้ายเสร็จ ให้ล้างส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่น และกลั่นล้างระบบเช่นเดียวกับข้อ 9 พร้อมทั้งเช็ดทำความสะอาดเครื่องทั้งหมด

13. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนจากสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{(A-B) \times N \text{ HCl} \times 14.007}{\text{Wt.sample} \times 1000} \times 100$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน} \times F$$

เมื่อ A คือ ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

Wt คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

F คือ แฟคเตอร์ (Conversion factor) ดูจากตารางที่ 5.1

14.007 คือ น้ำหนักสมมูลของไนโตรเจน

ตาราง ค่าแฟคเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณโปรตีนในอาหารชนิดต่าง ๆ

อาหาร	%ไนโตรเจน (X)	F(100/X)
ข้าวเจ้าและผลิตภัณฑ์	16.81	5.95
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	17.51	5.71
ไข่	14.94	6.68
นมและผลิตภัณฑ์นม	15.66	6.38
เนื้อสัตว์	16.00	6.25
อาหารอื่นๆ	16.00	6.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 1.4 การวิเคราะห์เถ้า

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมฝาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องมาใส่ในโถดูดความชื้น วางทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ซึ่งน้ำหนักและบันทึกผล
2. เตรียมตัวอย่างโดยบดตัวอย่างให้มีขนาดเล็ก ซึ่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม บันทึกเป็นน้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา จากนั้นใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)
3. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบที่บรรจุตัวอย่างไปเผาบนเตาจนควันหมด แล้วจึงนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส โดยเปิดฝาภาชนะเป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทาอ่อน
4. เมื่อครบกำหนดเวลา ปิดสวิทช์เตาเผา จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผานำไปใส่ในโถดูดความชื้น โดยปิดฝาด้วยในแต่ละตัวอย่าง ปล่อยให้วางทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ซึ่งน้ำหนักและบันทึกผล
5. คำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}} \times 100$$

#### 1.5 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

นำผลการวิเคราะห์ค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างมา คำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด จากสูตร

$$\text{คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด} = 100 - (\text{ผลรวมของปริมาณร้อยละของความชื้น} + \text{ไขมัน} + \text{โปรตีน} + \text{เถ้า})$$

(ร้อยละโดยน้ำหนัก)

#### 1.6 การวิเคราะห์พลังงานทั้งหมด โดยเครื่อง Bomb Calorimeter

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง บดละเอียดให้มีน้ำหนักแน่นอนประมาณ 1 กรัม นำมาอัดขึ้นรูปให้เป็น pellet
2. นำตัวอย่างบรรจุในลูกบอมบ์มาวางในที่วางของ bomb head
3. นำ bomb head ใส่ใน oxygen bomb ปิดฝา แล้วเติม oxygen ใน bomb จากนั้นเติมน้ำในกระบอกสแตนเลสประมาณ 2000 มิลลิลิตร ตั้งค่าเครื่อง โดยเครื่องจะทำการ test run จากนั้นรอเครื่องรายงานผล

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยวิธีการใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

### วิธีเตรียมกราฟมาตรฐานเอทานอล

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโพรพานอล (N-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เป็นสารละลายมาตรฐาน
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 10 และ 12 โดยปริมาตร
3. ใส่สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นในขวดแก้วขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาขวด
4. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิค แก๊สโครมาโตกราฟี (GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC-2014, Shimadzu) ต่อกับ Auto Injector (AOC-20i)
5. ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส Sampling rate เท่ากับ 40 มิลลิวินาที อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (Injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นก๊าซตัวพา เลือกโหมด Linear Velocity
6. นำพื้นที่ใต้กราฟ (Peak Area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นซึ่งกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x

### วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

1. วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างโดยผสม สารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร
2. วิเคราะห์ที่ตั้งสภาวะข้างต้น จากนั้นนำเอาอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอลมาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล

สูตรคำนวณปริมาณเอทานอล ได้จากกราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอล

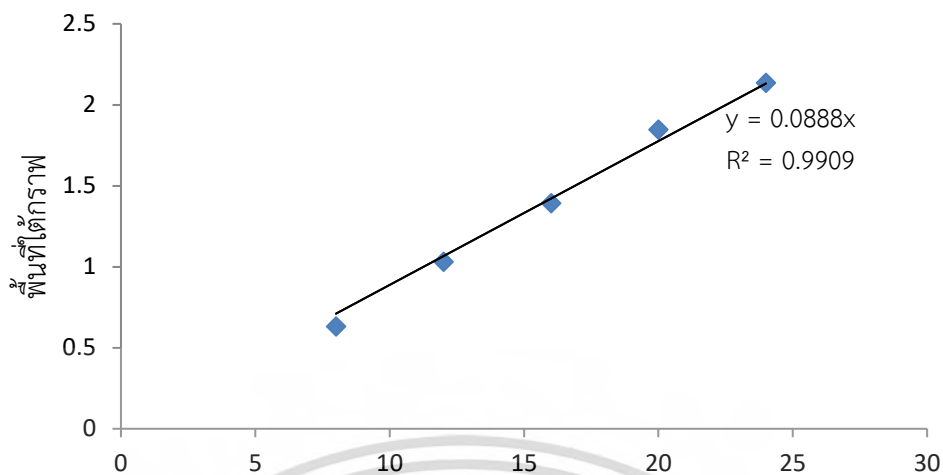
$$\text{สมการ } y = 0.0888x$$

$$\text{ให้ } y = \text{อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อโพรพานอล}$$

$$X = \text{ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)}$$

$$\text{โดย ความหนาแน่นของเอทานอล} = 0.789 \text{ กรัมต่อมิลลิลิตร}$$

$$\text{ดังนั้น ปริมาณเอทานอล} = (x) (0.789) (10) \text{ กรัมต่อลิตร}$$



ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ร้อยละมวลต่อปริมาตร

รูปที่ ข-1 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

### 3. วิธีการวิเคราะห์กลูโคสโดยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส ความเข้มข้น 10 12 14 16 และ 18 กรัมต่อลิตร
2. ใส่สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นในขวดแก้วขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาขวด
3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส โดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) รุ่น LC-20A ยี่ห้อ Shimadzu
4. ใช้คอลัมน์ BP-100 Ca++ ขนาดคอลัมน์  $300 \pm 7.8$  มิลลิเมตร อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้น้ำกลั่นเป็นพาหะ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดชนิด RID โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่กลูโคสและมอลโทสถูกชะออกจากคอลัมน์ประมาณ 17 และ 15 นาที ตามลำดับ
5. นำพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส เป็นแกน x แสดงดังรูปที่ ข-2 และ ข-3

สูตรคำนวณปริมาณน้ำตาลกลูโคส ได้จากกราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 421695x$$

กำหนดให้  $y$  = พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง

กำหนดให้  $X$  = ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)

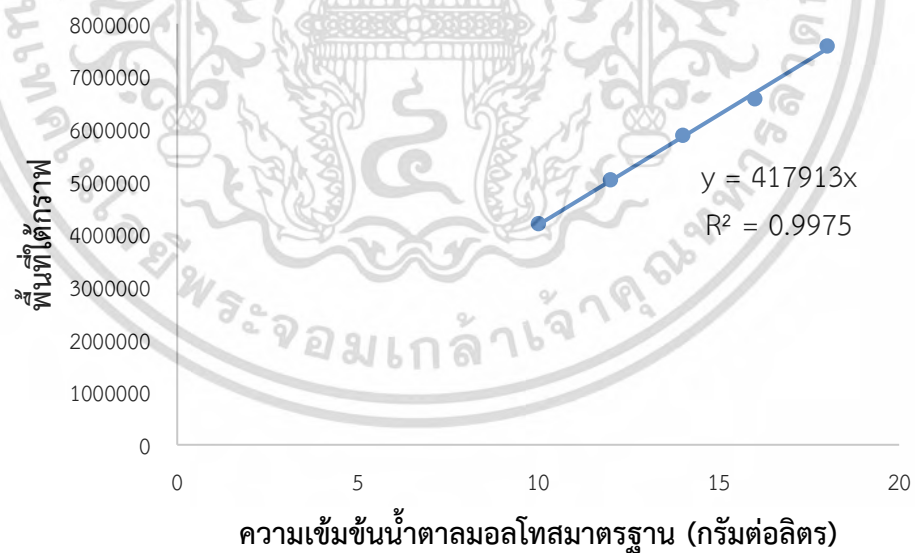
ดังนั้น ปริมาณกลูโคส =  $y \div 421695$  กรัมต่อลิตร

สูตรคำนวณปริมาณน้ำตาลมอลโทส ได้จากกราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส

	$y$	=	$417913x$
กำหนดให้	$y$	=	พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง
กำหนดให้	$X$	=	ปริมาณมอลโทส (กรัมต่อลิตร)
ดังนั้น	ปริมาณมอลโทส	=	$y \div 417913$ กรัมต่อลิตร



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคสวัดโดยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



รูปที่ ข-3 กราฟสารละลายมาตรฐานมอลโทสวัดโดยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### ข้อมูลการหมักเอทานอลจากมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่างยีสต์และรา

#### 1. ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันเทศด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ตาราง ค-1 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆที่เกิดขึ้นในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.00±0.00 <sup>e</sup>	19.17±0.09 <sup>a</sup>	7.86±0.09 <sup>a</sup>
12	6.01±0.15 <sup>d</sup>	16.68±0.67 <sup>b</sup>	7.09±0.22 <sup>b</sup>
24	9.75±1.39 <sup>c</sup>	12.89±2.35 <sup>c</sup>	3.62±0.42 <sup>c</sup>
36	12.71±1.41 <sup>b</sup>	10.65±2.07 <sup>cd</sup>	0.53±0.40 <sup>d</sup>
48	13.25±0.97 <sup>ab</sup>	9.25±0.62 <sup>d</sup>	0.05±0.04 <sup>d</sup>
60	13.60±1.02 <sup>ab</sup>	5.88±2.11 <sup>e</sup>	0.10±0.07 <sup>d</sup>
72	14.39±0.90 <sup>ab</sup>	5.39±1.29 <sup>e</sup>	0.36±0.12 <sup>d</sup>
96	14.90±0.61 <sup>a</sup>	1.86±0.94 <sup>f</sup>	0.45±0.39 <sup>d</sup>
120	14.29±1.81 <sup>ab</sup>	1.97±0.34 <sup>f</sup>	0.45±0.21 <sup>d</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตาราง ค-2 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก (ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.83±0.21 <sup>f</sup>	1.97±0.03 <sup>d</sup>	5.88±0.42 <sup>a</sup>
12	5.20±0.29 <sup>e</sup>	3.57±0.59 <sup>c</sup>	5.28±0.07 <sup>a</sup>
24	9.12±0.92 <sup>d</sup>	7.51±0.49 <sup>a</sup>	1.46±0.47 <sup>b</sup>
36	12.68±1.51 <sup>bc</sup>	5.04±1.11 <sup>b</sup>	1.49±0.13 <sup>b</sup>
48	13.82±1.23 <sup>ab</sup>	1.38±0.25 <sup>de</sup>	1.43±0.51 <sup>b</sup>
60	14.35±0.18 <sup>a</sup>	1.38±0.23 <sup>de</sup>	1.41±0.19 <sup>b</sup>
72	14.28±0.23 <sup>a</sup>	1.34±0.11 <sup>de</sup>	0.59±0.10 <sup>c</sup>
96	12.40±0.12 <sup>b</sup>	0.67±0.27 <sup>ef</sup>	0.59±0.61 <sup>c</sup>
120	11.81±0.91 <sup>c</sup>	0.21±0.07 <sup>f</sup>	0.24±0.16 <sup>c</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

**ตาราง ค-3** การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	1.38±0.35 <sup>c</sup>	1.93±0.03 <sup>a</sup>	5.82±0.05 <sup>b</sup>
12	3.30±1.71 <sup>b</sup>	0.14±0.09 <sup>b</sup>	6.57±0.59 <sup>a</sup>
24	3.72±0.49 <sup>b</sup>	0.50±0.65 <sup>b</sup>	5.29±0.65 <sup>b</sup>
36	7.23±1.57 <sup>a</sup>	0.53±0.55 <sup>b</sup>	3.80±0.15 <sup>c</sup>
48	4.38±0.66 <sup>b</sup>	0.57±0.81 <sup>b</sup>	3.47±0.30 <sup>cd</sup>
60	4.08±0.40 <sup>b</sup>	0.50±0.32 <sup>b</sup>	3.34±0.22 <sup>cd</sup>
72	3.64±0.82 <sup>b</sup>	0.28±0.08 <sup>b</sup>	3.13±0.58 <sup>cd</sup>
96	2.71±0.40 <sup>c</sup>	0.25±0.19 <sup>b</sup>	2.81±0.31 <sup>d</sup>
120	1.59±0.43 <sup>c</sup>	0.21±0.07 <sup>b</sup>	2.75±0.19 <sup>d</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

**ตาราง ค-4** หมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.75±0.12 <sup>g</sup>	1.95±0.03 <sup>cd</sup>	7.36±0.02 <sup>a</sup>
12	4.42±0.42 <sup>f</sup>	3.41±1.29 <sup>b</sup>	6.00±0.23 <sup>b</sup>
24	8.64±0.56 <sup>e</sup>	6.59±0.58 <sup>a</sup>	3.69±0.96 <sup>c</sup>
36	11.05±0.20 <sup>d</sup>	4.41±0.52 <sup>b</sup>	2.06±0.81 <sup>d</sup>
48	12.98±0.24 <sup>bc</sup>	2.13±0.97 <sup>c</sup>	0.54±0.46 <sup>e</sup>
60	13.82±0.30 <sup>ab</sup>	1.54±0.26 <sup>cd</sup>	0.51±0.08 <sup>e</sup>
72	14.29±1.25 <sup>a</sup>	0.91±0.08 <sup>de</sup>	0.40±0.03 <sup>e</sup>
96	13.20±1.09 <sup>ab</sup>	0.40±0.15 <sup>e</sup>	0.16±0.13 <sup>e</sup>
120	11.80±1.03 <sup>cd</sup>	0.12±0.10 <sup>e</sup>	0.01±0.01 <sup>e</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตาราง ค-5 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.83±0.21 <sup>b</sup>	1.38±0.35 <sup>a</sup>	0.75±0.12 <sup>b</sup>
12	6.01±0.15 <sup>a</sup>	5.20±0.29 <sup>a</sup>	3.30±1.71 <sup>c</sup>	4.42±0.42 <sup>ab</sup>
24	9.75±1.39 <sup>a</sup>	9.12±0.92 <sup>a</sup>	3.72±0.49 <sup>b</sup>	8.64±0.56 <sup>a</sup>
36	12.71±1.41 <sup>a</sup>	12.68±1.51 <sup>a</sup>	7.23±1.57 <sup>b</sup>	11.05±0.20 <sup>a</sup>
48	13.25±0.97 <sup>a</sup>	13.82±1.23 <sup>a</sup>	4.38±0.66 <sup>b</sup>	12.98±0.24 <sup>a</sup>
60	13.60±1.02 <sup>a</sup>	14.35±0.18 <sup>a</sup>	4.08±0.40 <sup>b</sup>	13.82±0.30 <sup>a</sup>
72	14.39±0.90 <sup>a</sup>	14.28±0.23 <sup>a</sup>	3.64±0.82 <sup>b</sup>	14.29±1.25 <sup>a</sup>
96	14.90±0.61 <sup>a</sup>	12.40±0.12 <sup>b</sup>	2.71±0.40 <sup>c</sup>	13.20±1.09 <sup>b</sup>
120	14.29±1.81 <sup>a</sup>	11.81±0.91 <sup>b</sup>	1.59±0.43 <sup>c</sup>	11.80±1.03 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : ชุดควบคุม : เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088  
 ชุดการทดลองที่ 1 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 (1:1)  
 ชุดการทดลองที่ 2 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3086(1:1)  
 ชุดการทดลองที่ 3 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราสองสายพันธุ์(1:0.5:0.5)

เมื่อพิจารณาแวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## 2. ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันเทศด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ตาราง ค-6 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.00±0.00 <sup>s</sup>	12.90±0.35 <sup>f</sup>	9.75±0.36 <sup>a</sup>
24	0.00±0.00 <sup>s</sup>	37.63±1.34 <sup>b</sup>	8.44±0.14 <sup>b</sup>
48	0.78±0.68 <sup>f</sup>	41.33±0.28 <sup>a</sup>	6.95±0.36 <sup>c</sup>
60	7.79±0.38 <sup>e</sup>	31.56±1.15 <sup>c</sup>	6.65±0.18 <sup>c</sup>
72	9.79±0.08 <sup>d</sup>	31.12±1.68 <sup>c</sup>	5.41±0.53 <sup>d</sup>
84	11.19±0.22 <sup>c</sup>	22.96±0.65 <sup>d</sup>	2.28±0.52 <sup>e</sup>
96	13.41±0.26 <sup>ab</sup>	17.71±0.54 <sup>e</sup>	1.46±0.28 <sup>f</sup>
108	13.87±0.16 <sup>a</sup>	11.61±0.63 <sup>f</sup>	0.78±0.32 <sup>s</sup>
120	13.24±0.43 <sup>b</sup>	8.30±0.78 <sup>e</sup>	1.00±0.27 <sup>f</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-7 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.77±0.33 <sup>e</sup>	1.63±0.58 <sup>fg</sup>	4.91±0.11 <sup>b</sup>
24	2.84±0.55 <sup>f</sup>	33.69±0.22 <sup>a</sup>	7.56±0.11 <sup>a</sup>
48	4.38±0.29 <sup>e</sup>	28.95±0.01 <sup>b</sup>	5.18±0.34 <sup>b</sup>
60	7.14±0.30 <sup>d</sup>	18.49±2.06 <sup>c</sup>	1.97±0.05 <sup>cd</sup>
72	10.02±1.16 <sup>c</sup>	12.01±1.27 <sup>d</sup>	1.63±0.11 <sup>de</sup>
84	11.92±0.26 <sup>b</sup>	5.88±1.06 <sup>e</sup>	2.36±0.61 <sup>c</sup>
96	13.53±0.46 <sup>a</sup>	1.99±0.02 <sup>f</sup>	1.11±0.02 <sup>f</sup>
108	13.26±0.32 <sup>a</sup>	1.25±0.17 <sup>fg</sup>	1.25±0.06 <sup>ef</sup>
120	13.19±0.45 <sup>a</sup>	0.08±0.05 <sup>g</sup>	0.50±0.01 <sup>g</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตาราง ค-8 การหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.54±0.47 <sup>e</sup>	1.48±0.69 <sup>c</sup>	4.68±0.12 <sup>d</sup>
24	0.37±0.37 <sup>e</sup>	1.72±0.19 <sup>c</sup>	14.71±0.62 <sup>a</sup>
48	1.84±0.23 <sup>de</sup>	2.05±0.65 <sup>bc</sup>	13.26±0.85 <sup>b</sup>
60	2.78±0.14 <sup>cd</sup>	5.13±1.92 <sup>a</sup>	11.10±0.09 <sup>c</sup>
72	3.82±0.85 <sup>c</sup>	3.46±1.00 <sup>b</sup>	5.44±0.48 <sup>d</sup>
84	4.12±2.33 <sup>c</sup>	3.50±0.35 <sup>b</sup>	1.71±1.07 <sup>e</sup>
96	6.22±0.40 <sup>b</sup>	2.58±0.19 <sup>bc</sup>	2.50±0.14 <sup>e</sup>
108	9.07±0.12 <sup>a</sup>	1.51±0.41 <sup>c</sup>	2.60±0.50 <sup>e</sup>
120	9.67±0.56 <sup>a</sup>	0.01±0.00 <sup>d</sup>	0.15±0.01 <sup>f</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตาราง ค-9 หมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยโดยใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณสารต่างๆในการหมัก (กรัมต่อลิตร)		
	เอทานอล	น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโทส
0	0.75±0.94 <sup>c</sup>	1.74±0.52 <sup>d</sup>	5.79±0.11 <sup>b</sup>
24	1.62±0.38 <sup>c</sup>	19.24±1.80 <sup>a</sup>	12.23±1.82 <sup>a</sup>
48	6.79±0.32 <sup>d</sup>	17.89±1.05 <sup>a</sup>	4.29±0.39 <sup>c</sup>
60	10.40±0.30 <sup>c</sup>	7.45±1.06 <sup>b</sup>	3.72±0.35 <sup>c</sup>
72	10.44±0.67 <sup>c</sup>	4.46±2.71 <sup>c</sup>	2.97±0.24 <sup>c</sup>
84	13.51±1.41 <sup>ab</sup>	1.79±0.54 <sup>d</sup>	1.61±1.06 <sup>d</sup>
96	14.30±1.62 <sup>ab</sup>	2.04±0.34 <sup>d</sup>	0.37±0.23 <sup>d</sup>
108	15.04±0.35 <sup>a</sup>	0.20±0.14 <sup>d</sup>	0.64±0.06 <sup>d</sup>
120	13.21±1.21 <sup>b</sup>	0.69±0.55 <sup>d</sup>	0.58±0.20 <sup>d</sup>

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวตั้ง

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตาราง ค-10 เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้น้ำเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราอย่างแบ่งด้วยกระบวนการหมักแบบ SHF

ระยะเวลา การหมัก(ชม.)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
0	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.77±0.33 <sup>a</sup>	0.54±0.47 <sup>a</sup>	0.75±0.94 <sup>a</sup>
24	0.78±0.68 <sup>b</sup>	2.84±0.55 <sup>a</sup>	0.37±0.37 <sup>c</sup>	1.62±0.38 <sup>b</sup>
48	0.22±0.19 <sup>d</sup>	4.38±0.29 <sup>b</sup>	1.84±0.23 <sup>c</sup>	6.79±0.32 <sup>a</sup>
60	7.79±0.38 <sup>b</sup>	7.14±0.30 <sup>c</sup>	2.78±0.14 <sup>d</sup>	10.40±0.30 <sup>a</sup>
72	9.79±0.08 <sup>a</sup>	10.02±1.16 <sup>a</sup>	3.82±0.85 <sup>b</sup>	10.44±0.67 <sup>a</sup>
84	11.19±0.22 <sup>a</sup>	11.92±0.26 <sup>a</sup>	4.12±2.33 <sup>b</sup>	13.51±1.41 <sup>a</sup>
96	13.41±0.26 <sup>a</sup>	13.53±0.46 <sup>a</sup>	6.22±0.40 <sup>b</sup>	14.30±1.62 <sup>a</sup>
108	13.87±0.16 <sup>b</sup>	13.26±0.32 <sup>c</sup>	9.07±0.12 <sup>d</sup>	15.04±0.35 <sup>a</sup>
120	13.24±0.43 <sup>a</sup>	13.19±0.45 <sup>a</sup>	9.67±0.56 <sup>b</sup>	13.21±1.21 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : ชุดควบคุม : เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ชุดการทดลองที่ 1 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 (1:1)

ชุดการทดลองที่ 2 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3086(1:1)

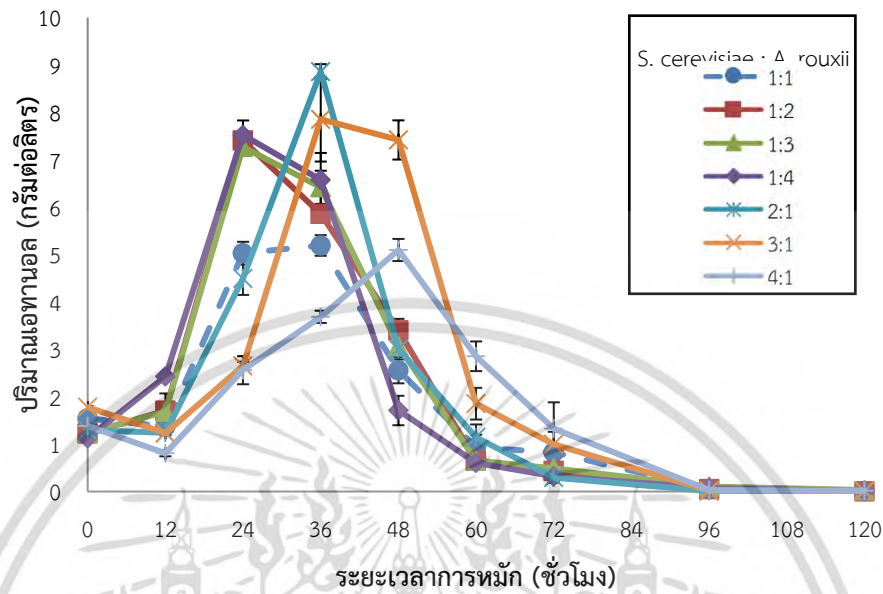
ชุดการทดลองที่ 3 : *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราสองสายพันธุ์(1:0.5:0.5)

เมื่อพิจารณาแนวนอน

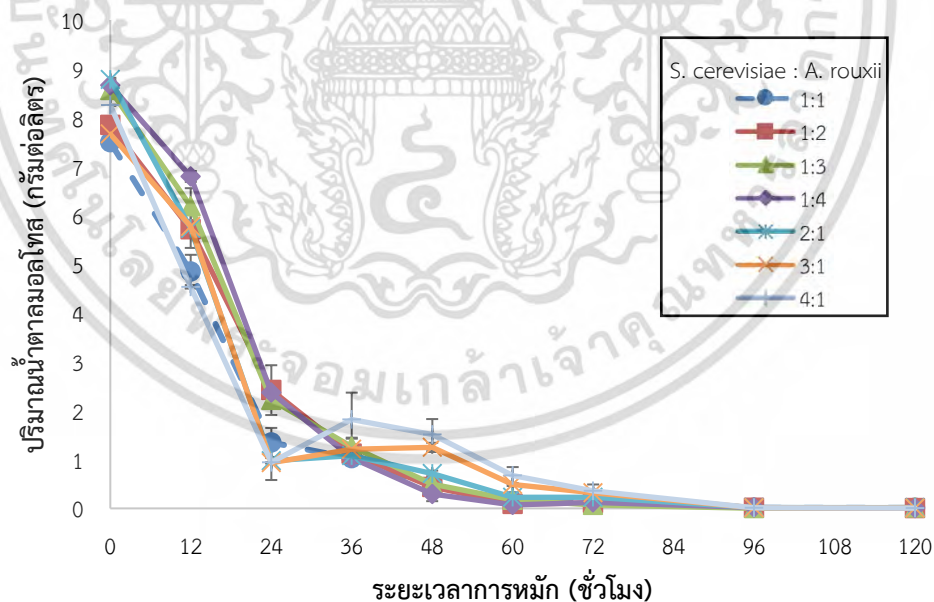
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

### 3. การศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ

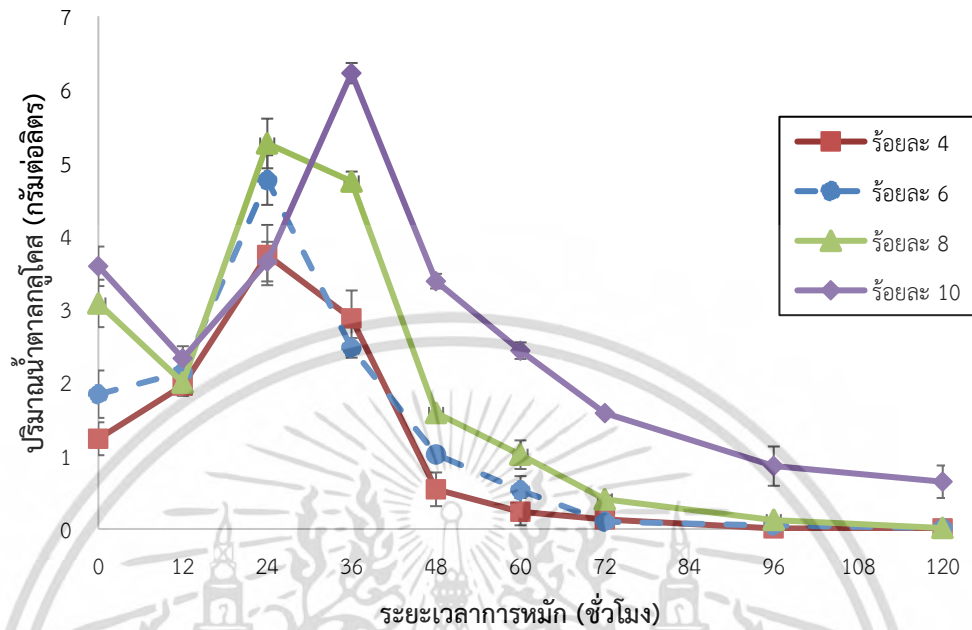


รูปที่ ค-1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมที่มีอัตราส่วน *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ที่แตกต่างกัน

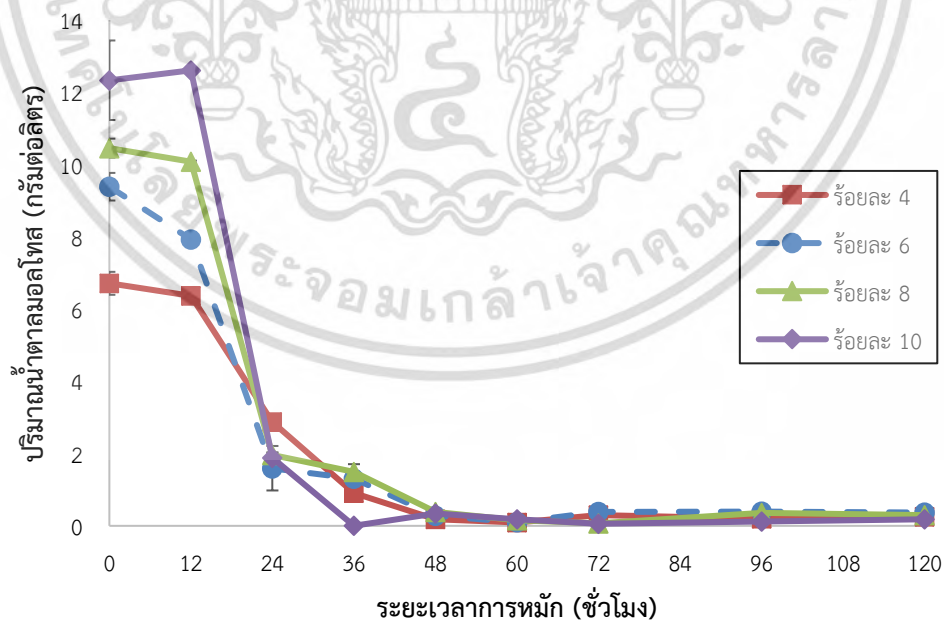


รูปที่ ค-2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลมอลโทสในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมที่มีอัตราส่วน *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ที่แตกต่างกัน

4. การศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

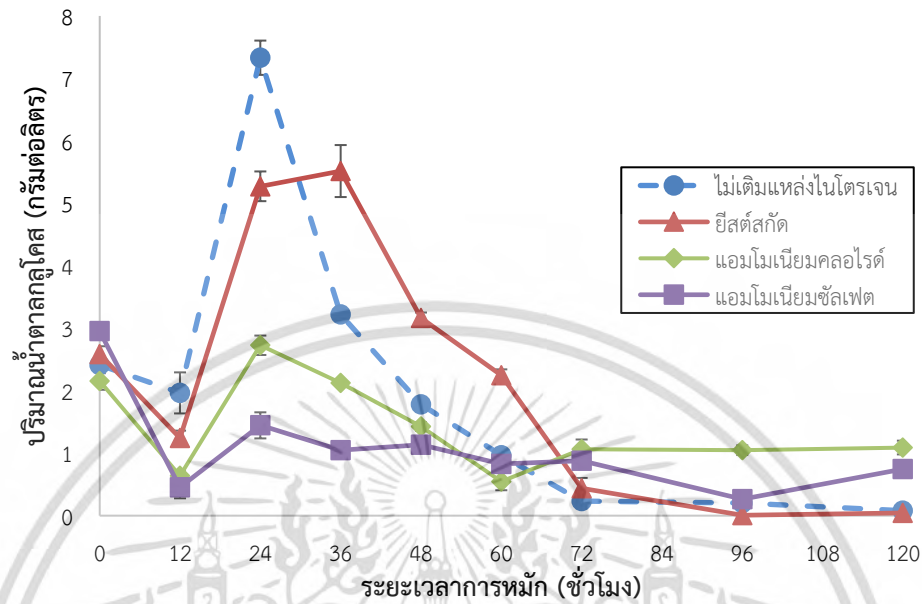


รูปที่ ค-3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักไบโอเอทานอลด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF

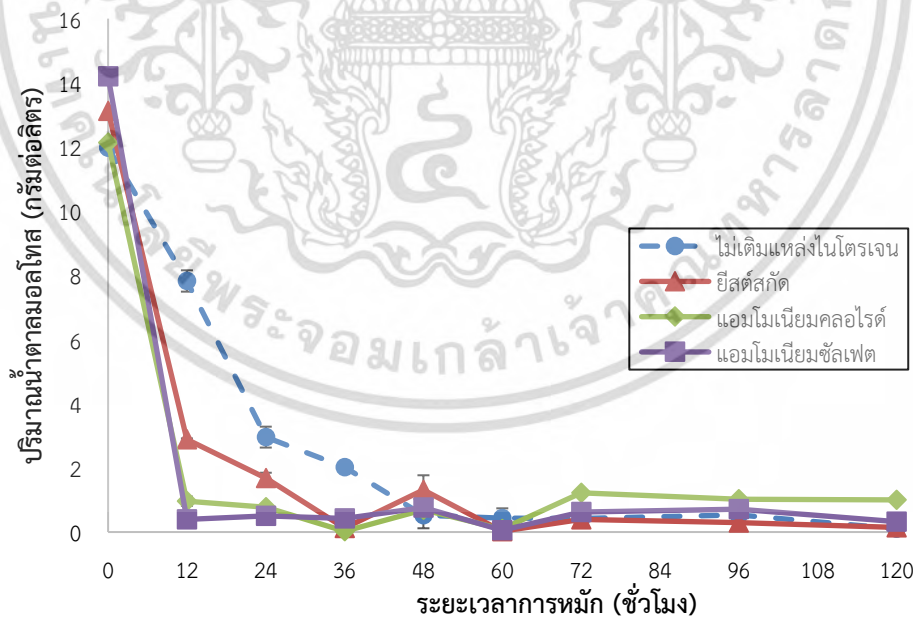


รูปที่ ค-4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลมอลโทสในระหว่างการหมักไบโอเอทานอลด้วยเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการหมักแบบ SSF

5. การศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักแบบ SSF



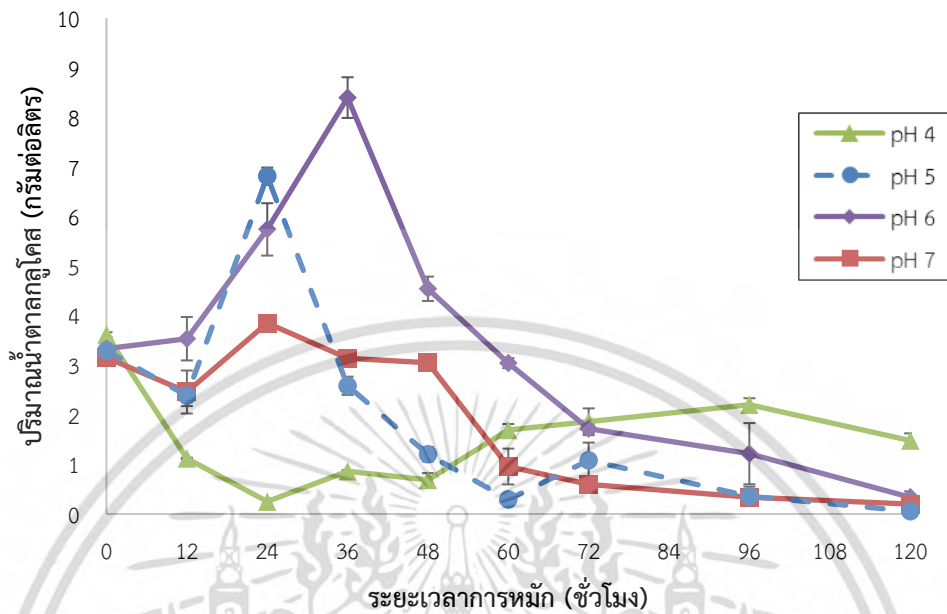
รูปที่ ค-5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน



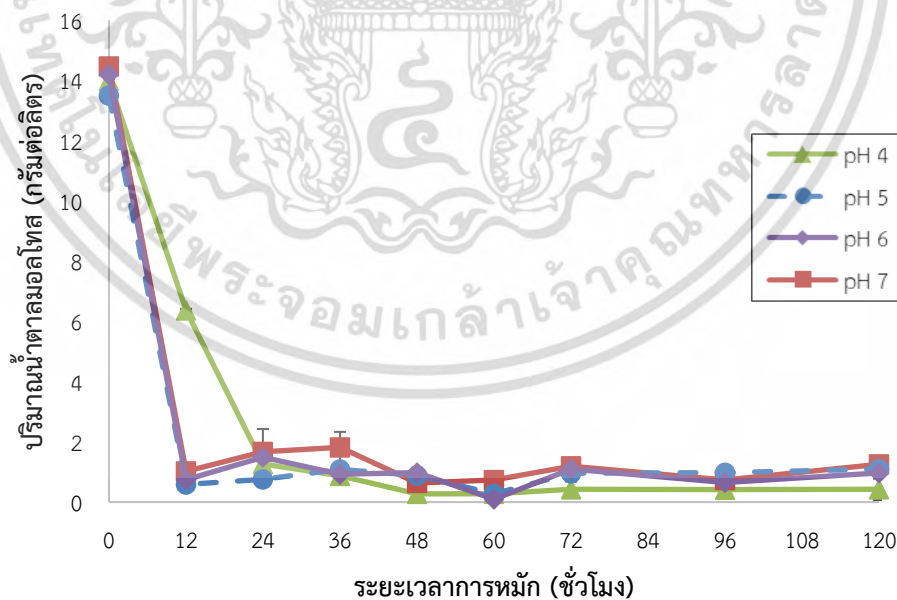
รูปที่ ค-6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลมอลโทสในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผลการศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182



รูปที่ ค-7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน



รูปที่ ค-8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลมอลโทสในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### ข้อมูลดิบ

#### 1. ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF)

ตารางที่ ง-1 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยแป้ง ในกระบวนการหมักแบบ SSF (ชุดควบคุม)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	6.12	10.49	12.99	14.28	14.59	14.38	15.50	16.11
	2	0.00	6.07	10.60	13.96	13.09	13.64	15.29	14.28	14.27
	3	0.00	5.84	8.15	11.17	12.37	12.56	13.48	14.91	12.50
	ค่าเฉลี่ย	0.00	6.01	9.75	12.71	13.25	13.60	14.39	14.90	14.29
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	19.09	16.61	15.59	12.84	8.75	5.26	4.03	1.20	1.81
	2	19.16	16.05	11.32	10.39	9.05	4.16	5.53	2.93	2.36
	3	19.26	17.38	11.77	8.72	9.94	8.23	6.60	1.45	1.74
	ค่าเฉลี่ย	19.17	16.68	12.89	10.65	9.25	5.88	5.39	1.86	1.97
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	7.95	7.33	3.94	0.99	0.08	0.06	0.39	0.88	0.59
	2	7.85	6.90	3.14	0.31	0.08	0.18	0.23	0.32	0.55
	3	7.77	7.06	3.77	0.28	0.00	0.06	0.47	0.14	0.20
	ค่าเฉลี่ย	7.86	7.09	3.62	0.53	0.05	0.10	0.36	0.45	0.45
พีเอช	1	4.88	4.04	3.88	3.74	3.55	3.34	3.99	3.97	3.94
	2	4.76	4.01	3.85	3.71	3.58	3.32	4.02	4.04	3.94
	3	4.79	4.04	3.87	3.74	3.63	3.42	4.00	3.97	3.89
	ค่าเฉลี่ย	4.81	4.03	3.87	3.73	3.59	3.36	4.00	3.99	3.92

ตารางที่ ง-2 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 1)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.90	5.48	9.34	13.42	15.09	14.32	14.16	12.54	12.39
	2	0.99	5.22	9.91	13.69	12.63	14.56	14.13	12.30	10.76
	3	0.58	4.89	8.11	10.94	13.74	14.19	14.55	12.37	12.29
	ค่าเฉลี่ย	0.83	5.20	9.12	12.68	13.82	14.36	14.28	12.40	11.81
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.93	2.90	8.07	5.64	1.42	1.63	1.41	0.98	1.81
	2	1.98	3.80	7.21	5.73	1.11	1.31	1.22	0.52	2.36
	3	1.99	4.02	7.24	3.76	1.60	1.19	1.40	0.52	1.74
	ค่าเฉลี่ย	1.97	3.57	7.51	5.04	1.38	1.38	1.34	0.67	1.97
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	5.35	5.40	2.00	1.42	1.52	1.23	1.28	0.92	0.46
	2	5.29	6.08	1.25	1.64	1.32	1.47	0.36	0.84	0.10
	3	5.21	6.17	1.13	1.41	1.45	1.52	0.12	0.00	0.17
	ค่าเฉลี่ย	5.28	5.88	1.46	1.49	1.43	1.41	0.59	0.59	0.24
พีเอช	1	4.86	3.92	3.57	3.43	3.66	3.75	3.87	3.93	3.90
	2	4.79	3.82	3.56	3.49	3.65	3.77	3.80	3.91	3.96
	3	4.89	3.81	3.55	3.51	3.69	3.77	3.78	3.94	3.94
	ค่าเฉลี่ย	4.85	3.85	3.56	3.48	3.67	3.76	3.82	3.93	3.93

ตารางที่ ง-3 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. oryzae* TISTR 3182 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 2)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่120
ปริมาณเอทานอล	1	1.63	4.57	3.16	8.47	4.88	4.14	4.34	3.06	1.56
	2	1.53	3.97	4.06	7.75	4.63	3.65	2.73	2.28	1.17
	3	0.97	1.35	3.95	5.46	3.64	4.44	3.84	2.80	2.04
	ค่าเฉลี่ย	1.38	3.30	3.72	7.23	4.38	4.08	3.64	2.71	1.59
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.90	0.12	1.25	1.16	0.15	0.85	0.37	0.34	1.81
	2	1.94	0.24	0.13	0.20	1.51	0.42	0.25	0.38	2.36
	3	1.94	0.06	0.12	0.22	0.06	0.24	0.22	0.03	1.74
	ค่าเฉลี่ย	1.93	0.14	0.50	0.53	0.57	0.50	0.28	0.25	1.97
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	5.87	5.89	4.61	3.95	3.55	3.21	3.66	2.46	2.55
	2	5.82	6.96	5.90	3.80	3.72	3.22	2.51	2.94	2.91
	3	5.76	6.84	5.36	3.66	3.14	3.59	3.21	3.04	2.80
	ค่าเฉลี่ย	5.82	6.57	5.29	3.80	3.47	3.34	3.13	2.81	2.75
พีเอส	1	4.85	4.39	3.87	4.03	4.15	4.24	4.32	4.31	4.22
	2	4.94	4.33	4.08	4.02	4.14	4.25	4.33	4.26	4.28
	3	4.87	4.35	4.11	4.07	4.12	4.28	4.37	4.27	4.25
	ค่าเฉลี่ย	4.89	4.36	4.02	4.04	4.14	4.26	4.34	4.28	4.25

ตารางที่ ง-4 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราผสม *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 หมักที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 3)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.78	4.09	8.92	11.23	13.26	14.16	12.99	12.11	10.64
	2	0.86	4.89	8.00	11.09	12.88	13.68	14.42	14.29	12.60
	3	0.62	4.29	9.00	10.83	12.81	13.62	15.47	13.21	12.17
	ค่าเฉลี่ย	0.75	4.42	8.64	11.05	12.98	13.82	14.29	13.20	11.80
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.94	4.73	7.02	3.86	3.25	1.24	0.93	0.23	0.21
	2	1.92	3.34	6.83	4.50	1.56	1.67	0.83	0.47	0.13
	3	1.98	2.15	5.93	4.88	1.57	1.70	0.98	0.51	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.95	3.41	6.59	4.41	2.13	1.54	0.91	0.40	0.12
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	7.38	6.25	3.49	1.34	0.01	0.42	0.43	0.03	0.02
	2	7.35	5.97	2.85	2.93	0.77	0.54	0.37	0.29	0.01
	3	7.34	5.78	4.73	1.91	0.85	0.57	0.41	0.17	0.02
	ค่าเฉลี่ย	7.36	6.00	3.69	2.06	0.54	0.51	0.40	0.16	0.01
ฟิเอช	1	4.79	3.94	3.70	3.66	3.45	3.35	3.99	3.94	3.94
	2	4.85	3.88	3.70	3.63	3.43	3.32	4.02	4.01	4.03
	3	4.80	3.88	3.70	3.65	3.44	3.36	4.00	3.99	3.95
	ค่าเฉลี่ย	4.81	3.90	3.70	3.65	3.44	3.34	4.00	3.98	3.97

## 2. ผลการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF)

ตารางที่ ง-5 ผลการหมักผงมันเทศโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยก่อนหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง(ชุดควบคุม)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่0	ชั่วโมงที่12	ชั่วโมงที่24	ชั่วโมงที่36	ชั่วโมงที่48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	0.00	0.00	7.42	9.72	11.40	13.55	13.75	13.47
	2	0.00	0.00	1.24	7.76	9.76	10.96	13.57	13.89	13.51
	3	0.00	0.00	1.11	8.18	9.88	11.22	13.11	13.98	12.73
	ค่าเฉลี่ย	0.00	0.00	0.78	7.79	9.79	11.19	13.41	13.88	13.24
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	12.55	41.43	36.23	32.16	29.18	23.71	17.19	10.97	7.86
	2	12.89	41.01	37.75	30.23	32.13	22.55	17.67	11.65	7.84
	3	13.25	41.55	38.90	32.28	32.07	22.62	18.27	12.22	9.20
	ค่าเฉลี่ย	12.90	41.33	37.63	31.56	31.13	22.96	17.71	11.61	8.30
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	9.52	8.29	6.56	6.84	6.01	2.28	1.78	1.15	1.31
	2	9.57	8.47	7.27	6.65	5.24	1.77	1.35	0.67	0.88
	3	10.16	8.57	7.03	6.47	4.99	2.80	1.25	0.53	0.82
	ค่าเฉลี่ย	9.75	8.44	6.95	6.65	5.41	2.28	1.46	0.78	1.00
พีเอช	1	4.87	4.68	4.35	4.09	4.04	4.02	4.00	4.11	4.00
	2	4.84	4.65	4.31	4.06	4.02	4.03	4.00	4.00	4.00
	3	4.86	4.64	4.43	4.05	4.00	4.02	4.00	4.00	4.05
	ค่าเฉลี่ย	4.86	4.66	4.36	4.07	4.02	4.02	4.00	4.04	4.02

ตารางที่ ง-6 ผลการหมักผงมันเทศโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการย่อยก่อนหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะ  
 เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 1)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.60	2.91	4.05	7.03	11.20	11.80	13.11	12.92	12.92
	2	0.57	3.35	4.55	7.47	8.88	11.73	14.02	13.56	12.95
	3	1.15	2.26	4.54	6.90	9.99	12.21	13.46	13.29	13.71
	ค่าเฉลี่ย	0.77	2.84	4.38	7.14	10.02	11.92	13.53	13.26	13.19
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.27	33.90	28.95	16.54	10.84	4.83	2.01	1.21	0.05
	2	1.47	33.70	28.97	18.30	11.85	5.87	1.99	1.44	0.13
	3	1.15	33.47	28.94	20.64	13.36	6.94	1.98	1.11	0.05
	ค่าเฉลี่ย	1.63	33.69	28.95	18.49	12.01	5.88	1.99	1.25	0.08
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	4.98	7.69	5.56	1.92	1.74	1.86	1.12	1.29	0.52
	2	4.79	7.53	4.89	2.01	1.53	3.04	1.13	1.28	0.51
	3	4.97	7.47	5.10	1.98	1.61	2.17	1.08	1.18	0.49
	ค่าเฉลี่ย	4.91	7.56	5.18	1.97	1.63	2.36	1.11	1.25	0.50
พีเอช	1	4.97	4.44	4.23	4.00	2.98	3.27	3.58	3.77	3.86
	2	4.88	4.46	4.28	4.01	3.02	3.26	3.57	3.76	3.83
	3	4.85	4.47	4.29	4.02	2.95	3.26	3.54	3.75	3.83
	ค่าเฉลี่ย	4.90	4.46	4.27	4.01	2.98	3.26	3.56	3.76	3.84

ตารางที่ ง-7 ผลการหมักผงมันเทศโดยใช้เชื้อ *A. oryzae* TISTR 3086 ในการย่อยก่อนหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 2)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	0.00	1.72	2.63	4.76	1.43	6.58	9.20	10.27
	2	0.85	0.75	1.70	2.90	3.62	5.37	6.29	9.01	9.59
	3	0.78	0.36	2.11	2.82	3.08	5.56	5.79	8.99	9.16
	ค่าเฉลี่ย	0.54	0.37	1.84	2.78	3.82	4.12	6.22	9.07	9.67
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.22	1.88	2.16	6.68	3.74	3.11	2.79	1.09	0.01
	2	1.38	1.76	2.64	2.98	2.35	3.78	2.43	1.91	0.01
	3	0.86	1.51	1.35	5.72	4.29	3.62	2.51	1.55	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.48	1.72	2.05	5.13	3.46	3.50	2.58	1.51	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	4.81	14.29	12.28	11.08	5.10	2.71	2.39	2.94	0.16
	2	4.57	14.43	13.81	11.20	5.23	2.05	2.46	0.98	0.14
	3	4.65	15.42	13.70	11.01	5.99	3.03	2.66	1.22	0.15
	ค่าเฉลี่ย	4.68	14.71	13.26	11.10	5.44	2.60	2.50	1.71	0.15
ฟิเอช	1	4.85	4.47	4.33	4.05	3.62	3.66	3.79	4.39	4.72
	2	4.94	4.54	4.34	4.02	3.68	3.71	3.79	4.36	4.78
	3	4.90	4.49	4.28	4.03	3.66	3.69	3.76	4.35	4.73
	ค่าเฉลี่ย	4.90	4.50	4.32	4.03	3.65	3.69	3.78	4.37	4.74

ตารางที่ ง-8 ผลการหมักผงมันเทศโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 ในการย่อยก่อนหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ชุดการทดลองที่ 3)

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่120
ปริมาณเอทานอล	1	0.45	1.18	6.97	10.11	10.72	14.95	12.72	14.64	11.97
	2	0.00	1.90	6.41	10.70	10.93	13.43	15.95	15.16	14.39
	3	1.81	1.77	6.98	10.40	9.68	12.14	14.22	15.30	13.27
	ค่าเฉลี่ย	0.75	1.62	6.79	10.40	10.44	13.51	14.30	15.04	13.21
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.32	17.16	17.58	6.84	7.58	1.27	2.19	0.06	0.36
	2	1.58	20.32	19.06	6.83	2.71	1.75	2.28	0.34	0.38
	3	1.32	20.25	17.03	8.68	3.08	2.35	1.65	0.21	1.32
	ค่าเฉลี่ย	1.74	19.24	17.89	7.45	4.46	1.79	2.04	0.20	0.69
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	5.90	14.32	4.47	3.78	3.17	0.86	0.43	0.57	0.55
	2	5.80	11.37	3.85	3.35	3.03	2.82	0.12	0.67	0.79
	3	5.67	10.99	4.56	4.04	2.70	1.14	0.56	0.68	0.40
	ค่าเฉลี่ย	5.79	12.23	4.29	3.72	2.97	1.61	0.37	0.64	0.58
พีเอช	1	4.89	4.57	4.37	3.84	3.62	4.11	4.40	4.53	4.75
	2	4.94	4.58	4.38	3.87	3.48	4.06	4.35	4.55	4.60
	3	4.96	4.61	4.39	3.83	3.57	4.08	4.47	4.61	4.88
	ค่าเฉลี่ย	4.93	4.59	4.38	3.85	3.56	4.08	4.41	4.56	4.74

### 3. ผลการศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ

ตารางที่ ง-9 ผลการหมักแป้งมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:1 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	4.51	6.36	8.55	12.80	12.53	12.16	10.91	10.29
	2	0.00	4.52	6.53	8.39	10.81	12.90	12.81	11.43	11.36
	3	0.00	3.50	7.12	10.54	10.69	11.63	11.87	10.94	10.19
	ค่าเฉลี่ย	0.00	4.18	6.67	9.16	11.43	12.35	12.28	11.10	10.61
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.49	1.27	5.01	5.34	2.03	0.42	1.18	0.01	0.01
	2	1.57	1.34	4.62	5.47	2.70	1.02	0.68	0.07	0.01
	3	1.56	1.52	5.45	4.76	2.95	1.34	0.62	0.07	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.54	1.37	5.03	5.19	2.56	0.93	0.83	0.05	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	7.51	4.66	0.77	1.07	0.29	0.02	0.13	0.01	0.02
	2	7.50	4.38	1.75	1.13	0.50	0.20	0.25	0.03	0.01
	3	7.48	5.51	1.53	0.89	0.62	0.21	0.25	0.00	0.01
	ค่าเฉลี่ย	7.50	4.85	1.35	1.03	0.47	0.15	0.21	0.01	0.01
ฟิโอส	1	4.87	4.25	3.93	3.55	3.72	3.85	3.92	3.96	3.96
	2	4.98	4.21	3.96	3.53	3.73	3.86	3.88	3.94	3.98
	3	4.76	4.21	3.94	3.55	3.69	3.80	3.87	3.92	3.98
	ค่าเฉลี่ย	4.87	4.22	3.94	3.54	3.71	3.84	3.89	3.94	3.97

ตารางที่ ง-10 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:2 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	4.26	6.27	9.79	12.17	13.13	12.25	10.86	10.35
	2	0.00	3.65	6.86	10.57	12.33	13.11	12.90	12.43	11.50
	3	0.00	3.99	7.24	9.65	11.99	12.76	12.57	10.68	11.53
	ค่าเฉลี่ย	0.00	3.97	6.79	10.00	12.17	13.00	12.57	11.32	11.13
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.26	1.54	7.53	5.93	3.11	0.82	0.44	0.04	0.00
	2	1.22	1.78	7.48	6.02	3.20	0.53	0.43	0.03	0.00
	3	1.19	1.78	7.20	5.61	3.88	0.61	0.45	0.07	0.00
	ค่าเฉลี่ย	1.22	1.70	7.40	5.86	3.40	0.65	0.44	0.05	0.00
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	8.03	4.97	3.44	1.09	0.45	0.02	0.21	0.02	0.01
	2	7.80	6.20	1.87	1.13	0.50	0.04	0.09	0.00	0.00
	3	7.72	5.97	1.96	1.14	0.37	0.20	0.03	0.00	0.00
	ค่าเฉลี่ย	7.85	5.71	2.42	1.12	0.44	0.09	0.11	0.01	0.00
พีเอช	1	4.95	4.32	4.01	3.97	4.22	4.27	4.35	4.33	4.44
	2	4.78	4.28	4.12	4.02	4.21	4.23	4.35	4.35	4.41
	3	4.77	4.28	4.07	4.08	4.21	4.24	4.39	4.30	4.42
	ค่าเฉลี่ย	4.83	4.29	4.07	4.02	4.21	4.25	4.36	4.33	4.42

ตารางที่ ง-11 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:3 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	4.13	8.24	10.94	11.97	12.21	12.94	11.15	10.58
	2	1.22	3.61	7.39	9.88	11.68	12.49	12.09	10.80	10.18
	3	0.59	3.59	7.01	10.38	12.64	13.24	12.73	11.86	11.67
	ค่าเฉลี่ย	0.60	3.78	7.55	10.40	12.10	12.65	12.59	11.27	10.81
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.35	1.02	7.30	5.77	2.82	0.64	0.59	0.12	0.01
	2	1.20	1.68	7.29	6.52	3.64	0.72	0.42	0.03	0.05
	3	1.17	2.35	7.22	6.96	2.75	0.59	0.47	0.17	0.03
	ค่าเฉลี่ย	1.24	1.68	7.27	6.42	3.07	0.65	0.49	0.11	0.03
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	8.77	5.45	2.43	1.02	0.56	0.16	0.17	0.00	0.03
	2	8.50	6.54	2.36	1.19	0.48	0.20	0.02	0.00	0.01
	3	8.44	6.58	1.87	1.58	0.46	0.17	0.02	0.00	0.01
	ค่าเฉลี่ย	8.57	6.19	2.22	1.26	0.50	0.18	0.07	0.00	0.02
พีเอช	1	4.75	4.25	4.35	4.36	4.31	4.37	4.45	4.55	4.64
	2	4.88	4.35	4.32	4.33	4.29	4.40	4.41	4.55	4.54
	3	4.97	4.39	4.31	4.30	4.34	4.36	4.45	4.52	4.62
	ค่าเฉลี่ย	4.87	4.33	4.33	4.33	4.31	4.38	4.44	4.54	4.60

ตารางที่ ง-12 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	3.26	10.96	11.86	13.49	14.34	13.00	11.76	11.68
	2	0.00	2.97	9.25	13.02	14.68	14.41	13.48	12.44	11.69
	3	0.53	4.28	7.89	10.79	13.91	14.22	13.51	12.55	12.40
	ค่าเฉลี่ย	0.18	3.51	9.37	11.89	14.03	14.32	13.33	12.25	11.92
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.29	2.57	6.96	6.75	1.62	0.59	0.48	0.09	0.01
	2	1.07	2.31	7.59	5.52	1.22	0.49	0.10	0.06	0.00
	3	1.01	2.40	8.02	7.46	2.29	0.73	0.38	0.09	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.12	2.43	7.52	6.58	1.71	0.60	0.32	0.08	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	8.90	6.58	2.12	0.90	0.30	0.03	0.23	0.02	0.01
	2	8.58	6.92	2.55	1.06	0.04	0.02	0.12	0.01	0.00
	3	8.52	6.90	2.43	1.14	0.55	0.16	0.02	0.02	0.01
	ค่าเฉลี่ย	8.67	6.80	2.37	1.03	0.29	0.07	0.12	0.02	0.01
พีเอช	1	4.88	4.55	4.41	4.41	4.41	4.33	4.45	4.55	4.66
	2	4.98	4.54	4.46	4.42	4.33	4.35	4.51	4.54	4.64
	3	4.87	4.55	4.39	4.38	4.37	4.36	4.45	4.62	4.63
	ค่าเฉลี่ย	4.91	4.55	4.42	4.40	4.37	4.35	4.47	4.57	4.64

ตารางที่ ง-13 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 2:1 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.54	3.68	5.96	6.66	12.06	11.39	11.67	11.20	10.47
	2	0.44	3.95	6.39	6.45	11.88	12.03	11.20	10.98	11.04
	3	0.00	4.26	5.75	7.77	10.27	12.68	11.75	10.94	11.35
	ค่าเฉลี่ย	0.33	3.96	6.04	6.96	11.40	12.03	11.54	11.04	10.95
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.25	1.21	4.10	8.75	2.19	1.03	0.21	0.01	0.00
	2	1.28	1.21	5.18	9.17	2.77	0.74	0.16	0.01	0.00
	3	1.34	1.31	4.20	8.66	4.05	1.66	0.51	0.02	0.00
	ค่าเฉลี่ย	1.29	1.24	4.49	8.86	3.00	1.14	0.29	0.01	0.00
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	8.84	5.74	0.87	1.05	0.67	0.03	0.29	0.01	0.00
	2	8.80	5.73	1.07	1.29	0.65	0.28	0.18	0.00	0.04
	3	8.72	5.72	0.98	0.90	0.83	0.37	0.21	0.05	0.00
	ค่าเฉลี่ย	8.79	5.73	0.97	1.08	0.72	0.23	0.23	0.02	0.02
พีเอช	1	4.65	4.65	4.55	4.46	4.51	4.39	4.56	4.66	4.77
	2	4.77	4.64	4.59	4.48	4.49	4.44	4.62	4.59	4.75
	3	4.97	4.69	4.59	4.48	4.37	4.46	4.53	4.72	4.76
	ค่าเฉลี่ย	4.80	4.66	4.58	4.47	4.46	4.43	4.57	4.66	4.76

ตารางที่ ง-14 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 3:1 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	1.52	4.95	5.78	8.58	10.79	10.37	9.68	9.98
	2	0.49	1.32	5.02	5.67	9.73	10.59	11.42	10.44	10.84
	3	0.42	1.12	4.79	5.75	8.98	9.58	10.41	9.80	9.33
	ค่าเฉลี่ย	0.30	1.32	4.92	5.74	9.10	10.32	10.73	9.97	10.05
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.74	1.31	2.49	6.21	7.05	1.42	0.79	0.01	0.01
	2	1.76	1.20	2.70	9.27	8.24	1.63	0.69	0.03	0.00
	3	1.83	1.18	2.78	8.08	6.96	2.51	1.52	0.01	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.78	1.23	2.65	7.85	7.42	1.85	1.00	0.02	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	7.72	5.86	0.92	1.61	1.09	0.43	0.35	0.02	0.00
	2	7.66	5.74	0.94	1.24	1.23	0.51	0.27	0.01	0.02
	3	7.62	5.72	0.95	0.79	1.42	0.52	0.33	0.00	0.00
	ค่าเฉลี่ย	7.67	5.77	0.94	1.21	1.25	0.49	0.32	0.01	0.01
พีเอช	1	4.77	4.68	4.57	4.55	4.49	4.45	4.55	4.55	4.62
	2	4.75	4.63	4.51	4.52	4.53	4.47	4.59	4.50	4.64
	3	4.88	4.65	4.59	4.56	4.45	4.42	4.47	4.52	4.62
	ค่าเฉลี่ย	4.80	4.65	4.56	4.54	4.49	4.45	4.54	4.52	4.63

ตารางที่ ง-15 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 4:1 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้จากค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	0.00	5.26	6.11	9.54	11.76	11.76	10.82	10.46
	2	0.41	0.00	4.66	5.95	7.01	9.37	11.24	11.44	9.02
	3	0.45	0.00	6.08	5.96	7.19	8.55	9.19	9.52	11.15
	ค่าเฉลี่ย	0.29	0.00	5.34	6.01	7.91	9.90	10.73	10.59	10.21
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.38	0.89	2.76	3.78	4.92	2.23	0.45	0.00	0.02
	2	1.38	0.68	2.94	3.84	4.81	3.10	1.17	0.05	0.01
	3	1.40	0.85	1.98	3.43	5.56	3.23	2.36	0.04	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.38	0.81	2.56	3.69	5.10	2.85	1.33	0.03	0.02
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	8.27	4.60	1.66	1.14	0.89	0.33	0.11	0.01	0.00
	2	8.26	4.48	0.58	1.42	1.80	0.78	0.45	0.02	0.01
	3	8.24	4.54	0.58	2.91	1.86	0.91	0.52	0.01	0.01
	ค่าเฉลี่ย	8.26	4.54	0.94	1.82	1.52	0.67	0.36	0.01	0.01
พีเอช	1	4.75	4.57	4.55	4.53	4.47	4.47	4.50	4.55	4.54
	2	4.88	4.57	4.58	4.54	4.49	4.43	4.50	4.53	4.47
	3	4.96	4.55	4.56	4.54	4.41	4.39	4.53	4.56	4.54
	ค่าเฉลี่ย	4.86	4.56	4.56	4.54	4.46	4.43	4.51	4.55	4.52

4. ผลการศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

ตารางที่ ง-16 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.35	2.09	4.98	10.97	8.55	7.89	7.78	5.72	5.29
	2	0.42	1.78	5.72	9.10	8.81	9.22	8.92	6.63	5.43
	3	0.00	1.91	5.71	10.57	8.97	9.25	9.70	6.84	5.25
	ค่าเฉลี่ย	0.26	1.93	5.47	10.21	8.78	8.79	8.80	6.40	5.32
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.62	1.71	3.98	2.50	0.40	0.03	0.36	0.00	0.01
	2	0.84	2.02	2.94	3.64	0.23	0.07	0.02	0.02	0.00
	3	1.23	2.15	4.30	2.49	0.99	0.61	0.00	0.00	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.23	1.96	3.74	2.87	0.54	0.24	0.13	0.01	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	7.22	6.45	3.04	1.19	0.21	0.14	0.46	0.29	0.26
	2	6.13	6.31	2.57	0.87	0.25	0.06	0.15	0.24	0.24
	3	6.79	6.34	3.01	0.66	0.09	0.08	0.28	0.08	0.25
	ค่าเฉลี่ย	6.71	6.37	2.88	0.91	0.18	0.09	0.30	0.20	0.25
พีเอช	1	4.98	4.68	4.47	4.39	4.29	4.31	4.38	4.47	4.55
	2	4.77	4.73	4.63	4.36	4.29	4.29	4.37	4.45	4.56
	3	4.78	4.71	4.43	4.31	4.25	4.27	4.42	4.56	4.65
	ค่าเฉลี่ย	4.84	4.71	4.51	4.35	4.28	4.29	4.39	4.49	4.59

ตารางที่ ง-17 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	2.17	6.09	14.45	12.87	13.25	12.14	10.24	9.42
	2	0.00	2.39	6.49	11.52	14.54	13.50	12.92	11.71	9.53
	3	0.98	2.15	6.60	14.34	15.85	16.42	12.48	10.55	9.85
	ค่าเฉลี่ย	0.33	2.24	6.39	13.44	14.42	14.39	12.51	10.83	9.60
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.11	1.77	4.21	2.33	1.05	0.23	0.20	0.10	0.01
	2	2.21	2.30	4.70	2.35	1.01	0.46	0.02	0.01	0.01
	3	1.20	2.34	5.38	2.74	0.99	0.89	0.08	0.03	0.01
	ค่าเฉลี่ย	1.84	2.14	4.76	2.47	1.02	0.53	0.10	0.05	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	9.86	7.87	0.40	1.10	0.47	0.04	0.38	0.32	0.34
	2	9.95	7.98	1.94	1.36	0.29	0.02	0.42	0.42	0.35
	3	8.76	7.93	2.45	1.48	0.09	0.25	0.37	0.46	0.41
	ค่าเฉลี่ย	9.39	7.93	1.59	1.31	0.28	0.10	0.39	0.40	0.37
พีเอช	1	4.85	4.55	4.31	4.36	4.41	4.37	4.45	4.55	4.64
	2	4.78	4.54	4.36	4.38	4.39	4.40	4.41	4.54	4.64
	3	4.87	4.55	4.39	4.38	4.37	4.36	4.45	4.52	4.62
	ค่าเฉลี่ย	4.83	4.55	4.35	4.37	4.39	4.38	4.44	4.54	4.63

ตารางที่ ง-18 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่120
ปริมาณเอทานอล	1	0.41	2.79	7.87	12.02	14.31	15.65	16.12	15.09	12.97
	2	0.00	2.97	8.50	12.58	14.21	15.19	16.48	10.64	13.56
	3	0.00	3.05	8.75	12.98	14.49	16.10	14.73	11.69	11.57
	ค่าเฉลี่ย	0.14	2.94	8.37	12.53	14.34	15.65	15.78	12.47	12.70
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.08	1.66	6.41	4.74	1.35	0.84	0.10	0.04	0.01
	2	3.89	2.12	5.25	4.06	1.50	0.65	0.08	0.03	0.00
	3	2.27	2.22	4.13	5.43	1.91	1.56	1.03	0.30	0.03
	ค่าเฉลี่ย	3.08	2.00	5.26	4.74	1.58	1.01	0.40	0.12	0.01
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	10.30	10.12	2.06	3.82	0.49	0.27	0.13	0.52	0.18
	2	10.09	10.01	1.91	0.58	0.33	0.02	0.08	0.20	0.39
	3	10.97	10.10	1.94	0.08	0.34	0.18	0.00	0.34	0.31
	ค่าเฉลี่ย	10.45	10.08	1.97	1.49	0.39	0.16	0.07	0.36	0.30
พีเอช	1	4.88	4.67	4.43	4.49	4.48	4.43	4.63	4.77	4.89
	2	4.85	4.71	4.43	4.46	4.46	4.49	4.66	4.80	4.89
	3	4.96	4.64	4.46	4.50	4.49	4.47	4.74	4.73	4.83
	ค่าเฉลี่ย	4.90	4.67	4.44	4.48	4.48	4.46	4.68	4.77	4.87

ตารางที่ ง-19 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.58	3.38	10.02	12.43	15.27	16.36	17.54	19.16	15.28
	2	0.00	3.78	9.89	12.17	16.41	15.80	17.06	17.20	15.94
	3	0.48	3.50	10.13	12.43	15.67	16.77	16.80	16.62	15.27
	ค่าเฉลี่ย	0.36	3.55	10.02	12.34	15.78	16.31	17.13	17.66	15.49
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.08	2.00	3.78	5.95	3.30	2.47	1.59	0.33	0.86
	2	3.68	2.48	4.04	5.40	3.58	2.22	1.61	1.20	0.87
	3	4.00	2.51	3.13	7.32	3.27	2.61	1.54	1.04	0.20
	ค่าเฉลี่ย	3.59	2.33	3.65	6.22	3.38	2.43	1.58	0.86	0.65
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	12.97	12.72	1.80	0.00	0.34	0.17	0.02	0.02	0.46
	2	10.19	12.55	1.68	0.01	0.33	0.19	0.08	0.29	0.03
	3	13.84	12.55	2.18	0.00	0.35	0.18	0.07	0.06	0.06
	ค่าเฉลี่ย	12.33	12.61	1.88	0.00	0.34	0.18	0.06	0.12	0.18
พีเอช	1	4.98	4.65	4.42	4.44	4.47	4.53	4.63	4.70	4.71
	2	4.83	4.57	4.50	4.51	4.48	4.60	4.66	4.69	4.76
	3	4.93	4.63	4.43	4.46	4.45	4.55	4.65	4.68	4.73
	ค่าเฉลี่ย	4.91	4.62	4.45	4.47	4.47	4.56	4.65	4.69	4.73

5. ผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

ตารางที่ ง-20 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 (ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน) หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	3.72	9.09	12.15	14.05	17.26	16.06	14.75	15.00
	2	0.00	3.73	8.84	13.08	15.11	16.55	16.43	15.59	13.81
	3	0.00	4.22	9.15	13.70	15.09	16.58	16.21	15.43	13.59
	ค่าเฉลี่ย	0.00	3.89	9.03	12.98	14.75	16.79	16.23	15.26	14.13
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.20	2.54	7.85	3.13	1.72	0.92	0.43	0.10	0.11
	2	2.38	1.40	6.91	3.19	1.87	0.99	0.06	0.36	0.03
	3	2.65	1.95	7.23	3.34	1.74	0.99	0.21	0.14	0.10
	ค่าเฉลี่ย	2.41	1.97	7.33	3.22	1.78	0.97	0.23	0.20	0.08
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	12.07	8.21	2.58	2.06	0.28	0.09	0.59	0.52	0.03
	2	11.93	7.61	3.13	1.98	0.30	0.61	0.10	0.56	0.12
	3	11.93	7.66	3.17	2.01	0.99	0.61	0.57	0.53	0.16
	ค่าเฉลี่ย	11.98	7.82	2.96	2.02	0.52	0.44	0.42	0.54	0.10
พีเอช	1	4.88	4.55	4.63	4.39	4.45	4.41	4.48	4.67	4.78
	2	4.78	4.73	4.63	4.47	4.39	4.39	4.41	4.45	4.84
	3	4.88	4.70	4.69	4.44	4.45	4.32	4.42	4.66	4.85
	ค่าเฉลี่ย	4.85	4.66	4.65	4.43	4.43	4.37	4.44	4.59	4.82

ตารางที่ ง-21 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 เต็มยีสต์สกัด ร้อยละ 0.2 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	7.14	7.36	8.39	11.01	15.37	14.98	15.57	14.87
	2	0.00	5.75	8.09	8.22	11.87	13.85	14.53	15.67	15.50
	3	0.00	5.92	7.77	8.38	10.91	14.76	15.52	14.90	14.85
	ค่าเฉลี่ย	0.00	6.27	7.74	8.33	11.26	14.66	15.01	15.38	15.08
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.45	1.40	4.80	5.50	3.00	2.28	0.25	0.00	0.02
	2	2.47	1.01	5.50	4.80	3.18	2.07	0.30	0.00	0.09
	3	2.84	1.32	5.52	6.25	3.31	2.40	0.77	0.02	0.02
	ค่าเฉลี่ย	2.59	1.24	5.27	5.52	3.16	2.25	0.44	0.01	0.04
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	13.16	2.89	1.49	0.12	1.55	0.02	0.41	0.27	0.04
	2	13.08	2.91	1.79	0.13	0.79	0.03	0.40	0.26	0.23
	3	13.13	2.85	1.77	0.13	1.61	0.03	0.39	0.36	0.17
	ค่าเฉลี่ย	13.13	2.88	1.68	0.13	1.31	0.03	0.40	0.30	0.15
พีเอช	1	4.89	4.50	4.15	4.34	4.41	4.41	4.57	4.54	4.74
	2	4.78	4.50	4.18	4.39	4.42	4.43	4.51	4.58	4.74
	3	4.98	4.55	4.19	4.35	4.45	4.50	4.55	4.52	4.82
	ค่าเฉลี่ย	4.88	4.52	4.17	4.36	4.43	4.45	4.54	4.55	4.77

ตารางที่ ง-22 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 เติมน้ำมันเนียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.2 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.35	7.60	7.31	7.84	6.76	6.45	6.41	5.32	5.14
	2	0.32	7.67	7.35	7.46	7.01	6.12	5.90	5.52	5.37
	3	0.34	7.71	9.99	7.42	7.73	6.00	6.94	5.96	6.08
	ค่าเฉลี่ย	0.33	7.66	8.22	7.58	7.17	6.19	6.42	5.60	5.53
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	1.93	0.75	2.46	2.16	1.30	0.49	0.77	0.91	0.88
	2	2.12	0.50	3.00	2.12	1.44	0.34	1.10	1.17	1.25
	3	2.41	0.66	2.72	2.09	1.54	0.81	1.31	1.07	1.15
	ค่าเฉลี่ย	2.16	0.64	2.73	2.13	1.43	0.55	1.06	1.05	1.09
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	12.16	1.13	0.78	0.01	0.61	0.10	1.23	0.90	0.95
	2	12.15	0.89	0.79	0.05	0.72	0.04	1.20	1.09	1.05
	3	12.12	0.87	0.74	0.02	0.76	0.14	1.22	1.07	1.02
	ค่าเฉลี่ย	12.14	0.96	0.77	0.02	0.70	0.09	1.22	1.02	1.01
พีเอช	1	4.88	4.07	4.09	4.19	4.23	4.34	4.39	4.40	4.47
	2	4.75	4.07	4.04	4.22	4.24	4.35	4.36	4.42	4.45
	3	4.99	4.06	4.06	4.17	4.32	4.32	4.36	4.43	4.43
	ค่าเฉลี่ย	4.87	4.07	4.06	4.19	4.26	4.34	4.37	4.42	4.45

ตารางที่ ง-23 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.2 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.33	7.95	7.05	6.86	7.69	8.13	7.05	6.30	6.77
	2	0.00	7.94	8.28	7.68	7.24	8.22	6.08	6.19	7.79
	3	0.00	7.95	7.95	7.76	7.01	8.20	7.25	7.93	8.02
	ค่าเฉลี่ย	0.11	7.94	7.76	7.44	7.31	8.18	6.79	6.80	7.53
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	2.86	0.14	1.03	1.09	1.14	0.82	1.01	0.32	0.63
	2	3.04	0.48	1.64	0.92	1.08	0.81	0.73	0.27	0.75
	3	2.96	0.75	1.67	1.14	1.19	0.85	0.90	0.21	0.86
	ค่าเฉลี่ย	2.95	0.46	1.45	1.05	1.14	0.83	0.88	0.26	0.74
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	14.37	0.10	0.43	0.44	0.78	0.09	0.69	0.71	0.25
	2	14.30	0.59	0.68	0.39	0.74	0.04	0.52	0.71	0.35
	3	13.95	0.48	0.41	0.44	0.78	0.04	0.64	0.73	0.38
	ค่าเฉลี่ย	14.21	0.39	0.51	0.42	0.76	0.06	0.62	0.72	0.32
พีเอช	1	4.78	4.55	4.49	4.46	4.52	4.49	4.59	4.69	4.71
	2	4.83	4.50	4.52	4.33	4.51	4.63	4.60	4.72	4.66
	3	4.90	4.53	4.39	4.46	4.51	4.53	4.55	4.58	4.73
	ค่าเฉลี่ย	4.84	4.53	4.47	4.42	4.51	4.55	4.58	4.66	4.70

6. ผลการศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

ตารางที่ ง-24 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้น 4 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	4.98	7.66	7.65	9.52	8.75	9.76	9.62	8.77
	2	0.00	5.01	7.67	9.16	8.43	8.80	8.44	10.69	11.65
	3	0.59	4.87	7.66	8.64	8.28	8.77	9.13	10.98	10.70
	ค่าเฉลี่ย	0.20	4.95	7.66	8.48	8.74	8.77	9.11	10.43	10.37
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.58	1.11	0.14	0.83	0.46	1.91	1.41	2.32	1.53
	2	3.71	1.15	0.27	0.86	0.66	1.67	1.82	2.34	1.70
	3	3.55	1.10	0.34	0.90	0.93	1.49	2.35	1.94	1.22
	ค่าเฉลี่ย	3.61	1.12	0.25	0.86	0.69	1.69	1.86	2.20	1.48
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	14.00	6.40	1.07	0.87	0.29	0.32	0.51	0.28	0.78
	2	14.03	6.39	1.69	0.88	0.25	0.26	0.63	0.22	0.42
	3	13.94	6.32	1.04	0.86	0.28	0.26	0.13	0.76	0.07
	ค่าเฉลี่ย	13.99	6.37	1.27	0.87	0.27	0.28	0.42	0.42	0.42
พีเอช	1	3.99	3.95	4.04	4.12	4.22	4.45	4.52	4.55	4.65
	2	3.86	4.03	4.03	4.12	4.28	4.18	4.58	4.61	4.65
	3	3.94	3.82	4.04	4.12	4.23	4.31	4.59	4.64	4.66
	ค่าเฉลี่ย	3.93	3.93	4.04	4.12	4.24	4.31	4.56	4.60	4.65

ตารางที่ ง-24 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้น 5 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.00	7.76	10.79	11.42	11.34	12.63	13.29	13.31	10.26
	2	0.00	8.25	10.62	11.21	14.23	14.91	15.76	13.82	13.23
	3	0.00	7.97	10.91	11.56	15.36	14.86	15.51	13.42	12.96
	ค่าเฉลี่ย	0.00	7.99	10.77	11.40	13.64	14.13	14.85	13.52	12.15
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.25	1.97	6.46	2.93	1.41	0.17	1.73	0.70	0.07
	2	3.26	2.67	7.01	2.51	1.27	0.37	1.02	0.03	0.03
	3	3.38	2.51	6.95	2.31	0.92	0.34	0.49	0.34	0.07
	ค่าเฉลี่ย	3.30	2.38	6.81	2.59	1.20	0.29	1.08	0.36	0.06
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	14.53	0.66	1.95	2.84	0.36	0.75	1.25	0.75	1.47
	2	14.45	0.97	1.95	1.39	1.16	0.64	1.15	0.48	1.21
	3	14.41	1.43	1.12	1.23	0.38	0.82	1.18	0.97	1.10
	ค่าเฉลี่ย	14.46	1.02	1.67	1.82	0.64	0.74	1.19	0.73	1.26
พีเอช	1	4.89	4.70	4.63	4.70	4.55	4.51	4.68	4.73	4.74
	2	4.78	4.70	4.68	4.69	4.59	4.52	4.71	4.73	4.83
	3	4.98	4.70	4.69	4.65	4.65	4.52	4.72	4.74	4.85
	ค่าเฉลี่ย	4.88	4.70	4.67	4.68	4.60	4.52	4.70	4.73	4.81

ตารางที่ ง-24 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้น 6 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.37	10.68	15.16	17.06	17.23	18.34	16.45	14.20	13.95
	2	0.56	11.35	15.42	17.59	17.63	17.63	16.65	13.97	14.21
	3	0.50	11.95	15.05	17.85	17.76	17.76	17.52	14.16	14.08
	ค่าเฉลี่ย	0.48	11.32	15.21	17.50	17.54	17.91	16.87	14.11	14.08
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.24	2.66	6.08	8.73	4.89	3.20	1.58	2.45	0.52
	2	3.38	3.88	6.44	7.58	4.07	2.85	1.89	0.66	0.37
	3	3.37	4.06	4.70	8.88	4.66	3.07	1.69	0.54	0.11
	ค่าเฉลี่ย	3.33	3.53	5.74	8.40	4.54	3.04	1.72	1.22	0.34
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	13.67	0.34	0.95	1.03	1.11	0.07	0.99	0.98	1.15
	2	13.48	0.74	0.89	1.14	1.17	0.39	0.74	1.04	1.20
	3	13.36	0.70	0.44	1.08	0.38	0.36	1.14	0.93	0.95
	ค่าเฉลี่ย	13.50	0.59	0.76	1.08	0.89	0.28	0.96	0.98	1.10
พีเอช	1	5.78	4.57	4.69	4.69	4.63	4.74	4.73	4.80	4.83
	2	5.77	4.66	4.70	4.70	4.66	4.75	4.86	4.82	4.82
	3	5.79	4.66	4.16	4.69	4.53	4.75	4.84	4.93	4.83
	ค่าเฉลี่ย	5.78	4.63	4.52	4.69	4.61	4.75	4.81	4.85	4.83

ตารางที่ ง-24 ผลการหมักสารละลายแป้งมันเทศความเข้มข้นร้อยละ 8 ปรับพีเอชเริ่มต้น 7 หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:4 หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

การวิเคราะห์	ซ้ำที่	ปริมาณสารต่างๆที่ได้ (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
ปริมาณเอทานอล	1	0.43	8.65	9.04	14.17	14.64	15.22	16.60	13.32	13.13
	2	0.65	9.09	10.90	14.42	14.39	15.39	14.45	12.37	12.50
	3	1.15	8.78	11.04	13.53	15.40	16.20	16.42	14.53	14.66
	ค่าเฉลี่ย	0.74	8.84	10.33	14.04	14.81	15.60	15.82	13.41	13.43
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	1	3.24	1.61	4.06	2.95	2.96	0.24	0.62	0.35	0.35
	2	3.20	2.75	3.93	3.22	3.11	1.27	0.46	0.35	0.13
	3	3.02	3.02	3.56	3.25	3.07	1.37	0.71	0.31	0.12
	ค่าเฉลี่ย	3.15	2.46	3.85	3.14	3.05	0.96	0.60	0.34	0.20
ปริมาณน้ำตาลมอลโทส	1	14.32	0.80	1.48	1.06	0.96	0.11	1.03	0.32	0.94
	2	14.11	0.66	0.55	0.91	0.97	0.17	1.05	0.72	0.90
	3	14.17	0.76	2.43	0.83	1.02	0.01	1.22	0.91	1.07
	ค่าเฉลี่ย	14.20	0.74	1.49	0.93	0.98	0.10	1.10	0.65	0.97
พีเอช	1	6.78	4.85	4.79	4.80	4.74	4.59	4.73	4.79	4.91
	2	6.73	4.99	4.79	4.80	4.77	4.53	4.72	4.79	4.86
	3	6.86	5.02	4.79	4.80	4.65	4.53	4.77	4.79	4.83
	ค่าเฉลี่ย	6.79	4.95	4.79	4.80	4.72	4.55	4.74	4.79	4.87

7. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยกระบวนการย่อยพร้อมกับการหมัก (Simultaneous Saccharification and Fermentation หรือ SSF)

ตารางที่ ง-25 ผลการหมักผงมันเทศด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยใช้เอนไซม์ในการย่อย หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอลที่ได้จากค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน (กรัมต่อลิตร)								
		ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 36	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 60	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120
เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088	1	0.00	5.12	8.91	10.99	11.88	12.59	12.31	13.70	13.19
	2	0.00	5.08	8.60	10.76	11.72	12.90	13.29	13.28	14.27
	3	0.00	5.84	9.15	11.07	12.17	12.56	12.48	13.91	12.96
	ค่าเฉลี่ย	0.00	5.35	8.89	10.94	11.92	12.68	12.69	13.63	13.47
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182	1	0.00	3.30	7.69	9.63	12.10	12.72	11.92	10.19	8.97
	2	0.00	3.60	6.51	8.62	11.01	12.19	12.19	10.23	9.11
	3	0.31	3.38	7.39	9.28	11.14	11.07	11.07	9.89	8.06
	ค่าเฉลี่ย	0.10	3.42	7.20	9.18	11.42	11.99	11.73	10.10	8.72
<i>S. cerevisiae</i> TISTR 5088 ร่วมกับ <i>A. rouxii</i> TISTR 3182 ปรับสภาวะที่เหมาะสมแล้ว	1	0.37	10.68	15.16	17.06	17.23	18.34	16.45	14.20	13.95
	2	0.56	11.35	15.42	17.59	17.63	17.63	16.65	13.97	14.21
	3	0.50	11.95	15.05	17.85	17.76	17.76	17.52	14.16	14.08
	ค่าเฉลี่ย	0.48	11.32	15.21	17.50	17.54	17.91	16.87	14.11	14.08

## ภาคผนวก จ

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

#### 1. กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)

1.1 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 (ชุดควบคุม)

##### 1.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทางสถิติ

#### Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					000h	3		
012h	3	6.0096	.15060	.08695	5.6354	6.3837	5.84	6.12
024h	3	9.7494	1.38591	.80016	6.3066	13.1922	8.15	10.60
036h	3	12.7055	1.41375	.81623	9.1936	16.2175	11.17	13.96
048h	3	13.2473	.96594	.55769	10.8478	15.6468	12.37	14.28
060h	3	13.5951	1.01556	.58633	11.0724	16.1179	12.56	14.59
072h	3	14.3861	.90341	.52158	12.1419	16.6303	13.48	15.29
096h	3	14.8963	.60675	.35031	13.3891	16.4036	14.28	15.50
120h	3	14.2914	1.80695	1.04325	9.8027	18.7801	12.50	16.11
Total	27	10.9868	4.88182	.93951	9.0556	12.9179	.00	16.11

#### ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	598.924	8	74.866	65.063	.000
Within Groups	20.712	18	1.151		
Total	619.636	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

strain	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
000h	3	.0000				
012h	3		6.0096			
024h	3			9.7494		
036h	3				12.7055	
048h	3				13.2473	13.2473
060h	3				13.5951	13.5951
120h	3				14.2914	14.2914
072h	3				14.3861	14.3861
096h	3					14.8963
Sig.		1.000	1.000	1.000	.100	.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.1.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					000h	3		
012h	3	16.6780	.67078	.38728	15.0117	18.3443	16.05	17.38
024h	3	12.8936	2.34663	1.35483	7.0642	18.7230	11.32	15.59
036h	3	10.6475	2.07184	1.19618	5.5007	15.7942	8.72	12.84
048h	3	9.2489	.61994	.35792	7.7089	10.7889	8.75	9.94
060h	3	5.8824	2.10737	1.21669	.6474	11.1174	4.16	8.23
072h	3	5.3871	1.28717	.74315	2.1896	8.5846	4.03	6.60
096h	3	1.8599	.93713	.54105	-.4681	4.1878	1.20	2.93
120h	3	1.9697	.34130	.19705	1.1219	2.8175	1.74	2.36
Total	27	9.3040	6.02361	1.15924	6.9211	11.6868	1.20	19.26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	907.914	8	113.489	57.598	.000
Within Groups	35.467	18	1.970		
Total	943.381	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
096h	3	1.8599					
120h	3	1.9697					
072h	3		5.3871				
060h	3		5.8824				
048h	3			9.2489			
036h	3			10.6475	10.6475		
024h	3				12.8936		
012h	3					16.6780	
000h	3						19.1687
Sig.		.925	.671	.238	.066	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.1.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	7.8555	.08967	.05177	7.6327	8.0782	7.77	7.95
012h	3	7.0938	.21607	.12475	6.5570	7.6305	6.90	7.33
024h	3	3.6152	.41778	.24121	2.5774	4.6530	3.14	3.94
036h	3	.5282	.40217	.23219	-.4709	1.5272	.28	.99
048h	3	.0534	.04360	.02517	-.0549	.1618	.00	.08
060h	3	.0985	.06709	.03873	-.0682	.2651	.06	.18
072h	3	.3620	.11905	.06874	.0662	.6577	.23	.47
096h	3	.4470	.38781	.22390	-.5164	1.4103	.14	.88
120h	3	.4491	.21292	.12293	-.0798	.9780	.20	.59
Total	27	2.2781	3.03104	.58332	1.0790	3.4771	.00	7.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	237.653	8	29.707	440.231	.000
Within Groups	1.215	18	.067		
Total	238.868	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
048h	3	.0534			
060h	3	.0985			
072h	3	.3620			
096h	3	.4470			
120h	3	.4491			
036h	3	.5282			
024h	3		3.6152		
012h	3			7.0938	
000h	3				7.8555
Sig.		.061	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 (ชุดการทดลองที่ 1)

1.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทางสถิติ

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.8258	.21482	.12403	.2922	1.3595	.58	.99
012h	3	5.1969	.29282	.16906	4.4695	5.9243	4.89	5.48
024h	3	9.1208	.91958	.53092	6.8365	11.4052	8.11	9.91
036h	3	12.6845	1.51376	.87397	8.9241	16.4449	10.94	13.69
048h	3	13.8233	1.23274	.71172	10.7610	16.8856	12.63	15.09
060h	3	14.3598	.18854	.10885	13.8914	14.8282	14.19	14.56
072h	3	14.2809	.23286	.13444	13.7025	14.8593	14.13	14.55
096h	3	12.4031	.12147	.07013	12.1013	12.7048	12.30	12.54
120h	3	11.8140	.91229	.52671	9.5477	14.0802	10.76	12.39
Total	27	10.5010	4.52926	.87166	8.7093	12.2927	.58	15.09

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	521.918	8	65.240	102.553	.000
Within Groups	11.451	18	.636		
Total	533.369	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
000h	3	.8258					
012h	3		5.1969				
024h	3			9.1208			
120h	3				11.8140		
096h	3				12.4031	12.4031	
036h	3				12.6845	12.6845	
048h	3					13.8233	13.8233
072h	3						14.2809
060h	3						14.3598
Sig.		1.000	1.000	1.000	.221	.052	.446

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.2.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.9653	.03204	.01850	1.8857	2.0449	1.93	1.99
012h	3	3.5734	.59399	.34294	2.0978	5.0489	2.90	4.02
024h	3	7.5079	.48818	.28185	6.2952	8.7207	7.21	8.07
036h	3	5.0437	1.10928	.64044	2.2881	7.7993	3.76	5.73
048h	3	1.3764	.24533	.14164	.7669	1.9858	1.11	1.60
060h	3	1.3750	.22606	.13052	.8135	1.9366	1.19	1.63
072h	3	1.3430	.11086	.06401	1.0676	1.6184	1.22	1.41
096h	3	.6732	.26962	.15566	.0034	1.3429	.52	.98
120h	3	.2052	.06787	.03919	.0365	.3738	.13	.27
Total	27	2.5626	2.32310	.44708	1.6436	3.4815	.13	8.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	136.269	8	17.034	75.759	.000
Within Groups	4.047	18	.225		
Total	140.316	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
120h	3	.2052					
096h	3	.6732	.6732				
072h	3		1.3430	1.3430			
060h	3		1.3750	1.3750			
048h	3		1.3764	1.3764			
000h	3			1.9653			
012h	3				3.5734		
036h	3					5.0437	
024h	3						7.5079
Sig.		.242	.111	.156	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 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	5.8821	.42381	.24469	4.8293	6.9349	5.40	6.17
012h	3	5.2838	.07259	.04191	5.1035	5.4641	5.21	5.35
024h	3	1.4604	.47171	.27234	.2886	2.6322	1.13	2.00
036h	3	1.4897	.13174	.07606	1.1624	1.8170	1.41	1.64
048h	3	1.4320	.10108	.05836	1.1809	1.6831	1.32	1.52
060h	3	1.4074	.15893	.09176	1.0126	1.8022	1.23	1.52
072h	3	.5888	.61146	.35303	-.9302	2.1077	.12	1.28
096h	3	.5874	.51035	.29465	-.6804	1.8551	.00	.92
120h	3	.2437	.18882	.10902	-.2254	.7128	.10	.46
Total	27	2.0417	2.00640	.38613	1.2480	2.8354	.00	6.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	102.406	8	12.801	101.933	.000
Within Groups	2.260	18	.126		
Total	104.667	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
120h	3	.2437		
096h	3	.5874		
072h	3	.5888		
060h	3		1.4074	
048h	3		1.4320	
024h	3		1.4604	
036h	3		1.4897	
012h	3			5.2838
000h	3			5.8821
Sig.		.274	.797	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 (ชุดการทดลองที่ 2)

1.3.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.3755	.35394	.20435	.4963	2.2547	.97	1.63
012h	3	3.2954	1.71192	.98838	-.9572	7.5480	1.35	4.57
024h	3	3.7241	.48873	.28217	2.5100	4.9382	3.16	4.06
036h	3	7.2272	1.57302	.90818	3.3196	11.1348	5.46	8.47
048h	3	4.3842	.65906	.38051	2.7470	6.0214	3.64	4.88
060h	3	4.0791	.39827	.22994	3.0898	5.0685	3.65	4.44
072h	3	3.6373	.82416	.47583	1.5900	5.6846	2.73	4.34
096h	3	2.7142	.39772	.22962	1.7262	3.7022	2.28	3.06
120h	3	1.5885	.43455	.25089	.5090	2.6680	1.17	2.04
Total	27	3.5584	1.82294	.35082	2.8373	4.2795	.97	8.47

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี หากมีการนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี จะถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71.624	8	8.953	10.906	.000
Within Groups	14.777	18	.821		
Total	86.401	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
000h	3	1.3755		
120h	3	1.5885		
096h	3	2.7142	2.7142	
012h	3		3.2954	
072h	3		3.6373	
024h	3		3.7241	
060h	3		4.0791	
048h	3		4.3842	
036h	3			7.2272
Sig.		.103	.059	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.9259	.02518	.01453	1.8634	1.9885	1.90	1.94
012h	3	.1401	.09116	.05263	-.0864	.3665	.06	.24
024h	3	.4980	.64825	.37427	-1.1124	2.1083	.12	1.25
036h	3	.5263	.55208	.31874	-.8451	1.8978	.20	1.16
048h	3	.5740	.81193	.46877	-1.4430	2.5909	.06	1.51
060h	3	.5041	.31586	.18236	-.2805	1.2887	.24	.85
072h	3	.2796	.07627	.04403	.0901	.4690	.22	.37
096h	3	.2489	.18989	.10964	-.2228	.7206	.03	.38
120h	3	.2098	.07256	.04190	.0296	.3901	.16	.29
Total	27	.5452	.62387	.12006	.2984	.7920	.03	1.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.040	8	.880	5.142	.002
Within Groups	3.080	18	.171		
Total	10.120	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
012h	3	.1401	
120h	3	.2098	
096h	3	.2489	
072h	3	.2796	
024h	3	.4980	
060h	3	.5041	
036h	3	.5263	
048h	3	.5740	
000h	3		1.9259
Sig.		.273	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	5.8194	.05487	.03168	5.6831	5.9557	5.76	5.87
012h	3	6.5663	.58804	.33950	5.1056	8.0271	5.89	6.96
024h	3	5.2884	.65100	.37586	3.6712	6.9056	4.61	5.90
036h	3	3.8037	.14812	.08552	3.4357	4.1717	3.66	3.95
048h	3	3.4710	.30139	.17401	2.7223	4.2197	3.14	3.72
060h	3	3.3402	.21979	.12690	2.7942	3.8862	3.21	3.59
072h	3	3.1267	.58112	.33551	1.6831	4.5703	2.51	3.66
096h	3	2.8130	.30961	.17876	2.0438	3.5821	2.46	3.04
120h	3	2.7544	.18551	.10711	2.2936	3.2152	2.55	2.91
Total	27	4.1092	1.39477	.26842	3.5575	4.6610	2.46	6.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.777	8	5.972	38.346	.000
Within Groups	2.803	18	.156		
Total	50.580	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
120h	3	2.7544			
096h	3	2.8130			
072h	3	3.1267	3.1267		
060h	3	3.3402	3.3402		
048h	3	3.4710	3.4710		
036h	3		3.8037		
024h	3			5.2884	
000h	3			5.8194	
012h	3				6.5663
Sig.		.059	.068	.117	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.4 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 (ชุดการทดลองที่ 3)

1.4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.7548	.12052	.06958	.4554	1.0542	.62	.86
012h	3	4.4237	.41819	.24144	3.3848	5.4625	4.09	4.89
024h	3	8.6422	.55714	.32167	7.2582	10.0262	8.00	9.00
036h	3	11.0460	.20408	.11782	10.5390	11.5530	10.83	11.23
048h	3	12.9817	.23897	.13797	12.3880	13.5753	12.81	13.26
060h	3	13.8207	.29777	.17192	13.0809	14.5604	13.62	14.16
072h	3	14.2941	1.24768	.72035	11.1946	17.3935	12.99	15.47
096h	3	13.2026	1.08883	.62864	10.4978	15.9074	12.11	14.29
120h	3	11.8034	1.03347	.59667	9.2362	14.3707	10.64	12.60
Total	27	10.1077	4.52986	.87177	8.3157	11.8996	.62	15.47

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.515	8	65.564	131.200	.000
Within Groups	8.995	18	.500		
Total	533.510	26			

## Ethanol

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
000h	3	.7548						
012h	3		4.4237					
024h	3			8.6422				
036h	3				11.0460			
120h	3				11.8034	11.8034		
048h	3					12.9817	12.9817	
096h	3						13.2026	13.2026
060h	3						13.8207	13.8207
072h	3							14.2941
Sig.		1.000	1.000	1.000	.206	.056	.185	.089

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.9477	.02842	.01641	1.8771	2.0183	1.92	1.98
012h	3	3.4059	1.28984	.74469	.2017	6.6100	2.15	4.73
024h	3	6.5947	.58197	.33600	5.1490	8.0404	5.93	7.02
036h	3	4.4107	.51752	.29879	3.1251	5.6963	3.86	4.88
048h	3	2.1274	.97366	.56214	-.2913	4.5461	1.56	3.25
060h	3	1.5396	.25614	.14788	.9033	2.1759	1.24	1.70
072h	3	.9131	.07727	.04461	.7212	1.1051	.83	.98
096h	3	.4030	.15047	.08688	.0292	.7768	.23	.51
120h	3	.1169	.10463	.06041	-.1430	.3768	.01	.21
Total	27	2.3843	2.07443	.39922	1.5637	3.2049	.01	7.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105.236	8	13.155	35.615	.000
Within Groups	6.648	18	.369		
Total	111.885	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

time	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120h	3	.1169				
096h	3	.4030				
072h	3	.9131	.9131			
060h	3		1.5396	1.5396		
000h	3		1.9477	1.9477		
048h	3			2.1274		
012h	3				3.4059	
036h	3				4.4107	
024h	3					6.5947
Sig.		.145	.063	.277	.058	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

## maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	6.0010	.23372	.13494	5.4205	6.5816	5.78	6.25
012h	3	7.3597	.02296	.01325	7.3027	7.4167	7.34	7.38
024h	3	3.6894	.95730	.55270	1.3114	6.0675	2.85	4.73
036h	3	2.0598	.80588	.46527	.0579	4.0617	1.34	2.93
048h	3	.5426	.46215	.26682	-.6054	1.6906	.01	.85
060h	3	.5093	.08029	.04635	.3099	.7087	.42	.57
072h	3	.4045	.02903	.01676	.3324	.4766	.37	.43
096h	3	.1626	.12636	.07295	-.1513	.4765	.03	.29
120h	3	.0146	.00767	.00443	-.0044	.0337	.01	.02
Total	27	2.3048	2.67907	.51559	1.2450	3.3647	.01	7.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182.897	8	22.862	110.747	.000
Within Groups	3.716	18	.206		
Total	186.612	26			

## maltose

time	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
120h	3	.0146				
096h	3	.1626				
072h	3	.4045				
060h	3	.5093				
048h	3	.5426				
036h	3		2.0598			
024h	3			3.6894		
000h	3				6.0010	
012h	3					7.3597
Sig.		.216	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. กระบวนการย่อยแยกจากกระบวนการหมัก (SHF)

2.1 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 (ชุดควบคุม)

2.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทางสถิติ

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
012h	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
024h	3	.7837	.68167	.39356	-.9096	2.4771	.00	1.24
036h	3	7.7874	.37970	.21922	6.8442	8.7307	7.42	8.18
048h	3	9.7874	.08333	.04811	9.5804	9.9944	9.72	9.88
060h	3	11.1913	.22225	.12831	10.6392	11.7434	10.96	11.40
072h	3	13.4107	.25977	.14998	12.7654	14.0560	13.11	13.57
096h	3	13.8764	.11594	.06694	13.5884	14.1644	13.75	13.98
120h	3	13.2372	.43621	.25185	12.1536	14.3208	12.73	13.51
Total	27	7.7860	5.73399	1.10351	5.5177	10.0543	.00	13.98

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	852.972	8	106.622	1024.784	.000
Within Groups	1.873	18	.104		
Total	854.845	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
000h	3	.0000						
024h	3	.0000						
048h	3		.7837					
060h	3			7.7874				
072h	3				9.7874			
084h	3					11.1913		
120h	3						13.2372	
096h	3						13.4107	13.4107
108h	3							13.8764
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.518	.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.1.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

## glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	12.8964	.34977	.20194	12.0275	13.7653	12.55	13.25
012h	3	37.6280	1.34112	.77429	34.2965	40.9596	36.23	38.90
024h	3	41.3307	.28269	.16321	40.6285	42.0330	41.01	41.55
036h	3	31.5565	1.15239	.66533	28.6938	34.4192	30.23	32.28
048h	3	31.1256	1.68208	.97115	26.9471	35.3041	29.18	32.13
060h	3	22.9591	.65121	.37598	21.3414	24.5768	22.55	23.71
072h	3	17.7099	.53919	.31130	16.3704	19.0493	17.19	18.27
096h	3	11.6108	.62869	.36298	10.0490	13.1726	10.97	12.22
120h	3	8.3008	.78165	.45129	6.3591	10.2425	7.84	9.20
Total	27	23.9020	11.58422	2.22938	19.3194	28.4845	7.84	41.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3473.288	8	434.161	495.914	.000
Within Groups	15.759	18	.875		
Total	3489.047	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
120h	3	8.3008						
108h	3		11.6108					
000h	3		12.8964					
096h	3			17.7099				
084h	3				22.9591			
072h	3					31.1256		
060h	3					31.5565		
024h	3						37.6280	
048h	3							41.3307
Sig.		1.000	.110	1.000	1.000	.580	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.1.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	9.7498	.35989	.20778	8.8558	10.6438	9.52	10.16
012h	3	8.4439	.14290	.08250	8.0889	8.7989	8.29	8.57
024h	3	6.9518	.36025	.20799	6.0569	7.8467	6.56	7.27
036h	3	6.6535	.18228	.10524	6.2006	7.1063	6.47	6.84
048h	3	5.4130	.53115	.30666	4.0936	6.7325	4.99	6.01
060h	3	2.2849	.51506	.29737	1.0054	3.5644	1.77	2.80
072h	3	1.4586	.27865	.16088	.7664	2.1508	1.25	1.78
096h	3	.7820	.32470	.18747	-.0246	1.5886	.53	1.15
120h	3	1.0035	.27058	.15622	.3313	1.6756	.82	1.31
Total	27	4.7490	3.31064	.63713	3.4394	6.0586	.53	10.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	282.735	8	35.342	284.852	.000
Within Groups	2.233	18	.124		
Total	284.969	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
108h	3	.7820						
120h	3	1.0035	1.0035					
096h	3		1.4586					
084h	3			2.2849				
072h	3				5.4130			
060h	3					6.6535		
048h	3					6.9518		
024h	3						8.4439	
000h	3							9.7498
Sig.		.451	.131	1.000	1.000	.313	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 (ชุดการทดลองที่ 1)

1.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทางสถิติ

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.7732	.32836	.18958	-.0425	1.5889	.57	1.15
012h	3	2.8430	.54762	.31617	1.4827	4.2034	2.26	3.35
024h	3	4.3790	.28709	.16575	3.6658	5.0921	4.05	4.55
036h	3	7.1352	.29829	.17222	6.3942	7.8762	6.90	7.47
048h	3	10.0229	1.16415	.67212	7.1310	12.9148	8.88	11.20
060h	3	11.9165	.25981	.15000	11.2711	12.5619	11.73	12.21
072h	3	13.5314	.45782	.26432	12.3941	14.6686	13.11	14.02
096h	3	13.2552	.32137	.18554	12.4569	14.0535	12.92	13.56
120h	3	13.1947	.44885	.25915	12.0797	14.3097	12.92	13.71
Total	27	8.5612	4.75741	.91556	6.6793	10.4432	.57	14.02

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	583.425	8	72.928	260.850	.000
Within Groups	5.032	18	.280		
Total	588.458	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
000h	3	.7732						
024h	3		2.8430					
048h	3			4.3790				
060h	3				7.1352			
072h	3					10.0229		
084h	3						11.9165	
120h	3							13.1947
108h	3							13.2552
096h	3							13.5314
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.471

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.2.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

## glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.6302	.57542	.33222	.2007	3.0596	1.15	2.27
012h	3	33.6888	.21557	.12446	33.1533	34.2243	33.47	33.90
024h	3	28.9530	.01142	.00659	28.9247	28.9814	28.94	28.97
036h	3	18.4928	2.05969	1.18917	13.3763	23.6094	16.54	20.64
048h	3	12.0141	1.26541	.73059	8.8707	15.1576	10.84	13.36
060h	3	5.8825	1.05549	.60939	3.2606	8.5045	4.83	6.94
072h	3	1.9927	.01727	.00997	1.9498	2.0356	1.98	2.01
096h	3	1.2538	.16573	.09569	.8421	1.6655	1.11	1.44
120h	3	.0785	.04845	.02797	-.0419	.1988	.05	.13
Total	27	11.5540	12.27470	2.36227	6.6983	16.4098	.05	33.90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3902.646	8	487.831	596.088	.000
Within Groups	14.731	18	.818		
Total	3917.377	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
120h	3	.0785						
108h	3	1.2538	1.2538					
000h	3	1.6302	1.6302					
096h	3		1.9927					
084h	3			5.8825				
072h	3				12.0141			
060h	3					18.4928		
048h	3						28.9530	
024h	3							33.6888
Sig.		.061	.357	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 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	4.9144	.10506	.06066	4.6534	5.1754	4.79	4.98
012h	3	7.5612	.11213	.06474	7.2826	7.8397	7.47	7.69
024h	3	5.1808	.34132	.19706	4.3329	6.0287	4.89	5.56
036h	3	1.9700	.04675	.02699	1.8538	2.0861	1.92	2.01
048h	3	1.6292	.10572	.06103	1.3666	1.8918	1.53	1.74
060h	3	2.3563	.60820	.35114	.8454	3.8671	1.86	3.04
072h	3	1.1098	.02350	.01357	1.0514	1.1682	1.08	1.13
096h	3	1.2495	.05873	.03391	1.1036	1.3954	1.18	1.29
120h	3	.5044	.01416	.00817	.4693	.5396	.49	.52
Total	27	2.9417	2.29797	.44224	2.0327	3.8508	.49	7.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	136.242	8	17.030	290.520	.000
Within Groups	1.055	18	.059		
Total	137.297	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
120h	3	.5044						
096h	3		1.1098					
108h	3		1.2495	1.2495				
072h	3			1.6292	1.6292			
060h	3				1.9700	1.9700		
084h	3					2.3563		
000h	3						4.9144	
048h	3						5.1808	
024h	3							7.5612
Sig.		1.000	.489	.071	.102	.066	.195	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 (ชุดการทดลองที่ 2)

1.3.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.5444	.47281	.27298	-.6301	1.7189	.00	.85
012h	3	.3682	.37495	.21648	-.5632	1.2996	.00	.75
024h	3	1.8436	.23490	.13562	1.2601	2.4271	1.70	2.11
036h	3	2.7825	.13899	.08025	2.4373	3.1278	2.63	2.90
048h	3	3.8214	.85407	.49310	1.6998	5.9430	3.08	4.76
060h	3	4.1212	2.33423	1.34767	-1.6773	9.9198	1.43	5.56
072h	3	6.2200	.39892	.23032	5.2290	7.2109	5.79	6.58
096h	3	9.0656	.11676	.06741	8.7756	9.3557	8.99	9.20
120h	3	9.6731	.56130	.32407	8.2788	11.0675	9.16	10.27
Total	27	4.2711	3.36540	.64767	2.9398	5.6024	.00	10.27

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	280.264	8	35.033	44.380	.000
Within Groups	14.209	18	.789		
Total	294.473	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
024h	3	.3682				
000h	3	.5444				
048h	3	1.8436	1.8436			
060h	3		2.7825	2.7825		
072h	3			3.8214		
084h	3			4.1212		
096h	3				6.2200	
108h	3					9.0656
120h	3					9.6731
Sig.		.069	.212	.096	1.000	.413

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

## glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	1.4844	.68680	.39653	-.2217	3.1905	.86	2.22
012h	3	1.7191	.19040	.10993	1.2461	2.1921	1.51	1.88
024h	3	2.0468	.65201	.37644	.4271	3.6665	1.35	2.64
036h	3	5.1296	1.91952	1.10824	.3612	9.8980	2.98	6.68
048h	3	3.4596	1.00012	.57742	.9752	5.9440	2.35	4.29
060h	3	3.5045	.34901	.20150	2.6375	4.3715	3.11	3.78
072h	3	2.5771	.19025	.10984	2.1045	3.0497	2.43	2.79
096h	3	1.5128	.41057	.23704	.4929	2.5327	1.09	1.91
120h	3	.0092	.00165	.00095	.0051	.0133	.01	.01
Total	27	2.3826	1.58289	.30463	1.7564	3.0087	.01	6.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

glucose

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.255	8	6.657	10.079	.000
Within Groups	11.889	18	.660		
Total	65.144	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
120h	3	.0092			
000h	3		1.4844		
108h	3		1.5128		
024h	3		1.7191		
048h	3		2.0468	2.0468	
096h	3		2.5771	2.5771	
072h	3			3.4596	
084h	3			3.5045	
060h	3				5.1296
Sig.		1.000	.154	.057	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.3.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	4.6796	.12051	.06958	4.3802	4.9790	4.57	4.81
012h	3	14.7139	.61975	.35781	13.1743	16.2534	14.29	15.42
024h	3	13.2616	.85119	.49144	11.1471	15.3761	12.28	13.81
036h	3	11.0961	.09443	.05452	10.8615	11.3307	11.01	11.20
048h	3	5.4393	.47869	.27637	4.2502	6.6284	5.10	5.99
060h	3	2.5963	.49831	.28770	1.3584	3.8342	2.05	3.03
072h	3	2.5015	.13847	.07995	2.1575	2.8455	2.39	2.66
096h	3	1.7148	1.06759	.61637	-.9373	4.3668	.98	2.94
120h	3	.1498	.00549	.00317	.1361	.1634	.14	.16
Total	27	6.2392	5.20097	1.00093	4.1818	8.2966	.14	15.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	697.766	8	87.221	283.546	.000
Within Groups	5.537	18	.308		
Total	703.303	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
120h	3	.1498					
108h	3		1.7148				
096h	3		2.5015				
084h	3		2.5963				
000h	3			4.6796			
072h	3			5.4393			
060h	3				11.0961		
048h	3					13.2616	
024h	3						14.7139
Sig.		1.000	.081	.111	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.4 กระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *A. oryzae* TISTR 3086 (ชุดการทดลองที่ 3)

1.4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอล

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
000h	3	.7522	.94061	.54306	-1.5844	3.0888	.00	1.81
012h	3	1.6174	.38175	.22040	.6691	2.5658	1.18	1.90
024h	3	6.7880	.32352	.18679	5.9844	7.5917	6.41	6.98
036h	3	10.4017	.29588	.17083	9.6666	11.1367	10.11	10.70
048h	3	10.4437	.66843	.38592	8.7832	12.1042	9.68	10.93
060h	3	13.5077	1.40608	.81180	10.0148	17.0006	12.14	14.95
072h	3	14.2967	1.61889	.93467	10.2751	18.3182	12.72	15.95
096h	3	15.0357	.34593	.19972	14.1764	15.8951	14.64	15.30
120h	3	13.2105	1.21225	.69989	10.1991	16.2219	11.97	14.39
Total	27	9.5615	5.22276	1.00512	7.4955	11.6276	.00	15.95

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	693.494	8	86.687	99.303	.000
Within Groups	15.713	18	.873		
Total	709.207	26			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
000h	3	.7522				
024h	3	1.6174				
048h	3		6.7880			
060h	3			10.4017		
072h	3			10.4437		
120h	3				13.2105	
084h	3				13.5077	13.5077
096h	3				14.2967	14.2967
108h	3					15.0357
Sig.		.272	1.000	.957	.194	.073

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.4.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลกลูโคส

## Descriptives

glucose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					000h	3		
012h	3	19.2403	1.80461	1.04189	14.7574	23.7231	17.16	20.32
024h	3	17.8909	1.04891	.60559	15.2852	20.4965	17.03	19.06
036h	3	7.4494	1.06491	.61482	4.8040	10.0947	6.83	8.68
048h	3	4.4554	2.71061	1.56497	-2.2782	11.1889	2.71	7.58
060h	3	1.7884	.54238	.31314	.4410	3.1357	1.27	2.35
072h	3	2.0404	.33785	.19506	1.2011	2.8796	1.65	2.28
096h	3	.2030	.13779	.07955	-1.393	.5453	.06	.34
120h	3	.6886	.54898	.31695	-.6751	2.0523	.36	1.32
Total	27	6.1663	7.15379	1.37675	3.3364	8.9963	.06	20.32

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1302.921	8	162.865	105.928	.000
Within Groups	27.675	18	1.538		
Total	1330.596	26			

## glucose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
108h	3	.2030			
120h	3	.6886			
000h	3	1.7408			
084h	3	1.7884			
096h	3	2.0404			
072h	3		4.4554		
060h	3			7.4494	
048h	3				17.8909
024h	3				19.2403
Sig.		.118	1.000	1.000	.199

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 1.4.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณน้ำตาลมอลโทส

## Descriptives

maltose

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					000h	3		
012h	3	12.2290	1.82127	1.05151	7.7047	16.7533	10.99	14.32
024h	3	4.2928	.39003	.22519	3.3240	5.2617	3.85	4.56
036h	3	3.7225	.34966	.20188	2.8539	4.5911	3.35	4.04
048h	3	2.9694	.24272	.14014	2.3664	3.5723	2.70	3.17
060h	3	1.6058	1.05906	.61145	-1.0250	4.2367	.86	2.82
072h	3	.3708	.22719	.13117	-.1936	.9352	.12	.56
096h	3	.6400	.05845	.03375	.4948	.7852	.57	.68
120h	3	.5810	.19700	.11374	.0917	1.0704	.40	.79
Total	27	3.5778	3.65333	.70308	2.1326	5.0230	.12	14.32

เอกสารนี้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	337.261	8	42.158	77.779	.000
Within Groups	9.756	18	.542		
Total	347.017	26			

## maltose

Duncan<sup>a</sup>

SHF	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
096h	3	.3708			
120h	3	.5810			
108h	3	.6400			
084h	3	1.6058			
072h	3		2.9694		
060h	3		3.7225		
048h	3		4.2928		
000h	3			5.7891	
024h	3				12.2290
Sig.		.074	.050	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. เปรียบเทียบผลการหมักเอทานอลจากผงมันเทศโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อราย่อยแป้งด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF

## Descriptives

## ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
SSF-control	3	14.8963	.60675	.35031	13.3891	16.4036	14.28	15.50
SSF-set1	3	14.3598	.18854	.10885	13.8914	14.8282	14.19	14.56
SSF- set2	3	7.2272	1.57302	.90818	3.3196	11.1348	5.46	8.47
SSF- set3	3	14.2941	1.24768	.72035	11.1946	17.3935	12.99	15.47
SHF- control	3	13.8764	.11594	.06694	13.5884	14.1644	13.75	13.98
SHF- set1	3	13.5314	.45782	.26432	12.3941	14.6686	13.11	14.02
SHF- set2	3	9.6731	.56130	.32407	8.2788	11.0675	9.16	10.27
SHF- set3	3	15.0357	.34593	.19972	14.1764	15.8951	14.64	15.30
Total	24	12.8618	2.79633	.57080	11.6810	14.0425	5.46	15.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	169.662	7	24.237	38.075	.000
Within Groups	10.185	16	.637		
Total	179.847	23			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

process	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
SSF-set2	3	7.2272		
SHF-set2	3		9.6731	
SHF-set1	3			13.5314
SHF-control	3			13.8764
SSF-set3	3			14.2941
SSF-set1	3			14.3598
SSF-control	3			14.8963
SHF-set3	3			15.0357
Sig.		1.000	1.000	.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### 3. ผลการศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *A. rouxii* TISTR 3182 ในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ

#### 3.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลในแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

## Descriptives

## ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-000h	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
1:2-000h	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
1:3-000h	3	.6023	.60760	.35080	-.9071	2.1116	.00	1.22
1:4-000h	3	.1762	.30520	.17621	-.5820	.9344	.00	.53
2:1-000h	3	.3288	.28929	.16702	-.3899	1.0474	.00	.54
3:1-000h	3	.3025	.26432	.15261	-.3542	.9591	.00	.49
4:1-000h	3	.2867	.24905	.14379	-.3320	.9053	.00	.45
Total	21	.2423	.32780	.07153	.0931	.3915	.00	1.22

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.793	6	.132	1.365	.294
Within Groups	1.356	14	.097		
Total	2.149	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
1:1-000h	3		.0000
1:2-000h	3		.0000
1:4-000h	3		.1762
4:1-000h	3		.2867
3:1-000h	3		.3025
2:1-000h	3		.3288
1:3-000h	3		.6023
Sig.			.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 12

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-012h	3	4.1791	.58537	.33796	2.7249	5.6332	3.50	4.52
1:2-012h	3	3.9687	.30446	.17578	3.2124	4.7250	3.65	4.26
1:3-012h	3	3.7767	.30986	.17890	3.0069	4.5464	3.59	4.13
1:4-012h	3	3.5058	.68898	.39778	1.7943	5.2173	2.97	4.28
2:1-012h	3	3.9608	.29225	.16873	3.2348	4.6868	3.68	4.26
3:1-012h	3	1.3229	.20043	.11572	.8250	1.8208	1.12	1.52
4:1-012h	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	21	2.9591	1.58111	.34503	2.2394	3.6788	.00	4.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.735	6	7.956	49.213	.000
Within Groups	2.263	14	.162		
Total	49.998	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4:1-012h	3	.0000		
3:1-012h	3		1.3229	
1:4-012h	3			3.5058
1:3-012h	3			3.7767
2:1-012h	3			3.9608
1:2-012h	3			3.9687
1:1-012h	3			4.1791
Sig.		1.000	1.000	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 24

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-024h	3	6.6697	.39681	.22910	5.6840	7.6554	6.36	7.12
1:2-024h	3	6.7907	.48856	.28207	5.5770	8.0043	6.27	7.24
1:3-024h	3	7.5455	.62944	.36341	5.9819	9.1091	7.01	8.24
1:4-024h	3	9.3654	1.53802	.88798	5.5448	13.1861	7.89	10.96
2:1-024h	3	6.0359	.32541	.18787	5.2275	6.8442	5.75	6.39
3:1-024h	3	4.9207	.11817	.06823	4.6272	5.2143	4.79	5.02
4:1-024h	3	5.3363	.71296	.41163	3.5652	7.1074	4.66	6.08
Total	21	6.6663	1.54003	.33606	5.9653	7.3673	4.66	10.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39.862	6	6.644	12.283	.000
Within Groups	7.572	14	.541		
Total	47.434	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
3:1-024h	3	4.9207				
4:1-024h	3	5.3363	5.3363			
2:1-024h	3	6.0359	6.0359	6.0359		
1:1-024h	3		6.6697	6.6697	6.6697	
1:2-024h	3			6.7907	6.7907	
1:3-024h	3				7.5455	
1:4-024h	3					9.3654
Sig.		.099	.052	.252	.187	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 36

## Descriptives

## ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-036h	3	9.1629	1.19609	.69056	6.1917	12.1342	8.39	10.54
1:2-036h	3	10.0045	.49707	.28698	8.7697	11.2393	9.65	10.57
1:3-036h	3	10.3990	.52881	.30531	9.0854	11.7126	9.88	10.94
1:4-036h	3	11.8902	1.11283	.64249	9.1258	14.6546	10.79	13.02
2:1-036h	3	6.9616	.70897	.40933	5.2004	8.7228	6.45	7.77
3:1-036h	3	5.7360	.05690	.03285	5.5947	5.8774	5.67	5.78
4:1-036h	3	6.0069	.08691	.05018	5.7910	6.2228	5.95	6.11
Total	21	8.5945	2.33778	.51015	7.5303	9.6586	5.67	13.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	101.886	6	16.981	32.047	.000
Within Groups	7.418	14	.530		
Total	109.305	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3:1-036h	3	5.7360		
4:1-036h	3	6.0069		
2:1-036h	3	6.9616		
1:1-036h	3		9.1629	
1:2-036h	3		10.0045	
1:3-036h	3		10.3990	
1:4-036h	3			11.8902
Sig.		.069	.067	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 48

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-048h	3	11.4326	1.18358	.68334	8.4924	14.3728	10.69	12.80
1:2-048h	3	12.1664	.16977	.09802	11.7446	12.5881	11.99	12.33
1:3-048h	3	12.0954	.49355	.28495	10.8693	13.3214	11.68	12.64
1:4-048h	3	14.0258	.60018	.34651	12.5349	15.5167	13.49	14.68
2:1-048h	3	11.4037	.98323	.56767	8.9612	13.8461	10.27	12.06
3:1-048h	3	9.0972	.58113	.33552	7.6536	10.5408	8.58	9.73
4:1-048h	3	7.9137	1.41195	.81519	4.4062	11.4212	7.01	9.54
Total	21	11.1621	2.07059	.45184	10.2196	12.1046	7.01	14.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.084	6	12.514	16.430	.000
Within Groups	10.663	14	.762		
Total	85.747	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4:1-048h	3	7.9137		
3:1-048h	3	9.0972		
2:1-048h	3		11.4037	
1:1-048h	3		11.4326	
1:3-048h	3		12.0954	
1:2-048h	3		12.1664	
1:4-048h	3			14.0258
Sig.		.119	.340	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 60

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-060h	3	12.3531	.65322	.37714	10.7304	13.9758	11.63	12.90
1:2-060h	3	13.0001	.20969	.12107	12.4792	13.5210	12.76	13.13
1:3-060h	3	12.6477	.53075	.30643	11.3292	13.9661	12.21	13.24
1:4-060h	3	14.3204	.09566	.05523	14.0827	14.5580	14.22	14.41
2:1-060h	3	12.0349	.64304	.37126	10.4375	13.6323	11.39	12.68
3:1-060h	3	10.3175	.64757	.37388	8.7088	11.9262	9.58	10.79
4:1-060h	3	9.8967	1.66836	.96323	5.7522	14.0411	8.55	11.76
Total	21	12.0815	1.59952	.34904	11.3534	12.8096	8.55	14.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.414	6	7.069	11.303	.000
Within Groups	8.756	14	.625		
Total	51.169	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4:1-060h	3	9.8967		
3:1-060h	3	10.3175		
2:1-060h	3		12.0349	
1:1-060h	3		12.3531	
1:3-060h	3		12.6477	
1:2-060h	3		13.0001	13.0001
1:4-060h	3			14.3204
Sig.		.525	.189	.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 72

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-072h	3	12.2795	.47715	.27549	11.0942	13.4648	11.87	12.81
1:2-072h	3	12.5714	.32744	.18905	11.7580	13.3848	12.25	12.90
1:3-072h	3	12.5872	.44474	.25677	11.4824	13.6920	12.09	12.94
1:4-072h	3	13.3315	.28495	.16452	12.6236	14.0393	13.00	13.51
2:1-072h	3	11.5404	.29420	.16985	10.8096	12.2713	11.20	11.75
3:1-072h	3	10.7330	.59935	.34603	9.2442	12.2219	10.37	11.42
4:1-072h	3	10.7330	1.35986	.78512	7.3550	14.1111	9.19	11.76
Total	21	11.9680	1.08692	.23718	11.4732	12.4628	9.19	13.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.810	6	2.968	7.143	.001
Within Groups	5.818	14	.416		
Total	23.628	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3:1-072h	3	10.7330		
4:1-072h	3	10.7330		
2:1-072h	3	11.5404	11.5404	
1:1-072h	3		12.2795	12.2795
1:2-072h	3		12.5714	12.5714
1:3-072h	3		12.5872	12.5872
1:4-072h	3			13.3315
Sig.		.167	.087	.085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 96

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-072h	3	12.2795	.47715	.27549	11.0942	13.4648	11.87	12.81
1:2-072h	3	12.5714	.32744	.18905	11.7580	13.3848	12.25	12.90
1:3-072h	3	12.5872	.44474	.25677	11.4824	13.6920	12.09	12.94
1:4-072h	3	13.3315	.28495	.16452	12.6236	14.0393	13.00	13.51
2:1-072h	3	11.5404	.29420	.16985	10.8096	12.2713	11.20	11.75
3:1-072h	3	10.7330	.59935	.34603	9.2442	12.2219	10.37	11.42
4:1-072h	3	10.7330	1.35986	.78512	7.3550	14.1111	9.19	11.76
Total	21	11.9680	1.08692	.23718	11.4732	12.4628	9.19	13.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.790	6	1.465	3.920	.017
Within Groups	5.232	14	.374		
Total	14.021	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3:1-096h	3	9.9730		
4:1-096h	3	10.5936	10.5936	
2:1-096h	3	11.0407	11.0407	
1:1-096h	3	11.0960	11.0960	
1:3-096h	3		11.2696	11.2696
1:2-096h	3		11.3248	11.3248
1:4-096h	3			12.2505
Sig.		.056	.204	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 120

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1-120h	3	10.6121	.65115	.37594	8.9945	12.2296	10.19	11.36
1:2-120h	3	11.1275	.67201	.38799	9.4582	12.7969	10.35	11.53
1:3-120h	3	10.8093	.77149	.44542	8.8928	12.7258	10.18	11.67
1:4-120h	3	11.9218	.41683	.24066	10.8863	12.9572	11.68	12.40
2:1-120h	3	10.9513	.44430	.25652	9.8476	12.0550	10.47	11.35
3:1-120h	3	10.0519	.75600	.43648	8.1739	11.9299	9.33	10.84
4:1-120h	3	10.2097	1.08736	.62779	7.5085	12.9108	9.02	11.15
Total	21	10.8119	.84218	.18378	10.4286	11.1953	9.02	12.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.994	6	1.166	2.269	.097
Within Groups	7.192	14	.514		
Total	14.185	20			

## ethanol

carbon	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3:1-120h	3	10.0519	
4:1-120h	3	10.2097	
1:1-120h	3	10.6121	10.6121
1:3-120h	3	10.8093	10.8093
2:1-120h	3	10.9513	10.9513
1:2-120h	3	11.1275	11.1275
1:4-120h	3		11.9218
Sig.		.121	.061

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 3.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลสูงสุด

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.997	6	4.833	9.999	.000
Within Groups	6.767	14	.483		
Total	35.764	20			

## ethanol

ratio	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3.1	3	10.7330		
4.1	3	10.7330		
2.1	3		12.0349	
1.1	3		12.3531	
1.3	3		12.6477	
1.2	3		13.0001	
1.4	3			14.3204
Sig.		1.000	.138	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรรณการวิจัยในเพื่อกรรณการวิจัยเท่านั้น มิใช่เอกสารที่เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลในแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

**Descriptives**

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-000h	3	.2551	.22377	.12919	-.3008	.8110	.00	.42
6%-000h	3	.3261	.56486	.32612	-1.0771	1.7293	.00	.98
8%-000h	3	.1368	.23688	.13676	-.4517	.7252	.00	.41
10%-000h	3	.3551	.31173	.17998	-.4193	1.1294	.00	.58
Total	12	.2683	.32049	.09252	-.0646	.4719	.00	.98

**ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.085	3	.028	.217	.882
Within Groups	1.045	8	.131		
Total	1.130	11			

**ethanol**

**Duncan<sup>a</sup>**

carbon	N	Subset for alpha = 0.05
		1
8%-000h	3	.1368
4%-000h	3	.2551
6%-000h	3	.3261
10%-000h	3	.3551
Sig.		.505

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 12

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-012h	3	1.927790	.1546789	.0893039	1.543546	2.312034	1.7831	2.0909
6%-012h	3	2.235500	.1349013	.0778853	1.900387	2.570613	2.1461	2.3907
8%-012h	3	2.935080	.1345933	.0777075	2.600732	3.269428	2.7852	3.0455
10%-012h	3	3.550500	.2068023	.1193974	3.036775	4.064225	3.3769	3.7793
Total	12	2.662218	.6715604	.1938628	2.235528	3.088907	1.7831	3.7793

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.755	3	1.585	61.548	.000
Within Groups	.206	8	.026		
Total	4.961	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4%-012h	3	1.927790			
6%-012h	3		2.235500		
8%-012h	3			2.935080	
10%-012h	3				3.550500
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-024h	3	5.470400	.4259382	.2459155	4.412311	6.528489	4.9786	5.7203
6%-024h	3	6.390900	.2654607	.1532638	5.731459	7.050341	6.0911	6.5960
8%-024h	3	8.373920	.4507900	.2602637	7.254096	9.493744	7.8742	8.7500
10%-012h	3	10.015040	.1184376	.0683800	9.720825	10.309255	9.8941	10.1308
Total	12	7.562565	1.8636942	.5380022	6.378430	8.746700	4.9786	10.1308

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.269	3	12.423	105.922	.000
Within Groups	.938	8	.117		
Total	38.207	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4%-024h	3	5.470400			
6%-024h	3		6.390900		
8%-024h	3			8.373920	
10%-012h	3				10.015040
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 36

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					4%-036h	3		
6%-036h	3	13.439300	1.6635992	.9604795	9.306690	17.571910	11.5194	14.4545
8%-036h	3	12.529320	.4797354	.2769753	11.337591	13.721049	12.0244	12.9791
10%-036h	3	12.339960	.1503247	.0867900	11.966533	12.713387	12.1664	12.4268
Total	12	12.130875	1.5000491	.4330269	11.177789	13.083961	9.0972	14.4545

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.756	3	5.585	5.588	.023
Within Groups	7.996	8	.999		
Total	24.752	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4%-036h	3	10.214920	
10%-036h	3		12.339960
8%-036h	3		12.529320
6%-036h	3		13.439300
Sig.		1.000	.232

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 48

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					4%-048h	3		
6%-048h	3	14.420290	1.4948861	.8630729	10.706787	18.133793	12.8686	15.8510
8%-048h	3	14.336130	.1395883	.0805914	13.989373	14.682887	14.2099	14.4860
10%-048h	3	15.782630	.5803487	.3350645	14.340964	17.224296	15.2672	16.4112
Total	12	13.329498	2.8928885	.8351050	11.491444	15.167551	8.5528	16.4112

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	86.786	3	28.929	43.905	.000
Within Groups	5.271	8	.659		
Total	92.057	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4%-048h	3	8.778940	
8%-048h	3		14.336130
6%-048h	3		14.420290
10%-048h	3		15.782630
Sig.		1.000	.070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 60

**Descriptives**

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-060h	3	8.786830	.7769280	.4485596	6.856834	10.716826	7.8900	9.2550
6%-060h	3	14.388730	1.7628692	1.0177930	10.009520	18.767940	13.2473	16.4191
8%-060h	3	15.648500	.4576427	.2642201	14.511653	16.785347	15.1883	16.1035
10%-060h	3	16.306000	.4871609	.2812625	15.095825	17.516175	15.7958	16.7663
Total	12	13.782515	3.2169848	.9286635	11.738540	15.826490	7.8900	16.7663

**ANOVA**

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105.523	3	35.174	33.837	.000
Within Groups	8.316	8	1.040		
Total	113.839	11			

**ethanol**Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4%-060h	3	8.786830	
6%-060h	3		14.388730
8%-060h	3		15.648500
10%-060h	3		16.306000
Sig.		1.000	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-072h	3	8.802610	.9682651	.5590281	6.397306	11.207914	7.7795	9.7047
6%-072h	3	12.513540	.3875749	.2237665	11.550751	13.476329	12.1427	12.9159
8%-072h	3	15.777370	.9244890	.5337539	13.480812	18.073928	14.7306	16.4822
10%-072h	3	17.131820	.3762739	.2172418	16.197104	18.066536	16.7978	17.5395
Total	12	13.556335	3.4162082	.9861744	11.385780	15.726890	7.7795	17.5395

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	124.207	3	41.402	79.467	.000
Within Groups	4.168	8	.521		
Total	128.375	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4%-072h	3	8.802610		
6%-072h	3		12.513540	
8%-072h	3			15.777370
10%-072h	3			17.131820
Sig.		1.000	1.000	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 96

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-096h	3	6.396160	.5949674	.3435046	4.918179	7.874141	5.7203	6.8406
6%-096h	3	10.832970	.7739040	.4468137	8.910486	12.755454	10.2412	11.7088
8%-096h	3	12.471460	2.3248783	1.3422691	6.696142	18.246778	10.6357	15.0857
10%-096h	3	17.660450	1.3351207	.7708323	14.343826	20.977074	16.6163	19.1648
Total	12	11.840260	4.3803143	1.2644878	9.057141	14.623379	5.7203	19.1648

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	194.778	3	64.926	31.903	.000
Within Groups	16.281	8	2.035		
Total	211.059	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4%-096h	3	6.396160		
6%-096h	3		10.832970	
8%-096h	3		12.471460	
10%-096h	3			17.660450
Sig.		1.000	.197	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4%-120h	3	5.320490	.0954440	.0551046	5.083394	5.557586	5.2469	5.4283
6%-120h	3	9.602130	.2255215	.1302049	9.041903	10.162357	9.4207	9.8546
8%-120h	3	12.700270	1.0252852	.5919487	10.153320	15.247220	11.5667	13.5629
10%-120h	3	15.493330	.3849425	.2222467	14.537080	16.449580	15.2672	15.9378
Total	12	10.779055	3.9750168	1.1474885	8.253450	13.304660	5.2469	15.9378

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	171.290	3	57.097	181.351	.000
Within Groups	2.519	8	.315		
Total	173.808	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

carbon	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4%-120h	3	5.320490			
6%-120h	3		9.602130		
8%-120h	3			12.700270	
10%-120h	3				15.493330
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 4.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลสูงสุด

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.982	3	29.994	17.847	.001
Within Groups	13.445	8	1.681		
Total	103.427	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Ethanol

Duncan<sup>a</sup>

conc	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4%	3	10.2149		
6%	3		14.3887	
8%	3		15.7774	15.7774
10%	3			17.6605
Sig.		1.000	.226	.113

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### 5. ผลการศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

#### 5.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลในแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-000h	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
YE-000h	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
AC-000h	3	.334010	.0164243	.0094826	.293210	.374810	.3156	.3472
AS-000h	3	.110460	.1913223	.1104600	-.364811	.585731	.0000	.3314
Total	12	.111118	.1642822	.0474242	.006738	.215497	.0000	.3472

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.223	3	.074	8.068	.008
Within Groups	.074	8	.009		
Total	.297	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
none-000h	3	.000000	
YE-000h	3	.000000	
AS-000h	3	.110460	
AC-000h	3		.334010
Sig.		.213	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 12

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-012h	3	3.889770	.2870919	.1657526	3.176594	4.602946	3.7162	4.2212
YE-012h	3	6.269920	.7584393	.4378851	4.385852	8.153988	5.7518	7.1405
AC-012h	3	7.658560	.0559764	.0323180	7.519507	7.797613	7.5981	7.7085
AS-012h	3	7.942600	.0045553	.0026300	7.931284	7.953916	7.9373	7.9452
Total	12	6.440213	1.7095320	.4934994	5.354028	7.526397	3.7162	7.9452

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.826	3	10.275	62.199	.000
Within Groups	1.322	8	.165		
Total	32.147	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
none-012h	3	3.889770		
YE-012h	3		6.269920	
AC-012h	3			7.658560
AS-012h	3			7.942600
Sig.		1.000	1.000	.417

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 ไม่ควรกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-024h	3	9.026160	.1669998	.0964174	8.611309	9.441011	8.8368	9.1524
YE-024h	3	7.740090	.3639677	.2101368	6.835944	8.644236	7.3614	8.0873
AC-024h	3	8.216120	1.5352151	.8863568	4.402434	12.029806	7.3140	9.9887
AS-024h	3	7.761130	.6336772	.3658537	6.186989	9.335271	7.0537	8.2766
Total	12	8.185875	.9093437	.2625049	7.608106	8.763644	7.0537	9.9887

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.258	3	1.086	1.488	.290
Within Groups	5.838	8	.730		
Total	9.096	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05
		1
YE-024h	3	7.740090
AS-024h	3	7.761130
AC-024h	3	8.216120
none-024h	3	9.026160
Sig.		.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 36

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
none-036h	3	12.976420	.7785688	.4495069	11.042348	14.910492	12.1506	13.6970
YE-036h	3	8.329210	.0934668	.0539631	8.097026	8.561394	8.2214	8.3871
AC-036h	3	7.577030	.2308864	.1333023	7.003476	8.150584	7.4245	7.8427
AS-036h	3	7.435010	.4961507	.2864528	6.202503	8.667517	6.8643	7.7638
Total	12	9.079418	2.4113522	.6960974	7.547317	10.611518	6.8643	13.6970

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.132	3	20.711	90.600	.000
Within Groups	1.829	8	.229		
Total	63.961	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
AS-036h	3	7.435010	
AC-036h	3	7.577030	
YE-036h	3	8.329210	
none-036h	3		12.976420
Sig.		.059	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 48

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
none-048h	3	14.749040	.6036924	.3485420	13.249385	16.248695	14.0521	15.1094
YE-048h	3	11.264290	.5305304	.3063019	9.946379	12.582201	10.9119	11.8745
AC-048h	3	7.166750	.5047339	.2914083	5.912921	8.420579	6.7617	7.7322
AS-048h	3	7.311400	.3495130	.2017915	6.443161	8.179639	7.0063	7.6928
Total	12	10.122870	3.3040958	.9538103	8.023548	12.222192	6.7617	15.1094

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	118.042	3	39.347	153.877	.000
Within Groups	2.046	8	.256		
Total	120.088	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
AC-048h	3	7.166750		
AS-048h	3	7.311400		
YE-048h	3		11.264290	
none-048h	3			14.749040
Sig.		.735	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 60

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-060h	3	16.792550	.4011763	.2316192	15.795973	17.789127	16.5453	17.2554
YE-060h	3	14.662250	.7623689	.4401539	12.768421	16.556079	13.8548	15.3697
AC-060h	3	6.193650	.2331225	.1345933	5.614542	6.772758	6.0043	6.4540
AS-060h	3	8.181930	.0492730	.0284478	8.059529	8.304331	8.1267	8.2214
Total	12	11.457595	4.6034554	1.3289031	8.532699	14.382491	6.0043	17.2554

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	231.512	3	77.171	386.374	.000
Within Groups	1.598	8	.200		
Total	233.110	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
AC-060h	3	6.193650			
AS-060h	3		8.181930		
YE-060h	3			14.662250	
none-060h	3				16.792550
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-072h	3	16.234990	.1871001	.1080223	15.770208	16.699772	16.0640	16.4349
YE-072h	3	15.012040	.4937610	.2850731	13.785470	16.238610	14.5334	15.5196
AC-072h	3	6.419830	.5207599	.3006609	5.126191	7.713469	5.9017	6.9432
AS-072h	3	6.793290	.6234598	.3599547	5.244530	8.342050	6.0832	7.2509
Total	12	11.115038	4.7505641	1.3713697	8.096673	14.133402	5.9017	16.4349

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	246.369	3	82.123	349.944	.000
Within Groups	1.877	8	.235		
Total	248.246	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
AC-072h	3	6.419830		
AS-072h	3	6.793290		
YE-072h	3		15.012040	
none-072h	3			16.234990
Sig.		.373	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 96

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-096h	3	15.259260	.4443688	.2565565	14.155387	16.363133	14.7543	15.5906
YE-096h	3	15.380240	.4154318	.2398497	14.348250	16.412230	14.9042	15.6695
AC-096h	3	5.596640	.3272528	.1889395	4.783699	6.409581	5.3179	5.9570
AS-096h	3	6.803810	.9763961	.5637226	4.378308	9.229312	6.1858	7.9295
Total	12	10.759988	4.8106514	1.3887154	7.703445	13.816530	5.3179	15.6695

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	251.705	3	83.902	234.609	.000
Within Groups	2.861	8	.358		
Total	254.566	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
AC-096h	3	5.596640		
AS-096h	3		6.803810	
none-096h	3			15.259260
YE-096h	3			15.380240
Sig.		1.000	1.000	.811

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
none-120h	3	14.133620	.7568782	.4369838	12.253430	16.013810	13.5945	14.9989
YE-120h	3	15.075160	.3714450	.2144539	14.152439	15.997881	14.8490	15.5039
AC-120h	3	5.530890	.4908950	.2834183	4.311439	6.750341	5.1443	6.0832
AS-120h	3	7.527060	.6665533	.3848347	5.871250	9.182870	6.7696	8.0241
Total	12	10.566683	4.3247279	1.2484414	7.818881	13.314484	5.1443	15.5039

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	202.944	3	67.648	193.819	.000
Within Groups	2.792	8	.349		
Total	205.736	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

nitrogen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
AC-120h	3	5.530890		
AS-120h	3		7.527060	
none-120h	3			14.133620
YE-120h	3			15.075160
Sig.		1.000	1.000	.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 5.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลสูงสุด

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	195.442	3	65.147	96.858	.000
Within Groups	5.381	8	.673		
Total	200.823	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

conc	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
as	3	7.9426	
ac	3	8.2161	
yeast	3		15.3802
none	3		16.7926
Sig.		.694	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

6. ผลการศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นในการหมักเอทานอลจากผงมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

6.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลในแต่ละชั่วโมง

ชั่วโมงที่ 0

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-000h	3	.197250	.3416470	.1972500	-.651448	1.045948	.0000	.5918
pH5-000h	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
pH6-000h	3	.744290	.3711097	.2142603	-.177598	1.666178	.4261	1.1519
pH7-000h	3	.476030	.0964174	.0556666	.236516	.715544	.3708	.5602
Total	12	.354393	.3666548	.1058441	.121431	.587354	.0000	1.1519

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.951	3	.317	4.809	.034
Within Groups	.527	8	.066		
Total	1.479	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ethanol**

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
pH5-000h	3	.000000	
pH4-000h	3	.197250	
pH7-000h	3	.476030	.476030
pH6-000h	3		.744290
Sig.		.061	.237

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ชั่วโมงที่ 12

**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					pH4-012h	3		
pH5-012h	3	7.989940	.2452678	.1416054	7.380661	8.599219	7.7559	8.2451
pH6-012h	3	11.322150	.6354757	.3668921	9.743541	12.900759	10.6752	11.9455
pH7-012h	3	8.839430	.2265314	.1307880	8.276695	9.402165	8.6474	9.0893
Total	12	8.275952	2.3973055	.6920425	6.752777	9.799128	4.8681	11.9455

**ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.176	3	20.725	159.162	.000
Within Groups	1.042	8	.130		
Total	63.218	11			

**ethanol**

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
pH4-012h	3	4.952290			
pH5-012h	3		7.989940		
pH7-012h	3			8.839430	
pH6-012h	3				11.322150
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 24

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					pH4-024h	3		
pH5-024h	3	10.772480	.1464086	.0845290	10.408781	11.136179	10.6199	10.9119
pH6-024h	3	15.206660	.1903982	.1099264	14.733685	15.679635	15.0462	15.4171
pH7-024h	3	10.325380	1.1137576	.6430283	7.558653	13.092107	9.0419	11.0381
Total	12	10.992085	2.8698189	.8284454	9.168689	12.815481	7.6612	15.4171

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87.998	3	29.333	90.382	.000
Within Groups	2.596	8	.325		
Total	90.594	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
pH4-024h	3	7.663820		
pH7-024h	3		10.325380	
pH5-024h	3		10.772480	
pH6-024h	3			15.206660
Sig.		1.000	.365	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 36

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-036h	3	8.484380	.7653842	.4418948	6.583060	10.385700	7.6533	9.1603
pH5-036h	3	11.395790	.1745337	.1007671	10.962224	11.829356	11.2117	11.5589
pH6-036h	3	17.500020	.4029311	.2326324	16.499084	18.500956	17.0582	17.8472
pH7-036h	3	14.041570	.4595431	.2653173	12.900002	15.183138	13.5314	14.4229
Total	12	12.855440	3.4984013	1.0099015	10.632662	15.078218	7.6533	17.8472

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	132.647	3	44.216	178.684	.000
Within Groups	1.980	8	.247		
Total	134.627	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
pH4-036h	3	8.484380			
pH5-036h	3		11.395790		
pH7-036h	3			14.041570	
pH6-036h	3				17.500020
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 48

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-048h	3	8.744750	.6787846	.3918965	7.058556	10.430944	8.2766	9.5232
pH5-048h	3	13.644440	2.0756299	1.1983655	8.488289	18.800591	11.3379	15.3618
pH6-048h	3	17.542100	.2760748	.1593919	16.856292	18.227908	17.2318	17.7604
pH7-048h	3	14.812160	.5255790	.3034432	13.506549	16.117771	14.3914	15.4013
Total	12	13.685862	3.4629092	.9996558	11.485635	15.886090	8.2766	17.7604

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	121.666	3	40.555	31.675	.000
Within Groups	10.243	8	1.280		
Total	131.909	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
pH4-048h	3	8.744750		
pH5-048h	3		13.644440	
pH7-048h	3		14.812160	
pH6-048h	3			17.542100
Sig.		1.000	.242	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 60

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-060h	3	8.773680	.0236700	.0136659	8.714880	8.832480	8.7500	8.7974
pH5-060h	3	14.133620	1.3008295	.7510342	10.902180	17.365060	12.6319	14.9121
pH6-060h	3	17.910300	.3743387	.2161246	16.980391	18.840209	17.6342	18.3364
pH7-060h	3	15.603790	.5220136	.3013847	14.307036	16.900544	15.2198	16.1982
Total	12	14.105348	3.5632225	1.0286137	11.841384	16.369311	8.7500	18.3364

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	135.451	3	45.150	85.783	.000
Within Groups	4.211	8	.526		
Total	139.662	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
pH4-060h	3	8.773680			
pH5-060h	3		14.133620		
pH7-060h	3			15.603790	
pH6-060h	3				17.910300
Sig.		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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 72

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-072h	3	9.110320	.6590079	.3804784	7.473254	10.747386	8.4423	9.7599
pH5-072h	3	14.851610	1.3607067	.7856044	11.471427	18.231793	13.2868	15.7563
pH6-072h	3	16.874080	.5711583	.3297584	15.455244	18.292916	16.4507	17.5237
pH7-072h	3	15.822080	1.1946599	.6897372	12.854380	18.789780	14.4466	16.6006
Total	12	14.164522	3.2529322	.9390406	12.097708	16.231337	8.4423	17.5237

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	108.319	3	36.106	35.755	.000
Within Groups	8.078	8	1.010		
Total	116.397	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
pH4-072h	3	9.110320		
pH5-072h	3		14.851610	
pH7-072h	3		15.822080	15.822080
pH6-072h	3			16.874080
Sig.		1.000	.271	.236

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 96

## Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-096h	3	10.430580	.7187699	.4149820	8.645057	12.216103	9.6179	10.9829
pH5-096h	3	13.515570	.2654607	.1532638	12.856129	14.175011	13.3104	13.8154
pH6-096h	3	14.112580	.1223162	.0706193	13.808730	14.416430	13.9732	14.2020
pH7-096h	3	13.407740	1.0837004	.6256747	10.715679	16.099801	12.3715	14.5334
Total	12	12.866617	1.5998550	.4618384	11.850118	13.883117	9.6179	14.5334

## ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.602	3	8.201	18.465	.001
Within Groups	3.553	8	.444		
Total	28.155	11			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
pH4-096h	3	10.430580	
pH7-096h	3		13.407740
pH5-096h	3		13.515570
pH6-096h	3		14.112580
Sig.		1.000	.249

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 120

**Descriptives**

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
pH4-120h	3	10.372720	1.4712329	.8494167	6.717975	14.027465	8.7658	11.6535
pH5-120h	3	12.153230	1.6408418	.9473405	8.077153	16.229307	10.2649	13.2315
pH6-120h	3	14.081020	.1302049	.0751738	13.757573	14.404467	13.9495	14.2099
pH7-120h	3	13.428780	1.1116783	.6418278	10.667218	16.190342	12.4978	14.6596
Total	12	12.508938	1.8151349	.5239843	11.355656	13.662219	8.7658	14.6596

**ANOVA**

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.023	3	8.008	5.243	.027
Within Groups	12.219	8	1.527		
Total	36.242	11			

**ethanol**Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
pH4-120h	3	10.372720	
pH5-120h	3	12.153230	12.153230
pH7-120h	3		13.428780
pH6-120h	3		14.081020
Sig.		.116	.104

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## 6.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณเอทานอลสูงสุด

**ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.414	3	29.805	30.293	.000
Within Groups	7.871	8	.984		
Total	97.285	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
pH4	3	10.4306		
pH5	3		14.8516	
pH7	3		15.8221	
pH6	3			17.9103
Sig.		1.000	.265	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

7. เปรียบเทียบผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศ โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Set A	3		
Set B	3	11.9928	.84201	.48614	9.9011	14.0845	11.07	12.72
Set C	3	17.9103	.37434	.21612	16.9804	18.8402	17.63	18.34
Total	9	14.5109	2.69077	.89692	12.4426	16.5792	11.07	18.34

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.793	6	.132	1.365	.294
Within Groups	1.356	14	.097		
Total	2.149	20			

## ethanol

Duncan<sup>a</sup>

set	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Set B	3	11.9928		
Set A	3		13.6297	
Set C	3			17.9103
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวรัญญา บินอานัด
วัน เดือน ปีเกิด	22 กันยายน 2535
ที่อยู่ปัจจุบัน	12 ซอยเคหะร่มเกล้า 2/3 แขวงคลองสองต้นนุ่น เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	(2558) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม เกรตเฉลี่ย 3.75 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนยกเว้นค่าธรรมเนียมการศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.
ผลงานทางวิชาการ	การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยใช้เชื้อผสม <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5088 และเชื้อราย่อยแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้