สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

OPTIMIZATION OF BIOETHANOL PRODUCTION FROM CASSAVA STARCH BY CO-CULTURE OF *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

นางสาวศิริวรรณ คงใจ
นางสาวสุประวีณ์ สิรินิธิกูล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

OPTIMIZATION OF BIOETHANOL PRODUCTION FROM CASSAVA STARCH BY CO-CULTURE OF *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

นางสาวศิริวรรณ คงใจ
นางสาวสุประวีณ์ สิรินิธิกูล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

OPTIMIZATION OF BIOETHANOL PRODUCTION FROM CASSAVA STARCH BY CO-CULTURE OF *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 AND *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

SIRIWAN KHONGJAI
SUPRAWEE SIRINITHIGOON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงงานพิเศษ สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

Optimization of bioethanol production from cassava starch by co-culture of *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ชื่อนักศึกษา นางสาว ศิริวรรณ คงใจ รหัสนักศึกษา 57050901
นางสาว สุประวีณ์ สิรินิธิกูล รหัสนักศึกษา 57050908

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ	
ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการ	
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ชื่อนักศึกษา นางสาว ศิริวรรณ คงใจ รหัสนักศึกษา 57050901
นางสาว สุประวีณ์ สิรินิธิกูล รหัสนักศึกษา 57050908

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังด้วยกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) โดยใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ซึ่งผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้งร่วมกับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 พบว่า การใช้ความเข้มข้นของซับสเตรทร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ปริมาณเอทานอลสุงสุด 25.06 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งสูงกว่าการใช้ความเข้มข้นของซับสเตรทร้อยละ 4 6 และ 8 พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก 6.0 ให้ปริมาณเอทานอลสุงสุด 25.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 และมีปริมาณเอทานอลสูงกว่าอาหารหมักที่มีพีเอชเริ่มต้น 4.0 5.0 และไม่ปรับพีเอช สำหรับการใช้อัตราส่วนของ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่า อัตราส่วน 2:1 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 25.57 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งสูงกว่าการใช้อัตราส่วน 1:1 4:1 6:1 1:2 และ 1:4 การผลิตเอทานอลในสภาวะที่เหมาะสมเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยแป้งและหมักด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่า การหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าให้ปริมาณเอทานอลสูง 31.52 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088

คำสำคัญ : ไบโอเอทานอล กระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก *Amylomyces rouxii* *Saccharomyces cerevisiae*

Title	Optimization of bioethanol production from cassava starch by co-culture of *Amylomyces rouxii* TISTR3182 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088
Students	Miss Siriwan Khongjai Student ID 57050901
	Miss Suprawee Sirinithigoon Student ID 57050908
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Microbiology
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

Abstract

This research focused on optimization condition for the bioethanol production from cassava by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) using amylose-producing fungus *A. rouxii* and ethanol-producing yeast *S. cerevisiae.* The results revealed that using the concentration of substrate solution at percentages of 10 (w/v) produced the maximum content of ethanol (25.06 ± 0.25 g/l) at 48 hrs which more than using the concentration of substrate solution at percentages of 4 6 and 8 (w/v). Using the initial pH of substrate solution at pH 6.0 produced the maximum content of ethanol (25.36 ± 0.03 g/l) at 48 hrs Which more than using the initial pH of substrate solution at pH 4.0 5.0 and non – adjusted initial pH. Using ratio between *A. rouxii* TISTR 3182 and *S. cerevisiae* TISTR 5088 at 2:1 produced the maximum content of ethanol (25.57 ± 0.05 g/l) at 48 hrs which more than using the ratio at 1:1 4:1 6:1 1:2 and 1:4. Then the comparison with the production of bioethanol using commercial enzymes with *S. cerevisiae* TISTR 5088 revealed the maximum concentration of ethanol (31.52 ± 0.04 g/l) which more than using co – culture of *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088.

Keywords : Bioethanol, Simutaneous saccharification and fermentation (SSF), *Amylomyces rouxii*, *Saccharomyces cerevisiae*

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำความรู้ที่เป็นประโยชน์ เสนอแนะแนวทางแก้ไขปัญหาต่างๆ รวมถึงสอนให้ทำงานอย่างมีระบบแบบแผน พร้อมทั้งให้ความช่วยเหลือและตรวจทานโครงงานพิเศษนี้ ทำให้การจัดทำโครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการสอบ และ ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการสอบ ของโครงงานพิเศษนี้ ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และแนวทางในการปรับปรุงการทดลอง ตลอดจนแบ่งปันประสบการณ์และถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับการผลิตไบโอเอทานอลให้ผู้จัดทำได้นำไปประยุกต์และต่อยอด จนทำให้ทำโครงงานพิเศษสำเร็จบรรลุเป้าหมาย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์งานต่างๆ จนทำให้โครงงานพิเศษนี้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่ได้ให้ความช่วยเหลือทุกๆ ด้าน รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ ที่ให้กำลังใจตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ผู้จัดทำได้ศึกษาตลอดระยะเวลา 4 ปี และให้ทุนสนับสนุนการทำโครงงานพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บริษัท น้ำตาลไทยเอทานอล จำกัด จ.กาญจนบุรี ที่ได้ให้องค์ความรู้เกี่ยวกับการผลิตและ การวิเคราะห์ไบโอเอทานอล ทำให้ผู้จัดทำสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางสำหรับจัดทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จ

สุดท้ายนี้ ประโยชน์และความรู้ที่มาจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ขอมอบแก่ บิดา มารดา ครอบครัว ผู้มีพระคุณ และคณาจารย์ทุกท่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำขอน้อมรับและ ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นางสาว ศิริวรรณ คงใจ
นางสาว สุประวีณ์ สิรินิธิกูล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย. ..... ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ. ..... ค
กิตติกรรมประกาศ. ..... ง
สารบัญ. ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ที่มาและความสำคัญของเอทานอล 4
2.1.1 เอทานอล 4
2.1.2 ข้อดีของการใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิง 4
2.2 กระบวนการผลิตเอทานอล 4
2.2.1 เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี 4
2.2.2 เอทานอลที่เกิดจากกระบวนการหมัก 5
2.3 ประเภทวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล 6
2.3.1 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล 6
2.3.2 วัตถุดิบประเภทแป้ง 7
2.3.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส 7
2.4 มันสำปะหลัง 7
2.4.1 องค์ประกอบทั่วไปของมันสำปะหลัง 7
2.4.2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัตถุดิบจำพวกแป้ง 8
2.4.3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง 9
2.4.4 กระบวนการย่อยแป้งโดยเอนไซม์ 10
2.5 เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 10
2.5.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์ 10
2.5.2 สรีระวิทยาของยีสต์ 11
2.5.3 การสืบพันธุ์ของยีสต์ 11
2.5.4 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 13
2.6 เชื้อราที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล 14
2.6.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อรา 14

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.6.2 การสืบพันธุ์ของเชื้อรา....14
2.6.3 เชื้อรา *Amylomyces rouxii*....14
2.7 กระบวนการหมัก....15
2.7.1 การหมักแบบกะ....15
2.7.2 การหมักแบบกึ่งกะ....15
2.7.3 การหมักแบบต่อเนื่อง....15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย....18
3.1 เชื้อจุลินทรีย์....18
3.2 วัตถุดิบ....18
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี....18
3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ....18
3.5 วิธีการทดลอง....19
3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบ....19
3.5.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์....20
3.5.3 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นและการเตรียมอาหารหมักเอทานอล....20
3.5.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)....21
3.5.4.1 ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน....21
3.5.4.2 ศึกษาค่า pH เริ่มต้น....21
3.5.4.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088....22
3.5.5 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า....22
3.5.5.1 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม....22
3.5.5.2 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088....22
4. ศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล....23
5. การวิเคราะห์ทางสถิติ....23

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล 24
4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสม ของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) 24
4.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 24
4.1.2 ศึกษาค่า pH เริ่มต้น 28
4.1.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 32
4.2 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสม ของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า 36
4.3 ศึกษาจลนศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลชั่วโมงที่48 40
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 43
5.1 สรุปผลการทดลอง 43
5.2 ข้อเสนอแนะ 43
เอกสารอ้างอิง 44
ภาคผนวก 48
ภาคผนวกก 49
ภาคผนวกข 50
ภาคผนวกค 108
ภาคผนวกง 109

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....25
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....26
4.3 ค่าพีเอชที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....27
4.4 ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน.....29
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน.....30
4.6 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน.....32
4.7 ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน.....33
4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน.....34
4.9 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน.....35
4.10 ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF 37
4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182และ*S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF.38
4.12 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S.cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF 39
4.13 สรุปปริมาณเอทานอลสูงสุดในชุดการทดลองต่างๆ 41
4.14 ตารางแสดงค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในชั่วโมงที่ 48 42
ข-1 การเจือจางสารละลายกลูโคสโดยใช้น้ำกลั่น.....50

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 4....58
ค-2 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6....60
ค-3 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 8....62
ค-4 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 10..64
ค-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ4 66
ค-6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ6 67
ค-7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ8 68
ค-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ10.....69
ค-9 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : Control (ไม่ปรับพีเอช).....70
ค-10 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช4.....72
ค-11 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 5 74
ค-12 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 6 76
ค-13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม :Control(ไม่ปรับพีเอช)..78
ค-14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 4 79
ค-15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 5 80
ค-16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 6 81
ค-17 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:1.....82
ค-18 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 2:1.....84
ค-19 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 4:1.....86
ค-20 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 6:1.....88
ค-21 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:2.....90
ค-22 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:4.....92
ค-23 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:1.....94
ค-24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 2:1.....95
ค-25 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 4:1 96

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-26 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 6:1 97
ค-27 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:2.....98
ค-28 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:4.....99
ค-29 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม 100
ค-30 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์5มิลลิลิตร)..... 102
ค-31 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088(เอนไซม์6.65มิลลิลิตร)..... 104
ค-32 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม..... 106
ค-33 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์5มิลลิลิตร)..... 107
ค-34 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์6.65มิลลิลิตร)..... 108

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการผลิตเอทานอลจาก Embden-Meyerhof-Panmas Pathway ในเซลล์ยีสต์.....6
2.2 โครงสร้างและสมการการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส.....6
2.3 มันสำปะหลัง.....8
2.4 กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง.....9
2.5 ลักษณะโดยทั่วไปและองค์ประกอบของยีสต์.....10
2.6 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของยีสต์.....12
2.7 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของยีสต์.....12
2.8 ลักษณะเซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae*.....13
2.9 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา *Amylomyces rouxii*.....15
4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมัก ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....25
4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมัก ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....26
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมัก ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน.....27
4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมักไบโอเอทานอลในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน.....29
4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมักไบโอเอทานอลในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน.....30
4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักไบโอเอทานอล ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน.....32
4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล(กรัมต่อลิตร)ในระหว่างการหมักในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่แตกต่างกัน.....33
4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ในระหว่างการหมักในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่แตกต่างกัน.....34
4.9 ค่าพีเอชในระหว่างการหมักในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่แตกต่างกัน.....35
4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088.....37
4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088.....38

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.12 ค่าพีเอชในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และเอนไซม์ทางการค้าร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 39
ข-1 กราฟสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร).....51
ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ.....53

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ปัจจุบันเอทานอลส่วนใหญ่ผลิตโดยใช้กระบวนการหมักและใช้วัตถุดิบที่เป็นผลิตผลทางการเกษตรชนิดที่มีน้ำตาล เช่น อ้อย กากน้ำตาล หรือผลิตผลทางการเกษตร ที่มีสารจำพวกแป้ง เช่น มันสำปะหลัง และข้าวโพด เป็นต้น จากสถานการณ์ปัจจุบันที่ราคาน้ำมันปิโตรเลียมสูงขึ้นเรื่อยๆ แนวโน้มความต้องการเอทานอลจึงเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตหรือเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลให้สูงขึ้น ซึ่งจะช่วยให้ลดต้นทุนการกลั่นเอทานอลได้ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก กระบวนการหมัก สภาวะที่ใช้ในการหมัก เป็นต้น

เอทานอล (ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) เป็นเชื้อเพลิงเหลวที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบประเภทแป้งและน้ำตาลด้วยเอนไซม์หรือกรด สูตรเคมีของเอทานอลคือ C_2H_5OH ในการใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์เบนซินต้องทำการกลั่นเอทานอลจนมีความบริสุทธิ์สูงถึงร้อยละ 99.5 จึงสามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์เบนซินได้ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นพลังงานทดแทนนับตั้งแต่เกิดวิกฤตการณ์ราคาน้ำมันปิโตรเลียมแพงขึ้นทั่วโลกทำให้หลาย ๆ ประเทศให้ความสนใจในการนำเอทานอลมาผสมกับแก๊สโซลีนเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงในการขับเคลื่อนรถยนต์จึงทำให้เอทานอลมีความสำคัญในด้านพลังงานทดแทนเพิ่มมากขึ้น
(https://www.my.dek-d.com/kpproject/writer/viewlongc.php; สืบค้นวันที่ 9 กันยายน 2560)

นอกจากนี้การใช้เอทานอลจะช่วยพัฒนาสภาพแวดล้อม เนื่องจากเป็นเชื้อเพลิงที่ไร้สารพิษ เช่น ซัลเฟอร์และมีโมเลกุลออกซิเจนเป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก เมื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์จึงเกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงทั่วไป ระบบเครื่องยนต์ที่ใช้เอทานอลจึงสะอาดกว่าเครื่องยนต์ที่ใช้น้ำมันเบนซินหรือดีเซล อย่างไรก็ตามการนำเอทานอลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์สามารถดำเนินการได้ดี ซึ่งในกระบวนการผลิตเอทานอล แป้งจะต้องถูกย่อยให้ได้น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อน ยีสต์จึงจะสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้

แป้งมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตไบโอเอทานอลเนื่องจากมีราคาถูกและหาง่าย แป้งสามารถถูกย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ทั้งหมดซึ่งใช้ในกระบวนการผลิตเอทานอลเพื่อเป็นแหล่งเชื้อเพลิง ในระหว่างการย่อยแป้ง แป้งจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์โดยกรดหรือเอนไซม์ ซึ่งการย่อยด้วยเอนไซม์นั้นจะมีสภาวะไม่รุนแรง ดังนั้น กระบวนการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์จึงได้รับความนิยมซึ่งทำได้โดยผ่านกระบวนการทั้ง 2 ขั้นตอน ได้แก่ กระบวนการ liquefaction และกระบวนการ saccharification ในขั้นตอนของกระบวนการ liquefaction เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจะทำการย่อยสลายพันธะ α-1,4 linkage แบบสุ่ม ได้ผลผลิตเป็น dextrin maltose maltotriose และ maltopentose ในขั้นตอนของกระบวนการ

saccharification เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะเข้าทำลายพันธะ α-1,4 และ α-1,6 glucosidic จากปลาย non-reducing ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส (Khamkeaw และคณะ, 2558)

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตเอทานอลได้สูงแต่ขาดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง (Amylolytic enzyme) จึงไม่สามารถใช้ประโยชน์จากแป้งได้โดยตรงสำหรับการเจริญเติบโตและการหมัก ดังนั้นกระบวนการหมักจึงต้องใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อ *Amylomyces rouxii* ย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาลสำหรับผลิตเอทานอล (รัตติกาล, 2555)

เอนไซม์อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ที่นำมาใช้ย่อยวัตถุดิบพวกแป้งให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโมเลกุลเล็กลง เช่น น้ำตาลมอลโทส (maltose) กลูโคส (glucose) และ เดกซ์ตริน (dextrin) การผลิตอะไมเลสเป็นการค้าได้จากจุลินทรีย์มีทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* *Amylomyces rouxii* (Amyloglucosidase, Sigma-Aldrich) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* (*Termamyl, Novozymes*) เป็นต้น เอนไซม์อะไมเลสสามารถย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในขั้นตอนของการผลิตเอทานอล (อพัชชา, 2556) การพัฒนาการผลิตเอทานอลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้สูงขึ้นเป็นที่น่าสนใจ

จิราภรณ์ และคณะ (2553) ศึกษาและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยแป้งได้โดยใช้ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ *S. fibuligera* TISTR 5775 ซึ่งคัดแยกได้จากลูกแป้ง และ *Hansenula anomala* TISTR 5113 ซึ่งคัดแยกได้จากไวน์ข้าว จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยแป้งโดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่มีค่าสูง พบว่า *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. fibuligera* TISTR 5775 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสสูง

ศญามล และคณะ (2557) ศึกษาผลของปริมาณแป้งที่มีต่อการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus niger* ในรูปของอาหารเหลวซึ่งเตรียมได้จากการชั่งแป้งกระจับบด 2 5 10 15 และ 20 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง Peptone 0.2 กรัม Yeast extract 0.2 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 กรัม และ $(NH_4)_2HPO_4$ 0.2 กรัม ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่แต่ละขวด จากนั้นเติมสารละลาย acetate buffer ลงไป 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชของน้ำหมักให้เหมาะสม เมื่อพิจารณาผลการทดลองจากการย่อยแป้งกระจับที่ความเข้มข้น 2 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตรด้วยเอนไซม์จากเชื้อรา *A. niger* พบว่า ปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งที่สูงขึ้น การใช้ปริมาณแป้งกระจับที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการหมักเท่ากัน

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

โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 เช่น ความเข้มข้นของซับสเตรท อัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 รวมถึงพีเอชเริ่มต้นของน้ำหมักโดยใช้กระบวนการย่อยพร้อม

กระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation , SSF) เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตไบโอเอทานอลให้สูงขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง

2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 เช่น ความเข้มข้นของซับสเตรท อัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 รวมถึงค่าพีเอชเริ่มต้นของน้ำหมัก

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาศักยภาพในการใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง รวมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง เช่น ความเข้มข้นของซับสเตรท อัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 รวมถึงพีเอชเริ่มต้นของน้ำหมัก โดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation , SSF)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถปรับปรุงกระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมัก

1.4.2 เป็นการนำวัตถุดิบทางการเกษตร ซึ่งมีปริมาณมากในประเทศไทย มาใช้ให้เกิดประโยชน์ เป็นการเพิ่มมูลค่าของมันสำปะหลังให้สูงขึ้นและเพิ่มรายได้ให้เกษตรกรผู้ปลูกมันสำปะหลัง

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ที่มาและความสำคัญของเอทานอล

การใช้เอทานอลช่วยพัฒนาสภาพแวดล้อมเพราะเป็นเชื้อเพลิงที่ไร้สารพิษ เช่น ซัลเฟอร์และมีโมเลกุลออกซิเจนเป็นส่วนประกอบร้อยละ 35 โดยน้ำหนัก เมื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในรถยนต์จึงเกิดการเผาไหม้ที่สมบูรณ์กว่าเชื้อเพลิงทั่วไป ระบบเครื่องยนต์ที่ใช้เอทานอลจึงสะอาดกว่าเครื่องยนต์ที่ใช้น้ำมันเบนซินหรือดีเซล ในประเทศที่มีการผลิตพืชผลทางการเกษตรมากเพียงพอสำหรับผลิตเอทานอลใช้กับยานพาหนะ เช่น ประเทศบราซิลใช้เอทานอลที่ผลิตจากอ้อย ประเทศสหรัฐอเมริกาเอทานอลส่วนใหญ่ผลิตจากข้าวโพด ปัจจุบันยังมีการทดลองใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องบินอีกด้วย (http://www.thai-ethanol.com/th/2013-04-06-13-53-49/importance-ethanol.html; สืบค้นวันที่ 9 กันยายน, 2561)

2.1.1 เอทานอล

เอทานอล (ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) คือ สารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มแอลกอฮอล์ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน เป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดติดไฟง่าย สามารถละลายน้ำและสารอินทรีย์อื่นได้ ให้ค่าพลังงานความร้อน (calorific value) โดยการเผาไหม้ประมาณ 12,800 BTU (British Thermal Unit) มีจุดเดือด 78 องศาเซลเซียส จุดเยือกแข็ง -117.3 องศาเซลเซียส และมีความถ่วงจำเพาะ 0.794 ที่ 11.6 องศาเซลเซียส (https://www.l3nr.org/posts/203496; สืบค้นวันที่ 9 กันยายน 2561)

2.1.2 ข้อดีของการใช้เอทานอลเป็นเชื้อเพลิง

1. ช่วยลดการนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ ลดการขาดดุลทางการค้า
2. ใช้ประโยชน์จากพืชผลทางการเกษตรสูงสุดและยกระดับราคาพืชผลทางการเกษตร
3. เครื่องยนต์มีการเผาไหม้ที่ดีขึ้นทำให้ช่วยลดมลพิษไอเสียทางอากาศและแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยสามารถลดปริมาณไฮโดรคาร์บอนและคาร์บอนมอนอกไซด์ลงร้อยละ 20 - 25 ทำให้ลดค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับสุขภาพของประชาชนในประเทศ
4. ทำให้เกิดการลงทุนที่หลากหลายทั้งด้านการเกษตรและอุตสาหกรรม

2.2 กระบวนการผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis) และกระบวนการหมัก (Fermentation)

2.2.1 เอทานอลที่ผลิตจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis)

เป็นการผลิตจากอนุพันธ์สารปิโตรเลียม เช่น เอทิลีน ระยะแรกผลิตจากปฏิกิริยาทางอ้อมของเอทิลีน (Ethylene, C_2H_4) ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกได้ Ethyl sulphate จากนั้นทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ได้เอทานอลและได้มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมขึ้น ต่อมาผลิตเอทานอลจากเอทิลีนโดยตรงจากปฏิกิริยาการเติมน้ำ (hydration) แต่กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีนี้มีต้นทุนวัตถุดิบสูง กระบวนการผลิตทำได้ยาก

2.2.2 เอทานอลที่เกิดจากกระบวนการหมัก (Fermentation)

กระบวนการผลิตเอทานอลส่วนใหญ่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ โดยขั้นแรก คือ เมื่อยีสต์เจริญในอาหารที่มีน้ำตาล ยีสต์จะย่อยสลายน้ำตาลผ่านวิถีไกลโคไลซีส (Glycolysis pathway) โดยการเปลี่ยนจากกลูโคส 1 โมเลกุลเป็นไพรูเวท 2 โมเลกุลได้พลังงานในรูปของ ATP 2 โมเลกุล และ $NADH_2$ 2 โมเลกุล การเปลี่ยนในขั้นตอนนี้เกิดขึ้นทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน ขั้นตอนต่อมา ไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนต่อไปให้ผลผลิตสุดท้ายต่างกันตามชนิดของยีสต์และสภาวะแวดล้อมในระหว่างกระบวนการหมัก โดยจะแบ่งการเปลี่ยนแปลงเป็น 2 ประเภท คือ

1. Oxidative metabolism (Aerobic respiration)

ในสภาวะที่มีออกซิเจน ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นไพรูเวท จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำโดยผ่านวัฏจักรเครป (Kreb's cycle) และ วิถีการหายใจ (Oxidative respiration) ได้พลังงาน 30 ATP รวมกับขั้นตอนแรก 6-8 ATP (2 ATP รวมกับ 4-6 ATP ที่ได้จากการเปลี่ยน $NADH_2$ 2 โมเลกุล) เป็น 36-38 ATP ในสภาวะนี้ยีสต์จะนำ ATP ที่ได้ไปใช้เป็นพลังงานในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของยีสต์ให้มากขึ้น

2. Fementative metabolism (Anaerobic fermentation)

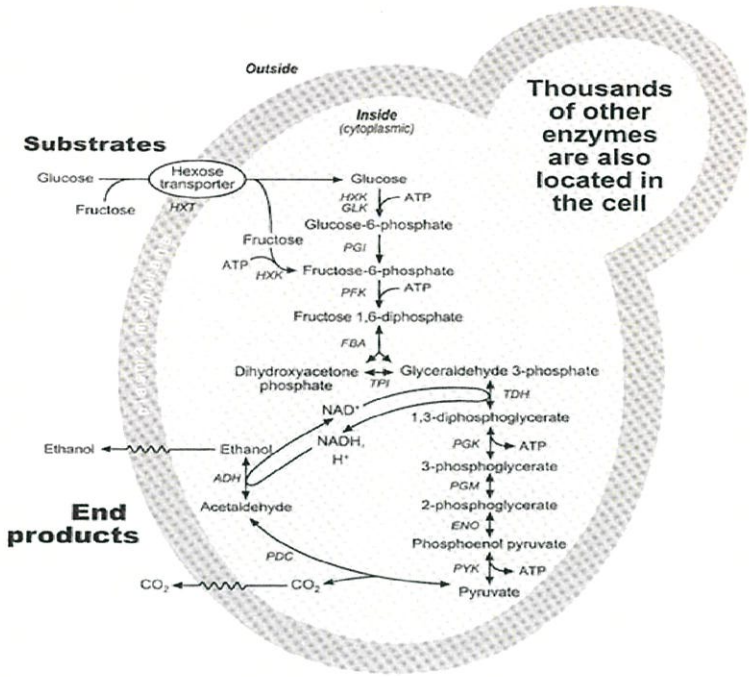
ในกรณีที่น้ำตาลกลูโคสมีความเข้มข้นสูง และ/หรือสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะเรียกว่าเกิดสภาวะ "การหมัก" (Fermentation) ขึ้นโดยสภาวะนี้จะมีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มเล็กน้อยและจะมีการเปลี่ยนไพรูเวทให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ แล้วถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็นเอทานอล ส่วน $2NADH_2$ ที่ได้จากขั้นตอนแรกถูกเปลี่ยนเป็น NAD^+ ในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นเอทานอลเพื่อนำกลับไปใช้ในการสังเคราะห์ 2ATP อีกรอบหนึ่งทำให้วิถีการ เจริญของยีสต์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนดำเนินต่อไปได้โดยมี 2 NAD^+ เพียงพอในการใช้งาน (http://www.doi.nrct.go.th/ListDoi/Download/168623/893d40daf8d294e5903eb0a14698d8b2?; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลโดยการหมักด้วยเชื้อยีสต์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน
ขั้นตอนที่ 1 ยีสต์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) เป็นอาหารและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ดังนี้

$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_2H_{12}O_6} + \text{ยีสต์} \longrightarrow \underset{\text{เอทานอล}}{2CO_2 + 2C_2H_5OH} + 28.7\ \text{kcal}$$

100% 48.89% 51.11%

ตามทฤษฎีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ100 จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลเท่ากับร้อยละ 48.89 และ 51.11 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ แต่ในทางปฏิบัติจะเกิดการสูญเสียได้เป็นสารประกอบอื่น ๆ หรือใช้ในการสร้างเซลล์ของยีสต์
ขั้นตอนที่ 2 เป็นการกลั่นเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ95
ปัจจุบันการผลิตเอทานอลในระดับอตุสาหกรรมทั่วโลกประมาณร้อยละ 93 ใช้กระบวนการหมัก

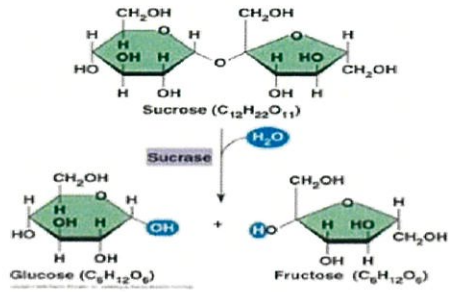


รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตเอทานอลจาก Embden-Meyerhof-Panmas Pathway ในเซลล์ยีสต์
ที่มา : www.responsiblebusiness.eu_(สืบค้นวันที่ 22 กันยายน 2560)

2.3 ประเภทวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล

เอทานอลเป็นเชื้อเพลิงที่สามารถผลิตได้จากวัสดุทางการเกษตร ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

2.3.1 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล (Sugar) ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล ยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการใดๆโดยวัตถุดิบเหล่านี้จะมีน้ำตาลซูโครส (Sucrose) เป็นองค์ประกอบหลัก โครงสร้างของน้ำตาลซูโครสและสมการการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพื่อใช้ในกระบวนการหมัก แสดงดังรูปที่ 2.2



น้ำตาลซูโครส	+	น้ำ	→	น้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส
100 กรัม		5.26 กรัม		105.26 กรัม

รูปที่ 2.2 โครงสร้างและสมการการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส
ที่มา: วรสิทธิ์ และคณะ (2557) (สืบค้นวันที่ 22 กันยายน 2560)

2.3.2 วัตถุดิบประเภทแป้ง (Starch) ได้แก่ มันสำปะหลัง ธัญพืชและมันฝรั่ง เป็นต้น แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักได้ ดังปฏิกิริยา

$$H(C_6H_{10}O_5)_n + n\,C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{Amylolytic enzyme}} 2nCH_3CH_2OH + 2nCO_2$$

$$\text{แป้ง} \xrightarrow{\text{Amylolytic enzyme}} \text{กลูโคส} \xrightarrow{\text{Yeast}} \text{เอทานอล + คาร์บอนไดออกไซด์}$$

ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้ง แป้งในวัตถุดิบจะถูกย่อยให้ได้น้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากนั้นยีสต์จึงจะสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้

2.3.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพดและของเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ เป็นต้น วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) อาจมีสารประกอบอื่น ๆ เจือปนด้วย

2.4 มันสำปะหลัง (Cassava)

2.4.1 องค์ประกอบทั่วไปของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Manihot esculenta* (L.) Crantz มีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ Cassava, Yuca, Mandioa, Manioc, Tapioca มันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิดแถบที่ลุ่มเขตร้อน (Lowland tropics) มีหลักฐานแสดงว่าปลูกกันในโคลัมเบีย และเวเนซูเอลา มานานกว่า 3,000 - 7,000 ปี มาแล้ว

การจัดจำแนก

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Spermatophyta
Division	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Malpighiales
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: *Manihot Mill.*
Species	: *Manihot esculenta Crantz*

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก และมีอายุอยู่ได้หลายปี เมื่ออายุประมาณ 2 เดือน รากจะค่อยๆ สะสมแป้งทำให้รากมีขนาดโตขึ้น เรียกว่า หัว โดยทั่วไปแล้วเกษตรกรจะเก็บเกี่ยวหัว พืชนี้เมื่ออายุได้ประมาณ 1 ปี ระยะนี้ต้นมันสำปะหลังจะมีความสูง ประมาณ 2-3 เมตร

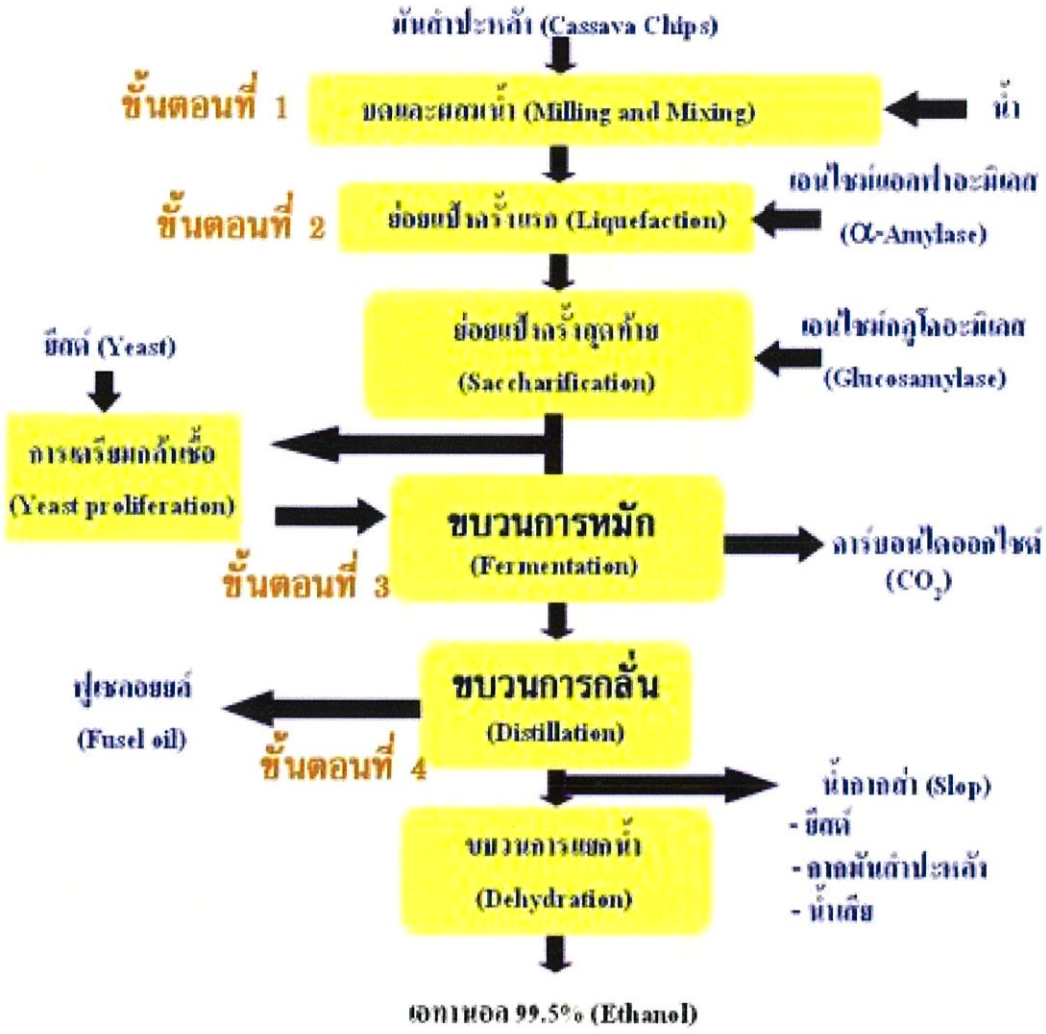
รูปที่ 2.3 มันสำปะหลัง
ที่มา : http://www.yourhealthremedy.com/medicinal-plants/yucca-root-health-benefits/ (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

ตามปกติเกษตรกรในประเทศไทยนิยมปลูกพืชที่ปลูกง่าย ขายคล่อง มีราคาดี ไม่มีปัญหาเรื่องโรค และแมลงศัตรูน้อย และยังมีลักษณะเด่นอีกหลายอย่าง คือ สามารถขึ้นได้ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ นอกจากนี้ยังเป็นพืชที่ทนแล้งได้ดี พอได้ฝนก็จะลำเลียงแป้งจากหัวมาสร้างยอด และใบเจริญเติบโตต่อไป เกษตรกรจะเก็บเกี่ยวมันสำปะหลัง เมื่ออายุประมาณ 6-12 เดือน คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้เกษตรกรนิยมปลูกมันสำปะหลังกันอย่างแพร่หลาย

2.4.2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัตถุดิบจำพวกแป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจนในอัตราส่วน 6 : 10 : 5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก(glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ปลายของสายพอลิเมอร์มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า ปลายรีดิวซิง (reducing end group) แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะไมโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะไมโลเพกทิน) วางตัวในแนวรัศมี แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพกทินต่างกันทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกัน (วรสิทธิ์ และคณะ, 2557)

2.4.3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 2.4 กระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง
ที่มา : สิริวุทธิ์ (2560) (สืบค้นวันที่ 12 มกราคม 2561)

ขั้นตอนการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง สามารถสรุปได้ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมวัตถุดิบ มันสำปะหลังล้างให้สะอาดแล้วบดให้ละเอียดเป็นแป้ง

ขั้นตอนที่ 2 การย่อยแป้ง เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ย่อยแป้งโดยใช้กรด (Acid Hydrolysis) หรือใช้เอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) การใช้เอนไซม์ได้รับความนิยม เนื่องจากสะดวกและลดต้นทุน การย่อยแป้งเพื่อให้ยีสต์สามารถใช้ในการหมักและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยต้องย่อย 2 ครั้ง

ครั้งที่ 1 ย่อยแป้งเพื่อทำให้แป้งมีโมเลกุลเล็กลง (Liquefaction) ด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส อุณหภูมิ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ครั้งที่ 2 ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (Saccharification) ทำให้น้ำแป้งสุกและผสมเอนไซม์ตัวที่ 2 คือ กลูโคอะ-ไมเลส เพื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลก่อนเข้าสู่กระบวนการการหมัก

ขั้นตอนที่ 3 กระบวนเตรียมหัวเชื้อและการหมัก (fermentation) การเตรียมหัวเชื้อ (inoculum) เพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่แข็งแรงและเพียงพอสำหรับใช้ในการหมักใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยควบคุมสภาวะของการหมัก เช่น อัตราการให้อากาศ อัตราการกวน ที่พีเอช 4-5 และ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หมักประมาณ 48 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 4 การกลั่นเอทานอล (Ethanol) เพื่อผลิตเอทานอลและทำให้บริสุทธิ์แยกเอทานอลที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 8-12 โดยปริมาตรออกจากน้ำหมักและน้ำส่าโดยการกลั่นลำดับส่วนแยกเอทานอลให้บริสุทธิ์ร้อยละ 95.6 โดยปริมาตรแต่การนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเอทานอลต้องบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร เทคโนโลยีในการกลั่นเพื่อแยกน้ำให้ได้เอทานอลที่บริสุทธิ์ที่นิยมใช้มี 3 วิธี คือ การดูดซับด้วย Molecular sieve การกลั่นอะซีโอโทรป (Azeotropic distillation) เทคโนโลยีแผ่นเยื่อบาง (Membrane technology)

2.4.4 กระบวนการย่อยแป้งโดยเอนไซม์

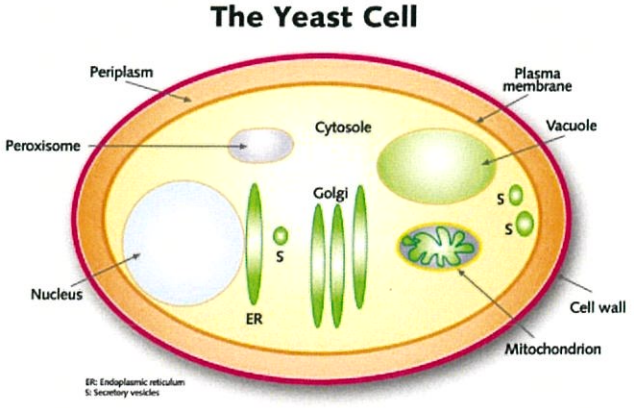
การทำงานของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสในการย่อยแป้ง

เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ผลิตเป็นเชิงการค้าได้จากเชื้อรา *Aspergillus* และ *Rhizopus* สามารถย่อยแป้งโดยผ่านกระบวนการ gelatinization เพื่อให้ได้กลูโคสโดยย่อยพันธะ α-1, 4 ไกลโคซิดิกตรงบริเวณส่วนปลาย (terminal) โดยตัดกลูโคสครั้งละหนึ่งหน่วยจากปลายด้าน non-reducingและสลายพันธะ α-1-6 ไกลโคซิดิกที่เชื่อมต่อส่วนที่เป็นสายแขนงของอะไมโลเพกติน มีเอนไซม์ที่สำคัญ 3 ตัวที่ใช้สำหรับย่อยแป้งได้แก่ แอลฟาอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และ อะไมโลกลูโคซิเดส

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะตัดเฉพาะพันธะ α-1,4อย่างสุ่มในโมเลกุลของแป้งให้เป็นเดรกทรินและย่อยเดรกทรินให้เป็นกลูโคสอีกครั้งทำให้แป้งมีลักษณะเป็นของเหลวมากขึ้นทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยแป้งได้ง่ายขึ้น ถ้าใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ร่วมกันจะสามารถทำลายพันธะ α-1,6 ได้ถึง 85% ในการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (Ray และคณะ, 2015)

2.5 เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

2.5.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์



รูปที่ 2.5 ลักษณะโดยทั่วไปและองค์ประกอบของยีสต์

ที่มา : http://distillique.co.za/distilling_shop/blog/96-basics-of-yeast-nutrients (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

ยีสต์เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่มีการดำรงชีวิตแบบเซลล์เดี่ยว (unicellular form) มีหลายรูปแบบ คือ กลม (round) รี (oval) สามเหลี่ยม (triangular) ยาวปลายด้านหนึ่งแหลม (ogival , boat) รูปร่างแบบมะนาวฝรั่ง (apiculated) คนโท (flask) ยาว (elongate) และเป็นสาย (filamentous) ยีสต์บางชนิดมีการสร้างเส้นใยเทียม (pseudomycelium) และเส้นใยแท้ (true mycelium) วิธีการสืบพันธุ์ของยีสต์มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ วิธีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ได้แก่ การแตกหน่อ (budding) การแตกหน่อแบบมีฐานกว้าง (bud-fission) การแบ่งเซลล์โดยการขยายขนาดของเซลล์แล้วสร้างผนังกั้นแบ่งเซลล์เป็นสองส่วน (fission) ยีสต์บางชนิดอาจมีการสร้างคอนิเดีย (conidia) ยีสต์ที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมี 2 พวก คือ พวกที่สร้างแอสโคสปอร์ (ascosporogenous yeasts) และพวกที่สร้างเบสิโดโอสปอร์ (basidiosporogenous yeasts) ซึ่งสปอร์ทั้งสองชนิดนี้เกิดขึ้นจากการรวมตัวของนิวเคลียส และตามด้วยการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซีส (meiosis) (http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

2.5.2 สรีระวิทยาของยีสต์

ลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีที่จัดว่ามีความสำคัญสำหรับการจัดจำแนกเชื้อยีสต์ คือลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ความต้องการปัจจัยส่งเสริมการเจริญ (growth factor) การเจริญที่อุณหภูมิสูง การเจริญบนอาหารที่มีน้ำตาลหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูง การสร้างเมตาบอไลท์ (metabolite) บางชนิด ตลอดจนการถูกทำลายด้วยสารปฏิชีวนะ การใช้สารประกอบคาร์บอน (Utilization of Carbon Compound) ปกติยีสต์ที่ใช้แหล่งคาร์บอนโดยการหมักมักจะใช้แหล่งคาร์บอนชนิดนั้นโดยการออกซิเดชันได้ด้วย และการหมักคาร์โบไฮเดรต (Fermentation of Carbohydrate) ยีสต์มีความสามารถในการหมักน้ำตาลต่าง ๆ กัน (http://www1a.biotec.or.th/BRT/index.php?option=com_content&viewarticle&id2577000yearbefor-century&catid=59:microorganisum&Itemid=53; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

2.5.3 การสืบพันธุ์ของยีสต์

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมี 2 แบบ คือ

1. การแตกหน่อ (budding)

สามารถแบ่งตามตำแหน่งที่เกิดหน่อ ดังนี้

- การแตกหน่อขั้วเดียว (monopolar budding) เกิดที่ขั้วหรือปลายเพียงด้านเดียว แตกหน่อซ้ำตำแหน่งเดิม เช่น *Pityrosporum*

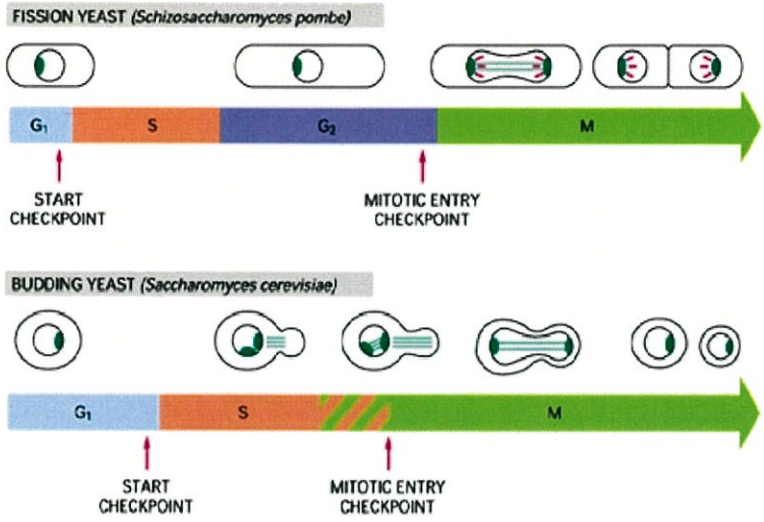
- การแตกหน่อสองขั้ว (bipolar budding) เกิดขึ้นที่ขั้วหรือปลายทั้งสองด้าน แตกหน่อทีละขั้วหรือพร้อมกันก็ได้ เช่น *Hanseniaspora*, *Nadsonia*, *Saccharomycodes*

- การแตกหน่อหลายขั้ว (multipolar, multilateral budding) ยีสต์ส่วนใหญ่มีการแตกหน่อแบบนี้ คือเกิดขึ้นได้รอบเซลล์ เช่น *Saccharomyces*, *Zygosacharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*

โดยหน่อจะมีขนาด 1 ใน 3 ของเซลล์แม่ เซลล์แม่สามารถแตกหน่อใหม่ได้ทันที ส่วนเซลล์ลูกต้องเจริญเพิ่มขนาดจนถึงขนาดวิกฤตก่อนจึงจะแตกหน่อได้ เซลล์แม่จะปรากฏรอยแผลจากการแตกหน่อ (bud scar) ส่วนเซลล์ลูกจะมีรอยแผลจากการเกิดหน่อ (birth scar) จำนวนรอยแผลจากการแตกหน่อของเซลล์ยีสต์ที่แตกหน่อหลายขั้วมีประโยชน์ในการ ระบุอายุของเซลล์และหน่อที่สร้างได้มีจำนวนจำกัด ยีสต์ที่มีการแตกหน่อขั้วเดียว ตำแหน่งที่แตกหน่อใหม่เกิดซ้อนเหนือรอยแผลจากการแตกหน่อเดิม มีลักษณะเป็นสันวงแหวนหรือปลอกซ้อนกัน

2. การแบ่งเซลล์แบบฟิสชัน (fission)

พบในยีสต์สกุลเดียว คือ *Schizosaccharomyces* มีรูปร่างยาว หรือทรงกระบอก (cylindrical shaped) ปลายสองด้านเป็นครึ่งวงกลม (hemispherical) มีรอยแผลจากฟิสชัน (fission scar) ที่เซลล์ทั้งสอง และพบน้อยเพียง 6 รอยแผล (https://sites.google.com/site/biotechrmutisurin/yeast-technology; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

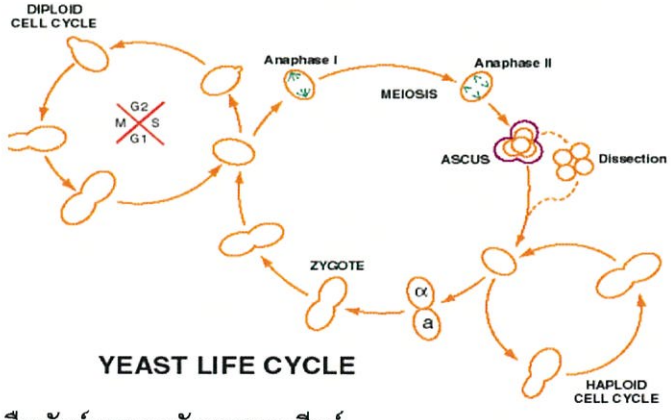


รูปที่ 2.6 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของยีสต์

ที่มา : https://sites.google.com/site/biotechrmutisurin/yeast-technology (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

เกิดจากการที่เซลล์ของยีสต์มีสปอร์ที่มีนิวเคลียสเป็นhaploid และมีmating type ตรงข้ามกันมารวมกันเป็นไซโตพลาสซึม เกิดนิวเคลียสแบบdiploid และแบ่งเซลล์แบบ meiosis จนได้เซลล์haploid 4 นิวเคลียส (http://www.rmutphysics.com/charud/PDF-learning/4/bio/1.pdf ; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)



รูปที่2.7 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของยีสต์

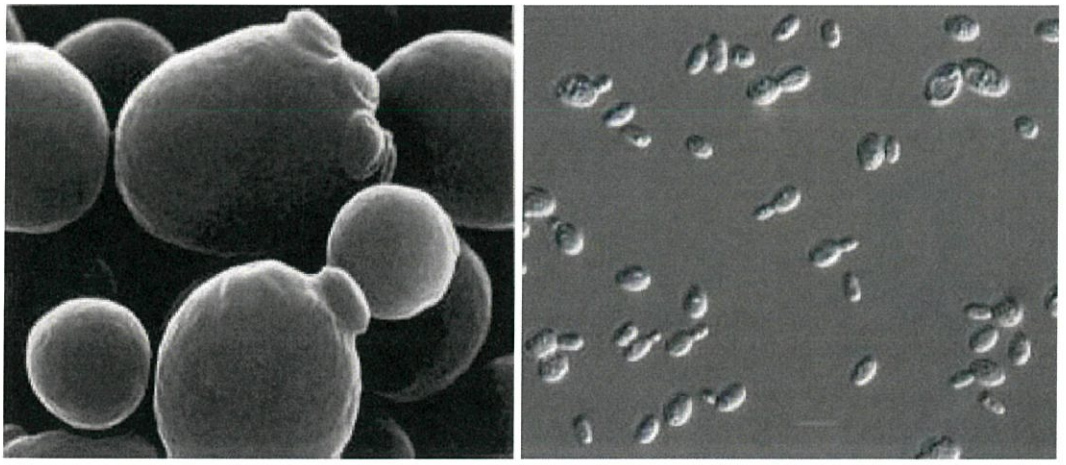
ที่มา : https://sites.google.com/site/biotechrmutisurin/yeast-technology (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

2.5.4 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์ตัวแรกในกลุ่มยูคาริโอตที่นักวิทยาศาสตร์นำมาถอดรหัสพันธุกรรมเพื่อศึกษากลไกการทำงานของเซลล์สิ่งมีชีวิตชั้นสูง เซลล์ยีสต์ประกอบด้วย กรดอะมิโน โปรตีน เกลือแร่ วิตามินและธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของมนุษย์และสัตว์ ยีสต์จึงถูกนำมาเป็นอาหารคนและอาหารสัตว์ที่เป็นแหล่งวิตามิน นำมาผลิตเป็นการค้าในอุตสาหกรรมอาหาร เบียร์ ไวน์ ใช้เป็นสารให้ขึ้นฟูในขนมปังเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เบเกอรี และใช้ผลิตสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) *S. cerevisiae* อาจใช้ร่วมกับจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรีย รา เพื่อการหมักอาหารโปรตีน เช่น อาหารหมักจากถั่วเหลือง ให้ได้กลิ่นหอมของแอลกอฮอล์ เช่น การหมักซีอิ้วแบบหมัก (fermented soy sauce) และการใช้ประโยชน์ของยีสต์ตามภูมิปัญญาของคนในสมัยโบราณ เช่น การทำข้าวหมาก อุ สาโท เป็นต้น (http://www1a.biotec.or.th/BRT/index.php?option=com_content&view=article&id=257:7000-year-befor-century&catid=59:microorganisum&Itemid=53; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

การจัดจำแนก

Kingdom	: Fungi
Domain	: Eukarya
Subkingdom	: Dikarya
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: *Saccharomyces*
Species	: *cerevisiae*



รูปที่ 2.8 ลักษณะเซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae*
ที่มา : http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301 (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

2.6 เชื้อราที่ใช้ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

2.6.1 สัณฐานวิทยาของรา

ราเป็นจุลินทรีย์ยูคาริโอต มีลักษณะเป็นเส้นใย แต่ละเส้น เรียกว่า ไฮฟา จำแนกตามขนาดและผนังกั้น ได้เป็น 2 ชนิด คือ ราชนิดที่มีผนังกั้น (Septate hypha) มีขนาดกว้างประมาณ 1-2 ไมโครเมตร มีผนังกั้นชัดเจน นิวเคลียส (Nucleus) และไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) อยู่เป็นสัดส่วน และราชนิดที่ไม่มีผนังกั้น (Non septate hypha) รามีขนาด 4-10 ไมโครเมตร ไม่มีผนังกั้นนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม เคลื่อนไหวปะปนกัน จะเกิดผนังกั้นได้ เช่น เวลาสืบพันธุ์ หรือสายราขาด แหล่งคาร์บอนของราได้จากคาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดอินทรีย์ ราต้องการไนโตรเจนไปใช้สร้างกรดอะมิโน ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต

2.6.2 การสืบพันธุ์ของรา มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างสปอร์ สปอร์ที่สร้างขึ้นมาจากเส้นใยโดยตรง โดยจะเกิดเยื่อกั้นส่วนปลายของเส้นใย ทำให้เส้นใยส่วนนั้นหลุดได้เป็นท่อนๆ คลาไมโดสปอร์พบเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยจะเกิดขึ้นจากเซลล์ปกติในบริเวณใดบริเวณหนึ่งของเส้นใย และจะมีผนังที่หนาจึงช่วยให้มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดขึ้นยากกว่าการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และต้องการปัจจัยจำเพาะสูง เช่น อาจต้องการสารอาหาร แร่ธาตุ หรือวิตามินบางอย่างเป็นพิเศษ นอกเหนือจากชนิดที่ต้องการในระยะเจริญของเส้นใย ความเป็นกรดด่างของอาหาร และอุณหภูมิที่เหมาะสม สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ pseudofungi พวก oomycetes เรียกว่า โอโอสปอร์ (oospore) สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก zygomycetes เรียกว่า ไซโกสปอร์ (zygospore) สปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก ascomycetes เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) และสปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศของ true fungi พวก basidiomycetes เรียกว่า เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore)

2.6.3 เชื้อรา *Amylomyces rouxii*

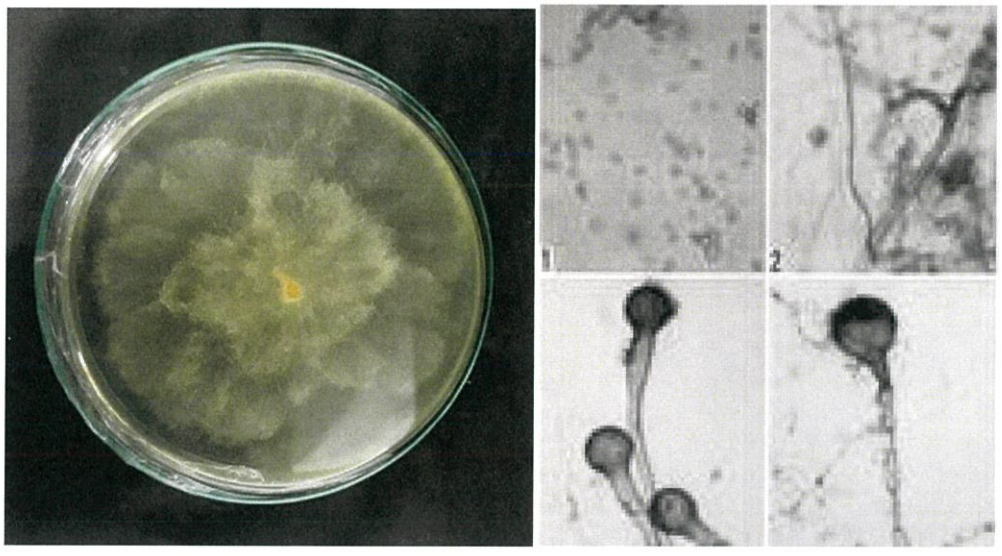
หรือ *Mucor rouxii* เป็นราใน Class Zygomycetes มีลักษณะเป็นวงกลมรี ใส ขนาดประมาณ 2x3 µm มีสีเทาหรือน้ำตาล บริเวณผนังชั้นนอกของสปอร์จะมีโปรตีนและไขมันสะสมอยู่ในปริมาณสูง ในส่วนของชั้นไขมันนั้นพบว่าประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวจำเป็นหลายชนิด คือ palmitic acid (C16:0) palmitoleic acid (C16:1) stearic acid (C18:0) oleic acid (C18:1) linoleic acid (C18:2) และ *Y*-linolenic acid (*Y*-C18:3 หรือ GLA)

การจัดจำแนก

Kingdom	: Fungi
Division	: Zygomycota
Class	: Mucormycotina
Order	: Mucorales
Family	: Mucoraceae
Genus	: *Amylomyces*
Species	: *Amylomyces rouxii*

นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติที่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างในระหว่างการเจริญเติบโตได้ทั้งแบบเส้นใย (mycelium) และแบบเซลล์ยีสต์ (yeast-like) ตามสภาวะแวดล้อมของการเจริญ คุณสมบัติดังกล่าวนี้เป็นข้อได้เปรียบในการเพาะเลี้ยงราชนิดนี้ในถังหมักเพราะจะช่วยลดปัญหาในเรื่องการถ่ายเทออกซิเจนและการส่งผ่านสารอาหารและลดการถูกทำลายของเซลล์เนื่องมาจาก shear force ได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการ

เพาะเลี้ยงลงได้เมื่อเทียบกับราชนิดอื่นๆ (https://www.kmutt.ac.th/rippc/spore.htm; สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)



รูปที่ 2.9 ลักษณะการเจริญและเส้นใยของเชื้อรา *Amylomyces rouxii*
ที่มา : http://elearningsmansa.blogspot.com/2010/10/mengenal-amylomyces-rouxii.html (สืบค้นวันที่ 17 มกราคม 2561)

2.7 กระบวนการหมักเอทานอล

2.7.1 การหมักแบบกะ (Batch Fermentation)

เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิดที่มีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นจำกัดเมื่อใส่จุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงลงในระบบแล้วไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไปอีกจนการหมักเสร็จสิ้นลง

2.7.2 การหมักแบบกึ่งกะ (Fed-Batch Fermentation)

กระบวนการหมักที่เติมสารอาหารต่อเนื่องหลังจากที่ใส่เชื้อเริ่มต้นแล้วโดยไม่มีการถ่ายออก ปริมาตรอาหารจะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา ปัจจุบันการหมักแบบกึ่งกะใช้ในอุตสาหกรรมการหมักต่างๆ เช่น การผลิตยีสต์ทำขนมปัง การผลิตเพนนิซิลิน เป็นต้น

2.7.3 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous Fermentation)

เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิด จำนวนจุลินทรีย์จะรักษาสมดุลโดยการกำจัดน้ำหมักออกไปบางส่วนแล้วแทนที่ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ในอัตราการไหลเดียวกัน ระบบการหมักแบบต่อเนื่องแบ่งเป็น 2 แบบ คือ Chemostat อัตราการป้อนจะถูกตั้งไว้ที่ค่าหนึ่งและอัตราการเจริญของการเพาะเลี้ยงปรับตามอัตราการไหลโดยตั้งลูกสูบที่อัตราการไหลคงที่ และ Turbidostat ค่าความขุ่นของเซลล์จะถูกตั้งไว้ที่ระดับคงที่โดยการปรับอัตราการไหล ต้องใช้ Optical sensingและเครื่องควบคุม (กนกวรรณ, 2004)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Swain และคณะ (2013) ศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *Trichoderma* sp. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณน้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็วด้วยอัตราคงที่ในช่วง 72 ชั่วโมงแรกของการหมัก จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ

เช่นเดียวกัน โดยปริมาณน้ำตาลจะแปรผกผันกับน้ำหนักเซลล์แห้งและเอทานอลที่เพิ่มขึ้น โดยให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 และการใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* กับ *Trichoderma* sp. พบว่า ผลผลิตเอทานอลใกล้เคียงกับการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์เดียวจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า ดังนั้น การใช้เชื้อราสามารถทดแทนเอนไซม์ทางการค้าในการหมักเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งได้

Lee และคณะ (2012) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยกระบวนการหมัก ใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อราตรึงรูปที่สามารถย่อยสลายแป้งได้ คือ *Aspergillus oryzae* และ *Monascus purpureus* ร่วมกับยีสต์ที่ผลิตเอทานอล คือ *S. cerevisiae* ผลที่ได้จากกระบวนการหมักจากการใช้เชื้อร่วมกันของ *S. cerevisiae* กับเชื้อผสม *A. oryzae*และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.84 (โดยปริมาตร) และการใช้ *S. cerevisiae* กับเชื้อผสมระหว่าง *A. oryzae* และ *M. purpureus* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 จะให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 4.08 (โดยปริมาตร)

ศญามล และคณะ (2557) ศึกษาผลของปริมาณแป้งที่มีต่อการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus niger* นั้นจะเตรียมในรูปของอาหารเหลวซึ่งเตรียมได้จากการชั่งแป้งกระจับบด 2 5 10 15 และ 20 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง Peptone 0.2 กรัม Yeast extract 0.2 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 กรัม และ $(NH_4)_2HPO_4$ 0.2 กรัม ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่แต่ละขวด จากนั้นเติมสารละลาย acetate buffer ลงไป 100 มิลลิลิตรแล้วปรับค่า pH ของน้ำหมักให้เหมาะสม เมื่อพิจารณาผลการทดลองจากการย่อยแป้งกระจับที่ความเข้มข้น 2 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตรด้วยเอนไซม์จากเชื้อรา *A. niger* พบว่าปริมาณความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแป้งกระจับเริ่มต้น กล่าวคือ เมื่อใช้ความเข้มข้นของแป้งกระจับสูงขึ้น การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยเอนไซม์จากเชื้อรา *A. niger* ก็จะสูงขึ้นตามไปด้วย การใช้ปริมาณแป้งกระจับเริ่มต้นร้อยละ 15 โดยมวลต่อปริมาตร ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบที่ระยะเวลาการหมักเท่ากัน

Joginder และคณะ (2013) ได้ศึกษาปัจจัยของพีเอชเริ่มต้นในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันฝรั่งโดยกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก ซึ่งใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170 ที่ pH 4.0 - 7.0 และมีการควบคุมให้ปริมาณของแหล่งคาร์บอนเริ่มต้นเป็น 100 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อายุเชื้อ 17 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เก็บผลทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์มีการผลิตไบโอเอทานอลสูงสุดที่pH 6.0 ณ ชั่วโมงที่ 48

ชลดา (2546) ได้ศึกษาการการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596 ใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 89.2 กรัมต่อลิตร เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชของอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ปริมาตร 5 ลิตร ที่บรรจุอยู่ในถังหมักขนาด 10 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิขณะหมักเท่ากับอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน โดยเพาะเซลล์ยีสต์เริ่มต้นจำนวน 3×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงในอาหารสำหรับหมัก ผลการทดลองพบว่ายีสต์ใช้น้ำตาลรวดเร็วในช่วง 18 ชั่วโมงแรกของการหมัก โดยให้เอทานอลสูงสุด 4.91 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่ เวลา 96 ชั่วโมง ประสิทธิภาพการหมักเท่ากับ 93.6 เปอร์เซ็นต์ของค่าทางทฤษฎี

Srichuwong และคณะ (2009) ศึกษากระบวนการหมักโดยระบบ simultaneous saccharification and fermentation (SSF) ของมันเทศที่มีความเข้มข้นสูงเพื่อใช้ผลิตเอทานอล พบว่า มันเทศถูกบดให้เป็นผง

ละเอียดประมาณ 304 กรัมต่อลิตรของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ซึ่งมีความหนืดสูง การลดความหนืดทำได้โดยนำผงมันเทศมาปรับสภาพด้วยเอนไซม์หลายชนิด เช่น เอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส เพื่อทำให้ความหนืดเหมาะสมที่จะนำมาหมักได้ แป้งที่ผ่านการปรับสภาพจะถูกเปลี่ยนไปเป็น maltodextrins (liquefaction) โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้เกิดกระบวนการ simultaneous saccharification and fermentation ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พร้อมกับเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญของยีสต์ โดยสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือ 1.65 AGU ต่อกรัม ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต คือ 30.2 มิลลิโมลาร์ ระยะเวลาในการหมักนาน 61.5 ชั่วโมง โดยใช้ response surface methodology (RSM) ปริมาณเอทานอลที่ได้ 16.61 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) ซึ่งมี ค่าประมาณ 89.7 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตทางทฤษฎี

Apar and Özbek (2004) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชในช่วง 4 – 9 ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ α-amylase ในการย่อยแป้งข้าวโพด ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบของใบกวนที่ 300 รอบต่อนาที พบว่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 6.0 ให้ระดับการย่อยและกิจกรรมของเอนไซม์ที่ร้อยละ 47 และ 17 ตามลำดับ นอกจากนั้น ยังได้ทำการศึกษาในการย่อยแป้งจากข้าวโดยแปรค่าพีเอชในช่วง 4.5 – 8.5 ในสภาวะเดียวกัน พบว่า พีเอชที่เหมาะสมเท่ากับ 6.5 โดยให้ค่าระดับการย่อย และกิจกรรมเอนไซม์สัมพัทธ์ที่ร้อยละ 81.61 และ 79.42 ตามลำดับ

Behera และคณะ (2010) ศึกษาเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลอย่างกว้างขวางเพราะนอกจากจะเป็นยีสต์ที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภคแล้วยังเป็นยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการหมักเอทานอลสูง *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ CTCRI กับแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ MTCC 92 พบว่า เมื่อการหมักสิ้นสุดลงที่ 96 ชั่วโมง *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ CTCRI หมักเอทานอลได้มากกว่า *Zymomonas Mobilis* สายพันธุ์ MTCC 92 ถึง 21.2 เปอร์เซ็นต์ คือ ให้เอทานอล 149 กรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ MTCC 92 หมักได้ 122.9 กรัมต่อกิโลกรัม

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

Amylomyces rouxii TISTR 3182

จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 วัตถุดิบ

มันสำปะหลัง (cassava) ซื้อมาจากตลาดหัวตะเข้ ในช่วงเดือนกันยายน - ตุลาคม 2560

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.3.1 อาหาร Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD) broth

3.3.2 อาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

3.3.3 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

3.3.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

3.3.5 น้ำกลั่นที่มี Tween 80 ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร

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

3.3.7 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน(standard glucose solution) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.8 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0

3.3.9 สารละลายเอนไซม์อะไมเลส (ผลิตจาก *Aspergillus oryzae* มีกิจกรรมเอนไซม์ 37.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัม)

3.3.10 สารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (ผลิตจาก *Aspergillus niger* มีกิจกรรมเอนไซม์ 70 ยูนิตต่อมิลลิกรัม)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

3.4.1 ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 500 มิลลิลิตร

3.4.2 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop) / เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

3.4.3 หลอดทดลอง (Test tube)

3.4.4 กระบอกตวง (Graduated cylinder) ขนาด 100 500 มิลลิลิตร

3.4.5 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

3.4.6 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50 100 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.4.7 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.4.8 จานเพาะเชื้อ (petri dish)

3.4.9 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.4.10 จุกยางดูดสาร (Rubber bulb)

3.4.11 ขวดเก็บตัวอย่าง (Vial) ขนาด 5 มิลลิลิตร

3.4.12 ขวดสีชา ขนาด 150 และ 1,000 มิลลิลิตร
3.4.13 ช้อนตักสาร
3.4.14 ตะแกรงร่อนขนาดรูตะแกรง 500 เมจ
3.4.15 คิวเวต (Cuvette)
3.4.16 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer)
3.4.17 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ยี่ห้อ Contherm polar
3.4.18 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น UN 110 ยี่ห้อ Memmert
3.4.19 เครื่องบด รุ่น SK100/C Gusseisen ยี่ห้อ Retsh
3.4.20 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) รุ่น Hirayama Hiclave HVE-50 ยี่ห้อ Hirayama
3.4.21 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ยี่ห้อ Boss Tech
3.4.22 เครื่องชั่งสารทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น TE214S ยี่ห้อ Sartorius
3.4.23 อ่างน้ำเย็น
3.4.24 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ยี่ห้อ Memmert
3.4.25 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น Schott Mettler toledo Sevencompact
3.4.26 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 200 – 1,000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ GILSON
3.4.27 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette Tips)
3.4.28 ตะเกียงแอลกอฮอล์
3.4.29 ที่วางหลอดทดลอง (Rack)
3.4.30 โถดูดความชื้น (Desiccator)
3.4.31 เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer)
3.4.32 Milipore filter เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอน
3.4.33 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น memmert D 06062 Modell 600 ยี่ห้อ Memmert
3.4.34 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น HERMLE Labortechnik GmbH Siemensstr.25 D-78564 Wehingen ยี่ห้อ HERMLE
3.4.35 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร
3.4.36 กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Light microscope) ยี่ห้อ OLYMPUS
3.4.37 ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar air flow) รุ่น Bio II Advance ยี่ห้อ Telstar
3.4.38 ไมโครเวฟ (Microwave) รุ่น T.D.S. Triple Distribution System ยี่ห้อ SAMSUNG
3.4.39 เครื่องวัดการดูดกลืนของแสง (Spectrophotometer) รุ่น UV-1601 ยี่ห้อ SHIMADZU
3.4.40 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (Gas chromatograph) รุ่น GC-2014 ยี่ห้อ SHIMADZU

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ซื้อมันสำปะหลังจากตลาดหัวตะเข้ ซื้อในช่วงเดือน กันยายน - ตุลาคม 2560 นำมาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่างๆที่ติดที่เปลือกออก จากนั้นนำมาปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นบางๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเพื่อลดความชื้นจนมันสำปะหลังแห้ง นำมันสำปะหลังแห้งมาบดให้เป็นผงละเอียด นำไปร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 500 เมจ จะได้ผงแป้งที่มีอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.026 มิลลิเมตร (https://www.paphavin.com/product/wire-mesh/; สืบค้นวันที่ 18 ธันวาคม 2560)

และเก็บแป้งมันสำปะหลังไว้ในถุงพลาสติกในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลต่อไป (Ray และคณะ, 2015)

3.5.2 การเตรียมสารละลายเอนไซม์

3.5.2.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5

เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต 16.4 กรัม ละลายน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ และเตรียมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ โดยปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 11.55 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์โดยนำสารละลายโซเดียมอะซิเตตปริมาตร 352 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดอะซิติกปริมาตร 148 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 5 (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 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นและการเตรียมอาหารหมักเอทานอล

3.5.3.1 เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งเป็นน้ำตาล *Amylomyces rouxii* TISTR 3182

เลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอียง PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นที่มี Tween 80 ความเข้มข้น ร้อยละ0.1 โดยปริมาตร ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงในหลอดที่มีเชื้อรา *A. rouxii* ใช้เข็มเขี่ยเชื้อขูดเส้นใยเพื่อให้สปอร์ราหลุดออกมาและกรองด้วยกรวยที่บุด้วยสำลี จากนั้นนำสารละลายสปอร์ใส่ลงในฟลาสก์ เก็บตัวอย่างส่วนหนึ่งมานับจำนวนสปอร์ด้วย Haemacytometer ให้มีจำนวนสปอร์ 1×10^7-1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร (นวพร และคณะ, 2559)

3.5.3.2 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

เลี้ยงบนอาหารแข็งเอียง YPD ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบดังนี้ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัด ร้อยละ 1.0 เปปโตน ร้อยละ 2.0 กลูโคส ร้อยละ 2.0 ผงวุ้น ร้อยละ 1.7 พีเอช 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Lee และคณะ, 2012) จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์ 1 - 2 ลูป ลงในอาหารเหลว YPD ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Sridhar และคณะ, 2002) เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสง (optical density , OD) 0.5 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ 10^6 CFU/ml (นวพร และคณะ, 2559)

3.5.3.3 อาหารหมักเอทานอล

ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลังและเติมแร่ธาตุ (โดยปริมาตร) ดังนี้ แอมโมเนียมซัลเฟต($(NH_4)_2SO_4$) ความเข้มข้นร้อยละ 3 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต(KH_2PO_4)) ความเข้มข้นร้อยละ 1 แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โพแทสเซียมคลอไรด์(KCl)) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และเฟอริกคลอไรด์($FeCl_3$)) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Ghosh และคณะ, 1991) ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยในระหว่างการให้ความร้อนต้องคนสารละลายตลอดเวลา นำสารละลายใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

3.5.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)

3.5.4.1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 และ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เติมสารอาหารและแร่ธาตุเหมือนกับหัวข้อ 3.5.3.3 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยในระหว่างการให้ความร้อนคนสารละลายตลอดเวลา นำสารละลายแป้งใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ปิเปตสารละลายของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (ซึ่งเตรียมได้จากหัวข้อ 3.5.3.2) ร้อยละ10 โดยปริมาตร ผสมกับสารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 (ซึ่งเตรียมได้จากหัวข้อ 3.5.3.1) ร้อยละ10 โดยปริมาตร (โดยมีอัตราส่วนของสารละลายเชื้อยีสต์ ต่อ สารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา เท่ากับ1:1) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส (Dinitrosalicylic method) (Miller, 1952) และวัดค่าพีเอชของน้ำหมักด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) ศึกษาอัตราผลผลิตเอทานอล (Productivity, Q_p) รวมทั้งผลได้เอทานอล (Yield, $Y_{p/s}$) โดยมีสมการในการคำนวณดังนี้ (ลักขณา และคณะ, 2550)

$$Q_p = \frac{\text{ปริมาณเอทานอลสูงสุด (กรัมต่อลิตร)} - \text{ปริมาณเอทานอลเริ่มต้น(กรัมต่อลิตร)}}{\text{ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)}}$$

$$Y_{p/s} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้(กรัมต่อลิตร)}}{\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้(กรัมต่อลิตร)}}$$

หมายเหตุ : P คือ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ (กรัมต่อลิตร)

t คือ เวลาของการผลิตเอทานอลที่ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด

คัดเลือกความเข้มข้นของแป้งซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.5.4.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้น

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังมีความเข้มข้นที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.1 เติมสารอาหารและแร่ธาตุเช่นดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1 จากนั้นนำมาปรับพีเอชต่าง ๆ ดังนี้ พีเอช 4 5 และ 6 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ10 โดยปริมาตร และ สารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร้อยละ10 โดยปริมาตร (โดยมีอัตราส่วนของสารละลายเชื้อยีสต์ ต่อ สารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา เท่ากับ1:1) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1

คัดเลือกพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.5.4.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังมีความเข้มข้นที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.1 เติมสารอาหารและแร่ธาตุเช่นดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1 จากนั้นนำมาปรับพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.2 นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นศึกษาอัตราส่วนของเชื้อราต่อเชื้อยีสต์ ดังนี้ 1:1 2:1 4:1 6:1 1:2 และ 1:4 (สารละลายเชื้อผสมของเชื้อราและเชื้อยีสต์ผสมกันคิดเป็นร้อยละ 20 โดยปริมาตร) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1

คัดเลือกการใช้อัตราส่วนระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่ทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูง มาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.5.5 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า

3.5.5.1 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังมีความเข้มข้นที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.1 เติมสารอาหารและแร่ธาตุเช่นดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1 จากนั้นนำมาปรับพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.2 นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ สารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ในอัตราส่วนที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.3 หมักในสภาวะ

เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1

3.5.5.2 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังมีความเข้มข้นที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.1 เติมสารอาหารและแร่ธาตุเช่นดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1 จากนั้นนำมาปรับพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.2 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 -100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยในระหว่างการให้ความร้อนคนสารละลายตลอดเวลา นำสารละลายแป้งใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 80 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส(เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *A. oryzae* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 37.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง เติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส(เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 70 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมกับเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.4.1

เปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้เชื้อผสมของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล รวมทั้งประสิทธิภาพในการหมัก (Productivity) ของกระบวนการหมักทั้งสองแบบ

ขั้นตอนที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีจำนวนซ้ำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ทางสถิติ

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)

4.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท

จากการศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยอัตราส่วนสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา ต่อ สารละลายเชื้อยีสต์ เท่ากับ 1:1 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นของซับสเตรท (แป้งมันสำปะหลัง) ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ความเข้มข้นร้อยละ (น้ำหนักต่อปริมาตร) 4 6 8 และ 10 พบว่า การใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ10 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด คือ 25.06 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมาเป็นการใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 6 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 24.86 ± 0.04 23.42 ± 0.04 และ 22.53 ± 0.11 ในชั่วโมงที่ 48 แสดงดังตารางที่ 4.1 และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การใช้ซับสเตรทที่ความเข้มข้น ร้อยละ 10 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p<0.05$) กับการใช้ซับสเตรทความเข้มข้นร้อยละ 8 6 และ 4 และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 จะลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นลดลงเล็กน้อย แสดงดังรูปที่ 4.2 สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารหมัก พบว่า การใช้ซับสเตรท ร้อยละ 4 6 8 และ 10 มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ จะลดลงเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของศญามลและคณะ (2557) ได้ศึกษาผลของปริมาณแป้งที่มีผลต่อการผลิตไบโอเอทานอลโดยใช้ปริมาณแป้งที่แตกต่างกัน คือ ปริมาณแป้ง 2 5 10 15 และ 20 กรัม พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งที่มากขึ้น Meenakshi และคณะ (2014) ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากข้าวโพดและเปลือกมันฝรั่งโดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอล คือ ความเข้มข้นร้อยละ10 เช่นเดียวกัน Ji และคณะ (2015) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเศษมันฝรั่งและเฟอฟูรอลเหลือทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ ร้อยละ 6 8 12 และ 20 พบว่า ความเข้มข้นของสารตั้งต้นร้อยละ 6 ถึง 12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น เมื่อสารตั้งต้นมีความเข้มข้น ร้อยละ 20 ปริมาณเอทานอลจะลดลง เนื่องจากอาหารมีความหนืดสูงและปริมาณน้ำตาลที่มากเกินไปอาจมีผลต่อการเจริญของเชื้อ

ดังนั้น จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า การใช้สารละลายแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดจึงใช้เป็นซับสเตรทในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

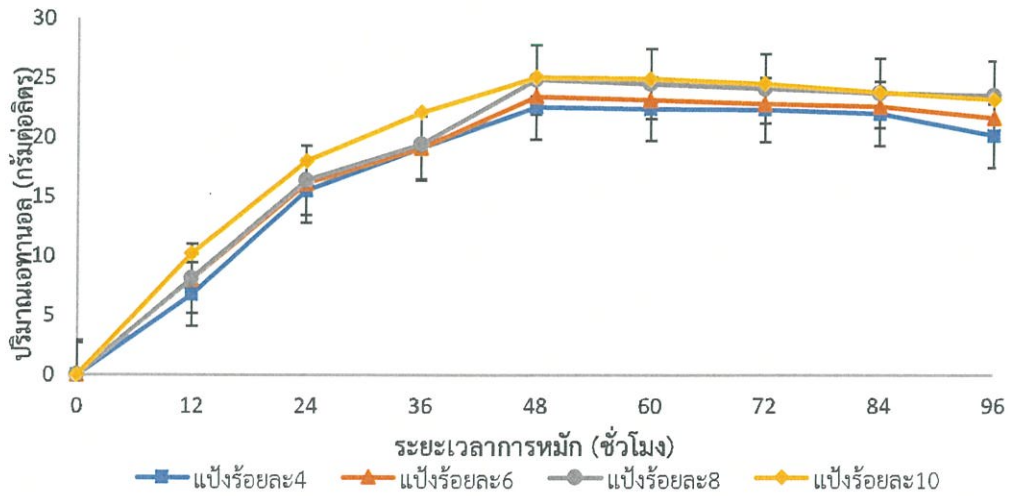
ตารางที่ 4.1 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลที่ได้ (กรัมต่อลิตร)			
	แป้งร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 6 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
0	0.00 ± 0.00 ^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
12	6.77 ± 0.05 ^{c}	8.05 ± 0.03 ^{b}	8.12 ± 0.03 ^{b}	10.20 ± 0.04 ^{a}
24	15.50 ± 0.11 ^{d}	16.10 ± 0.04 ^{c}	16.37 ± 0.04 ^{b}	17.97 ± 0.08 ^{a}
36	19.07 ± 0.05 ^{c}	19.04 ± 0.03 ^{c}	19.40 ± 0.05 ^{b}	22.08 ± 0.04 ^{a}
48	22.53 ± 0.11 ^{d}	23.42 ± 0.04 ^{c}	24.86 ± 0.04 ^{b}	25.06 ± 0.03 ^{a}
60	22.41 ± 0.03 ^{d}	23.09 ± 0.04 ^{c}	24.51 ± 0.03 ^{b}	24.91 ± 0.05 ^{a}
72	22.34 ± 0.04 ^{d}	22.78 ± 0.04 ^{c}	24.09 ± 0.04 ^{b}	24.52 ± 0.03 ^{a}
84	21.97 ± 0.05 ^{c}	22.59 ± 0.03 ^{b}	23.74 ± 0.05 ^{a}	23.79 ± 0.04 ^{a}
96	20.12 ± 0.03 ^{d}	21.63 ± 0.06 ^{c}	23.52 ± 0.04 ^{a}	23.22 ± 0.03 ^{b}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

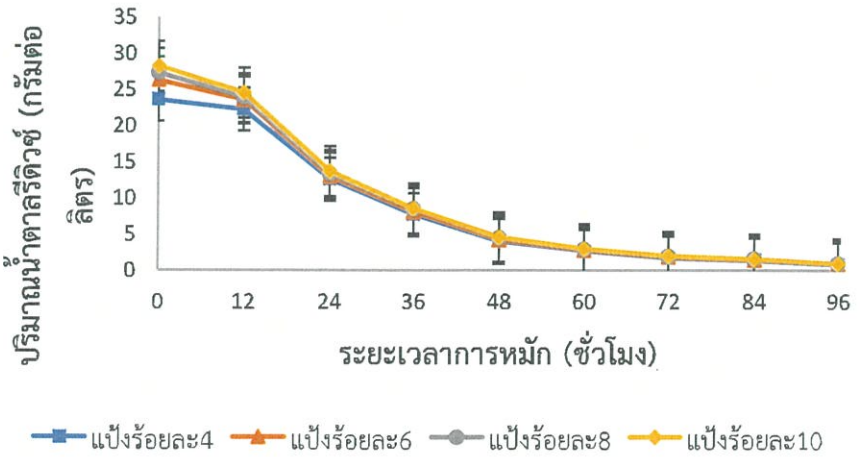


รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	แป้งร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 6 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
0	23.65 ± 0.38 ^{d}	26.34 ± 0.18 ^{c}	27.36 ± 0.18 ^{b}	28.25 ± 0.22 ^{a}
12	22.32 ± 0.11 ^{c}	23.60 ± 0.32 ^{b}	23.92 ± 0.07 ^{b}	24.61 ± 0.15 ^{a}
24	12.66 ± 0.20 ^{d}	13.05 ± 0.06 ^{c}	13.38 ± 0.04 ^{b}	13.76 ± 0.02 ^{a}
36	7.78 ± 0.11 ^{d}	8.15 ± 0.03 ^{c}	8.44 ± 0.04 ^{b}	8.61 ± 0.07 ^{a}
48	4.13 ± 0.03 ^{d}	4.28 ± 0.08 ^{c}	4.45 ± 0.03 ^{b}	4.65 ± 0.02 ^{a}
60	2.68 ± 0.03 ^{a}	2.85 ± 0.02 ^{a}	2.65 ± 0.47 ^{a}	3.00 ± 0.02 ^{a}
72	1.76 ± 0.02 ^{d}	1.85 ± 0.01 ^{c}	1.92 ± 0.02 ^{b}	2.03 ± 0.02 ^{a}
84	1.45 ± 0.02 ^{d}	1.50 ± 0.01 ^{c}	1.55 ± 0.01 ^{b}	1.59 ± 0.01 ^{a}
96	0.88 ± 0.01 ^{c}	0.90 ± 0.01 ^{b}	0.91 ± 0.00 ^{b}	0.94 ± 0.01 ^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

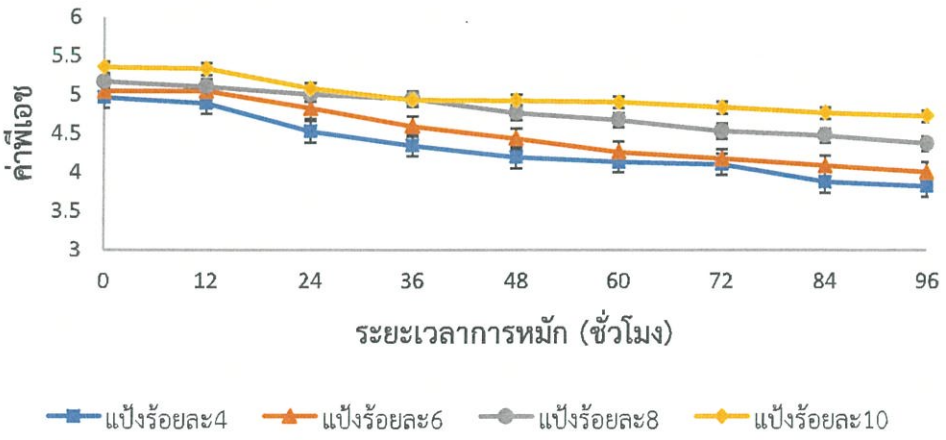


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.3 ค่าพีเอชกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช			
	แป้งร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 6 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อปริมาตร)	แป้งร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
0	4.96 ± 0.15 ^{c}	5.05 ± 0.02 ^{bc}	5.17 ± 0.02 ^{b}	5.35 ± 0.02 ^{a}
12	4.89 ± 0.01 ^{d}	5.04 ± 0.02 ^{c}	5.10 ± 0.02 ^{b}	5.32 ± 0.02 ^{a}
24	4.52 ± 0.03 ^{d}	4.82 ± 0.04 ^{c}	5.00 ± 0.06 ^{b}	5.07 ± 0.02 ^{a}
36	4.34 ± 0.03 ^{c}	4.59 ± 0.03 ^{b}	4.94 ± 0.02 ^{a}	4.93 ± 0.03 ^{a}
48	4.19 ± 0.04 ^{d}	4.43 ± 0.05 ^{c}	4.76 ± 0.02 ^{b}	4.92 ± 0.02 ^{a}
60	4.13 ± 0.04 ^{d}	4.26 ± 0.06 ^{c}	4.67 ± 0.04 ^{b}	4.90 ± 0.02 ^{a}
72	4.10 ± 0.04 ^{c}	4.16 ± 0.02 ^{c}	4.59 ± 0.08 ^{b}	4.90 ± 0.03 ^{a}
84	3.87 ± 0.04 ^{d}	4.08 ± 0.04 ^{c}	4.47 ± 0.05 ^{b}	4.76 ± 0.03 ^{a}
96	3.82 ± 0.03 ^{d}	4.00 ± 0.04 ^{c}	4.37 ± 0.04 ^{b}	4.72 ± 0.02 ^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทที่แตกต่างกัน

4.1.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก

จากการศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *A. rouxii* TISTR 3182 ด้วยอัตราส่วน 1:1 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ 10 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็นพีเอช 4.0 5.0 6.0 และ ไม่ปรับพีเอช (พีเอช 6.25) จากผลการศึกษา พบว่า ในแต่ละชุดการทดลองเมื่อใช้น้ำหมักที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกันจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลที่แตกต่างกัน โดยน้ำหมักที่ปรับค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับพีเอช 6 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 25.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือ ไม่ปรับพีเอช พีเอช 5 และ พีเอช 4 โดยให้ปริมาณเอทานอลเป็น 24.73 ± 0.03 24.70 ± 0.05 และ 22.78 ± 0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 48 แสดงดังตารางที่ 4.4 และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การใช้อาหารหมักที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเป็นพีเอช 6 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p<0.05$) กับการใช้พีเอชอื่นๆ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 จะลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นลดลงเล็กน้อย แสดงดังรูปที่ 4.5 สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารหมัก พบว่า การใช้อาหารหมักที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ จะลดลงเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.6ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Joginder และคณะ (2013) ได้ศึกษาปัจจัยของพีเอชเริ่มต้นในกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันฝรั่งโดยกระบวนการย่อยพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-170 ที่ พีเอช 4.0 - 7.0 และมีการควบคุมให้ปริมาณของซับสเตรทเริ่มต้นเป็น 100 กรัมต่อลิตร หมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อายุเชื้อ 17 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เก็บผลทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์สามารถเจริญเติบโตและผลิตไบโอเอทานอลได้ดีในช่วง พีเอช 6.0 ที่ชั่วโมงที่ 48 เช่นเดียวกับเยาวลักษณ์ (2524) ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวฟ่างโดยใช้ลูกแป้งและเชื้อบริสุทธ์ของราบางสายพันธุ์และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* (Y-90) พบว่า เชื้อยีสต์ *Saccharomyces* (Y-90) สามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่พีเอชของน้ำหมักเท่ากับ 5.5-6.0

นอกจากนี้ พบว่า อาหารที่ปรับพีเอชเริ่มต้นด้วยพีเอชต่ำจะให้ปริมาณเอทานอลต่ำ เนื่องจากค่าความเป็นกรดทำให้เชื้อรามีอัตราการเจริญลดลง จึงส่งผลให้ผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้น้อยจึงส่งผลให้เกิดน้ำตาลกลูโคสจากแป้งซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลได้ในปริมาณน้อย ดังนั้น จึงไม่ควรปรับค่าพีเอชเริ่มต้นให้สูงหรือต่ำจนเกินไป เนื่องจากค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการผลิตเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ (Clarence และ Emmanuel, 2010)

ดังนั้น จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า น้ำหมักที่ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด จึงนำมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

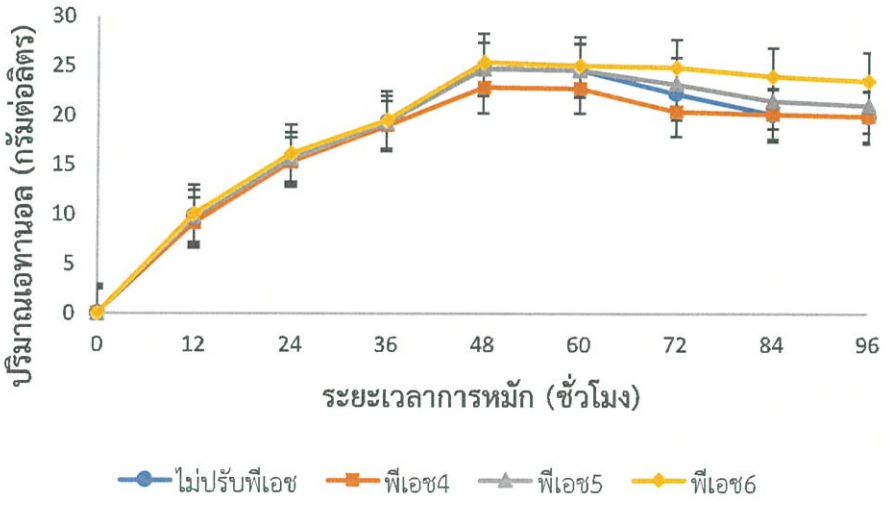
ตารางที่ 4.4 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลที่ได้จากอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน (กรัมต่อลิตร)			
	ไม่ปรับค่าพีเอช	พีเอช 4	พีเอช 5	พีเอช 6
0	0.00 ± 0.00^{ab}	0.00 ± 0.00^{b}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{ab}
12	9.83 ± 0.01^{b}	9.14 ± 0.02^{d}	9.70 ± 0.05^{c}	10.05 ± 0.05^{a}
24	15.62 ± 0.06^{b}	15.27 ± 0.04^{c}	15.59 ± 0.14^{b}	16.17 ± 0.04^{a}
36	19.32 ± 0.03^{b}	18.95 ± 0.06^{c}	19.25 ± 0.05^{b}	19.50 ± 0.03^{a}
48	24.73 ± 0.03^{b}	22.78 ± 0.06^{c}	24.70 ± 0.05^{b}	25.36 ± 0.03^{a}
60	24.57 ± 0.04^{b}	22.70 ± 0.02^{c}	24.58 ± 0.03^{b}	25.04 ± 0.03^{a}
72	22.23 ± 0.03^{c}	20.38 ± 0.03^{d}	23.16 ± 0.02^{b}	24.82 ± 0.05^{a}
84	20.08 ± 0.04^{c}	20.11 ± 0.02^{c}	21.44 ± 0.02^{b}	23.96 ± 0.09^{a}
96	19.86 ± 0.04^{c}	19.91 ± 0.08^{c}	21.01 ± 0.03^{b}	23.46 ± 0.06^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

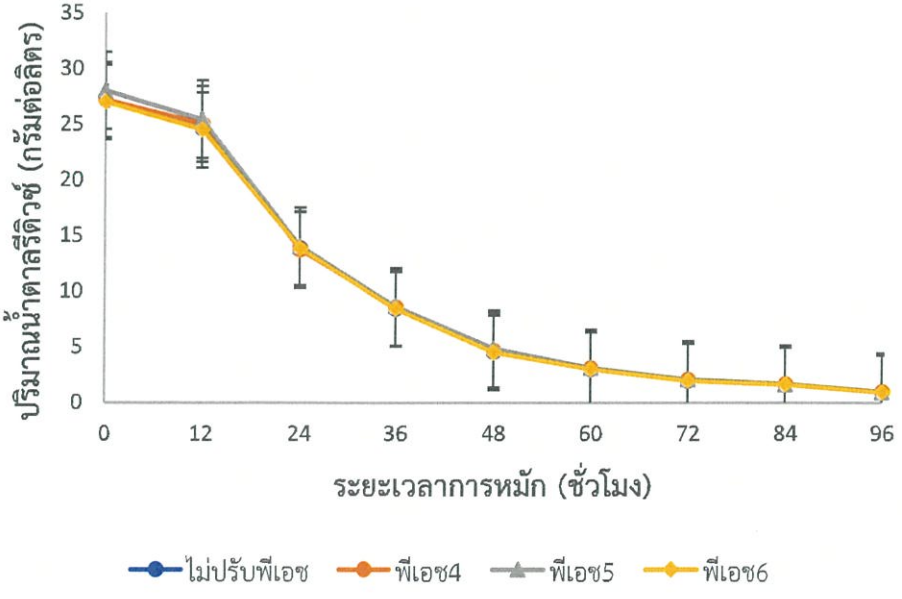
ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ไม่ปรับค่าพีเอช	พีเอช 4	พีเอช 5	พีเอช 6
0	27.17 ± 0.36^{b}	27.20 ± 0.11^{b}	28.05 ± 0.25^{a}	27.01 ± 0.40^{b}
12	24.65 ± 0.19^{c}	25.03 ± 0.13^{b}	25.47 ± 0.15^{a}	24.52 ± 0.17^{c}
24	13.88 ± 0.08^{b}	13.73 ± 0.10^{b}	14.06 ± 0.09^{a}	13.85 ± 0.05^{b}
36	8.47 ± 0.09^{b}	8.54 ± 0.08^{ab}	8.65 ± 0.03^{a}	8.43 ± 0.07^{b}
48	4.55 ± 0.04^{c}	4.65 ± 0.05^{b}	4.86 ± 0.07^{a}	4.53 ± 0.03^{c}
60	3.02 ± 0.04^{b}	3.06 ± 0.01^{b}	3.12 ± 0.03^{a}	3.01 ± 0.03^{b}
72	1.97 ± 0.01^{c}	2.00 ± 0.02^{b}	2.09 ± 0.01^{a}	1.96 ± 0.02^{c}
84	1.61 ± 0.02^{b}	1.64 ± 0.01^{a}	1.65 ± 0.01^{a}	1.61 ± 0.01^{b}
96	0.94 ± 0.01^{a}	0.96 ± 0.04^{a}	0.96 ± 0.01^{a}	0.94 ± 0.01^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

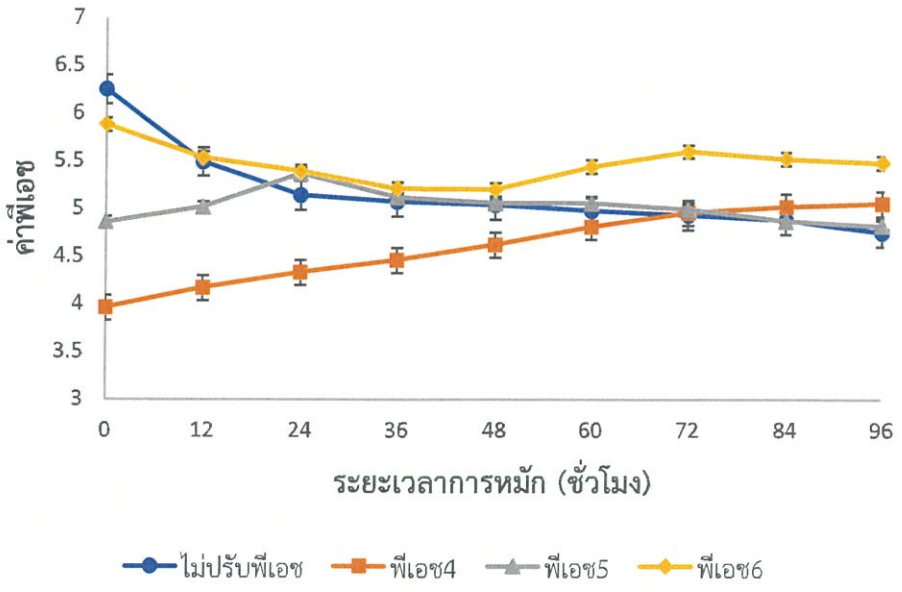


รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.6 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช			
	ไม่ปรับค่าพีเอช	พีเอช 4	พีเอช 5	พีเอช 6
0	6.25 ± 0.03^{a}	3.96 ± 0.02^{d}	4.86 ± 0.01^{c}	5.88 ± 0.08^{b}
12	5.49 ± 0.03^{a}	4.17 ± 0.04^{c}	5.02 ± 0.06^{b}	5.53 ± 0.02^{a}
24	5.14 ± 0.02^{b}	4.33 ± 0.03^{c}	5.37 ± 0.03^{a}	5.39 ± 0.03^{a}
36	5.07 ± 0.03^{b}	4.46 ± 0.06^{c}	5.12 ± 0.02^{b}	5.21 ± 0.04^{a}
48	5.04 ± 0.02^{b}	4.62 ± 0.05^{c}	5.06 ± 0.04^{b}	5.20 ± 0.03^{a}
60	4.98 ± 0.04^{b}	4.81 ± 0.07^{c}	5.06 ± 0.02^{b}	5.44 ± 0.05^{a}
72	4.93 ± 0.03^{ab}	4.96 ± 0.04^{a}	4.98 ± 0.05^{a}	4.87 ± 0.02^{b}
84	4.88 ± 0.04^{c}	5.03 ± 0.06^{b}	4.87 ± 0.02^{c}	5.52 ± 0.05^{a}
96	4.75 ± 0.03^{d}	5.05 ± 0.04^{b}	4.82 ± 0.03^{c}	5.48 ± 0.04^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน

4.1.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

จากการศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยเติมสารละลายเชื้อผสมของเชื้อราและเชื้อยีสต์ร้อยละ 20 โดยปริมาตร ในอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ อัตราส่วน 1:1 2:1 4:1 6:1 1:2 และ 1:4 โดยปริมาตร พบว่า ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ระยะแรกของการหมักปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 จากนั้นปริมาณเอทานอลจะลดลงเล็กน้อยและคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก โดยอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ 2:1 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 25.57 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ปริมาณเอทานอลสูงสุดรองลงมา คือ การใช้อัตราส่วน 4:1 6:1 1:1 1:4 1:2 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 25.39 ± 0.05 25.26 ± 0.04 25.14 ± 0.04 24.62 ± 0.02 24.40 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.7และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การใช้อัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ 2:1 ให้ปริมาณเอทานอลสุงสุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อัตราส่วนของเชื้ออื่นๆ และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 จะลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นลดลงเล็กน้อย แสดงดังรูปที่ 4.8 ซึ่งอัตราส่วนเชื้อราที่มากกว่าเชื้อยีสต์ในอัตราส่วน 2:1 4:1 และ 6:1 จะใช้น้ำตาลได้เร็วกว่าอัตราส่วนเชื้อราที่น้อยกว่ายีสต์ในอัตราส่วน 1:2 และ 1:4 เนื่องจาก เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งได้เป็นน้ำตาลซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเอทานอล จากนั้นเชื้อยีสต์จึงใช้น้ำตาลผลิตเอทานอล ในทางกลับกัน อัตราส่วนเชื้อราที่น้อยกว่ายีสต์จะย่อยแป้งได้ช้าในระยะแรกของการหมักอาหารจึงมีความหนืดส่งผลต่อการเข้าถึงสารอาหารของเชื้อ ปริมาณอากาศที่ได้รับ และปฏิกิริยาระหว่างเซลล์ ทำให้เกิดการผลิตเอทานอลได้ปริมาณน้อย แต่ถ้ามีปริมาณเชื้อราที่มากเกินไปอาจมีการแย่งกลูโคสซึ่งเป็นซับสเตรทและแหล่งพลังงานที่ใช้ในการเจริญ (Laluce และคณะ, 2009) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารหมัก พบว่ามีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ จะลดลงเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.9 จากผลการศึกษาพบว่าการใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วน 2:1 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการใช้อัตราส่วนอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lee และคณะ (2012) ได้ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อราตรึงรูปที่สามารถย่อยสลายแป้งได้ คือ *A. oryzae* และ *M. Purpureus* กับ *S. cerevisiae* ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 4.08 (โดยปริมาตร)

ดังนั้น จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า การใช้อัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ 2:1 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดจึงนำมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

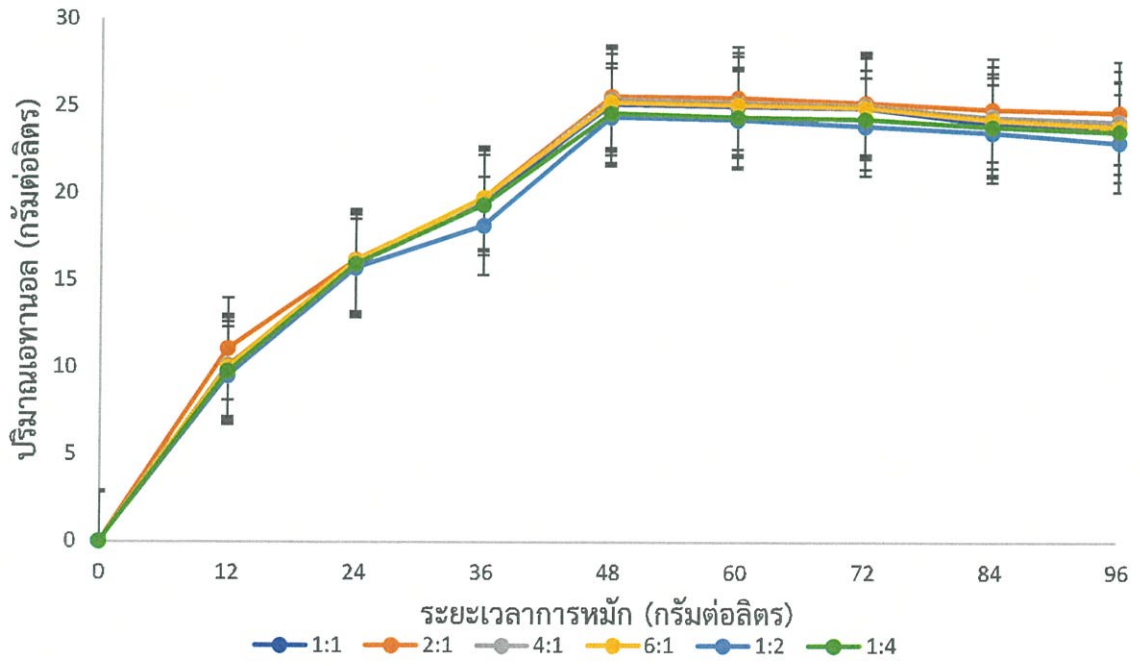
ตารางที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลที่ได้จากอัตราส่วน *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (กรัมต่อลิตร)					
	1:1	2:1	4:1	6:1	1:2	1:4
0	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{a}
12	9.95±0.03^{c}	11.08±0.50^{a}	10.12±0.03^{b}	10.03±0.03^{b}	9.53±0.06^{e}	9.76±0.07^{d}
24	16.02 ±0.03^{b}	16.17±0.03^{a}	15.95±0.03^{c}	16.12±0.02^{a}	15.72±0.04^{d}	15.95±0.03^{c}
36	19.58±0.07^{b}	19.75±0.05^{a}	19.70±0.04^{a}	19.73±0.05^{a}	18.15±0.04^{d}	19.34±0.02^{c}
48	25.14±0.04^{d}	25.57±0.05^{a}	25.39±0.05^{b}	25.26±0.04^{c}	24.40±0.03^{f}	24.62±0.02^{e}
60	25.02±0.05^{d}	25.49±0.04^{a}	25.19±0.04^{b}	25.11±0.05^{c}	24.26±0.03^{f}	24.40±0.03^{e}
72	24.92±0.04^{c}	25.20±0.03^{a}	25.03±0.06^{b}	24.95±0.03^{c}	23.87±0.05^{e}	24.28±0.04^{d}
84	24.01±0.04^{d}	24.83±0.03^{a}	24.41±0.02^{b}	24.25±0.05^{c}	23.49±0.04^{f}	23.84±0.04^{e}
96	23.59±0.04^{d}	24.66±0.05^{a}	24.13±0.05^{b}	23.84±0.03^{c}	22.93±0.02^{e}	23.56±0.06^{d}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของเชื้อทั้งสองที่แตกต่างกัน

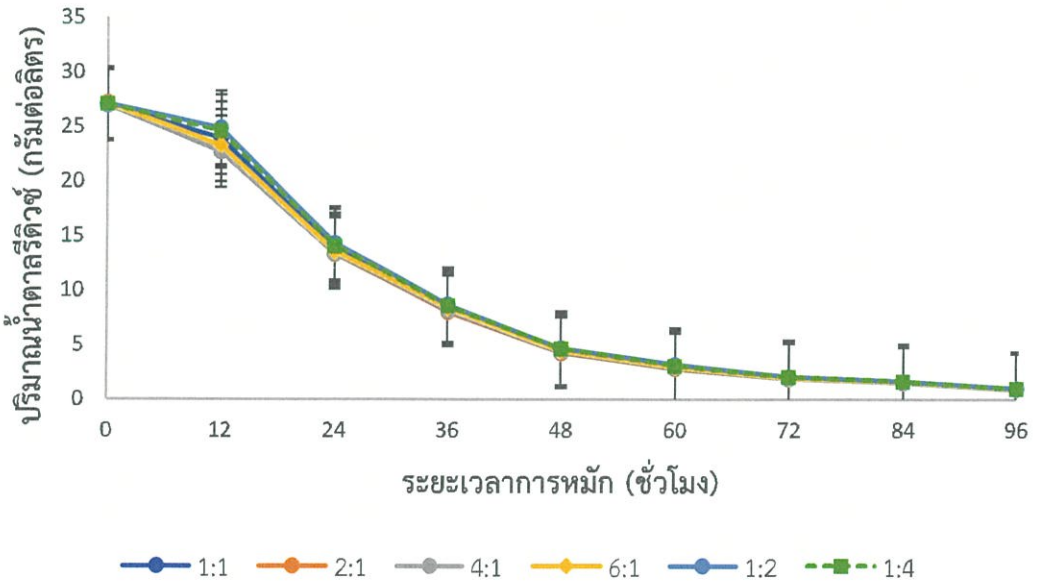
ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	1:1	2:1	4:1	6:1	1:2	1:4
0	26.98±0.22^{a}	27.22±0.47^{a}	27.20±0.39^{a}	27.12±0.27^{a}	27.10±0.29^{a}	27.05±0.22^{a}
12	23.96±0.39^{bc}	22.78±0.25^{c}	22.70±0.32^{c}	23.28±0.20^{c}	24.89±0.19^{ab}	25.58±1.69^{a}
24	13.78±0.13^{b}	13.31±0.20^{d}	13.39±0.10^{cd}	13.57±0.05^{bc}	14.33±0.06^{a}	14.11±0.14^{a}
36	8.36 ± 0.15^{bc}	8.00 ± 0.07^{d}	8.15 ± 0.04^{cd}	8.35 ± 0.18^{bc}	8.67 ± 0.14^{a}	8.58±0.17^{ab}
48	4.52 ± 0.02^{b}	4.24 ± 0.04^{e}	4.33 ± 0.06^{d}	4.43 ± 0.05^{c}	4.69 ± 0.04^{a}	4.65 ± 0.03^{a}
60	3.01 ± 0.06^{c}	2.80 ± 0.02^{d}	2.86 ± 0.02^{d}	2.96 ± 0.05^{c}	3.16 ± 0.03^{a}	3.08 ± 0.04^{b}
72	1.97 ± 0.01^{b}	1.87 ± 0.04^{d}	1.90 ± 0.01^{cd}	1.95 ± 0.03^{bc}	2.06 ± 0.03^{a}	2.04 ± 0.04^{a}
84	1.59 ± 0.01^{c}	1.54 ± 0.02^{e}	1.56 ± 0.02^{de}	1.58 ± 0.02^{cd}	1.66 ± 0.01^{a}	1.63 ± 0.02^{b}
96	0.96 ± 0.01^{bc}	0.91 ± 0.01^{d}	0.92 ± 0.01^{d}	0.94 ± 0.01^{cd}	1.02 ± 0.03^{a}	0.98 ± 0.01^{b}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของเชื้อทั้งสองที่แตกต่างกัน

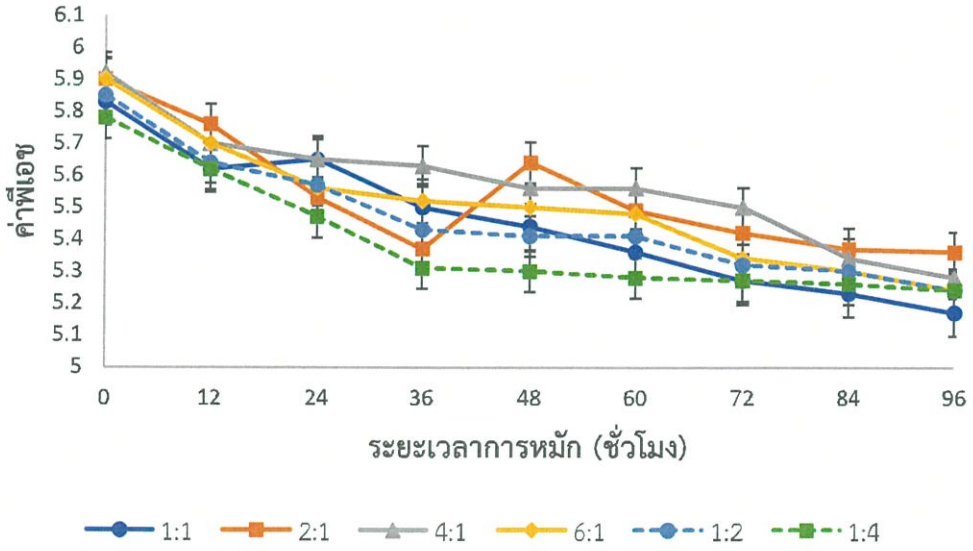
ตารางที่ 4.9 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วนของหัวเชื้อที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช					
	1:1	2:1	4:1	6:1	1:2	1:4
0	5.68±0.27^{a}	5.90±0.10^{a}	5.92±0.03^{a}	5.90±0.04^{a}	5.85±0.02^{a}	5.78±0.04^{a}
12	5.62±0.08b^{c}	5.75±0.02^{a}	5.63±0.02b^{c}	5.56±0.03^{c}	5.64±0.02^{b}	5.62±0.01^{bc}
24	5.27±0.06^{d}	5.53±0.02^{b}	5.65±0.04^{a}	5.70±0.02^{a}	5.43±0.02^{c}	5.30±0.03^{d}
36	5.23±0.04^{d}	5.37±0.07^{c}	5.56±0.04^{a}	5.30±0.04^{cd}	5.56±0.03^{a}	5.47±0.01^{b}
48	5.17±0.02^{e}	5.64±0.03^{b}	5.70±0.03^{a}	5.21±0.03d^{e}	5.32±0.03^{c}	5.27±0.06^{cd}
60	5.36±0.04b^{c}	5.60±0.02^{a}	5.56±0.03^{a}	5.34±0.01^{c}	5.41±0.04^{b}	5.31±0.03^{c}
72	5.65±0.08^{a}	5.49±0.03^{b}	5.50±0.03^{b}	5.52±0.03^{b}	5.41±0.02^{c}	5.28±0.03^{d}
84	5.50±0.04^{a}	5.42±0.02^{b}	5.31±0.01^{c}	5.50±0.02^{a}	5.30±0.01^{cd}	5.26±0.03^{d}
96	5.44±0.05^{a}	5.36±0.03^{b}	5.28±0.03^{c}	5.48±0.02^{a}	5.24±0.02^{c}	5.24±0.03^{c}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.9 ค่าพีเอชในระหว่างการหมักเอทานอลด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอาหารที่ใช้อัตราส่วนของเชื้อทั้งสองที่แตกต่างกัน

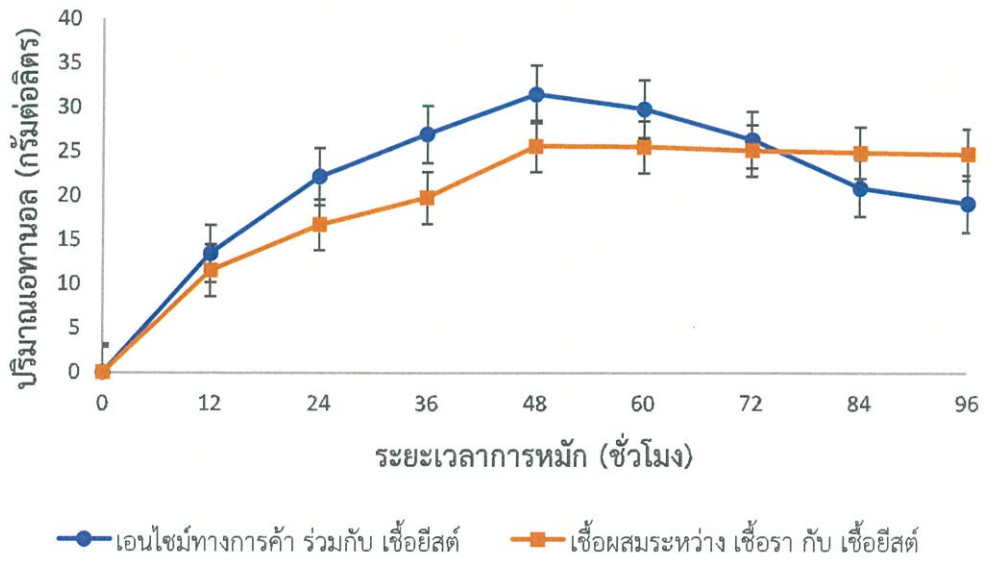
4.2 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า

จากการศึกษากระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม โดยเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เติมสารอาหารและแร่ธาตุ จากนั้นนำมาปรับค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับพีเอช 6 นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ สารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วน 2:1 (ปริมาณหัวเชื้อผสม 20 มิลลิลิตร) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เทียบกับ กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยเตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นร้อยละ10 เติมสารอาหารและแร่ธาตุจากนั้นนำมาปรับค่าพีเอชเริ่มต้น เท่ากับพีเอช 6 นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *A. oryzae* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 37.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง วางไว้ให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง เติมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (เอนไซม์ทางการค้าผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* มีกิจกรรมของเอนไซม์ 70 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมกับเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง จากการทดลอง พบว่า ชุดการทดลองที่ใช้เอนไซม์ทางการค้าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่า ชุดการทดลองที่ใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 จึงส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 31.52 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่ชุดการทดลองที่ใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ให้ปริมาณเอทานอล 25.62 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 แสดงดังตารางที่ 4.10 และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การใช้เอนไซม์ทางการค้าให้ปริมาณเอทานอลสูงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับปริมาณเอทานอลที่ได้จากการใช้เชื้อผสม และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 48 จะลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นลดลงเล็กน้อย แสดงดังรูปที่ 4.11 สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารหมัก พบว่า มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ จะลดลงเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.12 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Srichuwong และคณะ (2009) ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลโดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) ของมันเทศ ทำได้โดยนำมันเทศมาบดให้เป็นผงละเอียดประมาณ 304 กรัมต่อลิตรของคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ จากนั้นเข้าสู่กระบวนการ liquefaction โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำให้เกิดกระบวนการ simultaneous saccharification and fermentation ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พร้อมกับเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเติมแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญของยีสต์ หมักนาน 61.5 ชั่วโมง ได้ปริมาณเอทานอล 16.61 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) ซึ่งมีค่าประมาณ 89.7 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตทางทฤษฎี

ตารางที่ 4.10 ปริมาณเอทานอลในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอลที่ได้ (กรัมต่อลิตร)	
	เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088	*A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
0	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
12	13.46 ± 0.04^{a}	11.56 ± 0.04^{b}
24	22.18 ± 0.03^{a}	16.73 ± 0.09^{b}
36	26.99 ± 0.05^{a}	19.81 ± 0.09^{b}
48	31.52 ± 0.04^{a}	25.62 ± 0.03^{b}
60	29.87 ± 0.06^{a}	25.55 ± 0.07^{b}
72	26.36 ± 0.04^{a}	25.16 ± 0.04^{b}
84	20.90 ± 0.06^{b}	24.92 ± 0.03^{a}
96	19.15 ± 0.04^{b}	24.72 ± 0.03^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

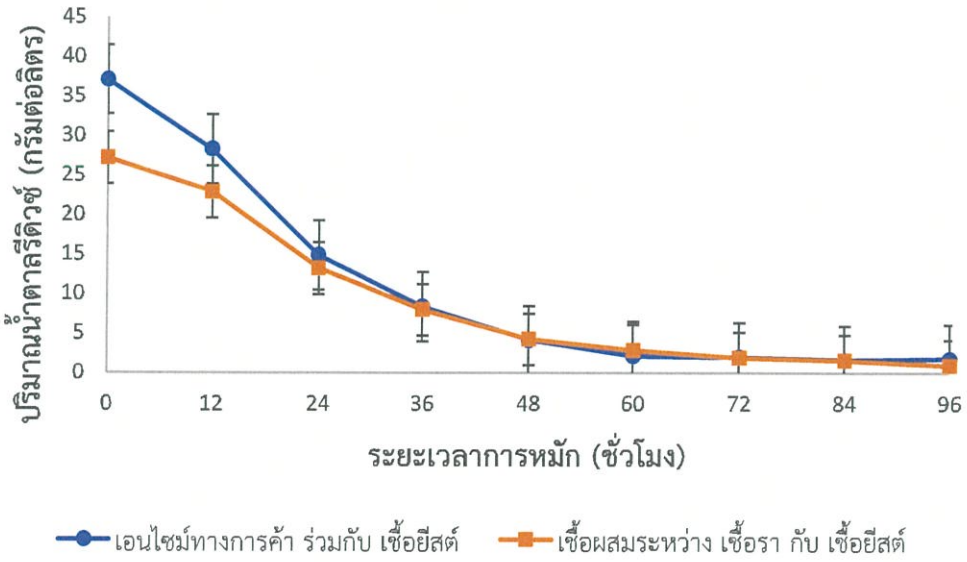


รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088	*A. rouxii* TISTR 3182ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
0	37.11 ± 0.58^{a}	27.17 ± 0.61^{b}
12	28.32 ± 0.53^{a}	22.90 ± 0.16^{b}
24	14.89 ± 0.08^{a}	13.23 ± 0.22^{b}
36	8.37 ± 0.07^{a}	7.98 ± 0.09^{b}
48	4.12 ± 0.06^{a}	4.26 ± 0.12^{a}
60	2.11 ± 0.05^{b}	2.85 ± 0.03^{a}
72	1.97 ± 0.02^{a}	1.88 ± 0.03^{b}
84	1.59 ± 0.02^{a}	1.55 ± 0.02^{b}
96	1.77 ± 0.00^{a}	0.93 ± 0.01^{b}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

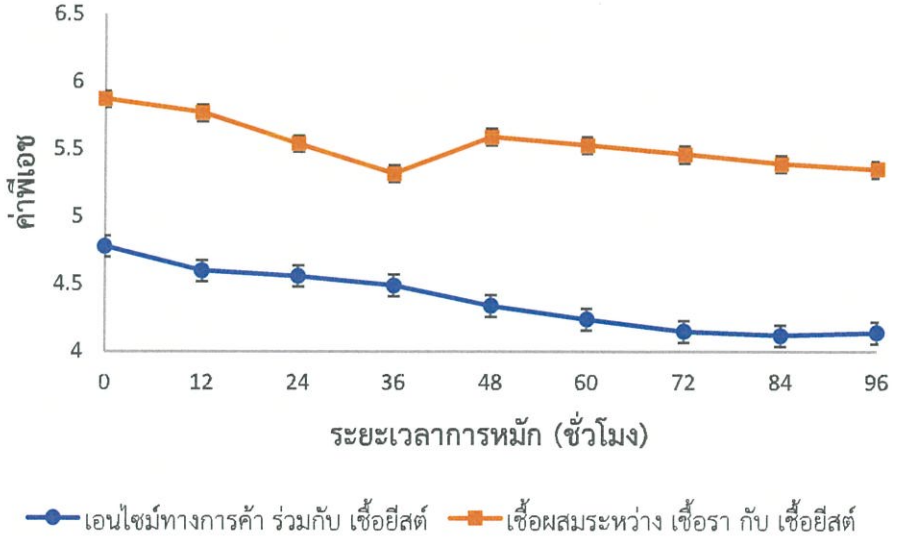


รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

ตารางที่ 4.12 ค่าพีเอชในกระบวนการหมักแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการ SSF

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช	
	เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088	*A. rouxii* TISTR 3182ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088
0	4.78 ± 0.03^{b}	5.87 ± 0.02^{a}
12	4.60 ± 0.03^{b}	5.77 ± 0.04^{a}
24	4.56 ± 0.02^{b}	5.54 ± 0.03^{a}
36	4.49 ± 0.05^{b}	5.32 ± 0.03^{a}
48	4.34 ± 0.03^{b}	5.59 ± 0.02^{a}
60	4.24 ± 0.04^{b}	5.53 ± 0.03^{a}
72	4.15 ± 0.03^{b}	5.46 ± 0.02^{a}
84	4.12 ± 0.01^{b}	5.39 ± 0.02^{a}
96	4.14 ± 0.03^{b}	5.35 ± 0.04^{a}

หมายเหตุ : เมื่อพิจารณาแนวนอน
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.12 ค่าพีเอชในระหว่างการหมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088

4.3 ศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลัง

จากการศึกษากระบวนการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่าการใช้ความเข้มข้นของซับสเตรท (แป้ง) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 25.06 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอล (Productivity, Q_p) เท่ากับ 0.52 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าผลได้เอทานอล (Yield, $Y_{p/s}$) เท่ากับ 1.06 และจากการศึกษาพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักในการผลิตเอทานอล พบว่าอาหารหมักที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 25.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอลสูงสุด 0.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และค่าผลได้เอทานอลสูงสุด 1.13 และการศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 การใช้อัตราส่วน 2:1 จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 25.57 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอลสูงสุด 0.66 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าผลได้เอทานอลสูงสุด 0.96 แสดงดังตารางที่ 4.13 และ 4.14

ดังนั้น การใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 สามารถผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังได้ใกล้เคียงกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและหมักด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำเชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 มาทดแทนการใช้เอนไซม์ที่ใช้ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลทางการค้าได้

ตารางที่ 4.13 สรุปปริมาณเอทานอลสูงสุดในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้ (กรัมต่อลิตร) ในชั่วโมงที่ 48	สรุปผล	หมายเหตุ
1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)			
1.1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท	25.06 ± 0.03	ความเข้มข้นของซับสเตรท 10% > 8% > 6% > 4%	จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของซับสเตรท 10%
1.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้น	25.36 ± 0.03	พีเอช6 > ไม่ปรับพีเอช > พีเอช5 > พีเอช4	จึงเลือกใช้พีเอช 6 เป็นพีเอชเริ่มต้นของน้ำหมัก
1.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088	25.57 ± 0.05	2:1 > 4:1 > 6:1 > 1:1 >1:4 >1:2	จึงเลือกใช้อัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์เป็น 2:1
2. ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 กับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088			
2.1 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม	25.62 ±0.03	กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้ง เป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 > กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม	การใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088. พบว่า ผลผลิตเอทานอลจะได้ปริมาณน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้าและหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae*
2.2 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็น น้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088	31.52 ± 0.04		

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลในชั่วโมงที่ 48

ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล ณ ชั่วโมงที่ 48		
ชุดการทดลอง	**อัตราการผลิตเอทานอล (Productivity, Q_p) (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)**	**ผลได้เอทานอล (Yield, $Y_{p/s}$)**
4.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)		
4.3.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท	0.52	1.06
4.3.1.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้น	0.53	1.13
4.3.1.3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. cerevisiae* TISTR 5088	0.53	1.11
4.3.2 ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าและหมักด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088		
4.3.2.1 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม	0.53	1.11
4.3.2.2 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088	0.66	0.96

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 โดยกระบวนการหมักแบบการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) พบว่า การใช้ความเข้มข้นของซับสเตรท (แป้งมันสำปะหลัง) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด คือ 25.06 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอล (Productivity) 0.52 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลได้เอทานอล (Yield) 1.06 จากนั้นศึกษาพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก โดยเตรียมอาหารหมักที่มีแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 10 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.0 5.0 6.0 และไม่ปรับพีเอช พบว่า อาหารหมักที่มีพีเอชเริ่มต้น 6.0 จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด คือ 25.36 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอล 0.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลได้เอทานอล 1.13 จากนั้นศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่า อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด คือ 25.57 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอล 0.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลได้เอทานอล 1.11 จากนั้นหมักเอทานอลในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น คือ ใช้อาหารหมักที่มีความเข้มข้นของซับสเตรท (แป้งมันสำปะหลัง) ร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 หมักด้วยเชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ต่อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในอัตราส่วน 2:1 หมักด้วยกระบวนการหมักแบบ SSF เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและหมักด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 พบว่า การหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 โดยพบว่าให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 31.52 ± 0.04 และ 25.62 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ 48 ชั่วโมงของการหมัก มีค่าอัตราผลผลิตเอทานอล 0.66 และ 0.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ รวมทั้งผลได้เอทานอลมีค่า 0.96 และ 1.11 ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่เชื้อรา *A. rouxii* TISTR 3182 ผลิตได้ เช่น สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ การทนต่อเอทานอล การทนต่ออุณหภูมิที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก

2. ควรเปรียบเทียบระหว่างการใช้เชื้อ *A. rouxii* TISTR 3182 และการสกัดเอนไซม์อะไมเลสจาก *A. rouxii* TISTR 3182 มาใช้ในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลในกระบวนการหมักเอทานอล

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ แก้วแกมเสือ. 2547. "การศึกษาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการหมักกากน้ำตาลในโรงงานบริษัทแสงโสม จำกัด จ.กาญจนบุรี". การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

จิตตวีร์ สมผล ปิติพร น้อยสกุล วรรณา เชฏฐ์เรืองชัย. 2557. "การผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันเทศโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 กับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะเขย่า". โครงงานพิเศษ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิราภรณ์ ยอดเถื่อน วลัยรัตน์ จันทรปานนท์ หทัยรัตน์ ริมคีรี. 2553. "การคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์โดยทดสอบการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก".รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลดา ชื่อสัตย์. 2546. "การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล".วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทพร จันต๊ะยอด นาถลดา วงษ์ลักษณ์ ปิยะชัย เที่ยงตรง. 2554. "ผลของแร่ธาตุและวิตามินต่อการผลิตเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยใช้เซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปของ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017".โครงงานพิเศษ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นวพร รุ่งโรจน์มงคล, วัชราพรรณ ชนานาฎ และสุณัฏฐา ศิลป์วัฒนจินดา . 2559. "การผลิตไบโอเอทานอลจากผงมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Aspergillus oryzae* TISTR3182 ร่วมกับ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088". โครงงานพิเศษ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2524. "ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวฟ่างโดยใช้ลูกแป้งและเชื้อบริสุทธิ์ของราบางสายพันธุ์ และ Saccharomyces (Y-90) ". ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร์: 42-57.

รัติกาล ทองสำฤทธิ์. 2555. "การแสดงออกของยีนแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากต่างสายพันธุ์เพื่อผลิตเอทานอลใน *Saccharomyces cerevisiae*".โครงงานพิเศษ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ลักขณา เหล่าไพบูลย์, พัฒนา เหล่าไพบูลย์, ประสิทธิ์ ใจศลิ, พรเทพ ถนนแก้ว.2550. "การพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวาน".งานวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศญามล จันบาง , นาตาชา คาร , อุษารัตน์ คำทับทิม. 2557."การเตรียมไบโอเอทานอลจากกระจับโดยกระบวนการหมักแบบแยกกระบวนการผลิต".โครงงานพิเศษ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.

สุวภัทร เจียมทวีทรัพย์, สุกพัฒน์ลิตภัณฑ์ และโสมวิสา ทองปลอด. 2555. "การคัดเลือกสายพันธุ์ เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ทนอุณหภูมิและเอทานอลสูง เพื่อใช้ผลิต ไบโอเอทานอลจากแป้งมันเทศ". โครงงานพิเศษสาขาวิชาชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาคชีววิทยา, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วรัญญา บินอานัด. 2559. "การผลิตไบโอเอทานอลจากมันเทศ โดยการใช้เชื้อผสมระหว่าง*Saccharomyces*

cerevisiae TISTR 5088 และเชื้อราที่ย่อยแป้ง". วิทยานิพนธ์ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วรสิทธิ์ โทจำปา. 2556. "แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอทานอลจากมันเทศแบบรวมการย่อยแป้งและการหมักเข้าไว้ในขั้นตอนเดียวกัน" .สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร .

อพัชชา จินดาประเสริฐ. 2556. "การคัดเลือกแบคทีเรียจากถั่วเน่าที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการย่อยแป้ง".ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Apar, D.K., and Özbek, B. 2004. α-amylase inactivation during corn starch hydrolysis process. *Process Biochemistry*, 39, 1877-1892.

Behera, S., Mohanty, R.C. and Ray, R.C. 2010. "Comparative study of bio-ethanol production from Mahula *(Madhuca latifolia L.) flowers by Saccharomyces cerevisiae and Zymomonas mobilis*". *Applied Energy*, 87, 2352-2355.

Ghosh, S. K., Kusari, J., Bandyopadhyay, S. K., Samanta, H., Kumar, R., and Sen, G. C. 1991. "Enzymatic activity of 2'-5'-oligoadenylate synthetase is impaired by specific mutations that affect oligomerization of the protein". J. *Biol. Chem*, 266(1) , 15293 – 15299.

Duhan, J. S., Kumar, A., and Tanwar, S. K. 2013 "Bioethanol production from starch part of of tuberous plant (potato) using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC- 170". *African journal of microbiology research*, 7 , 5254-5260.

Khamkeaw A., Phisalaphong M . 2558. "Hydrolysis of cassava starch by co-immobilized multimicroorganisms". *Food science and Biotechnology*, 25, 509-516.

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.S., Chen, I.C., Chang, C.H., Yang, S.S.2012. "Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*". *Renewable Energy* 39 , 216-222

Li J., Hailong Y., Zhiping L., Jianxing J., and Dafeng S. 2015. "Enhanced ethanol production with mixed lignocellulosic substrates from commercial furfural and cassava residues".

Bioresources, 10 (1), 1162 – 1173.

Manikandan, K., and Viruthagiri, T. 2009. "Simultaneous saccharification and fermentation of wheat bran flour into ethanol using coculture of amylotic *Aspergillus niger* and thermotolerant *Kluyveromyces marxianus*." *Frontiers of Chemical Engineering in China*. 3(3) : 240–249.

Meenakshi, A., and Kumaresan R. 2004. "Ethanol production from corn, potato peel waste and its process development ". *International Journal of ChemTech Research* , 6, 2843-2853.

Prasad, R., and Mishra, P. 1996. "An overview of lipids of *Candida albicans*". *Progress in Lipid Research*. 29, 65-85.

Ramesh, CR., and Shuvashish, B. 2015."Batch ethanol production from cassava (*Manihot esculenta*) flour using *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized in calcium alginate". *Ann Microbiol*, 2,779-783.

Ray, RC., and Swain, MR. 2015." Bio-ethanol, bioplastics and other fermented industrial products from cassava starch and flour".In: Pace, CM (ed). Cassava: farming, uses and economic impacts. *Nova Science Publishers Inc*, Hauppauge.

Sridhar, M., Sree, N.K., and Rao, L.V. 2002. "Effect of uv radiation on thermotolerance, ethanol tolerance and osmotolerance *Sacchromyces cerevisiae* VS_1 and VS_3 strains". *Bioresource Technology*, 83, 199-202.

Srichuwonga, S., Fujiwara, M., Wanga, X., Seyama, T., Shiroma, R., Arakanea, M., Mukojimab, N. and Tokuyasua, K. 2009. "Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of very high gravity (VHG) potato mash for the production of ethanol". *Biomass and Bioenergy*, 33, 890-898.

Williams, D., and Munnecke, DM. 1981. "The production of ethanol by immobilized yeast cells". *Biotechnol Bioeng*, 23, 1813-1825.

[Online] . Available: https://www.andaluciainvestiga.com/espanol/noticias/4/9647.asp (12 กันยายน 2560)

[Online] . Available: https://www.distillique.co.za/distilling_shop/blog/96-basics-of-yeast-nutrients (17 มกราคม 2561)

[Online] . Available: https://www. doi.nrct.go.th /ListDoi/Download/ (17 มกราคม 2561)

[Online] . Available: https://www.my.dek-d.com/kpproject/writer/viewlongc.php (9 กันยายน 2560)

[Online] .Available: http:// www.library.senate.go.th/document/Ext1707/1707940_0005.PDF (12 กันยายน 2560)

[Online] .Available: https://www.l3nr.org/posts/203496 (9 กันยายน 2560)

[Online] .Available: https://www. kanchanapisek.or.th/ (17 มกราคม 2561)

[Online] .Available: https://www. kmutt.ac.th/rippc/spore.htm (17 มกราคม 2561)

[Online] .Available: https://www.medthai.com (13 กันยายน 2560)

[Online] . Available: https://www.paphavin.com/product/wire-mesh/ (18 ธันวาคม 2560)

[Online] .Available: http://www.responsiblebusiness.eu (22 กันยายน 2560)

[Online] .Available: http://www. sites.google.com/site/biotechrmutisurin/yeast-technology (17 มกราคม 2561)

[Online] .Available: http://www.thai-ethanol.com/th/importance-ethanol.html (9 กันยายน 2560)

[Online] .Available: http://www. thespruce.com/introduction-to-cassava-yuca-2138084 (17 มกราคม 2561)

[Online] . Available: https:// vcharkarn.com/vcafe/125301 (17 มกราคม 2560)

[Online] . Available: https://webkc.dede.go.th/webmax/sites/default/files/เชื้อเพลิง%20เอทานอล; (16 มกราคม 2561)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA (Potato Dextrose Agar)

ประกอบด้วย

Potato Dextrose Agar 24 กรัม

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรคนให้เข้ากัน
2. ให้ความร้อนจนวุ้นละลายหมด
3. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Broth (Yeast Extract Peptone Dextrose broth)

ประกอบด้วย

กลูโคส	20	กรัม
เปปโตน	20	กรัม
ยีสต์สกัด	10	กรัม
วุ้น	17	กรัม

วิธีการเตรียม

1. ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรคนให้เข้ากัน
2. จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารหมัก (Ghosh และคณะ,1991)

ประกอบด้วย

แป้ง (soluble strach) 5 กรัม

แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 3 กรัม

โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.5 กรัม

เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 0.1 กรัม

น้ำกลั่น 1 ลิตร

วิธีการเตรียม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Miller, 1959)

1.1 สารเคมี

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

1.1.2 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

1.2 วิธีการเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1

1.2.1 ชั่ง 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1 ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

1.2.2 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)

1.2.3 คนสารละลายให้เข้ากัน

1.2.4 เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาเทท 300 กรัม โดยเติมทีละน้อยพร้อมกับคนให้สารละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.3 สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

1.3.1 อบกลูโคสที่ตู้อบ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้น และวางในโถดูดความชื้น (Desiccator) เพื่อลดอุณหภูมิลง นาน 30 นาที

1.3.2 ชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะทำให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3.3 ทำการเจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 800 600 400 200 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ ข-1

ตารางที่ ข-1 การเจือจางสารละลายกลูโคสโดยใช้น้ำกลั่น

ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณกลูโคส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	5
200	1	4
400	2	3
600	3	2
800	4	1
1000	5	0

1.3.4 เขียนกราฟมาตรฐานน้ำตาลแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

1.4 วิธีการวิเคราะห์

1.4.1 ปิเปตตัวอย่างหรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายไดไนโตรซาลิไซลิกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอด เขย่าสารให้เข้ากัน

1.4.2 นำไปให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที พร้อมวางลูกแก้วปิดปากหลอด เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ หยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่ในอ่างน้ำเย็นทันที เป็นเวลา 5 นาที

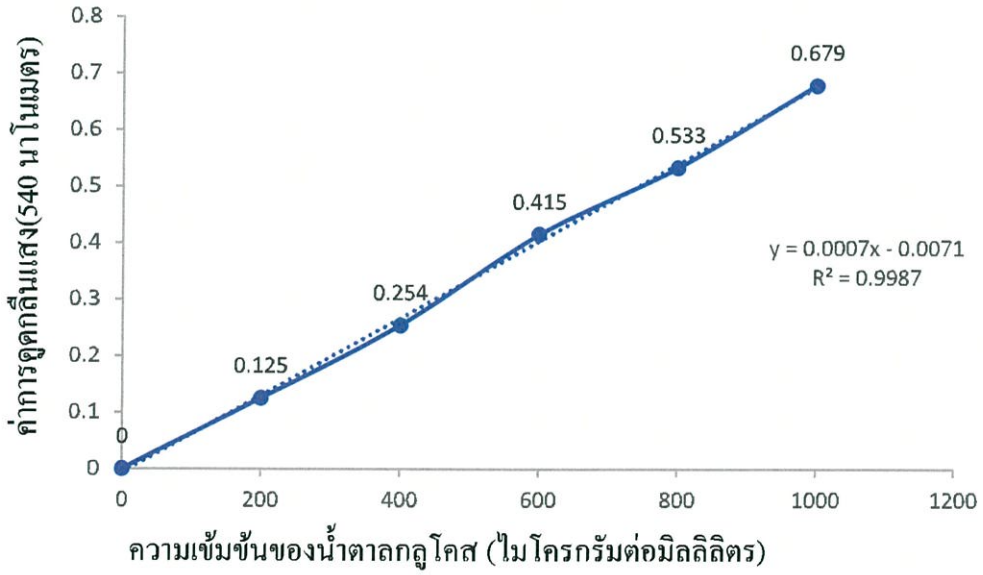
1.4.3 ปิเปตน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.4.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

ตารางที่ 1 ตารางแสดงค่าความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร กับ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ระดับความเข้มข้น	ค่า OD ครั้งที่ 1	ค่า OD ครั้งที่ 2	ค่า OD ครั้งที่ 3	ค่า OD เฉลี่ย
0	0	0	0	0
200	0.124	0.127	0.123	0.125
400	0.251	0.254	0.256	0.254
600	0.414	0.417	0.415	0.415
800	0.530	0.535	0.534	0.533
1,000	0.679	0.678	0.679	0.679



รูปที่ ข-1 กราฟสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างคำนวณได้จากสูตร

$$\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น } 540 \text{ นาโนเมตร} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน} \times 1{,}000}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยวิธีการใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (สุวภัทร และคณะ, 2012)

1. วิธีเตรียมกราฟมาตรฐานเอทานอล

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานโพรพานอล (N-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร เป็นสารละลายมาตรฐาน

1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 10 และ 12 โดยปริมาตร ซึ่งเตรียมได้ดังนี้

1.2.1 N-propanol ร้อยละ 10 โดยปริมาตร + Ethanol ร้อยละ 8 โดยปริมาตร จะได้เป็นสารละลายมาตรฐานร้อยละ 4

1.2.2 N-propanol ร้อยละ 10 โดยปริมาตร + Ethanol ร้อยละ 12 โดยปริมาตร จะได้เป็นสารละลายมาตรฐานร้อยละ 6

1.2.3 N-propanol ร้อยละ 10 โดยปริมาตร + Ethanol ร้อยละ 16 โดยปริมาตร จะได้เป็นสารละลายมาตรฐานร้อยละ 8

1.2.4 N-propanol ร้อยละ 10 โดยปริมาตร + Ethanol ร้อยละ 20 โดยปริมาตร จะได้เป็นสารละลายมาตรฐานร้อยละ 10

1.2.5 N-propanol ร้อยละ 10 โดยปริมาตร + Ethanol ร้อยละ 24 โดยปริมาตร จะได้เป็นสารละลายมาตรฐานร้อยละ 12

1.3 ใส่สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นลงในขวดแก้วขนาด 2 มิลลิลิตร พร้อมปิดฝาขวด

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิค แก๊สโครมาโตกราฟี (GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ (GC-2014, Shimadzu) ต่อกับ Auto injector (AOC-20i)

1.5 ใช้คอลัมน์ DB-1 (Aligent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูฒิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส Sampling rate เท่ากับ 40 มิลลิวินาที อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (Injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา เลือกโหมด Linear Velocity

1.6 สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นในอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 150 องศาเซลเซียส รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์

1.7 นำพื้นที่ใต้กราฟ (Peak Area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้เป็นแกน x

2. วิธีวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

2.1 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างโดยผสม สารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร

2.2 วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอลมาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล

ความเข้มข้นของเอทานอล(ร้อยละ)	พื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อโพรพานอล
8	0.6089
12	0.8467
16	1.2702
20	1.4506
24	1.8808

สูตรคำนวณปริมาณเอทานอล ได้จากกราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอล

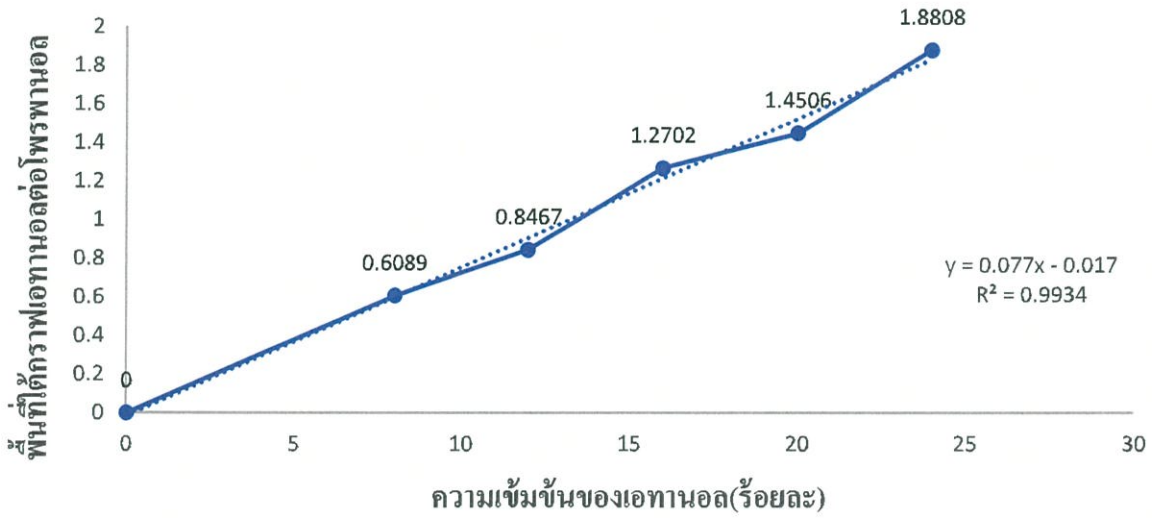
สมการ y = 0.077x - 0.017

ให้ y = อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟเอทานอลต่อโพรพานอล

X = ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)

โดย ความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร

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



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

3. วิธีการวิเคราะห์เอทานอลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ(Gas chromatography)

3.1 เปิด air pump และคลายเกลียวใต้ปั๊มเพื่อไล่น้ำออกจากปั๊มให้หมด แล้วจึงบิดเกลียวให้แน่นดังเดิม

3.2 เปิดเครื่อง Zero air

3.3 จากนั้นเปิดวาวล์ที่ถังก๊าซฮีเลี่ยม ไฮโดรเจน และไนโตรเจน

3.4 เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์และทำการตั้งค่าการใช้งาน

3.5 เปิดเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ และตั้งค่าบนคอมพิวเตอร์อีกครั้ง

3.5.1 เปิดโปรแกรม Lab solution กด instrument แล้วเลือกเครื่อง GC

3.5.2 กดแถบ Data acquisition แล้วกด method ที่ทำการตั้งค่าไว้ตามที่กำหนด แล้วหรือสร้าง method ใหม่ ด้วยการเลือก New method file จากนั้นกด Download

3.5.3 ตั้งค่า Set up ที่เครื่อง GC ให้อุณหภูมิที่คอลัมอยู่ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำการไล่สารที่ไม่ต้องการออก จากนั้นปรับกลับไปที่ 60 องศาเซลเซียส

3.5.4 คลิก System on รอให้แถบสถานะขึ้น Ready และตรวจสอบสถานะของ Carrier Gas , Purge Flow , DFID 1 Detector และ DFID 1 Flame เป็น on ทั้งหมด

3.6 การสร้างตารางวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.6.1 คลิกแถบ Realtime batch กด file แล้วเลือก new bath file เลือก New batch table (Auto Create Name) แล้วกด ok

3.6.2 ใส่ตัวเลขขวดตัวอย่าง ชื่อของตัวอย่าง Sample Id แล้วเลือก Method File ที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.6.3 Save Batch File As ไว้ใน Folder ที่ต้องการ

3.6.4 กดปุ่ม Start Realtime Batch เพื่อเริ่มทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.6.5 วิเคราะห์

4. วิธีปิดเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

4.1 คลิก System Off

4.2 ปิดวาวล์ที่ถังก๊าซไฮโดรเจน air pump และ zero air

4.3 รอให้อุณหภูมิของ Column ต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ Auto Injector และ Detector ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส

4.4 ปิดวาวล์ที่ถังก๊าซฮีเลี่ยม และไนโตรเจน

4.5 ปิดโปรแกรม ปิดคอมพิวเตอร์ และปิดเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

5. การคำนวณค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล

5.1 อัตราการผลิตเอทานอล (Productivity, Q_p)

ตัวอย่างการคำนวณ

จากการหมักเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S.* TISTR 5088 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซับสเตรทร้อยละ 10 ปรับ pH เริ่มต้นเป็น pH 6 ใช้อัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เท่ากับ 2:1 โดยใช้กระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF) ในชั่วโมงที่ 0 ของการหมัก ให้ปริมาณเอทานอลเป็น 0.00 ± 0.00 ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเป็น 25.62 ± 0.03 ดังนั้นปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้น คือ 25.62-0.00 เท่ากับ 25.62 และระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอลได้สูงสุดคือ 48 ชั่วโมง แทนค่าในสูตรได้ดังนี้

$$Q_p = \frac{\text{ปริมาณเอทานอลสูงสุด (กรัมต่อลิตร)} - \text{ปริมาณเอทานอลเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาที่ผลิตเอทานอล (ชั่วโมง)}}$$

$$= \frac{25.62 - 0.00}{48}$$

= 0.53 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง

5.2 ค่าผลได้ (Yield, $Y_{p/s}$)

แทนค่าในสูตรได้ดังนี้

ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ คือ 25.62 - 0.00 เท่ากับ 25.62

น้ำตาลทั้งหมดที่ใช้ คือ (น้ำตาลเริ่มต้น - น้ำตาลสุดท้าย) เท่ากับ 27.17 – 4.12 ผลลัพธ์เท่ากับ 23.05 กรัมต่อลิตร

$$Y_{p/s} = \frac{\text{ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้(กรัมต่อลิตร)}}{\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้(กรัมต่อลิตร)}}$$

หมายเหตุ : P คือ ความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตที่เกิดขึ้นจริง (กรัมต่อลิตร)

t คือ เวลาของการผลิตเอทานอลที่ให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุด

แทนค่า $Y_{p/s} = \frac{25.62 \text{(กรัมต่อลิตร)}}{23.05 \text{ (กรัมต่อลิตร)}}$

= 1.11 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมดที่ใช้

การเตรียมสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ

1. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับเป็นปริมาตร 250 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

2. การเตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 11.65 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แล้วปรับเป็นปริมาตร 250 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

3. การเตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 (สุวภัทร และคณะ, 2012)

สารละลายA : กรดอะซิติก (CH_3COOH) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

(มวลโมเลกุล 60 ความถ่วงจำเพาะ 1.05 ความเข้มข้นร้อยละ 99.6)

ในสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อกรด 0.2 โมลาร์ 0.2×60 กรัม

มีเนื้อกรด 99.6 กรัม จากสารละลาย 100 กรัม

มีเนื้อกรด 0.2×60 กรัม จากสารละลาย $\frac{100 \times 0.2 \times 60}{99.6} = 12.05$ กรัม

มีกรดอะซิติก 1.05 กรัม ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร

มีกรดอะซิติก 12.05 กรัม ในปริมาตร $\frac{12.05}{1.05} = 11.48$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยปิเปตกรดอะซิติก 11.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

สารละลายB : โซเดียมอะซิเตท (CH_3COONa) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

โซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์(มวลโมเลกุล 82.03)

ในสารละลาย 1,000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อกรด 0.2 โมลาร์ $= 0.2 \times 82.03$ กรัม

$= 16.406$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยชั่งโซเดียมอะซิเตท 16.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์โดยนำสารละลายโซเดียมอะซิเตตปริมาตร 352 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดอะซิติกปริมาตร 148 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

4. สารละลายเอนไซม์ (สุวภัทร และคณะ, 2012)

การเตรียมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ชั่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.05 กรัม นำมาละลายในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปกรองด้วย Milipore filter เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอน ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เก็บสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส

ชั่งเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 0.06 กรัม นำมาละลายด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร นำไปกรองด้วย Milipore filter ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.45 ไมครอนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเก็บสารละลายเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. การเตรียมน้ำกลั่นที่มี Tween 80 ความเข้มข้น ร้อยละ0.1 โดยปริมาตร

ปิเปต Tween 80 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบ

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 **ร่วมกับ** *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 **โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก**

ตารางที่ ค-1 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล(กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.004	0.004	23.2214	23.6500	5.12	4.96
	2	0.004		23.7929		4.82	
	3	0.003		23.9357		4.94	
12	1	6.81	6.77	22.4186	22.3186	4.88	4.89
	2	6.72		22.2043		4.90	
	3	6.78		22.3329		4.89	
24	1	15.60	15.50	12.8600	12.6600	4.49	4.52
	2	15.39		12.4600		4.55	
	3	15.51		12.6600		4.53	
36	1	19.02	19.07	7.8879	7.7879	4.31	4.34
	2	19.11		7.7807		4.36	
	3	19.09		7.6590		4.34	
48	1	22.63	22.53	4.1586	4.1252	4.15	4.19
	2	22.41		4.1014		4.22	
	3	22.54		4.1157		4.19	

ตารางที่ ค-1(ต่อ) ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	22.38	22.41	2.6810	2.6777	4.17	4.13
	2	22.41		2.6510		4.13	
	3	22.43		2.7010		4.10	
72	1	22.37	22.34	1.7721	1.7555	4.07	4.10
	2	22.34		1.7579		4.14	
	3	22.30		1.7364		4.10	
84	1	21.93	21.97	1.4361	1.4490	3.83	3.87
	2	21.96		1.4447		3.90	
	3	22.03		1.4661		3.87	
96	1	20.09	20.12	0.8717	0.8793	3.79	3.82
	2	20.12		0.8917		3.82	
	3	20.14		0.8746		3.85	

ตารางที่ ค-2 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.005	0.005	26.1500	26.3404	5.06	5.04
	2	0.004		26.3642		5.03	
	3	0.005		26.5071		5.05	
12	1	8.04	8.05	23.4900	23.6043	5.04	5.04
	2	8.09		23.3614		5.06	
	3	8.02		23.9614		5.02	
24	1	16.06	16.10	13.1171	13.0505	4.83	4.82
	2	16.14		13.0029		4.86	
	3	16.09		13.0314		4.78	
36	1	19.01	19.04	8.1236	8.1522	4.60	4.59
	2	19.03		8.1879		4.56	
	3	19.07		8.1450		4.61	
48	1	23.38	23.42	4.2729	4.2776	4.47	4.43
	2	23.46		4.2014		4.43	
	3	23.41		4.3586		4.38	

ตารางที่ ค-2(ต่อ) ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	23.07	23.09	2.8210	2.8477	4.20	4.26
	2	23.13		2.8610		4.32	
	3	23.06		2.8610		4.26	
72	1	22.82	22.78	1.8579	1.8507	4.17	4.17
	2	22.79		1.8364		4.18	
	3	22.74		1.8579		4.14	
84	1	22.56	22.59	1.5090	1.5047	4.05	4.08
	2	22.62		1.5090		4.12	
	3	22.59		1.4961		4.07	
96	1	21.69	21.63	0.9003	0.9022	4.00	4.00
	2	21.62		0.9089		3.96	
	3	21.57		0.8974		4.04	

ตารางที่ ค-3 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 8

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.005	0.006	27.2214	27.3378	5.14	5.16
	2	0.006		27.5701		5.18	
	3	0.006		27.2929		5.18	
12	1	8.14	8.12	23.9614	23.9186	5.12	5.10
	2	8.09		23.8329		5.08	
	3	8.12		23.9614		5.11	
24	1	16.41	16.37	13.4314	13.3838	4.96	5.00
	2	16.36		13.3457		5.06	
	3	16.34		13.3743		4.97	
36	1	19.36	19.40	8.4021	8.4379	4.94	4.94
	2	19.39		8.4236		4.92	
	3	19.45		8.4879		4.95	
48	1	24.90	24.86	4.4300	4.4538	4.78	4.76
	2	24.86		4.4443		4.76	
	3	24.82		4.4871		4.74	

ตารางที่ ค-3(ต่อ) ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 8

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.48	24.52	2.9310	2.9143	4.63	4.67
	2	24.54		2.9010		4.70	
	3	24.52		2.9110		4.68	
72	1	24.06	24.09	1.9150	1.9198	4.56	4.53
	2	24.09		1.9007		4.52	
	3	24.13		1.9436		4.68	
84	1	23.69	23.74	1.5604	1.5547	4.44	4.47
	2	23.74		1.5561		4.45	
	3	23.78		1.5476		4.53	
96	1	23.52	23.52	0.9089	0.9127	4.39	4.37
	2	23.49		0.9174		4.40	
	3	23.56		0.9117		4.32	

ตารางที่ ค-4 ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 10

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.007	0.007	28.4357	28.2452	5.36	5.35
	2	0.008		28.2929		5.33	
	3	0.007		28.0071		5.36	
12	1	10.16	10.20	24.4757	24.5900	5.30	5.33
	2	10.24		24.7757		5.34	
	3	10.19		24.5816		5.31	
24	1	17.98	17.97	13.7743	13.7648	5.07	5.07
	2	18.04		13.7457		5.06	
	3	17.89		13.7743		5.09	
36	1	22.04	22.08	8.5307	8.6093	4.96	4.93
	2	22.12		8.6543		4.90	
	3	22.08		8.6379		4.94	
48	1	25.04	25.06	4.6442	4.6490	4.90	4.92
	2	25.09		4.6300		4.94	
	3	25.06		4.6729		4.91	

ตารางที่ ค-4(ต่อ) ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรทในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 10

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.86	24.91	3.0210	3.0010	4.88	4.90
	2	24.92		2.9910		4.92	
	3	24.95		2.9910		4.91	
72	1	24.52	24.52	2.0364	2.0269	4.86	4.83
	2	24.49		2.0436		4.92	
	3	24.54		2.0007		4.91	
84	1	23.76	23.79	1.5776	1.5904	4.78	4.76
	2	23.84		1.6033		4.73	
	3	23.78		1.5904		4.76	
96	1	23.19	23.22	0.9374	0.9422	4.71	4.72
	2	23.25		0.9489		4.70	
	3	23.22		0.9403		4.74	

ตารางที่ ค-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ4

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.318	0.326	0.328	0.324	50X	23.2214	23.6500
						23.7929	
						23.9357	
12	0.516	0.511	0.514	0.514	30X	22.4186	22.3186
						22.2043	
						22.3329	
24	0.443	0.429	0.436	0.436	20X	12.8600	12.6600
						12.4600	
						12.6600	
36	0.361	0.356	0.352	0356	15X	7.8879	7.7879
						7.7807	
						7.6950	
48	0.284	0.280	0.281	0.282	10X	4.1586	4.1252
						4.1014	
						4.1157	
60	0.261	0.258	0.263	0.261	7X	2.6810	2.6777
						2.6510	
						2.7010	
72	0.241	0.239	0.236	0.239	5X	1.7721	1.7555
						1.7579	
						1.7364	
84	0.328	0.330	0.335	0.331	3X	1.4361	1.4490
						1.4447	
						1.4661	
96	0.298	0.305	0.299	0.301	2X	0.8717	0.8793
						0.8917	
						0.8746	

ตารางที่ ค-6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ6

เวลา(ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.359	0.362	0.364	0.362	50X	26.1500 26.3642 26.5071	26.3404
12	0.541	0.538	0.552	0.544	30X	23.4900 23.3614 23.9614	23.6043
24	0.452	0.448	0.449	0.450	20X	13.1171 13.0029 13.0314	13.0505
36	0.372	0.375	0.373	0.373	15X	8.1236 8.1879 8.1450	8.1522
48	0.292	0.287	0.298	0.292	10X	4.2729 4.2014 4.3586	4.2776
60	0.275	0.279	0.279	0.278	7X	2.8210 2.8610 2.8610	2.8477
72	0.253	0.250	0.253	0.252	5X	1.8579 1.8364 1.8579	1.8507
84	0.345	0.345	0.342	0.344	3X	1.5090 1.5090 1.4961	1.5047
96	0.308	0.311	0.307	0.309	2X	0.9003 0.9089 0.8974	0.9022

ตารางที่ ค-7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ8

เวลา(ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.374	0.378	0.375	0.376	50x	27.2214	27.3378
						27.5701	
						27.2929	
12	0.552	0.549	0.552	0.551	30x	23.9614	23.9186
						23.8329	
						23.9614	
24	0.463	0.460	0.461	0.461	20x	13.4314	13.3838
						13.3457	
						13.3743	
36	0.385	0.386	0.389	0.387	15x	8.4021	8.4379
						8.4236	
						8.4879	
48	0.303	0.304	0.307	0.305	10x	4.4300	4.4538
						4.4443	
						4.4871	
60	0.286	0.283	0.284	0.284	7x	2.9310	2.9143
						2.9010	
						2.9110	
72	0.261	0.259	0.265	0.262	5x	1.9150	1.9198
						1.9007	
						1.9436	
84	0.357	0.356	0.354	0.356	3x	1.5604	1.5547
						1.5561	
						1.5476	
96	0.311	0.314	0.312	0.312	2x	0.9089	0.9127
						0.9174	
						0.9117	

ตารางที่ ค-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท ร้อยละ10

เวลา(ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.391	0.389	0.385	0.388	50x	28.4857 28.2929 28.0071	28.2452
12	0.564	0.571	0.565	0.567	30x	24.4757 24.7757 24.5186	24.5900
24	0.475	0.474	0.475	0.475	20x	13.7743 13.7457 13.7743	13.7648
36	0.391	0.397	0.396	0.395	15x	8.5307 8.6593 8.6379	8.6093
48	0.318	0.317	0.320	0.318	10x	4.6442 4.6300 4.6729	4.6490
60	0.295	0.292	0.292	0.293	7x	3.0210 2.9910 2.9910	3.0010
72	0.278	0.279	0.273	0.277	5x	2.0364 2.0436 2.0007	2.0269
84	0.361	0.367	0.364	0.364	3x	1.5776 1.6033 1.5904	1.5904
96	0.321	0.325	0.322	0.323	2x	0.9374 0.9489 0.9403	0.9422

ตารางที่ ค-9 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : Control (ไม่ปรับพีเอช)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.005	0.004	27.2217	27.1738	6.28	6.25
	2	0.004		26.7929		6.22	
	3	0.004		27.5071		6.25	
12	1	9.82	9.83	24.7329	24.6472	5.52	5.49
	2	9.84		24.4329		5.46	
	3	9.83		24.7757		5.48	
24	1	15.57	15.62	13.9457	13.8791	5.16	5.14
	2	15.68		13.8886		5.12	
	3	15.61		13.8029		5.15	
36	1	19.35	19.32	8.5521	8.4664	5.10	5.07
	2	19.29		8.3807		5.04	
	3	19.31		8.4664		5.06	
48	1	24.75	24.73	4.6014	4.5538	5.06	5.04
	2	24.70		4.5157		5.02	
	3	24.73		4.5443		5.04	

ตารางที่ ค-9(ต่อ) ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : Control (ไม่ปรับพีเอช)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.61	24.57	3.0210	3.0177	4.94	4.98
	2	24.53		2.9810		4.99	
	3	24.56		3.0510		5.02	
72	1	22.20	22.23	1.9804	1.9701	4.96	4.93
	2	22.26		1.9579		4.90	
	3	22.24		1.9721		4.93	
84	1	20.11	20.08	1.5947	1.6090	4.87	4.88
	2	20.08		1.6247		4.85	
	3	20.04		1.6076		4.92	
96	1	19.90	19.86	0.9374	0.9374	4.78	4.75
	2	19.82		0.9289		4.73	
	3	19.86		0.9460		4.75	

ตารางที่ ค-10 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.004	0.003	27.2929	27.1976	3.94	3.96
	2	0.003		27.0786		3.98	
	3	0.003		27.2214		3.96	
12	1	9.16	9.14	25.0329	25.0329	4.13	4.17
	2	9.12		24.9043		4.17	
	3	9.14		25.1614		4.20	
24	1	15.23	15.27	13.6314	13.7362	4.35	4.33
	2	15.30		13.7457		4.29	
	3	15.28		13.8314		4.34	
36	1	19.01	18.95	8.5521	8.5378	4.40	4.46
	2	18.95		8.6164		4.51	
	3	18.90		8.4450		4.47	
48	1	22.72	22.78	4.6014	4.6490	4.56	4.62
	2	22.79		4.6871		4.63	
	3	22.83		4.6586		4.66	

ตารางที่ ค-10(ต่อ) ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	22.72	22.70	3.0710	3.0610	4.73	4.81
	2	22.68		3.0610		4.84	
	3	22.70		3.0510		4.86	
72	1	20.41	20.38	2.0221	2.0055	4.92	4.96
	2	20.35		1.9936		5.00	
	3	20.37		2.0007		4.95	
84	1	20.09	20.11	1.6332	1.6418	4.96	5.02
	2	20.13		1.6376		5.05	
	3	20.11		1.6547		5.07	
96	1	19.96	19.91	0.9431	0.9612	5.06	5.05
	2	19.82		0.9289		5.00	
	3	19.94		1.0117		5.08	

ตารางที่ ค-11 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 5

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.004	0.005	28.0786	28.0548	4.86	4.86
	2	0.005		27.7929		4.85	
	3	0.005		28.2929		4.86	
12	1	9.65	9.70	25.4614	25.4757	4.96	5.02
	2	9.75		25.6329		5.04	
	3	9.69		25.3329		5.07	
24	1	15.43	15.59	13.9743	14.0600	5.40	5.37
	2	15.62		14.0600		5.35	
	3	15.71		14.1457		5.37	
36	1	19.22	19.25	8.6379	8.6450	5.10	5.12
	2	19.23		8.6807		5.14	
	3	19.31		8.6164		5.12	
48	1	24.66	24.69	4.7871	4.8538	5.03	5.06
	2	24.75		4.8586		5.06	
	3	24.70		4.9157		5.10	

ตารางที่ ค-11(ต่อ) ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 5

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.57	24.58	3.0910	3.1177	5.04	5.06
	2	24.61		3.1210		5.07	
	3	24.56		3.1410		5.08	
72	1	23.13	23.16	2.1007	2.0888	4.94	4.99
	2	23.17		2.0864		4.97	
	3	23.17		2.0793		5.03	
84	1	21.45	21.44	1.6504	1.6519	4.85	4.87
	2	21.42		1.6419		4.89	
	3	21.46		1.6633		4.87	
96	1	20.98	21.01	0.9574	0.9650	4.79	4.82
	2	21.00		0.9631		4.83	
	3	21.04		0.9746		4.85	

ตารางที่ ค-12 ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 6

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.004	27.0786	27.0072	5.89	5.88
	2	0.004		26.5786		5.79	
	3	0.004		27.3643		5.95	
12	1	10.07	10.05	24.5186	24.5186	5.52	5.53
	2	9.99		24.3471		5.55	
	3	10.08		24.6900		5.53	
24	1	16.15	16.17	13.8600	13.8505	5.36	5.39
	2	16.14		13.8029		5.42	
	3	16.21		13.8886		5.40	
36	1	19.53	19.50	8.4879	8.4307	5.17	5.21
	2	19.47		8.4450		5.24	
	3	19.51		8.3593		5.22	
48	1	25.39	25.36	4.5014	4.5252	5.18	5.20
	2	25.34		4.5586		5.23	
	3	25.36		4.5157		5.19	

ตารางที่ ค-12(ต่อ) ศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม: พีเอช 6

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.03	25.04	2.9710	3.0110	5.39	5.44
	2	25.07		3.0310		5.46	
	3	25.01		3.0310		5.48	
72	1	24.77	24.83	1.9436	1.9626	5.56	5.60
	2	24.86		1.9793		5.61	
	3	24.82		1.9650		5.63	
84	1	23.87	23.96	1.6161	1.6061	5.47	5.52
	2	23.96		1.5990		5.56	
	3	24.04		1.6033		5.53	
96	1	23.39	23.46	0.9260	0.9346	5.44	5.48
	2	23.50		0.9403		5.52	
	3	23.48		0.9374		5.48	

ตารางที่ ค-13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : Control (ไม่ปรับพีเอช)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.374	0.368	0.378	0.373	50X	27.2217	27.1738
						26.7929	
						27.5071	
12	0.570	0.563	0.571	0.568	30X	24.7329	24.6472
						24.4329	
						24.7757	
24	0.481	0.479	0.476	0.487	20X	13.9457	13.8791
						13.8886	
						13.8029	
36	0.392	0.384	0.388	0.388	15X	8.5521	8.4664
						8.3807	
						8.4664	
48	0.315	0.309	0.311	0.311	10X	4.6014	4.5538
						4.5157	
						4.5443	
60	0.295	0.291	0.298	0.295	7X	3.0210	3.0177
						2.9810	
						3.0510	
72	0.271	0.267	0.269	0.269	5X	1.9804	1.9701
						1.9579	
						1.9721	
84	0.365	0.372	0.368	0.368	3X	1.5947	1.6090
						1.6247	
						1.6076	
96	0.321	0.318	0.324	0.321	2X	0.9374	0.9374
						0.9289	
						0.9460	

ตารางที่ ค-14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 4

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.375	0.372	0.374	0.374	50X	27.2929	27.1976
						27.0786	
						27.2214	
12	0.577	0.574	0.580	0.577	30X	25.0329	25.0329
						24.9043	
						25.1614	
24	0.470	0.474	0.477	0.474	20X	13.6314	13.7362
						13.7457	
						13.8314	
36	0.392	0.395	0.387	0.391	15X	8.5521	8.5378
						8.6164	
						8.4450	
48	0.315	0.321	0.319	0.318	10X	4.6014	4.6490
						4.6871	
						4.6586	
60	0.300	0.299	0.298	0.299	7X	3.0710	3.0610
						3.0610	
						3.0510	
72	0.276	0.272	0.273	0.274	5X	2.0221	2.0055
						1.9936	
						2.0007	
84	0.374	0.375	0.379	0.376	3X	1.6332	1.6418
						1.6376	
						1.6547	
96	0.323	0.318	0.347	0.329	2X	0.9431	0.9612
						0.9289	
						1.0117	

ตารางที่ ค-15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 5

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.386	0.382	0.389	0.386	50X	28.0786	28.0548
						27.7929	
						28.2929	
12	0.587	0.591	0.584	0.587	30X	25.4614	25.4757
						25.6329	
						25.3329	
24	0.482	0.485	0.488	0.485	20X	13.9743	14.0600
						14.0600	
						14.1457	
36	0.396	0.398	0.395	0.396	15X	8.6379	8.6450
						8.6807	
						8.6164	
48	0.328	0.333	0.337	0.333	10X	4.7871	4.8538
						4.8586	
						4.9157	
60	0.302	0.305	0.307	0.305	7X	3.0910	3.1177
						3.1210	
						3.1410	
72	0.287	0.285	0.284	0.285	5X	2.1007	2.0888
						2.0864	
						2.0793	
84	0.378	0.376	0.381	0.378	3X	1.6504	1.6519
						1.6419	
						1.6633	
96	0.328	0.330	0.334	0.331	2X	0.9574	0.9650
						0.9631	
						0.9746	

ตารางที่ ค-16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(กรัมต่อลิตร)ของการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม : พีเอช 6

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.372	0.365	0.376	0.371	50X	27.0786	27.0072
						26.5786	
						27.3643	
12	0.656	0.561	0.569	0.565	30X	24.5186	24.5186
						24.3471	
						24.6900	
24	0.478	0.476	0.479	0.478	20X	13.8600	13.8505
						13.8029	
						13.8886	
36	0.389	0.387	0.383	0.386	15X	8.4879	8.4307
						8.4450	
						8.3593	
48	0.308	0.312	0.309	0.310	10X	4.5014	4.5252
						4.5586	
						4.5157	
60	0.290	0.296	0.296	0.294	7X	2.9710	3.0110
						3.0310	
						3.0310	
72	0.265	0.270	0.268	0.268	5X	1.9436	1.9626
						1.9793	
						1.9650	
84	0.370	0.366	0.367	0.368	3X	1.6161	1.6061
						1.5990	
						1.6033	
96	0.317	0.322	0.321	0.320	2X	0.9260	0.9346
						0.9403	
						0.9374	

ตารางที่ ค-17 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.004	0.003	26.7929	26.9833	5.83	5.83
	2	0.003		26.9357		5.89	
	3	0.003		27.2214		5.78	
12	1	9.98	9.95	23.9614	23.9614	5.69	5.62
	2	9.94		24.3471		5.53	
	3	9.92		23.5757		5.63	
24	1	15.99	16.02	13.7743	13.7838	5.74	5.65
	2	16.04		13.9171		5.59	
	3	16.03		13.6600		5.63	
36	1	19.66	19.58	8.2093	8.3590	5.47	5.50
	2	19.52		8.5093		5.55	
	3	19.57		8.593		5.48	
48	1	25.18	25.14	4.5442	4.5252	5.39	5.44
	2	25.11		4.5014		5.47	
	3	25.12		4.5300		5.47	

ตารางที่ ค-17(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.03	25.02	3.0610	3.0077	5.35	5.36
	2	24.97		2.9410		5.32	
	3	25.07		3.0210		5.40	
72	1	24.89	24.92	1.9579	1.9698	5.34	5.27
	2	24.91		1.9650		5.22	
	3	24.96		1.9864		5.24	
84	1	23.98	24.01	1.5990	1.5890	5.27	5.23
	2	24.05		1.5904		5.20	
	3	24.01		1.5776		5.23	
96	1	23.63	23.59	0.9600	0.9574	5.16	5.17
	2	23.57		0.9489		5.15	
	3	23.56		0.9574		5.19	

ตารางที่ ค-18 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น2:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.003	26.7241	27.2214	5.85	5.90
	2	0.003		27.6500		5.84	
	3	0.003		27.2929		6.01	
12	1	11.13	11.08	22.6757	22.7757	5.73	5.76
	2	11.07		23.0614		5.76	
	3	11.03		22.5900		5.7	
24	1	16.20	16.17	13.4886	13.3076	5.67	5.53
	2	16.15		13.0886		5.61	
	3	16.16		13.3457		5.63	
36	1	19.71	19.75	8.0593	8.0021	5.62	5.37
	2	19.74		8.0164		5.58	
	3	19.80		7.9307		5.61	
48	1	25.61	25.57	4.2014	4.2395	5.55	5.64
	2	25.52		4.2443		5.52	
	3	25.59		4.2729		5.52	

ตารางที่ ค-18(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 2:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.53	25.49	2.8010	2.7977	5.51	5.49
	2	25.45		2.8110		5.46	
	3	25.50		2.7810		5.49	
72	1	25.18	25.20	1.8721	1.8674	5.44	5.42
	2	25.20		1.8293		5.42	
	3	25.23		1.9007		5.41	
84	1	24.86	24.83	1.5219	1.5404	5.29	5.37
	2	24.83		1.5561		5.43	
	3	24.81		1.5433		5.40	
96	1	24.61	24.66	0.9289	0.9146	5.39	5.36
	2	24.71		0.9031		5.33	
	3	24.65		0.9117		5.35	

ตารางที่ ค-19 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์เป็น 4:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.003	26.7929	27.0243	5.89	5.92
	2	0.004		27.2214		5.95	
	3	0.003		27.5786		5.91	
12	1	10.09	10.12	22.7186	22.7043	5.67	5.70
	2	10.15		22.3757		5.73	
	3	10.11		23.0186		5.71	
24	1	15.96	15.95	13.4029	13.3934	5.64	5.65
	2	15.92		13.2886		5.62	
	3	15.97		13.4886		5.70	
36	1	19.67	19.70	8.1879	8.1521	5.65	5.63
	2	19.74		8.1021		5.61	
	3	19.68		8.1664		5.62	
48	1	25.44	25.39	4.3300	4.3348	5.53	5.56
	2	25.37		4.4014		5.58	
	3	25.35		4.2729		5.57	

ตารางที่ ค-19(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 4:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.23	25.19	2.8610	2.8610	5.60	5.56
	2	25.15		2.8810		5.53	
	3	25.20		2.8410		5.56	
72	1	24.97	25.03	1.9150	1.9007	5.46	5.50
	2	25.09		1.8936		5.52	
	3	25.02		1.8936		5.52	
84	1	24.39	24.41	1.5343	1.5560	5.30	5.34
	2	24.43		1.5519		5.30	
	3	24.40		1.5819		5.32	
96	1	24.15	24.13	0.9117	0.9212	5.31	5.28
	2	24.17		0.9317		5.25	
	3	24.08		0.9203		5.27	

ตารางที่ ค-20 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์เป็น 6:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.005	0.004	27.3643	27.1262	5.89	5.90
	2	0.004		27.1500		5.86	
	3	0.003		26.8643		5.94	
12	1	10.06	10.03	23.4900	23.2757	5.69	5.70
	2	10.00		23.2329		5.72	
	3	10.04		23.1043		5.70	
24	1	16.11	16.12	13.6314	13.5743	5.58	5.56
	2	16.14		13.5457		5.53	
	3	16.12		13.5457		5.56	
36	1	19.78	19.73	8.4236	8.3522	5.56	5.52
	2	19.69		8.1450		5.51	
	3	19.71		8.4879		5.50	
48	1	25.29	25.26	4.4157	4.4317	5.51	5.50
	2	25.27		4.4871		5.48	
	3	25.22		4.4014		5.52	

ตารางที่ ค-20(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง Amylomyces rouxii TISTR 3182 และ Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 6:1

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.05	25.11	3.0010	2.9610	5.46	5.48
	2	25.15		2.9110		5.49	
	3	25.13		2.9710		5.50	
72	1	24.98	24.95	1.9221	1.9459	5.34	5.34
	2	24.92		1.9436		5.33	
	3	24.94		1.97211		5.35	
84	1	24.29	24.25	1.5990	1.5833	5.34	5.30
	2	24.20		1.5819		5.27	
	3	24.26		1.5690		5.30	
96	1	23.86	23.84	0.9317	1.9422	5.23	5.24
	2	23.81		0.9546		5.28	
	3	23.84		0.9403		5.21	

ตารางที่ ค-21 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์เป็น 1:2

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.005	0.004	27.1500	27.1024	5.83	5.85
	2	0.004		26.7929		5.87	
	3	0.003		27.3643		5.85	
12	1	9.58	9.53	24.9043	24.8900	5.66	5.64
	2	9.46		24.6900		5.62	
	3	9.55		25.0757		5.64	
24	1	15.76	15.72	14.3457	14.3267	5.59	5.57
	2	15.68		14.2600		5.56	
	3	15.73		14.3743		5.55	
36	1	18.18	18.15	8.6379	8.6736	5.43	5.43
	2	18.11		8.8307		5.41	
	3	18.15		8.5521		5.45	
48	1	24.38	24.40	4.7300	4.6919	5.40	5.41
	2	24.43		4.6871		5.41	
	3	24.39		4.6586		5.43	

ตารางที่ ค-21(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:2

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.28	24.25	3.1410	3.1643	5.36	5.41
	2	24.23		3.1910		5.44	
	3	24.26		3.1610		5.42	
72	1	23.89	23.87	2.0436	2.0626	5.32	5.32
	2	23.81		2.0936		5.29	
	3	23.91		2.0507		5.34	
84	1	23.52	23.49	1.6590	1.6647	5.31	5.30
	2	23.45		1.6804		5.29	
	3	23.50		1.6547		5.30	
96	1	22.93	22.93	1.0489	1.0184	5.25	5.24
	2	22.91		0.9945		5.22	
	3	22.94		1.0117		5.24	

ตารางที่ ค-22 ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์เป็น 1:4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.004	27.0071	27.0548	5.83	5.78
	2	0.004		26.8643		5.77	
	3	0.004		27.2929		5.75	
12	1	9.78	9.76	24.4329	24.5757	5.63	5.62
	2	9.69		24.7757		5.61	
	3	9.82		24.5186		5.61	
24	1	15.92	15.95	14.0029	14.1076	5.48	5.47
	2	15.98		14.2600		5.46	
	3	15.94		14.0600		5.47	
36	1	19.36	19.34	8.7664	8.5807	5.30	5.31
	2	19.33		8.5307		5.34	
	3	19.34		8.4450		5.28	
48	1	24.64	24.62	4.6157	4.6491	5.30	5.30
	2	24.60		4.6729		5.27	
	3	24.63		4.6586		5.32	

ตารางที่ ค-22(ต่อ) ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ของอัตราส่วนเชื้อรา ต่อ เชื้อยีสต์ เป็น 1:4

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.42	24.40	3.0810	3.0843	5.31	5.28
	2	24.37		3.1210		5.25	
	3	24.41		3.0510		5.29	
72	1	24.23	24.28	2.0007	2.0364	5.31	5.27
	2	24.29		2.0221		5.20	
	3	24.31		2.0864		5.29	
84	1	23.85	23.84	1.6504	1.6290	5.23	5.26
	2	23.88		1.6119		5.29	
	3	23.80		1.6247		5.26	
96	1	23.51	23.56	0.9774	0.9793	5.25	5.24
	2	23.62		0.9689		5.21	
	3	23.54		0.9917		5.26	

ตารางที่ ค-23 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:1

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.368	0.370	0.374	0.370	50X	26.7929	26.9833
						26.9357	
						27.2214	
12	0.552	0.561	0.543	0.552	30X	23.9614	23.9614
						24.3471	
						23.5757	
24	0.475	0.480	0.471	0.475	20X	13.7743	13.7838
						13.9171	
						13.6600	
36	0.376	0.390	0.383	0.383	15X	8.2093	8.3590
						8.5093	
						8.3593	
48	0.311	0.308	0.310	0.310	10X	4.5442	4.5252
						4.5014	
						4.5300	
60	0.299	0.287	0.295	0.294	7X	3.0610	3.0077
						2.9410	
						3.0210	
72	0.267	0.268	0.271	0.269	5X	1.9579	1.9698
						1.9650	
						1.9864	
84	0.366	0.364	0.361	0.364	3X	1.5990	1.5890
						1.5904	
						1.5776	
96	0.331	0.325	0.328	0.328	2X	0.9660	0.9574
						0.9489	
						0.9574	

ตารางที่ ค-24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 2:1

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.367	0.380	0.375	0.372	50X	26.7214	27.2214
						27.6500	
						27.2929	
12	0.522	0.531	0.520	0.524	30X	22.6757	22.7757
						23.0614	
						22.5900	
24	0.456	0.451	0.460	0.456	20X	13.4886	13.3076
						13.0886	
						13.3457	
36	0.369	0.367	0.363	0.366	15X	8.0593	8.0021
						8.0164	
						7.9307	
48	0.287	0.290	0.292	0.290	10X	4.2014	4.2395
						4.2443	
						4.2729	
60	0.273	0.274	0.271	0.273	7X	2.8010	2.7977
						2.8110	
						2.7810	
72	0.255	0.249	0.259	0.254	5X	1.8721	1.8674
						1.8293	
						1.9007	
84	0.348	0.356	0.353	0.352	3X	1.5219	1.5404
						1.5561	
						1.5433	
96	0.318	0.309	0.312	0.313	2X	0.9289	0.9146
						0.9031	
						0.9117	

ตารางที่ ค-25 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 4:1

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.368	0.374	0.379	0.374	50X	26.7929	27.0243
						27.2214	
						27.5786	
12	0.523	0.515	0.530	0.523	30X	22.7186	22.0243
						22.3757	
						23.0186	
24	0.462	0.458	0.465	0.462	20X	13.4029	13.3934
						13.2886	
						13.4886	
36	0.375	0.371	0.374	0.373	15X	8.1879	8.1521
						8.1021	
						8.1664	
48	0.296	0.301	0.292	0.296	10X	4.3300	4.3348
						4.4014	
						4.2729	
60	0.279	0.281	0.277	0.279	7X	2.8610	2.8610
						2.8810	
						2.8410	
72	0.261	0.258	0.258	0.259	5X	1.9150	1.9007
						1.8936	
						1.8936	
84	0.351	0.355	0.362	0.356	3X	1.5343	1.5560
						1.5519	
						1.5819	
96	0.312	0.319	0.315	0.315	2X	0.9117	0.9212
						0.9317	
						0.9203	

ตารางที่ ค-26 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 6:1

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.376	0.373	0.369	0.373	50X	27.3643	27.1262
						27.1500	
						26.8343	
12	0.541	0.535	0.532	0.536	30X	23.4900	23.2757
						23.2329	
						23.1043	
24	0.470	0.467	0.467	0.468	20X	13.6314	13.5743
						13.5457	
						13.5457	
36	0.386	0.373	0.389	0.383	15X	8.4236	8.3522
						8.1450	
						8.4879	
48	0.302	0.307	0.301	0.303	10X	4.4157	4.4347
						4.4871	
						4.4014	
60	0.293	0.284	0.290	0.289	7X	3.0010	2.9610
						2.9110	
						2.9710	
72	0.262	0.265	0.269	0.265	5X	1.9221	1.9459
						1.9436	
						1.9721	
84	0.366	0.362	0.359	0.362	3X	1.5990	1.5833
						1.5819	
						1.5690	
96	0.319	0.327	0.322	0.323	2X	0.9317	0.9422
						0.9546	
						0.9403	

ตารางที่ ค-27 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:2

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.373	0.368	0.376	0.372	50X	27.1500	27.1024
						26.7929	
						27.3643	
12	0.574	0.569	0.578	0.574	30X	24.9043	24.8900
						24.6900	
						25.0757	
24	0.495	0.492	0.496	0.494	20X	14.3457	14.3267
						14.2600	
						14.3743	
36	0.396	0.405	0.392	0.398	15X	8.6379	8.6736
						8.8307	
						8.5521	
48	0.324	0.321	0.319	0.321	10X	4.7300	4.6919
						4.6871	
						4.6586	
60	0.307	0.312	0.309	0.309	7X	3.1410	3.1643
						3.1910	
						3.1610	
72	0.279	0.286	0.280	0.282	5X	2.0436	2.0626
						2.0936	
						2.0507	
84	0.380	0.385	0.379	0.381	3X	1.6590	1.6647
						1.6804	
						1.6547	
96	0.360	0.341	0.347	0.349	2X	1.0489	1.0184
						0.9945	
						1.0117	

ตารางที่ ค-28 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของการศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 อัตราส่วน 1:4

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.371	0.369	0.375	0.372	50X	27.0071	27.0548
						26.8643	
						27.2929	
12	0.563	0.571	0.565	0.566	30X	24.4329	24.5757
						24.7757	
						27.5186	
24	0.483	0.492	0.485	0.487	20X	14.0029	14.1076
						14.2600	
						14.0600	
36	0.402	0.391	0.387	0.393	15X	8.7664	8.5807
						8.5307	
						8.4450	
48	0.316	0.320	0.319	0.312	10X	4.6157	4.6491
						4.6729	
						4.6586	
60	0.301	0.305	0.298	0.301	7X	3.0810	3.0843
						3.1210	
						3.0510	
72	0.273	0.276	0.285	0.278	5X	2.0007	2.0364
						2.0221	
						2.0864	
84	0.378	0.369	0.372	0.373	3X	1.6504	1.6290
						1.6119	
						1.6247	
96	0.335	0.332	0.340	0.336	2X	0.9774	0.9793
						0.9689	
						0.9917	

2. ศึกษากระบวนการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 **ร่วมกับ** *S. cerevisiae* TISTR 5088 **ในสภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า**

ตารางที่ ค-29 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.003	27.7929	27.1738	5.85	5.87
	2	0.004		27.1500		5.88	
	3	0.003		26.5786		5.89	
12	1	11.52	11.56	23.0186	22.9043	5.75	5.77
	2	11.60		22.7186		5.82	
	3	11.57		22.9757		5.74	
24	1	16.81	16.73	13.4600	13.2314	5.51	5.54
	2	16.73		13.0314		5.56	
	3	16.64		13.2029		5.54	
36	1	19.91	19.81	7.9950	7.9807	5.29	5.32
	2	19.78		7.8879		5.33	
	3	19.75		8.0593		5.35	
48	1	25.63	25.62	4.4014	4.2586	5.59	5.59
	2	25.59		4.1729		5.60	
	3	25.64		4.2014		5.57	

ตารางที่ ค-29(ต่อ) กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	25.47	25.55	2.8210	2.8477	5.56	5.53
	2	25.60		2.8510		5.50	
	3	25.59		2.8710		5.54	
72	1	25.12	25.16	1.9150	1.8793	5.44	5.46
	2	25.17		1.8507		5.47	
	3	25.19		1.8721		5.48	
84	1	24.89	24.92	1.5347	1.5547	5.41	5.39
	2	24.95		1.5690		5.37	
	3	24.92		1.5604		5.40	
96	1	24.75	24.72	0.9346	0.9270	5.39	5.35
	2	24.71		0.9203		5.32	
	3	24.69		0.9260		5.34	

ตารางที่ ค-30 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์5มิลลิลิตร)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.003	37.7286	37.1095	4.81	4.78
	2	0.004		36.5857		4.78	
	3	0.003		37.0143		4.75	
12	1	13.42	13.46	27.7214	28.3166	4.62	4.60
	2	13.50		28.5071		4.57	
	3	13.47		28.7214		4.61	
24	1	22.20	22.18	14.9743	14.8886	4.54	4.56
	2	22.15		14.8314		4.57	
	3	22.19		14.8600		4.56	
36	1	27.03	26.99	8.4450	8.3664	4.43	4.49
	2	26.94		8.3379		4.52	
	3	27.01		8.3164		4.51	
48	1	31.48	31.52	4.1793	4.1151	4.31	4.34
	2	31.56		4.1150		4.36	
	3	31.53		4.0510		4.34	

ตารางที่ ค-30(ต่อ) กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088(เอนไซม์5มิลลิลิตร)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	29.82	29.87	2.1650	2.1055	4.20	4.24
	2	29.87		2.0650		4.27	
	3	29.93		2.0864		4.25	
72	1	26.39	26.36	1.9650	1.9722	4.13	4.15
	2	26.32		1.9936		4.18	
	3	26.38		1.9579		4.15	
84	1	20.92	20.90	1.5776	1.5919	4.12	4.12
	2	20.83		1.6076		4.13	
	3	20.95		1.5904		4.12	
96	1	19.18	19.15	1.7689	1.7660	4.15	4.14
	2	19.11		1.7603		4.16	
	3	19.15		1.7689		4.11	

ตารางที่ ค-31 กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088(เอนไซม์6.65มิลลิลิตร)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
0	1	0.003	0.004	28.5786	28.6976	4.70	4.70
	2	0.005		29.0786		4.70	
	3	0.004		28.4357		4.71	
12	1	10.48	10.52	23.5329	23.6329	4.62	4.64
	2	10.57		23.7471		4.66	
	3	10.51		23.6186		4.63	
24	1	19.19	19.18	13.1171	13.1896	4.57	4.60
	2	19.23		13.3060		4.62	
	3	19.12		13.1457		4.61	
36	1	23.58	23.65	8.2307	8.1736	4.53	4.57
	2	23.66		8.1236		4.61	
	3	23.70		8.1664		4.58	
48	1	27.59	27.50	4.2586	4.3157	4.49	4.49
	2	27.42		4.4586		4.52	
	3	27.49		4.2300		4.46	

ตารางที่ ค-31(ต่อ) กระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088(เอนไซม์6.65มิลลิลิตร)

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ซ้ำที่	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย	พีเอช	ค่าเฉลี่ย
60	1	24.15	24.11	2.9310	2.8943	4.30	4.30
	2	24.09		2.8510		4.32	
	3	24.10		2.9010		4.27	
72	1	20.68	20.66	1.9436	1.9555	4.19	4.24
	2	20.70		1.9293		4.25	
	3	20.61		1.9936		4.28	
84	1	18.06	18.09	1.5690	1.5819	4.20	4.18
	2	18.09		1.5733		4.19	
	3	18.13		1.6033		4.16	
96	1	16.68	16.72	0.9631	0.9470	4.17	4.14
	2	16.73		0.9489		4.15	
	3	16.75		0.9289		4.11	

ตารางที่ ค-32 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสมของ *A. rouxii* TISTR 3182 ร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ในสภาวะที่เหมาะสม

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.382	0.373	0.365	0.373	50X	27.7929	27.1738
						27.1500	
						26.5786	
12	0.530	0.523	0.529	0.527	30X	23.0186	22.9043
						22.7186	
						22.9757	
24	0.464	0.449	0.455	0.456	20X	13.4600	13.2314
						13.0314	
						13.2029	
36	0.366	0.361	0.369	0.365	15X	7.9950	7.9807
						7.8879	
						8.0593	
48	0.301	0.285	0.287	0.291	10X	4.4014	4.2586
						4.1729	
						4.2014	
60	0.275	0.278	0.280	0.278	7X	2.8210	2.8477
						2.8510	
						2.8710	
72	0.261	0.252	0.255	0.254	5X	1.9150	1.8793
						1.8507	
						1.8721	
84	0.351	0.359	0.357	0.356	3X	1.5347	1.5547
						1.5690	
						1.5604	
96	0.320	0.315	0.317	0.317	2X	0.9346	0.9270
						0.9203	
						0.9260	

ตารางที่ ค-33 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์5มิลลิลิตร)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.257	0.249	0.252	0.253	100X	37.7286	37.1095
						36.5857	
						37.0143	
12	0.381	0.392	0.395	0.389	50X	27.7214	28.3166
						28.5071	
						28.7214	
24	0.517	0.512	0.513	0.514	20X	14.9743	14.8886
						14.8314	
						14.8600	
36	0.387	0.382	0.381	0.383	15X	8.4450	8.3664
						8.3379	
						8.3164	
48	0.578	0.569	0.560	0.569	5X	4.1793	4.1151
						4.1150	
						4.0510	
60	0.296	0.282	0.285	0.288	5X	2.1650	2.1055
						2.0650	
						2.0864	
72	0.268	0.272	0.267	0.269	5X	1.9650	1.9722
						1.9936	
						1.9579	
84	0.361	0.368	0.364	0.364	3X	1.5776	1.5919
						1.6076	
						1.5904	
96	0.612	0.609	0.612	0.611	2X	1.7689	1.7660
						1.7603	
						1.7689	

ตารางที่ ค-34 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ของกระบวนการหมักโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5088 (เอนไซม์6.65มิลลิลิตร)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 540นาโนเมตร				ระดับความเจือจาง	ความเข้มข้นน้ำตาล(g/l)	ความเข้มข้นน้ำตาลเฉลี่ย (g/l)
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย			
0	0.393	0.400	0.391	0.395	50X	28.5786	28.6976
						29.0786	
						28.4357	
12	0.542	0.547	0.544	0.544	30X	23.5329	23.6329
						23.7471	
						23.6186	
24	0.452	0.465	0.453	0.457	20X	13.1171	13.1896
						13.3060	
						13.1457	
36	0.377	0.372	0.374	0.374	15X	8.2307	8.1736
						8.1236	
						8.1664	
48	0.291	0.305	0.289	0.295	10X	4.2586	4.3157
						4.4586	
						4.2300	
60	0.286	0.278	0.283	0.282	7X	2.9310	2.8943
						2.8510	
						2.9010	
72	0.265	0.263	0.272	0.267	5X	1.9436	1.9555
						1.9293	
						1.9936	
84	0.359	0.360	0.367	0.362	3X	1.56902	1.5819
						1.5733	
						1.6033	
96	0.330	0.325	0.318	0.324	2X	0.9631	0.9470
						0.9489	
						0.9289	

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 **ร่วมกับ** *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 **โดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก**

ศึกษาความเข้มข้นของซับสเตรท

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	.00367	.000577	.000333	.00223	.00510	.003	.004
6	3	.00467	.000577	.000333	.00323	.00610	.004	.005
8	3	.00567	.000577	.000333	.00423	.00710	.005	.006
10	3	.00733	.000577	.000333	.00590	.00877	.007	.008
Total	12	.00533	.001497	.000432	.00438	.00628	.003	.008

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	3	.000	22.000	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.000	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	.00367		
6	3	.00467	.00467	
8	3		.00567	
10	3			.00733
Sig.		.067	.067	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	6.7700	.04583	.02646	6.6562	6.8838	6.72	6.81
6	3	8.0500	.03606	.02082	7.9604	8.1396	8.02	8.09
8	3	8.1167	.02517	.01453	8.0542	8.1792	8.09	8.14
10	3	10.1967	.04041	.02333	10.0963	10.2971	10.16	10.24
Total	12	8.2833	1.28314	.37041	7.4681	9.0986	6.72	10.24

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.100	3	6.033	4258.761	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	18.111	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	6.7700		
6	3		8.0500	
8	3		8.1167	
10	3			10.1967
Sig.		1.000	.062	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	15.5000	.10536	.06083	15.2383	15.7617	15.39	15.60
6	3	16.0967	.04041	.02333	15.9963	16.1971	16.06	16.14
8	3	16.3700	.03606	.02082	16.2804	16.4596	16.34	16.41
10	3	17.9700	.07550	.04359	17.7825	18.1575	17.89	18.04
Total	12	16.4842	.95622	.27604	15.8766	17.0917	15.39	18.04

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.018	3	3.339	676.921	.000
Within Groups	.039	8	.005		
Total	10.058	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	15.5000			
6	3		16.0967		
8	3			16.3700	
10	3				17.9700
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	19.0733	.04726	.02728	18.9559	19.1907	19.02	19.11
6	3	19.0367	.03055	.01764	18.9608	19.1126	19.01	19.07
8	3	19.4000	.04583	.02646	19.2862	19.5138	19.36	19.45
10	3	22.0800	.04000	.02309	21.9806	22.1794	22.04	22.12
Total	12	19.8975	1.32483	.38245	19.0557	20.7393	19.01	22.12

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.293	3	6.431	3746.270	.000
Within Groups	.014	8	.002		
Total	19.307	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	19.0367		
4	3	19.0733		
8	3		19.4000	
10	3			22.0800
Sig.		.310	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	22.5267	.11060	.06386	22.2519	22.8014	22.41	22.63
6	3	23.4167	.04041	.02333	23.3163	23.5171	23.38	23.46
8	3	24.8600	.04000	.02309	24.7606	24.9594	24.82	24.90
10	3	25.0633	.02517	.01453	25.0008	25.1258	25.04	25.09
Total	12	23.9667	1.09389	.31578	23.2716	24.6617	22.41	25.09

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.130	3	4.377	1087.409	.000
Within Groups	.032	8	.004		
Total	13.163	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	22.5267			
6	3		23.4167		
8	3			24.8600	
10	3				25.0633
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	22.4067	.02517	.01453	22.3442	22.4692	22.38	22.43
6	3	23.0867	.03786	.02186	22.9926	23.1807	23.06	23.13
8	3	24.5133	.03055	.01764	24.4374	24.5892	24.48	24.54
10	3	24.9100	.04583	.02646	24.7962	25.0238	24.86	24.95
Total	12	23.7292	1.06700	.30802	23.0512	24.4071	22.38	24.95

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.513	3	4.171	3271.449	.000
Within Groups	.010	8	.001		
Total	12.523	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	22.4067			
6	3		23.0867		
8	3			24.5133	
10	3				24.9100
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	22.3367	.03512	.02028	22.2494	22.4239	22.30	22.37
6	3	22.7833	.04041	.02333	22.6829	22.8837	22.74	22.82
8	3	24.0933	.03512	.02028	24.0061	24.1806	24.06	24.13
10	3	24.5167	.02517	.01453	24.4542	24.5792	24.49	24.54
Total	12	23.4325	.93966	.27126	22.8355	24.0295	22.30	24.54

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.703	3	3.234	2733.284	.000
Within Groups	.009	8	.001		
Total	9.713	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	22.3367			
6	3		22.7833		
8	3			24.0933	
10	3				24.5167
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	21.9733	.05132	.02963	21.8459	22.1008	21.93	22.03
6	3	22.5900	.03000	.01732	22.5155	22.6645	22.56	22.62
8	3	23.7367	.04509	.02603	23.6247	23.8487	23.69	23.78
10	3	23.7933	.04163	.02404	23.6899	23.8968	23.76	23.84
Total	12	23.0233	.80852	.23340	22.5096	23.5370	21.93	23.84

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.176	3	2.392	1310.697	.000
Within Groups	.015	8	.002		
Total	7.191	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	21.9733		
6	3		22.5900	
8	3			23.7367
10	3			23.7933
Sig.		1.000	1.000	.143

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	20.1167	.02517	.01453	20.0542	20.1792	20.09	20.14
6	3	21.6267	.06028	.03480	21.4769	21.7764	21.57	21.69
8	3	23.5233	.03512	.02028	23.4361	23.6106	23.49	23.56
10	3	23.2200	.03000	.01732	23.1455	23.2945	23.19	23.25
Total	12	22.1217	1.42449	.41122	21.2166	23.0267	20.09	23.56

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.308	3	7.436	4647.535	.000
Within Groups	.013	8	.002		
Total	22.321	11			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	20.1167			
6	3		21.6267		
10	3			23.2200	
8	3				23.5233
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	23.6500	.37798	.21823	22.7110	24.5890	23.22	23.94
6	3	26.3404	.17973	.10377	25.8940	26.7869	26.15	26.51
8	3	27.3615	.18418	.10634	26.9039	27.8190	27.22	27.57
10	3	28.2452	.21824	.12600	27.7031	28.7874	28.01	28.44
Total	12	26.3993	1.81407	.52368	25.2467	27.5519	23.22	28.44

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.686	3	11.895	185.338	.000
Within Groups	.513	8	.064		
Total	36.200	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	23.6500			
6	3		26.3404		
8	3			27.3615	
10	3				28.2452
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	22.3186	.10786	.06227	22.0507	22.5865	22.20	22.42
6	3	23.6043	.31590	.18238	22.8195	24.3890	23.36	23.96
8	3	23.9186	.07419	.04283	23.7343	24.1029	23.83	23.96
10	3	24.6110	.15215	.08784	24.2330	24.9890	24.48	24.78
Total	12	23.6131	.88291	.25488	23.0521	24.1741	22.20	24.78

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.295	3	2.765	78.953	.000
Within Groups	.280	8	.035		
Total	8.575	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	22.3186		
6	3		23.6043	
8	3		23.9186	
10	3			24.6110
Sig.		1.000	.074	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	12.6600	.20000	.11547	12.1632	13.1568	12.46	12.86
6	3	13.0505	.05944	.03432	12.9028	13.1981	13.00	13.12
8	3	13.3838	.04363	.02519	13.2754	13.4922	13.35	13.43
10	3	13.7648	.01651	.00953	13.7237	13.8058	13.75	13.77
Total	12	13.2148	.43578	.12580	12.9379	13.4916	12.46	13.77

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.997	3	.666	58.266	.000
Within Groups	.091	8	.011		
Total	2.089	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	12.6600			
6	3		13.0505		
8	3			13.3838	
10	3				13.7648
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	7.7759	.11453	.06612	7.4914	8.0604	7.66	7.89
6	3	8.1522	.03274	.01890	8.0708	8.2335	8.12	8.19
8	3	8.4379	.04464	.02578	8.3270	8.5488	8.40	8.49
10	3	8.6076	.06713	.03876	8.4409	8.7744	8.53	8.65
Total	12	8.2434	.33488	.09667	8.0306	8.4562	7.66	8.65

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.192	3	.397	76.836	.000
Within Groups	.041	8	.005		
Total	1.234	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	7.7759			
6	3		8.1522		
8	3			8.4379	
10	3				8.6076
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.1252	.02977	.01719	4.0513	4.1992	4.10	4.16
6	3	4.2776	.07871	.04544	4.0821	4.4732	4.20	4.36
8	3	4.4538	.02971	.01715	4.3800	4.5276	4.43	4.49
10	3	4.6490	.02185	.01262	4.5947	4.7033	4.63	4.67
Total	12	4.3764	.20810	.06007	4.2442	4.5086	4.10	4.67

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.459	3	.153	72.576	.000
Within Groups	.017	8	.002		
Total	.476	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	4.1252			
6	3		4.2776		
8	3			4.4538	
10	3				4.6490
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	2.6777	.02517	.01453	2.6152	2.7402	2.65	2.70
6	3	2.8477	.02309	.01333	2.7903	2.9050	2.82	2.86
8	3	2.6473	.46559	.26881	1.4908	3.8039	2.11	2.93
10	3	3.0010	.01732	.01000	2.9580	3.0440	2.99	3.02
Total	12	2.7934	.24841	.07171	2.6356	2.9512	2.11	3.02

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.242	3	.081	1.480	.292
Within Groups	.436	8	.055		
Total	.679	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
8	3	2.6473
4	3	2.6777
6	3	2.8477
10	3	3.0010
Sig.		.120

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	1.7555	.01797	.01038	1.7108	1.8001	1.74	1.77
6	3	1.8507	.01241	.00717	1.8199	1.8816	1.84	1.86
8	3	1.9198	.02184	.01261	1.8655	1.9740	1.90	1.94
10	3	2.0269	.02297	.01326	1.9698	2.0840	2.00	2.04
Total	12	1.8882	.10476	.03024	1.8217	1.9548	1.74	2.04

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.118	3	.039	105.948	.000
Within Groups	.003	8	.000		
Total	.121	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	1.7555			
6	3		1.8507		
8	3			1.9198	
10	3				2.0269
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	1.4490	.01545	.00892	1.4106	1.4873	1.44	1.47
6	3	1.5047	.00745	.00430	1.4862	1.5232	1.50	1.51
8	3	1.5547	.00651	.00376	1.5385	1.5709	1.55	1.56
10	3	1.5904	.01285	.00742	1.5585	1.6224	1.58	1.60
Total	12	1.5247	.05647	.01630	1.4888	1.5606	1.44	1.60

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.034	3	.011	90.548	.000
Within Groups	.001	8	.000		
Total	.035	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	1.4490			
6	3		1.5047		
8	3			1.5547	
10	3				1.5904
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.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	.8793	.01081	.00624	.8525	.9062	.87	.89
6	3	.9022	.00598	.00345	.8873	.9171	.90	.91
8	3	.9127	.00433	.00250	.9019	.9234	.91	.92
10	3	.9422	.00598	.00345	.9273	.9571	.94	.95
Total	12	.9091	.02438	.00704	.8936	.9246	.87	.95

ANOVA

RS

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.006	3	.002	39.439	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.007	11			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	.8793		
6	3		.9022	
8	3		.9127	
10	3			.9422
Sig.		1.000	.113	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.9600	.15100	.08718	4.5849	5.3351	4.82	5.12
6	3	5.0467	.01528	.00882	5.0087	5.0846	5.03	5.06
8	3	5.1667	.02309	.01333	5.1093	5.2240	5.14	5.18
10	3	5.3500	.01732	.01000	5.3070	5.3930	5.33	5.36
Total	12	5.1308	.16638	.04803	5.0251	5.2365	4.82	5.36

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.257	3	.086	14.344	.001
Within Groups	.048	8	.006		
Total	.304	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.9600		
6	3	5.0467	5.0467	
8	3		5.1667	
10	3			5.3500
Sig.		.207	.094	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.8900	.01000	.00577	4.8652	4.9148	4.88	4.90
6	3	5.0400	.02000	.01155	4.9903	5.0897	5.02	5.06
8	3	5.1033	.02082	.01202	5.0516	5.1550	5.08	5.12
10	3	5.3167	.02082	.01202	5.2650	5.3684	5.30	5.34
Total	12	5.0875	.16091	.04645	4.9853	5.1897	4.88	5.34

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.282	3	.094	275.211	.000
Within Groups	.003	8	.000		
Total	.285	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	4.8900			
6	3		5.0400		
8	3			5.1033	
10	3				5.3167
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.5233	.03055	.01764	4.4474	4.5992	4.49	4.55
6	3	4.8233	.04041	.02333	4.7229	4.9237	4.78	4.86
8	3	4.9967	.05508	.03180	4.8599	5.1335	4.96	5.06
10	3	5.0733	.01528	.00882	5.0354	5.1113	5.06	5.09
Total	12	4.8542	.22318	.06443	4.7124	4.9960	4.49	5.09

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.536	3	.179	122.566	.000
Within Groups	.012	8	.001		
Total	.548	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	4.5233			
6	3		4.8233		
8	3			4.9967	
10	3				5.0733
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.3367	.02517	.01453	4.2742	4.3992	4.31	4.36
6	3	4.5900	.02646	.01528	4.5243	4.6557	4.56	4.61
8	3	4.9367	.01528	.00882	4.8987	4.9746	4.92	4.95
10	3	4.9333	.03055	.01764	4.8574	5.0092	4.90	4.96
Total	12	4.6992	.26435	.07631	4.5312	4.8671	4.31	4.96

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.764	3	.255	407.302	.000
Within Groups	.005	8	.001		
Total	.769	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.3367		
6	3		4.5900	
10	3			4.9333
8	3			4.9367
Sig.		1.000	1.000	.874

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.1867	.03512	.02028	4.0994	4.2739	4.15	4.22
6	3	4.4267	.04509	.02603	4.3147	4.5387	4.38	4.47
8	3	4.7600	.02000	.01155	4.7103	4.8097	4.74	4.78
10	3	4.9167	.02082	.01202	4.8650	4.9684	4.90	4.94
Total	12	4.5725	.29839	.08614	4.3829	4.7621	4.15	4.94

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.971	3	.324	315.846	.000
Within Groups	.008	8	.001		
Total	.979	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	4.1867			
6	3		4.4267		
8	3			4.7600	
10	3				4.9167
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.1333	.03512	.02028	4.0461	4.2206	4.10	4.17
6	3	4.2600	.06000	.03464	4.1110	4.4090	4.20	4.32
8	3	4.6700	.03606	.02082	4.5804	4.7596	4.63	4.70
10	3	4.9033	.02082	.01202	4.8516	4.9550	4.88	4.92
Total	12	4.4917	.32518	.09387	4.2851	4.6983	4.10	4.92

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.150	3	.383	233.509	.000
Within Groups	.013	8	.002		
Total	1.163	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	4.1333			
6	3		4.2600		
8	3			4.6700	
10	3				4.9033
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	4.1033	.03512	.02028	4.0161	4.1906	4.07	4.14
6	3	4.1633	.02082	.01202	4.1116	4.2150	4.14	4.18
8	3	4.5867	.08327	.04807	4.3798	4.7935	4.52	4.68
10	3	4.8967	.03215	.01856	4.8168	4.9765	4.86	4.92
Total	12	4.4375	.34099	.09844	4.2208	4.6542	4.07	4.92

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.260	3	.420	174.361	.000
Within Groups	.019	8	.002		
Total	1.279	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.1033		
6	3	4.1633		
8	3		4.5867	
10	3			4.8967
Sig.		.173	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	3.8667	.03512	.02028	3.7794	3.9539	3.83	3.90
6	3	4.0800	.03606	.02082	3.9904	4.1696	4.05	4.12
8	3	4.4733	.04933	.02848	4.3508	4.5959	4.44	4.53
10	3	4.7567	.02517	.01453	4.6942	4.8192	4.73	4.78
Total	12	4.2942	.36120	.10427	4.0647	4.5237	3.83	4.78

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.424	3	.475	339.022	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	1.435	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	3.8667			
6	3		4.0800		
8	3			4.4733	
10	3				4.7567
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4	3	3.8200	.03000	.01732	3.7455	3.8945	3.79	3.85
6	3	4.0000	.04000	.02309	3.9006	4.0994	3.96	4.04
8	3	4.3700	.04359	.02517	4.2617	4.4783	4.32	4.40
10	3	4.7167	.02082	.01202	4.6650	4.7684	4.70	4.74
Total	12	4.2267	.36205	.10451	3.9966	4.4567	3.79	4.74

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.432	3	.477	395.090	.000
Within Groups	.010	8	.001		
Total	1.442	11			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	3.8200			
6	3		4.0000		
8	3			4.3700	
10	3				4.7167
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.

ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้น
ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	.00433	.000577	.000333	.00290	.00577	.004	.005
4	3	.00333	.000577	.000333	.00190	.00477	.003	.004
5	3	.00467	.000577	.000333	.00323	.00610	.004	.005
6	3	.00367	.000577	.000333	.00223	.00510	.003	.004
Total	12	.00400	.000739	.000213	.00353	.00447	.003	.005

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	3	.000	3.333	.077
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.000	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	3	.00333	
6	3	.00367	.00367
Control	3	.00433	.00433
5	3		.00467
Sig.		.076	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =
3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	9.8300	.01000	.00577	9.8052	9.8548	9.82	9.84
4	3	9.1400	.02000	.01155	9.0903	9.1897	9.12	9.16
5	3	9.6967	.05033	.02906	9.5716	9.8217	9.65	9.75
6	3	10.0467	.04933	.02848	9.9241	10.1692	9.99	10.08
Total	12	9.6783	.35128	.10141	9.4551	9.9015	9.12	10.08

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.346	3	.449	328.398	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	1.357	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	9.1400			
5	3		9.6967		
control	3			9.8300	
6	3				10.0467
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	15.6200	.05568	.03215	15.4817	15.7583	15.57	15.68
4	3	15.2700	.03606	.02082	15.1804	15.3596	15.23	15.30
5	3	15.5867	.14295	.08253	15.2316	15.9418	15.43	15.71
6	3	16.1667	.03786	.02186	16.0726	16.2607	16.14	16.21
Total	12	15.6608	.34376	.09924	15.4424	15.8792	15.23	16.21

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.247	3	.416	63.318	.000
Within Groups	.053	8	.007		
Total	1.300	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	15.2700		
5	3		15.5867	
control	3		15.6200	
6	3			16.1667
Sig.		1.000	.628	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	19.3167	.03055	.01764	19.2408	19.3926	19.29	19.35
4	3	18.9533	.05508	.03180	18.8165	19.0901	18.90	19.01
5	3	19.2533	.04933	.02848	19.1308	19.3759	19.22	19.31
6	3	19.5033	.03055	.01764	19.4274	19.5792	19.47	19.53
Total	12	19.2567	.20978	.06056	19.1234	19.3900	18.90	19.53

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.469	3	.156	85.345	.000
Within Groups	.015	8	.002		
Total	.484	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	18.9533		
5	3		19.2533	
control	3		19.3167	
6	3			19.5033
Sig.		1.000	.108	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	24.7267	.02517	.01453	24.6642	24.7892	24.70	24.75
4	3	22.7800	.05568	.03215	22.6417	22.9183	22.72	22.83
5	3	24.7033	.04509	.02603	24.5913	24.8153	24.66	24.75
6	3	25.3633	.02517	.01453	25.3008	25.4258	25.34	25.39
Total	12	24.3933	1.01200	.29214	23.7503	25.0363	22.72	25.39

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.253	3	3.751	2344.347	.000
Within Groups	.013	8	.002		
Total	11.266	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	22.7800		
5	3		24.7033	
control	3		24.7267	
6	3			25.3633
Sig.		1.000	.495	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	24.5667	.04041	.02333	24.4663	24.6671	24.53	24.61
4	3	22.7000	.02000	.01155	22.6503	22.7497	22.68	22.72
5	3	24.5800	.02646	.01528	24.5143	24.6457	24.56	24.61
6	3	25.0367	.03055	.01764	24.9608	25.1126	25.01	25.07
Total	12	24.2208	.93850	.27092	23.6245	24.8171	22.68	25.07

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.681	3	3.227	3520.494	.000
Within Groups	.007	8	.001		
Total	9.689	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	22.7000		
control	3		24.5667	
5	3		24.5800	
6	3			25.0367
Sig.		1.000	.604	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	22.2333	.03055	.01764	22.1574	22.3092	22.20	22.26
4	3	20.3767	.03055	.01764	20.3008	20.4526	20.35	20.41
5	3	23.1567	.02309	.01333	23.0993	23.2140	23.13	23.17
6	3	24.8167	.04509	.02603	24.7047	24.9287	24.77	24.86
Total	12	22.6458	1.67568	.48373	21.5812	23.7105	20.35	24.86

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.878	3	10.293	9286.684	.000
Within Groups	.009	8	.001		
Total	30.887	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	20.3767			
control	3		22.2333		
5	3			23.1567	
6	3				24.8167
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.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	20.0767	.03512	.02028	19.9894	20.1639	20.04	20.11
4	3	20.1100	.02000	.01155	20.0603	20.1597	20.09	20.13
5	3	21.4433	.02082	.01202	21.3916	21.4950	21.42	21.46
6	3	23.9567	.08505	.04910	23.7454	24.1679	23.87	24.04
Total	12	21.3967	1.64813	.47577	20.3495	22.4438	20.04	24.04

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29.861	3	9.954	4281.157	.000
Within Groups	.019	8	.002		
Total	29.880	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
control	3	20.0767		
4	3	20.1100		
5	3		21.4433	
6	3			23.9567
Sig.		.422	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	19.8600	.04000	.02309	19.7606	19.9594	19.82	19.90
4	3	19.9067	.07572	.04372	19.7186	20.0948	19.82	19.96
5	3	21.0067	.03055	.01764	20.9308	21.0826	20.98	21.04
6	3	23.4567	.05859	.03383	23.3111	23.6022	23.39	23.50
Total	12	21.0575	1.52478	.44017	20.0887	22.0263	19.82	23.50

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.551	3	8.517	2911.798	.000
Within Groups	.023	8	.003		
Total	25.574	11			

Ethanol

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
control	3	19.8600		
4	3	19.9067		
5	3		21.0067	
6	3			23.4567
Sig.		.321	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	27.1739	.35949	.20755	26.2809	28.0669	26.79	27.51
4	3	27.1976	.10911	.06299	26.9266	27.4687	27.08	27.29
5	3	28.0538	.24947	.14403	27.4341	28.6736	27.79	28.29
6	3	27.0067	.39514	.22813	26.0251	27.9882	26.58	27.36
Total	12	27.3580	.49733	.14357	27.0420	27.6740	26.58	28.29

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.002	3	.667	7.424	.011
Within Groups	.719	8	.090		
Total	2.721	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	27.0067	
control	3	27.1739	
4	3	27.1976	
5	3		28.0538
Sig.		.475	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	24.6467	.18930	.10929	24.1764	25.1169	24.43	24.78
4	3	25.0300	.13000	.07506	24.7071	25.3529	24.90	25.16
5	3	25.4733	.15044	.08686	25.0996	25.8471	25.33	25.63
6	3	24.5200	.17000	.09815	24.0977	24.9423	24.35	24.69
Total	12	24.9175	.41203	.11894	24.6557	25.1793	24.35	25.63

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.659	3	.553	21.213	.000
Within Groups	.209	8	.026		
Total	1.867	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	24.5200		
control	3	24.6467		
4	3		25.0300	
5	3			25.4733
Sig.		.365	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	13.8800	.07550	.04359	13.6925	14.0675	13.80	13.95
4	3	13.7333	.10017	.05783	13.4845	13.9822	13.63	13.83
5	3	14.0600	.09000	.05196	13.8364	14.2836	13.97	14.15
6	3	13.8500	.04583	.02646	13.7362	13.9638	13.80	13.89
Total	12	13.8808	.14022	.04048	13.7917	13.9699	13.63	14.15

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.164	3	.055	8.454	.007
Within Groups	.052	8	.006		
Total	.216	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	3	13.7333	
6	3	13.8500	
control	3	13.8800	
5	3		14.0600
Sig.		.065	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	8.4667	.08505	.04910	8.2554	8.6779	8.38	8.55
4	3	8.5367	.08083	.04667	8.3359	8.7375	8.45	8.61
5	3	8.6467	.03055	.01764	8.5708	8.7226	8.62	8.68
6	3	8.4333	.06658	.03844	8.2679	8.5987	8.36	8.49
Total	12	8.5208	.10370	.02994	8.4549	8.5867	8.36	8.68

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.080	3	.027	5.577	.023
Within Groups	.038	8	.005		
Total	.118	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	8.4333	
control	3	8.4667	
4	3	8.5367	8.5367
5	3		8.6467
Sig.		.117	.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	4.5533	.04163	.02404	4.4499	4.6568	4.52	4.60
4	3	4.6500	.04583	.02646	4.5362	4.7638	4.60	4.69
5	3	4.8567	.06506	.03756	4.6950	5.0183	4.79	4.92
6	3	4.5267	.03055	.01764	4.4508	4.6026	4.50	4.56
Total	12	4.6467	.14131	.04079	4.5569	4.7365	4.50	4.92

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.202	3	.067	29.877	.000
Within Groups	.018	8	.002		
Total	.220	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	4.5267		
control	3	4.5533		
4	3		4.6500	
5	3			4.8567
Sig.		.511	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	3.0167	.03512	.02028	2.9294	3.1039	2.98	3.05
4	3	3.0600	.01000	.00577	3.0352	3.0848	3.05	3.07
5	3	3.1167	.02517	.01453	3.0542	3.1792	3.09	3.14
6	3	3.0100	.03464	.02000	2.9239	3.0961	2.97	3.03
Total	12	3.0508	.05054	.01459	3.0187	3.0829	2.97	3.14

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	3	.007	9.161	.006
Within Groups	.006	8	.001		
Total	.028	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	3.0100	
control	3	3.0167	
4	3	3.0600	
5	3		3.1167
Sig.		.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	1.9700	.01000	.00577	1.9452	1.9948	1.96	1.98
4	3	2.0033	.01528	.00882	1.9654	2.0413	1.99	2.02
5	3	2.0900	.01000	.00577	2.0652	2.1148	2.08	2.10
6	3	1.9633	.02082	.01202	1.9116	2.0150	1.94	1.98
Total	12	2.0067	.05416	.01563	1.9723	2.0411	1.94	2.10

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.031	3	.010	46.974	.000
Within Groups	.002	8	.000		
Total	.032	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6	3	1.9633		
control	3	1.9700		
4	3		2.0033	
5	3			2.0900
Sig.		.594	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	1.6067	.01528	.00882	1.5687	1.6446	1.59	1.62
4	3	1.6400	.01000	.00577	1.6152	1.6648	1.63	1.65
5	3	1.6500	.01000	.00577	1.6252	1.6748	1.64	1.66
6	3	1.6063	.01185	.00684	1.5769	1.6358	1.60	1.62
Total	12	1.6258	.02285	.00660	1.6112	1.6403	1.59	1.66

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.005	3	.002	10.684	.004
Within Groups	.001	8	.000		
Total	.006	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	1.6063	
control	3	1.6067	
4	3		1.6400
5	3		1.6500
Sig.		.974	.336

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	.9400	.01000	.00577	.9152	.9648	.93	.95
4	3	.9600	.04359	.02517	.8517	1.0683	.93	1.01
5	3	.9600	.01000	.00577	.9352	.9848	.95	.97
6	3	.9367	.00577	.00333	.9223	.9510	.93	.94
Total	12	.9492	.02275	.00657	.9347	.9636	.93	1.01

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	3	.000	.891	.486
Within Groups	.004	8	.001		
Total	.006	11			

Reducing Sugar

Duncan

pH	N	Subset for alpha = 0.05
		1
6	3	.9367
control	3	.9400
4	3	.9600
5	3	.9600
Sig.		.277

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	6.2500	.03000	.01732	6.1755	6.3245	6.22	6.28
4	3	3.9600	.02000	.01155	3.9103	4.0097	3.94	3.98
5	3	4.8567	.00577	.00333	4.8423	4.8710	4.85	4.86
6	3	5.8767	.08083	.04667	5.6759	6.0775	5.79	5.95
Total	12	5.2358	.93653	.27035	4.6408	5.8309	3.94	6.28

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.632	3	3.211	1632.569	.000
Within Groups	.016	8	.002		
Total	9.648	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4	3	3.9600			
5	3		4.8567		
6	3			5.8767	
control	3				6.2500
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.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	5.4867	.03055	.01764	5.4108	5.5626	5.46	5.52
4	3	4.1667	.03512	.02028	4.0794	4.2539	4.13	4.20
5	3	5.0233	.05686	.03283	4.8821	5.1646	4.96	5.07
6	3	5.5333	.01528	.00882	5.4954	5.5713	5.52	5.55
Total	12	5.0525	.57422	.16576	4.6877	5.4173	4.13	5.55

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.616	3	1.205	855.801	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	3.627	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.1667		
5	3		5.0233	
control	3			5.4867
6	3			5.5333
Sig.		1.000	1.000	.166

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	5.1433	.02082	.01202	5.0916	5.1950	5.12	5.16
4	3	4.3267	.03215	.01856	4.2468	4.4065	4.29	4.35
5	3	5.3733	.02517	.01453	5.3108	5.4358	5.35	5.40
6	3	5.3933	.03055	.01764	5.3174	5.4692	5.36	5.42
Total	12	5.0592	.45408	.13108	4.7707	5.3477	4.29	5.42

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.262	3	.754	994.297	.000
Within Groups	.006	8	.001		
Total	2.268	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.3267		
control	3		5.1433	
5	3			5.3733
6	3			5.3933
Sig.		1.000	1.000	.400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	5.0667	.03055	.01764	4.9908	5.1426	5.04	5.10
4	3	4.4600	.05568	.03215	4.3217	4.5983	4.40	4.51
5	3	5.1200	.02000	.01155	5.0703	5.1697	5.10	5.14
6	3	5.2100	.03606	.02082	5.1204	5.2996	5.17	5.24
Total	12	4.9642	.31038	.08960	4.7670	5.1614	4.40	5.24

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.048	3	.349	243.773	.000
Within Groups	.011	8	.001		
Total	1.060	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.4600		
control	3		5.0667	
5	3		5.1200	
6	3			5.2100
Sig.		1.000	.123	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	5.0400	.02000	.01155	4.9903	5.0897	5.02	5.06
4	3	4.6167	.05132	.02963	4.4892	4.7441	4.56	4.66
5	3	5.0633	.03512	.02028	4.9761	5.1506	5.03	5.10
6	3	5.2000	.02646	.01528	5.1343	5.2657	5.18	5.23
Total	12	4.9800	.23018	.06645	4.8338	5.1262	4.56	5.23

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.573	3	.191	153.790	.000
Within Groups	.010	8	.001		
Total	.583	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.6167		
control	3		5.0400	
5	3		5.0633	
6	3			5.2000
Sig.		1.000	.441	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	4.9833	.04041	.02333	4.8829	5.0837	4.94	5.02
4	3	4.8100	.07000	.04041	4.6361	4.9839	4.73	4.86
5	3	5.0633	.02082	.01202	5.0116	5.1150	5.04	5.08
6	3	5.4433	.04726	.02728	5.3259	5.5607	5.39	5.48
Total	12	5.0750	.24526	.07080	4.9192	5.2308	4.73	5.48

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.643	3	.214	93.232	.000
Within Groups	.018	8	.002		
Total	.662	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	4.8100		
control	3		4.9833	
5	3		5.0633	
6	3			5.4433
Sig.		1.000	.075	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	4.9300	.03000	.01732	4.8555	5.0045	4.90	4.96
4	3	4.9567	.04041	.02333	4.8563	5.0571	4.92	5.00
5	3	4.9800	.04583	.02646	4.8662	5.0938	4.94	5.03
6	3	4.8700	.02000	.01155	4.8203	4.9197	4.85	4.89
Total	12	4.9342	.05248	.01515	4.9008	4.9675	4.85	5.03

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.020	3	.007	5.358	.026
Within Groups	.010	8	.001		
Total	.030	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	4.8700	
control	3	4.9300	4.9300
4	3		4.9567
5	3		4.9800
Sig.		.072	.136

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	4.8800	.03606	.02082	4.7904	4.9696	4.85	4.92
4	3	5.0267	.05859	.03383	4.8811	5.1722	4.96	5.07
5	3	4.8700	.02000	.01155	4.8203	4.9197	4.85	4.89
6	3	5.5200	.04583	.02646	5.4062	5.6338	5.47	5.56
Total	12	5.0742	.27891	.08051	4.8970	5.2514	4.85	5.56

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.841	3	.280	155.065	.000
Within Groups	.014	8	.002		
Total	.856	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	3	4.8700		
control	3	4.8800		
4	3		5.0267	
6	3			5.5200
Sig.		.781	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	4.7533	.02517	.01453	4.6908	4.8158	4.73	4.78
4	3	5.0467	.04163	.02404	4.9432	5.1501	5.00	5.08
5	3	4.8233	.03055	.01764	4.7474	4.8992	4.79	4.85
6	3	5.4800	.04000	.02309	5.3806	5.5794	5.44	5.52
Total	12	5.0258	.29782	.08597	4.8366	5.2151	4.73	5.52

ANOVA

pH

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.966	3	.322	262.828	.000
Within Groups	.010	8	.001		
Total	.976	11			

pH

Duncan

p	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
control	3	4.7533			
5	3		4.8233		
4	3			5.0467	
6	3				5.4800
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.

ศึกษาอัตราส่วนระหว่าง *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cereviciae* TISTR 5088
ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	.00333	.000577	.000333	.00190	.00477	.003	.004
2:1	3	.00300	.000000	.000000	.00300	.00300	.003	.003
4:1	3	.00333	.000577	.000333	.00190	.00477	.003	.004
6:1	3	.00400	.001000	.000577	.00152	.00648	.003	.005
1:2	3	.00383	.000764	.000441	.00194	.00573	.003	.005
1:4	3	.00367	.000577	.000333	.00223	.00510	.003	.004
Total	18	.00353	.000652	.000154	.00320	.00385	.003	.005

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.961	.478
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2:1	3	.00300
1:1	3	.00333
4:1	3	.00333
1:4	3	.00367
1:2	3	.00383
6:1	3	.00400
Sig.		.117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	9.9467	.03055	.01764	9.8708	10.0226	9.92	9.98
1:2	3	11.0767	.05033	.02906	10.9516	11.2017	11.03	11.13
4:1	3	10.1167	.03055	.01764	10.0408	10.1926	10.09	10.15
6:1	3	10.0333	.03055	.01764	9.9574	10.1092	10.00	10.06
1:2	3	9.5300	.06245	.03606	9.3749	9.6851	9.46	9.58
1:4	3	9.7633	.06658	.03844	9.5979	9.9287	9.69	9.82
Total	18	10.0778	.50173	.11826	9.8283	10.3273	9.46	11.13

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.252	5	.850	373.362	.000
Within Groups	.027	12	.002		
Total	4.280	17			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1:2	3	9.5300				
1:4	3		9.7633			
1:1	3			9.9467		
6:1	3				10.0333	
4:1	3				10.1167	
2:1	3					11.0767
Sig.		1.000	1.000	1.000	.054	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	16.0200	.02646	.01528	15.9543	16.0857	15.99	16.04
2:1	3	16.1700	.02646	.01528	16.1043	16.2357	16.15	16.20
4:1	3	15.9500	.02646	.01528	15.8843	16.0157	15.92	15.97
6:1	3	16.1233	.01528	.00882	16.0854	16.1613	16.11	16.14
1:2	3	15.7233	.04041	.02333	15.6229	15.8237	15.68	15.76
1:4	3	15.9467	.03055	.01764	15.8708	16.0226	15.92	15.98
Total	18	15.9889	.15084	.03555	15.9139	16.0639	15.68	16.20

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.377	5	.075	92.321	.000
Within Groups	.010	12	.001		
Total	.387	17			

Ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:2	3	15.7233			
1:4	3		15.9467		
4:1	3		15.9500		
1:1	3			16.0200	
6:1	3				16.1233
2:1	3				16.1700
Sig.		1.000	.889	1.000	.069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	19.5833	.07095	.04096	19.4071	19.7596	19.52	19.66
2:1	3	19.7500	.04583	.02646	19.6362	19.8638	19.71	19.80
4:1	3	19.6967	.03786	.02186	19.6026	19.7907	19.67	19.74
6:1	3	19.7267	.04726	.02728	19.6093	19.8441	19.69	19.78
1:2	3	18.1467	.03512	.02028	18.0594	18.2339	18.11	18.18
1:4	3	19.3433	.01528	.00882	19.3054	19.3813	19.33	19.36
Total	18	19.3744	.58347	.13753	19.0843	19.6646	18.11	19.80

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.763	5	1.153	563.763	.000
Within Groups	.025	12	.002		
Total	5.787	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:2	3	18.1467			
1:4	3		19.3433		
1:1	3			19.5833	
4:1	3				19.6967
6:1	3				19.7267
2:1	3				19.7500
Sig.		1.000	1.000	1.000	.194

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	25.1367	.03786	.02186	25.0426	25.2307	25.11	25.18
2:1	3	25.5733	.04726	.02728	25.4559	25.6907	25.52	25.61
4:1	3	25.3867	.04726	.02728	25.2693	25.5041	25.35	25.44
6:1	3	25.2600	.03606	.02082	25.1704	25.3496	25.22	25.29
1:2	3	24.4000	.02646	.01528	24.3343	24.4657	24.38	24.43
1:4	3	24.6233	.02082	.01202	24.5716	24.6750	24.60	24.64
Total	18	25.0633	.43002	.10136	24.8495	25.2772	24.38	25.61

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.127	5	.625	450.278	.000
Within Groups	.017	12	.001		
Total	3.144	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1:2	3	24.4000					
1:4	3		24.6233				
1:1	3			25.1367			
6:1	3				25.2600		
4:1	3					25.3867	
2:1	3						25.5733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	25.0233	.05033	.02906	24.8983	25.1484	24.97	25.07
2:1	3	25.4933	.04041	.02333	25.3929	25.5937	25.45	25.53
4:1	3	25.1933	.04041	.02333	25.0929	25.2937	25.15	25.23
6:1	3	25.1100	.05292	.03055	24.9786	25.2414	25.05	25.15
1:2	3	24.2567	.02517	.01453	24.1942	24.3192	24.23	24.28
1:4	3	24.4000	.02646	.01528	24.3343	24.4657	24.37	24.42
Total	18	24.9128	.45379	.10696	24.6871	25.1384	24.23	25.53

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.481	5	.696	420.511	.000
Within Groups	.020	12	.002		
Total	3.501	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1:2	3	24.2567					
1:4	3		24.4000				
1:1	3			25.0233			
6:1	3				25.1100		
4:1	3					25.1933	
2:1	3						25.4933
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	24.9200	.03606	.02082	24.8304	25.0096	24.89	24.96
2:1	3	25.2033	.02517	.01453	25.1408	25.2658	25.18	25.23
4:1	3	25.0267	.06028	.03480	24.8769	25.1764	24.97	25.09
6:1	3	24.9467	.03055	.01764	24.8708	25.0226	24.92	24.98
1:2	3	23.8700	.05292	.03055	23.7386	24.0014	23.81	23.91
1:4	3	24.2767	.04163	.02404	24.1732	24.3801	24.23	24.31
Total	18	24.7072	.48709	.11481	24.4650	24.9494	23.81	25.23

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.011	5	.802	436.274	.000
Within Groups	.022	12	.002		
Total	4.033	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1:2	3	23.8700				
1:4	3		24.2767			
1:1	3			24.9200		
6:1	3			24.9467		
4:1	3				25.0267	
2:1	3					25.2033
Sig.		1.000	1.000	.461	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	24.0133	.03512	.02028	23.9261	24.1006	23.98	24.05
2:!	3	24.8333	.02517	.01453	24.7708	24.8958	24.81	24.86
4:1	3	24.4067	.02082	.01202	24.3550	24.4584	24.39	24.43
6:1	3	24.2500	.04583	.02646	24.1362	24.3638	24.20	24.29
1:2	3	23.4900	.03606	.02082	23.4004	23.5796	23.45	23.52
1:4	3	23.8433	.04041	.02333	23.7429	23.9437	23.80	23.88
Total	18	24.1394	.43966	.10363	23.9208	24.3581	23.45	24.86

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.271	5	.654	535.325	.000
Within Groups	.015	12	.001		
Total	3.286	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1:2	3	23.4900					
1:4	3		23.8433				
1:1	3			24.0133			
6:1	3				24.2500		
4:1	3					24.4067	
2:1	3						24.8333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	23.5867	.03786	.02186	23.4926	23.6807	23.56	23.63
2:1	3	24.6567	.05033	.02906	24.5316	24.7817	24.61	24.71
4:1	3	24.1333	.04726	.02728	24.0159	24.2507	24.08	24.17
6:1	3	23.8367	.02517	.01453	23.7742	23.8992	23.81	23.86
1:2	3	22.9267	.01528	.00882	22.8887	22.9646	22.91	22.94
1:4	3	23.5567	.05686	.03283	23.4154	23.6979	23.51	23.62
Total	18	23.7828	.55075	.12981	23.5089	24.0567	22.91	24.71

ANOVA

Ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.136	5	1.027	598.364	.000
Within Groups	.021	12	.002		
Total	5.157	17			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1:2	3	22.9267				
1:4	3		23.5567			
1:1	3		23.5867			
6:1	3			23.8367		
4:1	3				24.1333	
2:1	3					24.6567
Sig.		1.000	.393	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	26.9833	.21819	.12597	26.4413	27.5253	26.79	27.22
2:1	3	27.2214	.46841	.27043	26.0578	28.3850	26.72	27.65
4:1	3	27.1976	.39339	.22712	26.2204	28.1749	26.79	27.58
6:1	3	27.1162	.26661	.15393	26.4539	27.7785	26.83	27.36
1:2	3	27.1024	.28866	.16666	26.3853	27.8195	26.79	27.36
1:4	3	27.0548	.21824	.12600	26.5126	27.5969	26.86	27.29
Total	18	27.1126	.28340	.06680	26.9717	27.2536	26.72	27.65

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.118	5	.024	.226	.944
Within Groups	1.248	12	.104		
Total	1.365	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1:1	3	26.9833
1:4	3	27.0548
1:2	3	27.1024
6:1	3	27.1162
4:1	3	27.1976
2:1	3	27.2214
Sig.		.427

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	23.9614	.38570	.22268	23.0033	24.9195	23.58	24.35
2:1	3	22.7757	.25111	.14498	22.1519	23.3995	22.59	23.06
4:1	3	22.7043	.32169	.18573	21.9052	23.5034	22.38	23.02
6:1	3	23.2757	.19639	.11338	22.7879	23.7636	23.10	23.49
1:2	3	24.8900	.19325	.11157	24.4099	25.3701	24.69	25.08
1:4	3	25.5757	1.69128	.97646	21.3744	29.7771	24.43	27.52
Total	18	23.8638	1.26272	.29763	23.2359	24.4917	22.38	27.52

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.603	5	4.121	7.603	.002
Within Groups	6.503	12	.542		
Total	27.106	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4:1	3	22.7043		
2:1	3	22.7757		
6:1	3	23.2757		
1:1	3	23.9614	23.9614	
1:2	3		24.8900	24.8900
1:4	3			25.5757
Sig.		.076	.148	.276

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	13.7838	.12881	.07437	13.4638	14.1038	13.66	13.92
2:1	3	13.3076	.20270	.11703	12.8041	13.8112	13.09	13.49
4:1	3	13.3934	.10034	.05793	13.1441	13.6426	13.29	13.49
6:1	3	13.5743	.04948	.02857	13.4514	13.6972	13.55	13.63
1:2	3	14.3267	.05948	.03434	14.1789	14.4744	14.26	14.37
1:4	3	14.1076	.13501	.07795	13.7723	14.4430	14.00	14.26
Total	18	13.7489	.39332	.09271	13.5533	13.9445	13.09	14.37

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.446	5	.489	31.918	.000
Within Groups	.184	12	.015		
Total	2.630	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2:1	3	13.3076			
4:1	3	13.3934	13.3934		
6:1	3		13.5743	13.5743	
1:1	3			13.7838	
1:4	3				14.1076
1:2	3				14.3267
Sig.		.413	.099	.060	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	8.3593	.15000	.08660	7.9867	8.7319	8.21	8.51
2:1	3	8.0021	.06548	.03780	7.8395	8.1648	7.93	8.06
4:1	3	8.1521	.04464	.02578	8.0412	8.2630	8.10	8.19
6:1	3	8.3522	.18227	.10523	7.8994	8.8049	8.15	8.49
1:2	3	8.6736	.14268	.08238	8.3191	9.0280	8.55	8.83
1:4	3	8.5807	.16643	.09609	8.1673	8.9941	8.45	8.77
Total	18	8.3533	.26284	.06195	8.2226	8.4840	7.93	8.83

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.954	5	.191	10.405	.000
Within Groups	.220	12	.018		
Total	1.174	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2:1	3	8.0021			
4:1	3	8.1521	8.1521		
6:1	3		8.3522	8.3522	
1:1	3		8.3593	8.3593	
1:4	3			8.5807	8.5807
1:2	3				8.6736
Sig.		.200	.099	.072	.417

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	4.5252	.02180	.01259	4.4710	4.5794	4.50	4.54
2:1	3	4.2395	.03599	.02078	4.1501	4.3289	4.20	4.27
4:1	3	4.3348	.06438	.03717	4.1748	4.4947	4.27	4.40
6:1	3	4.4347	.04591	.02651	4.3207	4.5488	4.40	4.49
1:2	3	4.6919	.03594	.02075	4.6026	4.7812	4.66	4.73
1:4	3	4.6491	.02977	.01719	4.5751	4.7230	4.62	4.67
Total	18	4.4792	.16975	.04001	4.3948	4.5636	4.20	4.73

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.469	5	.094	55.226	.000
Within Groups	.020	12	.002		
Total	.490	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
2:1	3	4.2395				
4:1	3		4.3348			
6:1	3			4.4347		
1:1	3				4.5252	
1:2	3					4.6491
1:4	3					4.6919
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.227

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	3.0077	.06110	.03528	2.8559	3.1594	2.94	3.06
2:1	3	2.7977	.01528	.00882	2.7597	2.8356	2.78	2.81
4:1	3	2.8610	.02000	.01155	2.8113	2.9107	2.84	2.88
6:1	3	2.9610	.04583	.02646	2.8472	3.0748	2.91	3.00
1:2	3	3.1643	.02517	.01453	3.1018	3.2268	3.14	3.19
1:4	3	3.0843	.03512	.02028	2.9971	3.1716	3.05	3.12
Total	18	2.9793	.13214	.03115	2.9136	3.0450	2.78	3.19

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.280	5	.056	40.346	.000
Within Groups	.017	12	.001		
Total	.297	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2:1	3	2.7977			
4:1	3	2.8610			
6:1	3		2.9610		
1:1	3		3.0077		
1:4	3			3.0843	
1:2	3				3.1643
Sig.		.059	.151	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	1.9698	.01484	.00857	1.9329	2.0066	1.96	1.99
2:1	3	1.8674	.03593	.02075	1.7781	1.9566	1.83	1.90
4:1	3	1.9007	.01236	.00713	1.8700	1.9314	1.89	1.92
6:1	3	1.9459	.02508	.01448	1.8836	2.0082	1.92	1.97
1:2	3	2.0626	.02705	.01562	1.9954	2.1298	2.04	2.09
1:4	3	2.0364	.04460	.02575	1.9256	2.1472	2.00	2.09
Total	18	1.9638	.07516	.01772	1.9264	2.0012	1.83	2.09

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.086	5	.017	20.583	.000
Within Groups	.010	12	.001		
Total	.096	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2:1	3	1.8674			
4:1	3	1.9007	1.9007		
6:1	3		1.9459	1.9459	
1:1	3			1.9698	
1:4	3				2.0364
1:2	3				2.0626
Sig.		.183	.080	.333	.288

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	1.5890	.01077	.00622	1.5622	1.6158	1.58	1.60
2:1	3	1.5404	.01728	.00998	1.4975	1.5834	1.52	1.56
4:1	3	1.5560	.02407	.01390	1.4962	1.6158	1.53	1.58
6:1	3	1.5833	.01505	.00869	1.5459	1.6207	1.57	1.60
1:2	3	1.6647	.01377	.00795	1.6305	1.6989	1.65	1.68
1:4	3	1.6290	.01961	.01132	1.5803	1.6777	1.61	1.65
Total	18	1.5937	.04577	.01079	1.5710	1.6165	1.52	1.68

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.032	5	.006	21.416	.000
Within Groups	.004	12	.000		
Total	.036	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
2:1	3	1.5404				
4:1	3	1.5560	1.5560			
6:1	3		1.5833	1.5833		
1:1	3			1.5890		
1:4	3				1.6290	
1:2	3					1.6647
Sig.		.291	.077	.694	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

RS

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	.9574	.00855	.00494	.9362	.9787	.95	.97
2:1	3	.9146	.01314	.00758	.8819	.9472	.90	.93
4:1	3	.9212	.01003	.00579	.8963	.9462	.91	.93
6:1	3	.9422	.01157	.00668	.9135	.9709	.93	.95
1:2	3	1.0184	.02781	.01605	.9493	1.0874	.99	1.05
1:4	3	.9793	.01152	.00665	.9507	1.0080	.97	.99
Total	18	.9555	.03867	.00912	.9363	.9748	.90	1.05

ANOVA

RS

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.023	5	.005	19.611	.000
Within Groups	.003	12	.000		
Total	.025	17			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2:1	3	.9146			
4:1	3	.9212			
6:1	3	.9422	.9422		
1:1	3		.9574	.9574	
1:4	3			.9793	
1:2	3				1.0184
Sig.		.055	.243	.103	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.8333	.05508	.03180	5.6965	5.9701	5.78	5.89
2:1	3	5.9000	.09539	.05508	5.6630	6.1370	5.84	6.01
4:1	3	5.9167	.03055	.01764	5.8408	5.9926	5.89	5.95
6:1	3	5.8967	.04041	.02333	5.7963	5.9971	5.86	5.94
1:2	3	5.8500	.02000	.01155	5.8003	5.8997	5.83	5.87
1:4	3	5.7833	.04163	.02404	5.6799	5.8868	5.75	5.83
Total	18	5.8633	.06508	.01534	5.8310	5.8957	5.75	6.01

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.038	5	.008	2.733	.071
Within Groups	.034	12	.003		
Total	.072	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1:4	3	5.7833	
1:1	3	5.8333	5.8333
1:2	3	5.8500	5.8500
6:1	3		5.8967
2:1	3		5.9000
4:1	3		5.9167
Sig.		.168	.104

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.6167	.08083	.04667	5.4159	5.8175	5.53	5.69
2:1	3	5.7533	.02082	.01202	5.7016	5.8050	5.73	5.77
4:1	3	5.7053	.03325	.01919	5.6227	5.7879	5.67	5.74
6:1	3	5.7033	.01528	.00882	5.6654	5.7413	5.69	5.72
1:2	3	5.6400	.02000	.01155	5.5903	5.6897	5.62	5.66
1:4	3	5.6167	.01155	.00667	5.5880	5.6454	5.61	5.63
Total	18	5.6726	.06195	.01460	5.6417	5.7034	5.53	5.77

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.048	5	.010	6.457	.004
Within Groups	.018	12	.001		
Total	.065	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:1	3	5.6167		
1:4	3	5.6167		
1:2	3	5.6400	5.6400	
6:1	3		5.7033	5.7033
4:1	3		5.7053	5.7053
2:1	3			5.7533
Sig.		.493	.070	.154

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.6533	.07767	.04485	5.4604	5.8463	5.59	5.74
2:1	3	5.6367	.03055	.01764	5.5608	5.7126	5.61	5.67
4:1	3	5.6533	.04163	.02404	5.5499	5.7568	5.62	5.70
6:1	3	5.5587	.02203	.01272	5.5039	5.6134	5.54	5.58
1:2	3	5.5667	.02082	.01202	5.5150	5.6184	5.55	5.59
1:4	3	5.4700	.01000	.00577	5.4452	5.4948	5.46	5.48
Total	18	5.5898	.07585	.01788	5.5521	5.6275	5.46	5.74

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.078	5	.016	9.678	.001
Within Groups	.019	12	.002		
Total	.098	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:4	3	5.4700			
6:1	3		5.5587		
1:2	3		5.5667	5.5667	
2:1	3			5.6367	5.6367
1:1	3				5.6533
4:1	3				5.6533
Sig.		1.000	.812	.055	.638

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.5000	.04359	.02517	5.3917	5.6083	5.47	5.55
2:1	3	5.6033	.02082	.01202	5.5516	5.6550	5.58	5.62
4:1	3	5.6267	.02082	.01202	5.5750	5.6784	5.61	5.65
6:1	3	5.5233	.03215	.01856	5.4435	5.6032	5.50	5.56
1:2	3	5.4300	.02000	.01155	5.3803	5.4797	5.41	5.45
1:4	3	5.3067	.03055	.01764	5.2308	5.3826	5.28	5.34
Total	18	5.4983	.11346	.02674	5.4419	5.5548	5.28	5.65

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.209	5	.042	48.760	.000
Within Groups	.010	12	.001		
Total	.219	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:4	3	5.3067			
1:2	3		5.4300		
1:1	3			5.5000	
6:1	3			5.5233	
2:1	3				5.6033
4:1	3				5.6267
Sig.		1.000	1.000	.348	.348

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.4433	.04619	.02667	5.3286	5.5581	5.39	5.47
2:1	3	5.5300	.01732	.01000	5.4870	5.5730	5.52	5.55
4:1	3	5.5600	.02646	.01528	5.4943	5.6257	5.53	5.58
6:1	3	5.5033	.02082	.01202	5.4516	5.5550	5.48	5.52
1:2	3	5.4133	.01528	.00882	5.3754	5.4513	5.40	5.43
1:4	3	5.2967	.02517	.01453	5.2342	5.3592	5.27	5.32
Total	18	5.4578	.09283	.02188	5.4116	5.5039	5.27	5.58

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.138	5	.028	37.257	.000
Within Groups	.009	12	.001		
Total	.147	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:4	3	5.2967			
1:2	3		5.4133		
1:1	3		5.4433		
6:1	3			5.5033	
2:1	3			5.5300	5.5300
4:1	3				5.5600
Sig.		1.000	.201	.253	.201

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.3567	.04041	.02333	5.2563	5.4571	5.32	5.40
2:1	3	5.4867	.02517	.01453	5.4242	5.5492	5.46	5.51
4:1	3	5.5633	.03512	.02028	5.4761	5.6506	5.53	5.60
6:1	3	5.4833	.02082	.01202	5.4316	5.5350	5.46	5.50
1:2	3	5.4067	.04163	.02404	5.3032	5.5101	5.36	5.44
1:4	3	5.2833	.03055	.01764	5.2074	5.3592	5.25	5.31
Total	18	5.4300	.09911	.02336	5.3807	5.4793	5.25	5.60

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.154	5	.031	27.964	.000
Within Groups	.013	12	.001		
Total	.167	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1:4	3	5.2833			
1:1	3		5.3567		
1:2	3		5.4067		
6:1	3			5.4833	
2:1	3			5.4867	
4:1	3				5.5633
Sig.		1.000	.090	.904	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.2667	.06429	.03712	5.1070	5.4264	5.22	5.34
2:1	3	5.4233	.01528	.00882	5.3854	5.4613	5.41	5.44
4:1	3	5.5000	.03464	.02000	5.4139	5.5861	5.46	5.52
6:1	3	5.3400	.01000	.00577	5.3152	5.3648	5.33	5.35
1:2	3	5.3167	.02517	.01453	5.2542	5.3792	5.29	5.34
1:4	3	5.2667	.05859	.03383	5.1211	5.4122	5.20	5.31
Total	18	5.3522	.09340	.02202	5.3058	5.3987	5.20	5.52

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.129	5	.026	15.885	.000
Within Groups	.019	12	.002		
Total	.148	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:1	3	5.2667		
1:4	3	5.2667		
1:2	3	5.3167		
6:1	3	5.3400		
2:1	3		5.4233	
4:1	3			5.5000
Sig.		.060	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.2333	.03512	.02028	5.1461	5.3206	5.20	5.27
2:1	3	5.3733	.07371	.04256	5.1902	5.5564	5.29	5.43
4:1	3	5.3067	.01155	.00667	5.2780	5.3354	5.30	5.32
6:1	3	5.3033	.03512	.02028	5.2161	5.3906	5.27	5.34
1:2	3	5.3000	.01000	.00577	5.2752	5.3248	5.29	5.31
1:4	3	5.2600	.03000	.01732	5.1855	5.3345	5.23	5.29
Total	18	5.2961	.05543	.01306	5.2685	5.3237	5.20	5.43

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.034	5	.007	4.538	.015
Within Groups	.018	12	.002		
Total	.052	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1:1	3	5.2333	
1:4	3	5.2600	
1:2	3	5.3000	5.3000
6:1	3	5.3033	5.3033
4:1	3	5.3067	5.3067
2:1	3		5.3733
Sig.		.056	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:1	3	5.1667	.02082	.01202	5.1150	5.2184	5.15	5.19
2:1	3	5.3567	.03055	.01764	5.2808	5.4326	5.33	5.39
4:1	3	5.2767	.03055	.01764	5.2008	5.3526	5.25	5.31
6:1	3	5.2400	.03606	.02082	5.1504	5.3296	5.21	5.28
1:2	3	5.2367	.01528	.00882	5.1987	5.2746	5.22	5.25
1:4	3	5.2400	.02646	.01528	5.1743	5.3057	5.21	5.26
Total	18	5.2528	.06285	.01481	5.2215	5.2840	5.15	5.39

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.058	5	.012	15.378	.000
Within Groups	.009	12	.001		
Total	.067	17			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:1	3	5.1667		
1:2	3		5.2367	
1:4	3		5.2400	
6:1	3		5.2400	
4:1	3		5.2767	
2:1	3			5.3567
Sig.		1.000	.124	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ศึกษากระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ในสภาวะที่เหมาะสม เทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้า ร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ในการผลิตไบโอเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยกระบวนการย่อยพร้อมกระบวนการหมัก (SSF)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทางสถิติ

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	.00333	.000577	.000333	.00190	.00477	.003	.004
Enz 5	3	.00333	.000577	.000333	.00190	.00477	.003	.004
Enz 6.65	3	.00400	.001000	.000577	.00152	.00648	.003	.005
Total	9	.00356	.000726	.000242	.00300	.00411	.003	.005

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	.800	.492
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.000	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1:2	3	.00333
Enz 5	3	.00333
Enz 6.65	3	.00400
Sig.		.330

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	11.5633	.04041	.02333	11.4629	11.6637	11.52	11.60
Enz 5	3	13.4633	.04041	.02333	13.3629	13.5637	13.42	13.50
Enz 6.65	3	10.5200	.04583	.02646	10.4062	10.6338	10.48	10.57
Total	9	11.8489	1.29289	.43096	10.8551	12.8427	10.48	13.50

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.362	2	6.681	3734.652	.000
Within Groups	.011	6	.002		
Total	13.372	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	10.5200		
1:2	3		11.5633	
Enz 5	3			13.4633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	16.7267	.08505	.04910	16.5154	16.9379	16.64	16.81
Enz 5	3	22.1800	.02646	.01528	22.1143	22.2457	22.15	22.20
Enz 6.65	3	19.1800	.05568	.03215	19.0417	19.3183	19.12	19.23
Total	9	19.3622	2.36590	.78863	17.5436	21.1808	16.64	22.20

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	44.758	2	22.379	6084.882	.000
Within Groups	.022	6	.004		
Total	44.780	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:2	3	16.7267		
Enz 6.65	3		19.1800	
Enz 5	3			22.1800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	19.8133	.08505	.04910	19.6021	20.0246	19.75	19.91
Enz 5	3	26.9933	.04726	.02728	26.8759	27.1107	26.94	27.03
Enz 6.65	3	23.6467	.06110	.03528	23.4949	23.7984	23.58	23.70
Total	9	23.4844	3.11194	1.03731	21.0924	25.8765	19.75	27.03

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	77.447	2	38.724	8800.798	.000
Within Groups	.026	6	.004		
Total	77.473	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:2	3	19.8133		
Enz 6.65	3		23.6467	
Enz 5	3			26.9933
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	25.6200	.02646	.01528	25.5543	25.6857	25.59	25.64
Enz 5	3	31.5233	.04041	.02333	31.4229	31.6237	31.48	31.56
Enz 6.65	3	27.5000	.08544	.04933	27.2878	27.7122	27.42	27.59
Total	9	28.2144	2.61224	.87075	26.2065	30.2224	25.59	31.56

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.571	2	27.285	8497.208	.000
Within Groups	.019	6	.003		
Total	54.590	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1:2	3	25.6200		
Enz 6.65	3		27.5000	
Enz 5	3			31.5233
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	25.5533	.07234	.04177	25.3736	25.7330	25.47	25.60
Enz 5	3	29.8733	.05508	.03180	29.7365	30.0101	29.82	29.93
Enz 6.65	3	24.1133	.03215	.01856	24.0335	24.1932	24.09	24.15
Total	9	26.5133	2.59644	.86548	24.5175	28.5091	24.09	29.93

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.914	2	26.957	8695.742	.000
Within Groups	.019	6	.003		
Total	53.932	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	24.1133		
1:2	3		25.5533	
Enz 5	3			29.8733
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	25.1600	.03606	.02082	25.0704	25.2496	25.12	25.19
Enz 5	3	26.3633	.03786	.02186	26.2693	26.4574	26.32	26.39
Enz 6.65	3	20.6633	.04726	.02728	20.5459	20.7807	20.61	20.70
Total	9	24.0622	2.60211	.86737	22.0621	26.0624	20.61	26.39

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.158	2	27.079	16356.450	.000
Within Groups	.010	6	.002		
Total	54.168	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	20.6633		
1:2	3		25.1600	
Enz 5	3			26.3633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	24.9200	.03000	.01732	24.8455	24.9945	24.89	24.95
Enz 5	3	20.9000	.06245	.03606	20.7449	21.0551	20.83	20.95
Enz 6.65	3	18.0933	.03512	.02028	18.0061	18.1806	18.06	18.13
Total	9	21.3044	2.97181	.99060	19.0201	23.5888	18.06	24.95

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70.641	2	35.321	17562.718	.000
Within Groups	.012	6	.002		
Total	70.653	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	18.0933		
Enz 5	3		20.9000	
1:2	3			24.9200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณเอทานอล ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

ethanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1:2	3	24.7167	.03055	.01764	24.6408	24.7926	24.69	24.75
Enz 5	3	19.1467	.03512	.02028	19.0594	19.2339	19.11	19.18
Enz 6.65	3	16.7200	.03606	.02082	16.6304	16.8096	16.68	16.75
Total	9	20.1944	3.55083	1.18361	17.4650	22.9239	16.68	24.75

ANOVA

ethanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	100.860	2	50.430	43641.471	.000
Within Groups	.007	6	.001		
Total	100.867	8			

ethanol

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	16.7200		
Enz 5	3		19.1467	
1:2	3			24.7167
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	27.1738	.60750	.35074	25.6647	28.6829	26.58	27.79
Enz 5	3	37.1095	.57737	.33335	35.6753	38.5438	36.59	37.73
Enz 6.65	3	28.6976	.33757	.19490	27.8591	29.5362	28.44	29.08
Total	9	30.9937	4.65608	1.55203	27.4147	34.5726	26.58	37.73

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	171.800	2	85.900	315.666	.000
Within Groups	1.633	6	.272		
Total	173.433	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2:1	3	27.1738		
Enz 6.65	3		28.6976	
Enz 5	3			37.1095
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	22.9043	.16225	.09367	22.5013	23.3073	22.72	23.02
Enz 5	3	28.3166	.52651	.30398	27.0087	29.6245	27.72	28.72
Enz 6.65	3	23.6329	.10781	.06224	23.3651	23.9007	23.53	23.75
Total	9	24.9513	2.55910	.85303	22.9842	26.9184	22.72	28.72

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.762	2	25.881	246.364	.000
Within Groups	.630	6	.105		
Total	52.392	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2:1	3	22.9043		
Enz 6.65	3		23.6329	
Enz 5	3			28.3166
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	13.2314	.21572	.12455	12.6956	13.7673	13.03	13.46
Enz 5	3	14.8886	.07561	.04365	14.7007	15.0764	14.83	14.97
Enz 6.65	3	13.1896	.10181	.05878	12.9367	13.4425	13.12	13.31
Total	9	13.7699	.84850	.28283	13.1177	14.4221	13.03	14.97

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.634	2	2.817	134.968	.000
Within Groups	.125	6	.021		
Total	5.760	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 6.65	3	13.1896	
2:1	3	13.2314	
Enz 5	3		14.8886
Sig.		.735	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	7.9807	.08659	.04999	7.7656	8.1958	7.89	8.06
Enz 5	3	8.3664	.06888	.03977	8.1953	8.5376	8.32	8.45
Enz 6.65	3	8.1736	.05391	.03112	8.0397	8.3075	8.12	8.23
Total	9	8.1736	.17799	.05933	8.0368	8.3104	7.89	8.45

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.223	2	.112	22.096	.002
Within Groups	.030	6	.005		
Total	.253	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2:1	3	7.9807		
Enz 6.65	3		8.1736	
Enz 5	3			8.3664
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	4.2586	.12452	.07189	3.9493	4.5679	4.17	4.40
Enz 5	3	4.1151	.06415	.03704	3.9557	4.2745	4.05	4.18
Enz 6.65	3	4.3157	.12455	.07191	4.0063	4.6251	4.23	4.46
Total	9	4.2298	.12960	.04320	4.1302	4.3294	4.05	4.46

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.064	2	.032	2.737	.143
Within Groups	.070	6	.012		
Total	.134	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Enz 5	3	4.1151
2:1	3	4.2586
Enz 6.65	3	4.3157
Sig.		.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	2.8477	.02517	.01453	2.7852	2.9102	2.82	2.87
Enz 5	3	2.1055	.05266	.03040	1.9747	2.2363	2.07	2.17
Enz 6.65	3	2.8943	.04041	.02333	2.7939	2.9947	2.85	2.93
Total	9	2.6158	.38494	.12831	2.3199	2.9117	2.07	2.93

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.175	2	.588	349.854	.000
Within Groups	.010	6	.002		
Total	1.185	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 5	3	2.1055	
2:1	3		2.8477
Enz 6.65	3		2.8943
Sig.		1.000	.213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	1.8793	.03274	.01890	1.7979	1.9606	1.85	1.92
Enz 5	3	1.9722	.01890	.01091	1.9252	2.0191	1.96	1.99
Enz 6.65	3	1.9555	.03376	.01949	1.8716	2.0394	1.93	1.99
Total	9	1.9356	.04982	.01661	1.8973	1.9739	1.85	1.99

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.015	2	.007	8.594	.017
Within Groups	.005	6	.001		
Total	.020	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2:1	3	1.8793	
Enz 6.65	3		1.9555
Enz 5	3		1.9722
Sig.		1.000	.512

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	1.5547	.01785	.01030	1.5104	1.5990	1.53	1.57
Enz 5	3	1.5919	.01505	.00869	1.5545	1.6293	1.58	1.61
Enz 6.65	3	1.5819	.01869	.01079	1.5354	1.6283	1.57	1.60
Total	9	1.5761	.02238	.00746	1.5589	1.5933	1.53	1.61

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	2	.001	3.723	.089
Within Groups	.002	6	.000		
Total	.004	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2:1	3	1.5547	
Enz 6.65	3	1.5819	1.5819
Enz 5	3		1.5919
Sig.		.102	.505

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

Reducing Sugar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	.9270	.00720	.00416	.9091	.9448	.92	.93
Enz 5	3	1.7660	.00497	.00287	1.7537	1.7784	1.76	1.77
Enz 6.65	3	.9470	.01718	.00992	.9043	.9896	.93	.96
Total	9	1.2133	.41474	.13825	.8945	1.5321	.92	1.77

ANOVA

Reducing Sugar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.375	2	.688	5550.202	.000
Within Groups	.001	6	.000		
Total	1.376	8			

Reducing Sugar

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2:1	3	.9270	
Enz 6.65	3	.9470	
Enz 5	3		1.7660
Sig.		.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 0

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.8733	.02082	.01202	5.8216	5.9250	5.85	5.89
Enz 5	3	4.7800	.03000	.01732	4.7055	4.8545	4.75	4.81
Enz 6.65	3	4.7033	.00577	.00333	4.6890	4.7177	4.70	4.71
Total	9	5.1189	.56711	.18904	4.6830	5.5548	4.70	5.89

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.570	2	1.285	2820.902	.000
Within Groups	.003	6	.000		
Total	2.573	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 6.65	3	4.7033		
Enz 5	3		4.7800	
2:1	3			5.8733
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 12

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.7700	.04359	.02517	5.6617	5.8783	5.74	5.82
Enz 5	3	4.6000	.02646	.01528	4.5343	4.6657	4.57	4.62
Enz 6.65	3	4.6367	.02082	.01202	4.5850	4.6884	4.62	4.66
Total	9	5.0022	.57671	.19224	4.5589	5.4455	4.57	5.82

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.655	2	1.327	1312.758	.000
Within Groups	.006	6	.001		
Total	2.661	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 5	3	4.6000	
Enz 6.65	3	4.6367	
2:1	3		5.7700
Sig.		.208	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 24

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.5367	.02517	.01453	5.4742	5.5992	5.51	5.56
Enz 5	3	4.5567	.01528	.00882	4.5187	4.5946	4.54	4.57
Enz 6.65	3	4.6000	.02646	.01528	4.5343	4.6657	4.57	4.62
Total	9	4.8978	.47994	.15998	4.5289	5.2667	4.54	5.56

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.840	2	.920	1761.340	.000
Within Groups	.003	6	.001		
Total	1.843	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 5	3	4.5567	
Enz 6.65	3	4.6000	
2:1	3		5.5367
Sig.		.059	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 36

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.3233	.03055	.01764	5.2474	5.3992	5.29	5.35
Enz 5	3	4.4867	.04933	.02848	4.3641	4.6092	4.43	4.52
Enz 6.65	3	4.5733	.04041	.02333	4.4729	4.6737	4.53	4.61
Total	9	4.7944	.40000	.13333	4.4870	5.1019	4.43	5.35

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.270	2	.635	381.007	.000
Within Groups	.010	6	.002		
Total	1.280	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 5	3	4.4867		
Enz 6.65	3		4.5733	
2:1	3			5.3233
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 48

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.5867	.01528	.00882	5.5487	5.6246	5.57	5.60
Enz 5	3	4.3367	.02517	.01453	4.2742	4.3992	4.31	4.36
Enz 6.65	3	4.4900	.03000	.01732	4.4155	4.5645	4.46	4.52
Total	9	4.8044	.59079	.19693	4.3503	5.2586	4.31	5.60

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.789	2	1.394	2367.755	.000
Within Groups	.004	6	.001		
Total	2.792	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 5	3	4.3367		
Enz 6.65	3		4.4900	
2:1	3			5.5867
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 60

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.5333	.03055	.01764	5.4574	5.6092	5.50	5.56
Enz 5	3	4.2400	.03606	.02082	4.1504	4.3296	4.20	4.27
Enz 6.65	3	4.2967	.02517	.01453	4.2342	4.3592	4.27	4.32
Total	9	4.6900	.63354	.21118	4.2030	5.1770	4.20	5.56

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.205	2	1.603	1677.174	.000
Within Groups	.006	6	.001		
Total	3.211	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 5	3	4.2400	
Enz 6.65	3	4.2967	
2:1	3		5.5333
Sig.		.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 72

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.4633	.02082	.01202	5.4116	5.5150	5.44	5.48
Enz 5	3	4.1533	.02517	.01453	4.0908	4.2158	4.13	4.18
Enz 6.65	3	4.2400	.04583	.02646	4.1262	4.3538	4.19	4.28
Total	9	4.6189	.63507	.21169	4.1307	5.1070	4.13	5.48

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.220	2	1.610	1525.337	.000
Within Groups	.006	6	.001		
Total	3.226	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 5	3	4.1533		
Enz 6.65	3		4.2400	
2:1	3			5.4633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 84

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.3933	.02082	.01202	5.3416	5.4450	5.37	5.41
Enz 5	3	4.1233	.00577	.00333	4.1090	4.1377	4.12	4.13
Enz 6.65	3	4.1833	.02082	.01202	4.1316	4.2350	4.16	4.20
Total	9	4.5667	.62073	.20691	4.0895	5.0438	4.12	5.41

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.081	2	1.540	5134.333	.000
Within Groups	.002	6	.000		
Total	3.082	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Enz 5	3	4.1233		
Enz 6.65	3		4.1833	
2:1	3			5.3933
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ค่าพีเอช ชั่วโมงที่ 96

Descriptives

pH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2:1	3	5.3500	.03606	.02082	5.2604	5.4396	5.32	5.39
Enz 5	3	4.1400	.02646	.01528	4.0743	4.2057	4.11	4.16
Enz 6.65	3	4.1433	.03055	.01764	4.0674	4.2192	4.11	4.17
Total	9	4.5444	.60477	.20159	4.0796	5.0093	4.11	5.39

ANOVA

pH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.920	2	1.460	1493.261	.000
Within Groups	.006	6	.001		
Total	2.926	8			

pH

Duncan

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Enz 5	3	4.1400	
Enz 6.65	3	4.1433	
2:1	3		5.3500
Sig.		.900	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว ศิริวรรณ ดวงใจ รหัสประจำตัว 57050901

นาย/นาง/นางสาว สุประวัลย์ สิริพันธุกุล รหัสประจำตัว 57050908

นาย/นาง/นางสาว..... รหัสประจำตัว.....

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมของ Amylomyces rouxii TISTR 3182 ร่วมกับ Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

ชื่อภาษาอังกฤษ Optimization of bioethanol production from cassava starch by co-culture of Amylomyces rouxii TISTR 3182 and Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.09 % หรือโปรแกรม Turnitin.....%

ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....
(น.ส. ศิริวรรณ ดวงใจ)	(นาย สุประวัลย์ สิริพันธุกุล)	( )
นักศึกษา	นักศึกษา	นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ. ดวงใจ โอชันกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม