การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

BIOETHANOL PRODUCTION FROM WATER HYACINTH BY USING CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Pichia stipitis* TISTR 5806

อิสรียา จันเกิด
ITSAREEYA CHANKERD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560
KMITL-2017-SC-M-020-015

การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

BIOETHANOL PRODUCTION FROM WATER HYACINTH BY USING CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Pichia stipitis* TISTR 5806

อิสรียา จันเกิด
ITSAREEYA CHANKERD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560
KMITL-2017-SC-M-020-015

BIOETHANOL PRODUCTION FROM WATER HYACINTH BY USING CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Pichia stipitis* TISTR 5806

ITSAREEYA CHANKERD

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2017
KMITL-2017-SC-M-020-015

COPYRIGHT 2017
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806
ชื่อนักศึกษา	นางสาวอิสรียา จันเกิด
รหัสประจำตัว	57605130
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

ผักตบชวาเป็นเหล่งของลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ซึ่งสามารถนำมาผลิตไบโอเอทานอลได้ ในงานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อนและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 จากนั้นศึกษาระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 7.96±0.14 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของลิกโนเซลลูโลสในไฮโดรไลเสทส่วนกาก พบว่ามีปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสลดลงร้อยละ 1.10 28.10 และ 13.45 ตามลำดับ จากกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088, *Pichia stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง พบว่าการหมักด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 2:1 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 3.00±0.13 กรัมต่อลิตร มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.237 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และ ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (productivity, Q_p) เท่ากับ 0.078 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง หลังจากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลโดยการใช้เชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าการเติมหัวเชื้อพร้อมกันและหมักในสภาวะนิ่งให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 3.39±0.14 กรัมต่อลิตร มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.293 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.092 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

คำสำคัญ: ไบโอเอทานอล ผักตบชวา เชื้อผสม *Saccharomyces cerevisiae* *Pichia stipitis*

Thesis Title	BIOETHANOL PRODUCTION FROM WATER HYACINTH BY USING CO-CULTURE OF *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 AND *Pichia stipitis* TISTR 5806
Student Name	Miss Itsareeya Chankerd
Student ID	57605130
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2017
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

Abstract

Water hyacinth is lignocellulose feed stocks containing cellulose, hemicellulose and lignin that can be used to produce bioethanol. In this study, ethanol production from NaOH-pretreated water hyacinth with heat and hydrolysis with ACCELLERASE1500 enzyme. In addition, enzyme loading and time were studied for the optimization of reducing sugar production. It was found that the enzyme concentration of 0.6 ml per gram of water hyacinth at 24 hour gave the highest reducing sugar 7.96±0.14 g/l. The chemical composition of lignocellulose was investigated in hydrolyzate. Lignin, cellulose and hemicellulose were reduced to be 1.10 28.10 and 13.45 percent respectively. Hydrolyzate of water hyacinth was studied ethanol fermentation process by using *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088, *Pichia stipitis* TISTR 5806 and co-culture of both strains. The culture conditions were shaking at 150 rpm, 30 ℃ for 84 hours. It was found that co-culture of *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *P. stipitis* TISTR 5806 (2:1) gave the highest ethanol concentration 3.00±0.13 g/l. The ethanol yield ($Y_{p/s}$) and productivity (Q_p) were found to be 0.237g/g and 0.078 g/l·h^{-1}, respectively. The optimum conditions for ethanol fermentation were studied. It was found that, the ethanol fermentation conditions were under static condition at 30 ℃ and simultaneous inoculate with *S. cerevisiae* TISTR 5088 and *P. stipitis* TISTR 5806. The highest ethanol concentration 3.39±0.14 g/l. The ethanol yield ($Y_{p/s}$) and productivity (Q_p) were found to be 0.293 g/g and 0.092 g/l·h^{-1} respectively.

Keywords: Bioethanol, Water hyacinth, Co-culture, *Saccharomyces cerevisiae, Pichia stipitis*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ประจำภาควิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ ข้อเสนอแนะตลอดจนแนวทางในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ ตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผวงศ์ กรรมการสอบ และ ผศ.ดร. กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกสถาบัน จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำปรึกษาและแนวทางการปฏิบัติงาน ตลอดจนตรวจทาน แก้ไขข้อบกพรองของงานวิจัยรวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ให้สถานที่ทำวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์และคอยให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการทำปริญญานิพนธ์

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวจันเกิด ที่สนับสนุน และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสามารถสำเร็จได้อย่างที่คาดหวัง หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ ด้วย

นางสาวอิสรียา จันเกิด

.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 เอทานอล 4

2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 5

2.2.1 เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae 5

2.2.2 เชื้อยีสต์ *Pichia stipitis* 6

2.3 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 7

2.3.1 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล 7

2.3.2 วัตถุดิบประเภทแป้ง 7

2.3.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส 7

2.4 ลิกโนเซลลูโลสิก 8

2.4.1 เซลลูโลส 8

2.4.2 เฮมิเซลลูโลส 8

2.4.3 ลิกนิน 9

2.5 ผักตบชวา 10

2.6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นเซลลูโลส 11

2.6.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ 11

2.6.2 การย่อยหรือไฮโดรไลซิส 12

2.6.3 กระบวนการหมักเอทานอล 14

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล 14

2.7.1 แหล่งคาร์บอน 14

2.7.2 แหล่งไนโตรเจน 15

2.7.3 แหล่งซัลเฟอร์ 15

2.7.4 แหล่งฟอสฟอรัส 15

2.7.5 ความเข้มข้นของน้ำตาล 15

หน้า

2.7.6 ความเข้มข้นของเอทานอล 15
2.7.7 ความเข้มข้นของยีสต์ 16
2.7.8 อุณหภูมิ 16
2.7.9 ความเป็นกรดด่าง 16
2.7.10 ออกซิเจน 16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 20
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 20
3.2 สารเคมี 20
3.3 อุปกรณ์ 20
3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ 21
3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง 21
3.4.2 การปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 21
3.4.3 การเตรียมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 21
3.4.4 การเตรียมหัวเชื้อ *Pichia stipitis* TISTR 5806 21
3.4.5 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 22
3.4.6 การศึกษาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) 22
3.4.7 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล 22
3.4.8 การวิเคราะห์ผล 24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 26
4.1 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 26
4.2 การศึกษาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) 29
4.3 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล 30
4.3.1 การหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 30
4.3.2 ศึกษาอัตราส่วนหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 33
4.3.3 ศึกษารูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ P. *stipitis* TISTR 5806 35
4.3.4 ศึกษาการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่ง 37
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 40
5.1 สรุปผลการวิจัย 40
5.2 ข้อเสนอแนะ 41
เอกสารอ้างอิง 42
ภาคผนวก 46
ภาคผนวก ก 47

หน้า

ภาคผนวก ข 48
ภาคผนวก ค 52
ภาคผนวก ง 54
ภาคผนวก จ 89
ประวัติผู้เขียน 169

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ
ด้วยเอนไซม์ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน
เป็นเวลา 72ชั่วโมง 27
4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์
ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน
เป็นเวลา 72 ชั่วโมง 28
4.3 ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและผ่าน
การย่อยด้วยเอนไซม์ 29
4.4 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสอง
สายพันธุ์ 31
4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสอง
สายพันธุ์ 32
4.6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วย
เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสอง
สายพันธุ์ 33
4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสอง
สายพันธุ์ 34
4.8 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ
S. cerevisiae TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 36
4.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 37
4.10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 38
4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ
S. cerevisiae TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่าง 39
4.12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง
S. cerevisiae TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน 40

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน.....41
4.14 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน..... 42
4.15 น้ำหนักเซลล์แห้งได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน..... 43
4.16 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2..... 44
4.17 น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2.....45
4.18 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2..... 46
4.19 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2.....46

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 รูปร่างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* 6
2.2 รูปร่างของเชื้อ *Pichia stipitis* 7
2.3 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส 8
2.4 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส 9
2.5 สูตรโครงสร้างของ (a) trans-coniferyl alcohol (b) trans-p-sinapyl alcohol และ (c) tran-p-coumaryl alcohol 9
2.6 ลักษณะลำต้นของผักตบชวา 10
2.7 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส 14
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง 27
4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง.... 28
4.3 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ 30
4.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ 33
4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์.... 34
4.6 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 36
4.7 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 38
4.8 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน.... 39

รูปที่ **หน้า**

4.9 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของ ผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน 41
4.10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของ ผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ, *P. stipitis* ในรูปแบบ การหมักที่ต่างกัน 42
4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของ ผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน 43
4.12 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อ ผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2 45
4.13 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2..... 47
4.14 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae TISTR* 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2..... 47

บทที่1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

จากการพัฒนาเศรษฐกิจและการเจริญเติบโตของภาคอุตสาหกรรมอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ความต้องการพลังงานปิโตรเลียมเพิ่มสูงขึ้น ในขณะเดียวกันทรัพยากรด้านปิโตรเลียมได้ลดลงอย่างต่อเนื่อง ทำให้ราคาน้ำมันในตลาดโลกมีความผันผวนและปรับตัวขึ้น นอกจากนี้การใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นจำนวนมากยังก่อให้เกิดผลกระทบเชิงลบต่อสิ่งแวดล้อม และสภาพอากาศเปลี่ยนแปลง (Suali และคณะ, 2012) ปัจจุบันจึงมุ่งเน้นการหาพลังงานทดแทนที่ยั่งยืน พลังงานชีวมวล ซึ่งเป็นพลังงานที่ได้จากอินทรีย์สารจากธรรมชาติหรือสิ่งมีชีวิต อีกทั้งประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และมีผลผลิตทางการเกษตรรวมถึงผลผลิตเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีศักยภาพสูง สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทนได้

เอทานอลหรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน ซึ่งผลิตได้จากการหมักวัตถุดิบหลัก 2 ประเภท คือ น้ำตาล และแป้ง เช่น อ้อย มันสำปะหลัง ข้าว และข้าวโพด อย่างไรก็ตามวัตถุดิบดังกล่าวเป็นการนำพืชอาหารมาใช้ผลิตเอทานอล ส่งผลให้ราคาสินค้าอาหารภายในประเทศปรับสูงขึ้น และอาจไม่เพียงพอต่อการผลิตเอทานอลในอนาคต ปัจจุบันจึงมุ่งเน้นไปที่วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นวัสดุที่มีอยู่ในผนังเซลล์พืชประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสนั้นจำเป็นต้องมีขั้นตอนการปรับสภาพ (Pretreatment) เพื่อเป็นการทำลายโครงสร้างที่แข็งของลิกโนเซลลูโลสทำให้เอนไซม์หรือจุลินทรีย์สามารถเข้าถึงและย่อยวัสดุได้ง่ายขึ้นในขั้นตอนการย่อย(Hydrolysis) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลในรูปแบบของน้ำตาลรีดิวส์ เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส เป็นต้น และขั้นตอนการหมักเป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล(Cheung and Anderson, 1997) สำหรับจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักส่วนใหญ่นิยมใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เนื่องจากเจริญเติบโตเร็ว มีความคงทนต่อเอทานอล และให้ผลผลิตเอทานอลปริมาณสูง แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีร้อยละ 40 ของวัตถุดิบ (Ganguly, 2012) จุลินทรีย์ที่สามารถหมักน้ำตาลไซโลส ได้แก่ *Candida shehatae*, *Pichia stipitis* และ *Pachysolen tannophilus* (Kumar และคณะ, 2009 ; Ganguly และคณะ, 2012)

ผักตบชวา (Water Hyacinth) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms อยู่ในวงศ์ *Pontederiaceae* เป็นพืชน้ำประเภทใบเลี้ยงเดี่ยว ลอยน้ำได้โดยไม่ต้องมีที่ยึดเกาะ สามารถแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วมาก แผ่นใบคล้ายรูปหัวใจเป็นมันหนา ก้านใบพองออกตรงช่องกลาง ภายในมีลักษณะเป็นรูพรุนช่วยพยุงลำต้นให้ลอยน้ำได้ สามารถสืบพันธุ์ได้ด้วยวิธีการแตกไหลแล้วกลายเป็นลำต้นทำให้ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วก่อให้เกิดปัญหาด้านการคมนาคม ทำให้แหล่งน้ำ

ตื้นเขิน เป็นที่พักอาศัยของพาหะนำโรค และเป็นอุปสรรคด้านชลประทาน ผักตบชวามีองค์ประกอบของเซลลูโลสร้อยละ60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 8 และลิกนินร้อยละ 17 ซึ่งพืชชนิดนี้เป็นแหล่งลิกโนเซลลูโลส สามารถนำมาผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหมักเอทานอล, น้ำตาลไซลิทอล, กรดอินทรีย์และสารเคมีชนิดต่างๆได้ (Xia and Sheng 2004 ; Chen และคณะ, 2008)

ในการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 และทำการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำไซโลสได้เพื่อผลิตเอทานอล รวมทั้งศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตไบโอเอทานอล จากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อนและนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 จากนั้นหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับ *Pichia stipitis* TISTR 5806 ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้ และการหมักร่วมกันของจุลินทรีย์สองสายพันธุ์

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไบโอเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน และนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้เชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 เช่น อัตราส่วนของเชื้อที่ใช้ในการหมัก และ สภาวะในการหมัก (สภาวะนิ่ง, สภาวะเขย่า)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาระยะเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ที่เหมาะสมในการย่อยผักตบชวาเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูง

2. นำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับการใช้ความร้อนและนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 และหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 เปรียบเทียบกับการหมักด้วยเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้ เช่น *Pichia stipitis* TISTR 5806 รวมทั้งการใช้เชื้อผสมของยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ในการหมักเอทานอล

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากการใช้เชื้อร่วมกันของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 เช่น อัตราส่วนของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อ *Pichia stipitis* TISTR 5806 รูปแบบของการหมักและสภาวะในการหมักเอทานอล

4. ศึกษาค่าจลพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเอทานอลจากผักตบชวา เช่น ผลได้ของเอทานอล ($Y_{p/s}$) และประสิทธิภาพของการหมัก (Productivity)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำผักตบชวาซึ่งเป็นวัชพืชที่สามารถเพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและการคมนาคม มาใช้ให้เกิดประโยชน์โดยนำมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักเอทานอล

2. สามารถลดต้นทุนในการผลิตไบโอเอทานอลจากการนำผักตบชวามาใช้เป็นวัตถุดิบ และสามารถนำไบโอเอทานอลที่ได้มาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนการใช้น้ำมันที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและลดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้น้ำมันลงได้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอทานอล (ไกรพัฒน์, 2550)

เอทานอล (Ethanol) หรือที่เรียกว่าเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) คือเป็นสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง เอทานอลเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน สามารถละลายทั้งในน้ำและสารละลายอินทรีย์อื่นๆ มีสูตรเคมี C_2H_5OH มีน้ำหนักมวลโมเลกุล 46.07 ความหนาแน่น 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว -114.1 องศาเซลเซียส จุดเดือด 78.5 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ติดไฟง่าย มีความไวไฟและค่าออกเทนสูง (เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.8 มีค่าออกเทนสูงถึง 113)

เอทานอลสามารถผลิตได้ทั้งจากการสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical synthesis) โดยมีเอทิลีนเป็นวัตถุดิบเอทานอลที่ได้เรียกว่า“เอทานอลสังเคราะห์” และกระบวนการทางหมัก (Fermentation) โดยเกิดจากการนำเอาพืชผลหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีแป้งและน้ำตาลสูงมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นเอทานอลโดยจะเรียกเอทานอลที่ได้จากการหมักว่า “ไบโอเอทานอล”

การผลิตเอทานอลจากการสังเคราะห์ทางเคมี เป็นการผลิตจากอนุพันธุ์ของสารปิโตรเลียม เช่น เอธิลีน(C_2H_4) ด้วยปฏิกิริยาเอธิลีนไฮเดรชั่น (Ethylene hydration) หรือการเกิดเอทานอลจากปฏิกิริยาที่ย้อนกลับได้ของเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) ในการเกิดปฏิกิริยาเอธิลีนไฮเดรชั่นจะใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลิตภัณฑ์เป็นเอทิลซัลเฟต ($CH_3CH_2SO_4H$) ดังสมการที่ 2.1

$$C_2H_4 + H_2SO_4 \longrightarrow CH_3CH_2SO_4H \quad (2.1)$$

ขั้นตอนต่อมานำเอทิลซัลเฟตไปทำปฏิกิริยากับน้ำจะได้ เอทานอลกับกรดซัลฟิวริก ดังสมการที่ 2.2 จากนั้นทำการสกัดให้ได้เอทานอลบริสุทธิ์ออกมา

$$CH_3CH_2SO_4H + H_2O \longrightarrow CH_3CH_2OH + H_2SO_4 \quad (2.2)$$

ส่วนการเกิดเอทานอลจากปฏิกิริยาย้อนกลับของเอสเทอริฟิเคชั่นสามารถทำให้เกิดเอทานอลได้ ซึ่งการที่จะได้ผลิตภัณฑ์ย้อนกลับเป็นเอทานอลจะต้องใช้ความร้อนสูงและตัวเร่งปฏิกิริยาเข้าช่วยในการทำปฏิกิริยากับน้ำ ปฏิกิริยานี้เป็นการสลายตัวของเอสเทอร์แยกออกเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและแอลกอฮอล์ โดยมีกรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง ดังสมการที่ 2.3

$$CH_3COOCH_2CH_3 + H_2O \xrightarrow{H_2SO_4} CH_3COOH + CH_3CH_2OH \quad (2.3)$$

สำหรับการผลิตเอทานอลจากกระบวนการหมัก เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่นิยมนำใช้ในการผลิตเอทานอลคือ เชื้อยีสต์ (Yeast) ยีสต์จะเปลี่ยน

น้ำตาลไปเป็นเอทานอลโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) ในสภาวะไม่มีออกซิเจน ซึ่งตามทฤษฎีแล้วในกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสของยีสต์นั้น น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 100 จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.89 และเอทานอลร้อยละ 51.11 โดยน้ำหนัก นอกจากนั้นยังมีพลังงานความร้อนเกิดขึ้นอีก 28.7 กิโลแคลอรี่ ดังแสดงในสมการที่ 2.3

$$C_6H_{12}O_6 + \text{Yeast} \longrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 2ATP \quad (2.3)$$

จากสมการจะใช้กลูโคส 1 กรัม สามรถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 0.511 กรัม คาร์บอนไดออกไซด์ 0.489 กรัม ทั้งนี้ ในสภาวะความเป็นจริงจะเกิดแอลกอฮอล์น้อยกว่า 0.511 กรัม เนื่องจากยีสต์จะนำน้ำตาลบางส่วนมาใช้สำหรับการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นสารอื่นๆ แต่หากมีออกซิเจน ยีสต์จะใช้น้ำตาลสำหรับการสังเคราะห์เซลล์ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำดังแสดงในสมการที่ 2.4

$$6O_2 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \text{Cell} + 6H_2O + 6CO_2 + 38ATP \quad (2.4)$$

นอกจากนี้เอทานอลยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมสุรา เครื่องสำอางและยา ใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงทดแทนน้ำมันเบนซินหรือดีเซล ซึ่งใช้กับเครื่องยนต์ที่มีอัตราส่วนการอัดสูง และเป็นสารเคมีที่ช่วยเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันโดยการเปลี่ยนรูปเอทานอลเป็น ETBE (Ethyl tertiary butyl ether) สามารถใช้ทดแทนสาร MTBE (Methyl tertiary butyl ether) ซึ่ง MTBE เป็นสารเติมแต่งในน้ำมันเบนซินที่หลายประเทศประกาศห้ามใช้เนื่องจากก่อให้เกิดมลภาวะในอากาศที่สูงกว่าสารเติมแต่งอื่นๆ (กรมการพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2557)

2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลมีหลายชนิด ในปัจจุบันได้ค้นพบจุลินย์สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอทานอล เช่น ยีสต์ แบคทีเรียสายพันธุ์ *Zymomonas mobilis* และเชื้อราต่างๆ จากการศึกษาของ Horisawa และคณะ (2015) ได้ผลิตเอทานอลโดยเชื้อราประเภท White Rot สายพันธุ์ *Schizophyllum commune* ร่วมกับ *Thanatephorus cucumeris* ซึ่งราเหล่านี้สามารถย่อยสลายสารประกอบในเนื้อไม้ได้ทั้งลิกนินและเซลลูโลส แต่ยีสต์ยังเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลอย่างแพร่หลายเพราะสามารถเจริญเติบโตได้เร็วและมีปริมาณมาก ปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีคุณสมบัติที่ดีขึ้นคือ สามารถใช้น้ำตาลได้หลากหลายและทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีขึ้น ยีสต์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida shehatae, Pichia stipitis* และ *Pachysolen tannophilus*

2.2.1 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

การจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ดังนี้

ไฟลัม : Ascomycota
ชั้น : Saccharomycetes
วงศ์ : Saccharomycetaceae

สกุล : *Saccharomyces*

สปีชี่ส์ : *cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมหรือรี เส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 ไมโครเมตร มี Generation time สั้น Doubling time 1.25-2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสหรือ 86 องศาฟาเรนไฮต์ สามารถสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยและเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ทั่วไปในการหมักเอทานอล (Yadav และคณะ, 2011) สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 30 – 40 องศาเซลเซียส สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้แต่ไม่สามารถใช้เกลือไนเตรทได้ และไม่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสประมาณร้อยละ 45 (Kumar และคณะ, 2009) รูปร่างของ *S. cerevisiae* แสดงดังรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 รูปร่างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae

สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2559

2.2.2 เชื้อยีสต์ *Pichia stipitis*

การจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ของเชื้อยีสต์ *Pichia stipitis* ดังนี้

ไฟลัม : Ascomycota

ชั้น : Saccharomycetes

วงศ์ : Saccharomycetaceae

สกุล : *Pichia*

สปีชี่ส์ : *Pichia stipitis*

เชื้อยีสต์ *Pichia stipitis* เป็นหนึ่งในจำนวนเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลไซโลส (Xylose fermenting yeast) และอาราบิโนสจากเฮมิเซลลูโลสไปเป็นเอทานอล *P. stipitis* สามารถหมักในสภาวะที่มีออกซิเจน มีรูปร่างกลมหรือรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-5 ไมโครเมตร สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง

28-32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอทานอลอยู่ในช่วง 32-34 องศาเซลเซียส ช่วง pH เท่ากับ 3-8 (Slininger และ Bothast, 1989) แสดงดังรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 รูปร่างของเชื้อ *Pichia stipitis*

ที่มา : http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/yakudachi/biofuel/gallery_img/yeast-li_5.jpg สืบค้นวันที่ 17 ตุลาคม 2559

2.3 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอล (สมใจ, 2555)

วัตถุดิบในการผลิตเอทานอลสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.3.1 วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ กากน้ำตาล น้ำอ้อย และหัวบีทน้ำตาล (Sugar Beet) ซึ่งยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทนี้สังเคราะห์เอทานอลได้โดยตรง โดยยีสต์จะทำการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอลโดยตรง

2.3.2 วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช มันสำปะหลัง ข้าวโพด มันฝรั่ง เป็นต้น ในการผลิตเอทานอลนั้น แป้งซึ่งเป็นวัตถุดิบจะถูกย่อยโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสของแป้ง (Starch Hydrolysis) แป้งจะเปลี่ยนเป็นน้ำกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อน จากนั้นยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปเป็นเอทานอล ซึ่งกระบวนการย่อยแป้งจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ กระบวนการย่อยครั้งแรกหรือการทำให้เหลว (Liquefaction) ขั้นตอนนี้สามารถเลือกใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ในการย่อยแป้งที่อุณหภูมิสูงประมาณ 80-95 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลง ซึ่งจะทำให้ความหนืดของของเหลวที่ย่อยได้ลดลง ของเหลวเหล่านี้เรียกว่า เดกซ์ทริน (Dextrin) และกระบวนการย่อยครั้งสุดท้าย (Saccharification) จะใช้เอนไซม์กลุ่มกลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) ในการย่อยเด็กซ์ทรินให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง จนยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งเอนไซม์กลุ่มนี้จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 55-65 องศาเซลเซียส

2.3.3 วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบไปด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ประมาณร้อยละ 60-80 นอกจาก ยังมีองค์ประกอบอื่นอยู่ในผนังเซลล์ของพืชได้แก่ ไขมัน แว๊กซ์ แทนนิน เรซิน และพวกสารอนินทรีย์ เช่น ซิลิกา คาร์บอเนต ออกซาเลต เป็นต้น (Bharathi และ

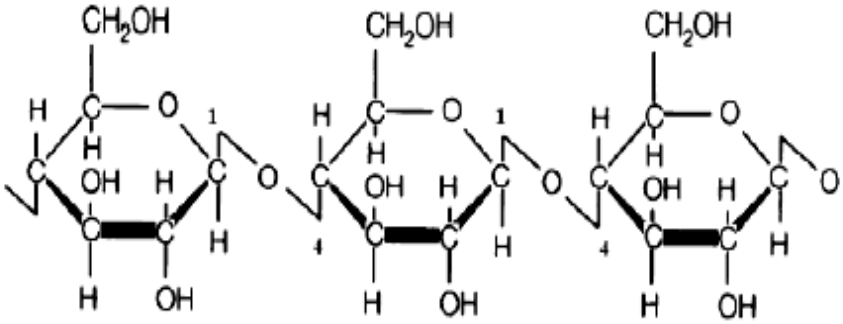
Ravindra, 2006) ปริมาณที่พบแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและอายุของไม้ เช่น เนื้อไม้พบประมาณร้อยละ 40-50 และเส้นใยฝ้ายพบประมาณร้อยละ 98 (Eriksson และคณะ, 1980; Goshadrou และคณะ, 2011)

2.4 ลิกโนเซลลูโลสิก (Lignocellulosics)

เป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีมากที่สุดในโลกจัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

2.4.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นโฮโมพอลิเมอร์มีลักษณะเป็นเส้นตรง ไม่มีกิ่งก้าน ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ เบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (β-D-Glucopyranose) เชื่อมต่อด้วยพันธะเบต้า 1,4-ไกลโคซิดิก (β-1,4-glycosidic bond) เกิดเป็นพอลิเมอร์กลูแคน (Glucan) มีความยาวตามธรรมชาติประมาณ 10,000 หน่วย ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยทั่วไปในธรรมชาติพบเซลลูโลส 2 แบบ คือ crystalline cellulose และ amorphous cellulose โดยส่วนของ crystalline cellulose จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ยากกว่า amorphous cellulose (เวสารัช และคณะ, 2556; Eriksson และคณะ, 1980) เนื่องจากโครงสร้างแบบ crystalline cellulose เป็นส่วนที่มีความเป็นระเบียบสูง และโครงสร้างแบบ amorphous cellulose ส่วนที่มีความเป็นระเบียบต่ำหรือไร้ระเบียบ แสดงดังรูปที่ 2.3

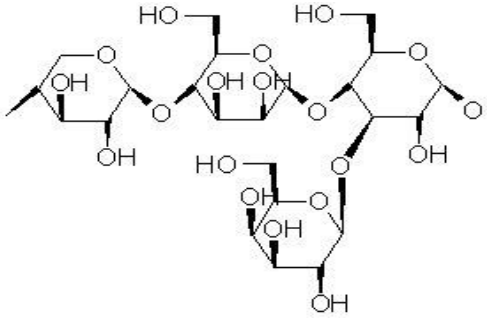


รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

ที่มา : https://organiksmakma3a25.files.wordpress.com/2013/04/image1.jpg สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2559

2.4.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นเฮทเทอร์โรพอลิเมอร์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ หลายชนิดผสมกัน เช่น กลูโคส แมนโนส ไซโลส และอะราบิโนส ซึ่งพบอยู่ในรูปพอลิเมอร์ไซแลน แมนแนน กาแลกแตน และอะราบิแนน มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 200 หน่วย โดยในพอลิเมอร์ดี-ไซโลส มีปริมาณมากที่สุด คือ ร้อยละ 85-93 ส่วนองค์ประกอบอื่น เช่น กลูโคส กรดกลูคิวโรนิก กรดกาแลคตูโรนิก จะพบปริมาณน้อย โดยไซโลสที่พบจะเชื่อมด้วยพันธะเบตา 1,4 ไกลโคซิดิก (Altıntas และคณะ, 2002) แสดงดังรูปที่ 2.4

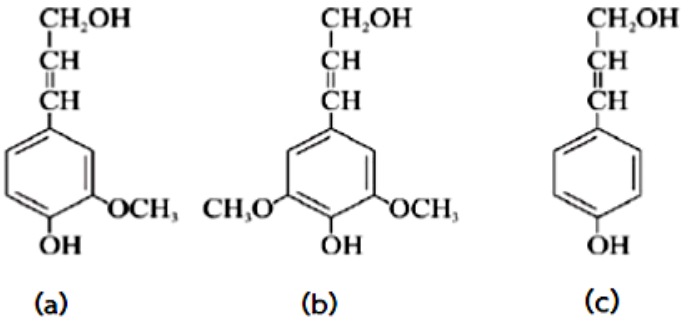


รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: https://simanaitissays.files.wordpress.com/2013/04/hemicellulosediagram.jpg สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2559

2.4.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติกที่พบในส่วนผนังเซลล์ของพืช ปกติลิกนินจะเกาะกันอยู่ในชั้นระหว่างเส้นใย ซึ่งทำหน้าที่ยึดเกาะเส้นใยเข้าด้วยกันและมีบางส่วนผสมอยู่ในเส้นใย มักพบอยู่รวมกับเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการไฮโดรลิซิส ลิกนินไม่สามารถละลายในน้ำได้ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิดเช่น เอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อน และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไม่มีสมบัติทางการยืดหยุ่น เพราะฉะนั้นจึงทำให้พืชที่มีลิกนินมากมีความแข็งแรงทนทาน เมื่อพืชตายลิกนินจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ลิกเนส หรือลิกนินเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในรา ลิกนินเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบ 3 มิติ ไม่ตกผลึก (Cheng และคณะ, 2008) หน่วยย่อยของลิกนินหรือ Monolignols ประกอบด้วยแอลกอฮอล์ 3 ชนิด คือ tran-p-coumaryl alcohol trans-coniferyl alcohool และ trans-p-sinapyl alcohol (Eriksson และคณะ, 1990) นอกจากนี้โมเลกุลของลิกนินยังเชื่อมต่อกับสารประกอบอะโรมาติกอื่นอีกมากมาย เช่น vanillin และ syringaldehyde ปัจจุบันยังไม่สามารถแยกลิกนินบริสุทธิ์ออกมาได้ แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ (a) trans-coniferyl alcohol (b) trans-p-sinapyl alcohol และ (c) tran-p-coumaryl alcohol

ที่มา: Eriksson และคณะ (1990)

2.5 ผักตบชวา

รูปที่ 2.6 ลักษณะลำต้นของผักตบชวา
ที่มา: http://www.nanagarden.com/Picture/Product/400/215264.jpg
สืบค้นวันที่ 15 ตุลาคม 2559

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solm
ชื่อวงศ์	Pontederiaceae
ชื่อสกุล	*Eichhornia*
ชื่อสามัญ	Water hyacinth
ชื่ออื่น	ผักปอด, ผักโรค, ผักตบชวา, ผักยะวา, ผักอีโยก,

ผักตบชวา (Water hyacinth) จัดเป็นวัชพืช ที่มีถิ่นกำเนิดในแถบกลุ่มน้ำอะเมซอน ประเทศบราซิล ในทวีปอเมริกาใต้ มีดอกสีม่วงอ่อน คล้ายช่อดอกกล้วยไม้ และแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ผักตบชวาถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2444 ในสมัยรัชกาลที่ 5 ขณะเสด็จประพาสประเทศอินโดนีเซียเมื่อปี พ.ศ. 2439 ซึ่งนำเข้ามาจากเกาะชวาในฐานะเป็นไม้ประดับสวยงาม โดยขณะนั้นผักตบชวาก็เพิ่งถูกนำเข้าไปในเกาะชวาจากเจ้าอาณานิคมฮอลันดา แรกเริ่มผักตบขวาถูกใส่อ่างดินเลี้ยงไว้ที่หน้าสนามวังสระปทุม และได้ทรงพระราชทานหน่อให้เจ้านายพระองค์อื่นและบรรดาข้าราชบริพารนำไปปลูกด้วย เพียงแค่ 6 เดือน ผักตบชวาก็แพร่กระจายพันธุ์จนเต็มวังสระปทุมจนต้องนำไปปล่อยทิ้งไว้ที่คลองสามเสนหลังวัง พร้อมกับคลองอื่น ๆ เช่น คลองเปรมประชากร คลองผดุงกรุงเกษม แสดงดังรูปที่ 2.6

เนื่องจากผักตบชวาเป็นพืชที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงทนทานต่อสภาพแวดล้อม เป็นพืชที่มีทุ่นลอยสามารถอยู่ได้ทั้งในน้ำนิ่งและน้ำไหล ผักตบชวามีการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วทั้งทางเมล็ดและการแตกหน่อ ดังนั้นจึงทำให้ผักตบชวามีการแพร่ระบาดอย่างรุนแรงก่อให้เกิดปัญหาต่อแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั่วประเทศ และก่อให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม จากการแพร่กระจายของผักตบชวาในแหล่งน้ำและแม่น้ำต่าง ๆ ส่งผลกระทบทางด้านการชลประทานทำให้การพัฒนาแหล่งน้ำไม่ได้ผลตามเป้าหมาย เนื่องจากทำให้อัตราการไหลของน้ำลดลง ขัดขวางการระบายน้ำของประตูน้ำ ทำให้เกิดการตื้นเขินของแหล่งน้ำต้องขุดลอกบ่อย และประการสำคัญ คือ ผักตบชวาทำให้การระเหย

น้ำเพิ่มขึ้นมากกว่าพื้นที่ที่ไม่มีผักตบชวาปกคลุมถึง 3-5 เท่า ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร ผักตบชวาสามารถระเหยน้ำได้สูงถึง 0.35 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน ถ้าคิดเป็นพื้นที่ทั่วประเทศ จะสูญเสียประมาณละ 16,000 ล้านลูกบาศก์เมตร ทางด้านการผลิตไฟฟ้า ผักตบชวาจะลดอายุการใช้งานของเขื่อน เนื่องจากการตกตะกอนทำให้ตื้นเขิน นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณน้ำลดลง เนื่องจากการระเหยน้ำของผักตบชวามากกว่าปกติสูงถึง 3-5 เท่า ดังกล่าวมาแล้ว

2.6 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบที่เป็นเซลลูโลส (Cellulosic biomass)

กระบวนการผลิตเอทานอลที่สำคัญแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.6.1 การปรับสภาพวัตถุดิบ (รัชพล, 2558)

ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment) จะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางด้านกายภาพคือ ทำให้ชั้นแมทริกซ์ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสถูกทำลายซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส สามารถทำงานได้ง่ายขึ้น จุดประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบ คือ เป็นการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความพรุนของวัสดุ ซึ่งกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบสามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธี

1. วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment) สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การใช้แรงทางกล (Mechanical communition) คือการทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลง เช่น การทุบ การบด การโม่ การเขย่าวัตถุดิบ เป็นต้น ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการลดผลึก (Cellulose crystallinity) และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น (Sun and Chen และคณะ, 2002) การไพโรไลซิส (Pyrolysis) คือวิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ให้วัตถุดิบกลายสภาพเป็นแก๊สหรือของแข็งกระบวนการจะทำได้ช้าและการระเหยจะต่ำถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ และการใช้ความร้อน (Thermal heat treatment) เป็นการปรับสภาพของวัตถุดิบเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของเซลลูโลส ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะใช้อุณหภูมิมากกว่า 150-180 องศาเซลเซียส แต่ต้องทำให้วัสดุมีขนาดที่เล็กลงก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยวัตถุดิบทางความร้อน

2. วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment).เป็นกระบวนการแยกสกัดเส้นใยจากเนื้อเยื่ออื่นๆ ในพืชที่ต้องอาศัยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรียและเชื้อรา รวมทั้งเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยเชื้อราชนิดที่เป็น white-rot brown-rot และ soft-rot สามารถย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ โดย brown-rot มีบทบาทสำคัญในการย่อยพวกเซลลูโลส ในขณะที่ white-rot และ soft-rot จะเข้าย่อยสลายพวกลิกนินและเฮมิเซลลูโลส เช่น *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercolerus*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnarbarinus* และ *Pleurotus ostreaus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการปรับสภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Sreenath และคณะ, 2001; Slininger และคณะ, 1982) ถึงแม้กระบวนการทางชีวภาพจะสามารถแยกเส้นใยที่มีคุณภาพดีแต่มักไม่นิยม เพราะมีวิธีการอื่นที่ให้มูลค่าทางเศรษฐกิจมากกว่า เนื่องจากการหมักเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานาน และขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ

3. วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment) สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis) โอโซนเป็นตัวออกซิแดนซ์ที่มีประสิทธิภาพ และสามารถทำให้เกิดการแตกตัวของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุพวกฟางข้าวได้ วิธีนี้มีจุดเด่นคือ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเอาลิกนินออกได้ดี ไม่มีสารพิษที่จะไปยับยั้งการทำปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ กระบวนการนี้สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ผลเสียของวิธีนี้คือค่าใช้จ่ายที่สูงมาก (Sun and Cheng และคณะ, 2002) การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment) จะไปเพิ่มการพองตัวภายในโมเลกุลมีผลต่อสายพันธะภายในของไซแลนในเฮมิเซลลูโลส ความพรุนของวัสดุจะเพิ่มขึ้นได้เมื่อทำการกำจัดสายโซ่ที่เชื่อมต่อภายใน มีผลทำให้เกิดการบวมภายในเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยา ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส ลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่และสามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต และเป็นการแยกองค์ประกอบหรือทำลายโครงสร้างของลิกนิน ด่างที่นิยมใช้ในการแยกลิกนินได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ โดย Chang และ Holtzapple (2000) รายงานว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถกำจัดลิกนินและสารในกลุ่มอะซีทิล ลดผลึกของเซลลูโลสได้

การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment) มีจุดประสงค์คือเพื่อให้ได้น้ำตาลในปริมาณที่สูงจากวัสดุชีวมวล ชนิดของกรดที่นำมาปรับสภาพได้แก่ กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ไนตริก หรือ ฟอสฟอริก สามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเพิ่มการทำงานของกระบวนไฮโดรไลซีส (Palmqvist and Hahn-Hagerdal., 2002) ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบ การใช้กรดเจือจางเป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจศึกษากันมากและแพร่หลายที่สุด (Mussatto และคณะ, 2005) การใช้กรดเจือจางเพื่อปรับสภาพวัสดุที่อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยใช้กรดซัลฟิวริกหรือกรดฟอสฟอริกมักจะถูกใช้สำหรับการเปลี่ยนวัสดุพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส ไปเป็นน้ำตาลที่ละลายได้ตามด้วยการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อให้เกิดเป็นกลูโคส (Silverstein และคณะ, 2007)

4. การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pre-treatment) เป็นการรวมกันระหว่างวิธีทางกายภาพและทางเคมี มีส่วนสำคัญในการละลายน้ำของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ที่ถูกแปลงโครงสร้างแล้วเป็นผลทำให้การแตกตัวของเซลลูโลสในขั้นตอนการย่อย (Hydrolysis) เพิ่มขึ้น เช่น การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX) การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment) การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 explosion) และการปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์ (Ultrasonic pretreatment)

2.6.2 การย่อยหรือไฮโดรไลซิส (ประมุข, 2555)

การย่อยหรือไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นกระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การย่อยด้วยสารเคมีและการย่อยด้วยเอนไซม์ การย่อยด้วยสารเคมี เช่น สารละลายกรดหรือเบส ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการทำลายพันธะไกลโคสิดิกระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจน ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส

(เกื้อกูล, 2547) การย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสด้วยกรดจะทำให้พันธะเบต้า (1,4) ของกลูโคสในโครงสร้างแตกออกเกิดเป็นน้ำตาล เกิดเป็นสายโซ่สั้นๆที่มีโครงสร้างพื้นฐานเหมือนเดิมแต่ปลายของสายโซ่เซลลูโลสจะเป็นหมู่อัลดีไฮด์ที่มีสมบัติรีดิวซิ่ง (Reducing) ซึ่งพันธะของเซลลูโลสนี้จะไวต่อกรดและมีการตัดแบบสุ่ม กรดทุกชนิดสามารถนำมาใช้ได้ แต่กรดที่นิยม ได้แก่ กรดซัลฟูริก การย่อยด้วยกรดนอกจากได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลแล้วยังพบสารพิษที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันสูง กลูโคสและไซโลสจะถูกย่อยสลายเป็นอนุพันธ์ฟูแรน เช่น เฟอฟูรัล (Furfural) และไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรัล (HMF) ที่สามารถย่อยสลายได้เป็นกรดฟอร์มิก (Formic acid) และในกรณีของ HMF เมื่อย่อยสลายแล้วจะได้กรดลีวูลินิก(Levulinic acid) สำหรับลิกนินเมื่อเกิดการย่อยสลายแล้วจะเกิดสารประกอบฟีนอลิกและกรดอื่นๆ ขึ้น ซึ่งสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการลดสารพิษก่อนการหมักเพื่อช่วยให้จุลินทรีย์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

การย่อยด้วยเอนไซม์คือ โครงสร้างของเซลลูโลสนั้นสามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในกลุ่มของเซลลูเลส (cellulase) ที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด เช่น ฟังไจ แบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซีท เมื่อเกิดปฏิกิริยาการย่อยแล้วจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จัดอยู่ในกลุ่มเอนไซม์ Multiple enzyme ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิดได้แก่

1. Endo-1, 4-ß-D-glucanase

ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูโลสรวมทั้งโมเลกุลของเซลโลโอลิโกเมอร์ (Cellooligomer) ที่ตำแหน่ง ß-1, 4 แบบสุ่ม ทำให้ได้โอลิโกเมอร์ (Oligomer) และเซลโลไบโอส (Cellobiose)

2. Exo-1, 4-ß-D-glucanase หรือ 1, 4-ß-D-glucan cellobiohydrolase (CBH)

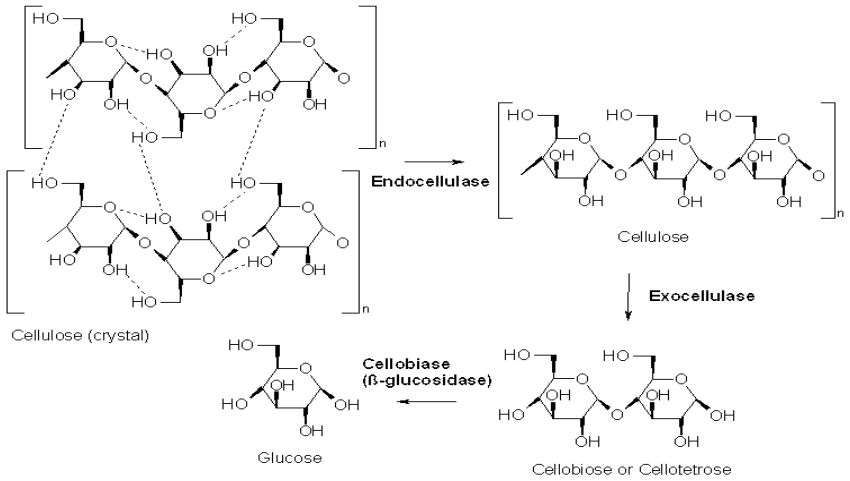
เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ Endo-1,4-ß-D-glucanase ในการย่อยโมเลกุลของเซลลูโลส โดยย่อยจากปลายด้านที่ไม่มีหมู่น้ำตาลรีดิวซ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายส่วนใหญ่คือ เซลโลไบโอส

3. ß-D-glucoside glucanohydrolase (Cellobiase)

ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอสและเซลโลโอลิโกแซคคาไรด์ Cellooligosaccharide) ให้เป็นกลูโคส แสดงดังรูป 2.7

ACCELLERASE 1500 เป็นเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน ได้แก่ Exoglucanase, Endoglucanase, Hemi-cellulase, Beta-glucosidase และอื่นๆ ที่สามารถย่อยลิกโนเซลลูโลสได้เป็นอย่างดี ประสิทธิภาพในการย่อยเป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ ซึ่งการย่อยจะไม่สมบรูณ์ถ้าเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งถูกแยกออกไป มีกิจกรรมของ Endoglucanase 2200 – 2800 CMC U/g กิจกรรมของ Beta-Glucosidase 450 – 775 pNPG U/g มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ค่าพีเอชอยู่ที่ 4.6 – 5.0 เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิประมาณ

50 – 65 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 4.0 – 5.0 เสื่อมสภาพได้ง่ายที่อุณหภูมิมากกว่า 70 องศาเซลเซียส พีเอชมากกว่า 7.0 หรือน้อยกว่า 3.9 การเก็บรักษาในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียสหลีกเลี่ยงจากแสงแดด



รูปที่ 2.7 กลไกการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Cellulase#/media/File:Types_of_Cellulase2.png สืบค้น 16 ตุลาคม 2559

2.6.3 กระบวนการหมักเอทานอล (Fermentation)

การหมักเอทานอล คือ กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสให้เป็นเอทานอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย โดยปกติจะเป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic process) หรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย โดยน้ำตาล 1 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุลและเอทานอล 2 โมเลกุล

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอล

ปัจจัยที่สำคัญในการหมักเอทานอล ได้แก่ ธาตุอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล ความเข้มข้นของเอทานอล ปริมาณของเชื้อยีสต์ อุณหภูมิ และความเป็นกรดด่าง ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลเกี่ยวเนื่องกัน ในการหมักให้มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องจัดการสภาวะในการหมักให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณของเอทานอลสูงสุด

2.7.1. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักเอทานอล คือ น้ำตาลที่ได้จากวัตถุดิบต่างๆ ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ ซึ่งสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนที่ยีสต์สามารถนำมาใช้ในการเจริญได้ส่วนมาก น้ำตาลที่ยีสต์นำมาใช้ในการเจริญเติบโต คือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นสารอาหารที่ยีสต์ใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด นอกจากนี้เมื่อมีการหมักกลูโคสร่วมกับน้ำตาลชนิดอื่น กลูโคสยังเป็นตัวยับยั้งการใช้น้ำตาลตัวอื่น นอกจากกลูโคสแล้วยีสต์สามารถหมักน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอมหรือน้ำตาลเฮกโซสชนิดอื่นได้ เช่น น้ำตาลฟรุกโตส แมนโนส กาแลกโตส เป็นต้น โดยเชื้อ Baker’s yeast และ Brewer’s yeast สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเพื่อผลิตเอทานอลได้

เร็วเท่ากัน โดน้ำตาลทั้งสองเป็นน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ในกระบวนการหมักได้ (Fermentable sugar) ส่วนน้ำตาลที่อยู่ในไอโซเมอร์แอล (L-isomer) ทั้งหมดเป็นน้ำตาลที่ยีสต์ไม่สามารถใช้ในกระบวนการหมักได้ (Unfermentable sugar) สำหรับน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมหรือน้ำตาลเพนโตส ยีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลเพนโตส (น้ำตาลไซโลสและไซลูโลส) ให้เป็นเอทานอลได้ ได้แก่ *Pachysolen tannophilus*, *Pichia stipitis* และ *Candida shehatae*

2.7.2. แหล่งไนโตรเจน

ยีสต์ใช้ไนโตรเจนในรูปเกลืออินทรีย์ซึ่งมักจะอยู่ในรูปแอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังสามารถใช้สารอื่นเป็นแหล่งไนโตรเจนได้อีก เช่น Mono และ Triammonium sulfate จะช่วยในการเจริญของยีสต์ให้เพิ่มขึ้นสำหรับไนเตรทและไนไตร์ท ยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้

2.7.3. แหล่งซัลเฟอร์

ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 0.4 ของน้ำหนักแห้ง โดยซัลเฟอร์จะอยู่ในรูปเมทไธโอนีนและกรดอะมิโน (Amino acid) แต่เนื่องจากเมทไธโอนีนที่ใส่ลงไปในอาหารเสริมมีราคาแพง ดังนั้นในอุตสาหกรรมจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน เช่น ในการหมักกากน้ำตาล (Black strap molass) มักเติมแอมโมเนียมซัลเฟต

2.7.4. แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในการสร้างพลังงาน สังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีน (Nucleoprotein) และสารอื่น ๆ ภายในเซลล์ การเลี้ยงเชื้อหากขาดฟอสฟอรัสหรือไม่เพียงพอจะทำให้เซลล์อ่อนแอได้ อีกทั้งฟอสฟอรัสยังเป็นบัฟเฟอร์ช่วยรักษาค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ การเติมแหล่งฟอสฟอรัสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อควรใช้ในรูปของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) แอมโมเนียมฟอสเฟต (NH_4PO_4) หรือแคลเซียมซุปเปอร์ฟอสเฟต

2.7.5. ความเข้มข้นของน้ำตาล

การหมักเอทานอลในสภาพที่มีความเข้มข้นน้ำตาลสูงเป็นการลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นลงได้ ส่วนความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการหมักเอทานอลด้วยยีสต์จะอยู่ในช่วงร้อยละ 10-18 ถ้าสูงไปกว่านี้จะเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของยีสต์อย่างมาก นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลเหลือทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ แต่ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำเกินไปจะทำให้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมักต่ำตามไปด้วย ทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตสูงและต้องเติมสารอาหารเสริมมากขึ้นด้วย

2.7.6. ความเข้มข้นของเอทานอล

เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 7 โดยน้ำหนักขึ้นไปจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้ยีสต์หยุดเจริญเติบโต แต่ยังสามารถผลิตเอทานอลต่อได้จนถึงร้อยละ 14 ซึ่งขึ้นอยู่กับวิธีการผลิตและสภาพแวดล้อม เนื่องจากเอทานอลจะส่งผลต่อเอนไซม์และจะไปทำลายเนื้อเยื่อของยีสต์ทำให้คุณสมบัติในการแตกหน่อ (Budding Cell) เปลี่ยนแปลงไป ทำให้ยีสต์ไม่สามารถ

เจริญเติบโตต่อไปได้ มีผลต่ออัตราการผลิตลดลงไปด้วย ซึ่งปริมาณเอทานอลที่สูงกว่าร้อยละ 12 จะผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการผลิตเอทานอล โดยจะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ถูกใช้ไม่สมบูรณ์

2.7.7. ความเข้มข้นของยีสต์

การหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงและมีสารอาหารเพียงพอจะทำให้มีประสิทธิภาพการหมักสูง

2.7.8. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ อุณหภูมิสูงจะทำให้ยีสต์เจริญเติบโตช้าและหมักเอทานอลได้ต่ำ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการผลิตเอทานอลในภาคอุตสาหกรรมจะใช้อุณหภูมิที่ 25-35 องศาเซลเซียสดังนั้นในการหมักควรควบคุมอุณหภูมิการหมักไว้ไม่ให้เกิน 37 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 40 และ 43 องศาเซลเซียส ปริมาณเอทานอลที่หมักได้จะลดลงอย่างมากและมีผลทำให้จำนวนเซลล์ต่ำลง (Hughes และคณะ, 1984)

2.7.9. ความเป็นกรดด่าง (pH)

โดยทั่วไปยีสต์เจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพได้ดีอยู่ในช่วงพีเอชประมาณ 3.5-6.0 ดังนั้นการหมักเอทานอลจึงต้องปรับพีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ยีสต์อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนมากับอาหารด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 5.0 จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ Lactic acid bacteria ในการหมักถ้าพีเอชต่ำความเข้มข้นน้ำตาลสูง และไม่มีออกซิเจน เอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ที่อาจปนเปื้อนเข้ามาในถังหมักด้วย ค่าพีเอชที่ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถเจริญได้ดี คือ ค่าพีเอชที่อยู่ในช่วง 2.4-8.6

2.7.10. ออกซิเจน

ออกซิเจน มีบทบาทสำคัญคือเป็นตัวรับอิเลคตรอนขั้นสุดท้ายในลูกโซ่การหายใจ และยังทำหน้าที่เป็น Growth factor ของยีสต์ โดยเกี่ยวข้องในการสังเคราะห์กรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมทั้งกรดโอลิอิค (Oleic acid) กรดลิโนเลอิก (Linoleic) และเออเกอสเตอรอล (Ergosterol) ปริมาณของออกซิเจนมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจนของยีสต์ด้วย และออกซิเจนยังเพิ่มความสามารถในการทนทานเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงของยีสต์ด้วย ดังนั้นสภาพที่ปราศจากออกซิเจนจำเป็นต้องเติมกรดไขมันที่มีพันธะคู่และสเตอรอลลงไปเพื่อยีสต์ยังคงสามารถเจริญอยู่ได้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุจิตรา และคณะ (2013) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาโดยเชื้อยีสต์ *Candida shehatae* TISTR 5843 โดยใช้กระบวนการหมักแบบกะและกึ่งกะพบว่าการหมักแบบกึ่งกะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลในแง่ของความเข้มข้นของเอทานอล และประสิทธิภาพการหมักให้สูงขึ้น โดยการหมักแบบกะให้ความเข้มข้นของเอทานอล ผลได้ของการผลิต และประสิทธิภาพการ

ผลิตเอทานอล สูงสุดเท่ากับ 9.28 กรัมต่อลิตร 0.46 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และ 0.39 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ ส่วนการหมักแบบกึ่งกะให้ผลผลิตสูงสุดได้เท่ากับ 13.54 กรัมต่อลิตร 0.48 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ และ 0.56 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

Laplace และคณะ (1993) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากไซโลสและกลูโคสโดยกระบวนการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน พบว่าการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่าง *Saccharomyces diastaticus* NCYC 625 และ *Pichia stipitis* NFUL Y7124 ให้ผลผลิตเอทานอลได้ดีกว่าการใช้ *P. stipitis* NFUL Y7124 เพียงอย่างเดียว โดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันสามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 21.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิต($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.45กรัมต่อกรัมสับเสตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 4.3 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Abraham และKurup (1996) ศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวา พบว่ามีปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน แป้ง เพคติน โปรตีน และ ไขมัน เท่ากับ 35.02±0.77 18.32±0.38 4.60±0.11 1.85±0.01 0.08±0.001 11.20±0.20 และ 8.01±0.15มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม

Taniguchi และคณะ (1997) ทดลองการผลิตเอทานอลจากการผลมกลูโคสและไซโลสโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *P. stipitis* CBS5773 และสายพันธุ์กลายของ *S. cerevisiae* no.701RD พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *P. stipitis* CBS5773 และ *S. cerevisiae* no.701RD สูงกว่าการเลี้ยงด้วย *P. stipitis* เพียงชนิดเดียว โดยมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 37.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.50 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.94 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การเลี้ยง *P. stipitis* ให้ปริมาณเอทานอล 35.1 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.41 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล 0.88 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Nigam และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและกำจัดพิษ วิเคราะห์องประกอบทางเคมีของผักตบชวา พบว่า มีเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 48.70 ±0.03 เซลลูโลสร้อยละ 18.20±0.01 ลิกนินร้อยละ 3.50±0.01 และโปรตีนร้อยละ 13.30±0.02 และหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 พบว่าร้อยละของน้ำตาลที่ใช้และผลผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทที่ไม่ได้กำจัดพิษร้อยละ 20.15±0.17 และ 0.19±0.003 กรัมต่อกรัมของสับสเตรท ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับไฮโดรไลเสทที่ได้กำจัดพิษ พบว่าร้อยละของน้ำตาลที่ใช้และผลผลิตเอทานอลร้อยละ 76.0±0.32 และ 0.35±003 กรัมต่อกรัมของสับสเตรท ตามลำดับ

Mishima และคณะ (2006) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของใบผักตบชวาและใบผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่าง พบว่าใบผักตบชวามีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 19.7 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27.1 และแป้งร้อยละ 4.1 ในขณะที่ใบผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่าง มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 34.2 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27.0 และแป้งร้อยละ 4.1 และศึกษาการปรับ

สภาพทางเคมีเพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่าใบผักตบชวาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 5 และ 10 ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากเชื้อ *Aspergillus niger* 0.5 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่าง 5 กรัม บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซเท่ากับ 6.0±0.1 8.8±0.4 และ 9.3±0.6 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมสับสเตรท ตามลำดับ และในรากของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 และ 10 สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.4 ± 0.2 และ 0.7 ± 0.1 มิลลิกรัมกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมสับสเตรท ตามลำดับ

Kumar และคณะ (2009) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกร้อยละ 2 เลี้ยงในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้เชื้อ *Pichia stipitis* พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 72.83 ผลได้ของการผลิตเท่ากับ 0.425 กรัมต่อกรัมของผักตบชวาและประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.176 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Aswathy และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 6.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) .ให้ความร้อนที่อณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จาก *T. reesei* ผสมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจาก *A. niger* ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 6 (FPU/g) และเบต้ากลูโคซิเดส 2400 (U/g) ย่อยเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลาการย่อยที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดคือ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 44.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลได้เท่ากับ 639.42 มิลลิกรัมต่อกรัมสับเสตรท สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยจากร้อยละ 57 เป็นร้อยละ 71 และเมื่อหมักกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* หมักในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาสเซลเซียส) สามารถผลิตเอทานอล 4.4 กรัมต่อลิตร

Forrest และคณะ (2010) ศึกษาอิทธิผลของอุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพผักตบชวาจากนั้นหมักโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ การปรับสภาพด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส หมักที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าการปรับสภาพด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และหมักที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 19.93 กรัมต่อลิตร

Chandel และคณะ (2011) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของอ้อยป่าจากการใช้เชื้อเดียว และเชื้อผสมระหว่าง *Pichia stipitis* NCIM3498 และ *S. cerevisiae*-VS3 ซึ่งการหมักโดย *S. cerevisiae*-VS3 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 1.40±0.07 กรัมต่อลิตตร ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.20±0.02 กรัมต่อกรัมสับเสตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.019±0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การหมักด้วย *P. stipitis* เพียงชนิดเดียว ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 12.08±0.72 กรัมต่อลิตร ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.42±0.03 กรัมต่อกรัมสับเสตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.17±0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่การใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *P. stipitis* และ *S. cerevisiae*-VS3 ให้ผลที่ดีกว่าการหมักด้วยเชื้อชนิดเดียว โดย

มีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 15.0±0.92 กรัมต่อลิตตร ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.48±0.03 กรัมต่อกรัมสับเสตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.208±0.01 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Yadav และคณะ (2011) ศึกษาการหมักไฮโดรไลเสทของฟางข้าวโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *S. cerevesiae* OVB11 และ *P. stipitis* NCIM 3498 เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อ *S. cerevesiae* OVB11 เพียงชนิดเดียว หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที โดยมีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 ± 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevesiae* OVB11 เพียงชนิดเดียว ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.5 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.3 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.20 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การหมักด้วยเชื้อร่วมกันของ *S. cerevesiae* OVB11 และ *P. stipitis* NCIM 3498 ให้ผลผลิตที่ดีกว่า โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 12 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.4 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.33กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Yan และคณะ (2015) ศึกษาผลของการปรับสภาพผักตบชวาที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าให้น้ำตาลรีดิวซ์ 223.53 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่าง และมีเซลลูโลสร้อยละ 12.18 เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ปรับสภาพ มีน้ำตาลรีดิวซ์ 48.67 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่าง และมีเซลลูโลสร้อยละ 22.80

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

Pichia stipitis TISTR 5806

3.2 สารเคมี

1. Dextrose
2. D-Xylose
3. Agar
4. Yeast extract
5. Peptone
6. Malt extract
7. 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS)
8. Sodium hydroxide (NaOH)
9. Potassium sodium tartrate ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$)
10. Absolute ethyl alcohol (C_2H_5OH)
11. เอนไซม์ ACCELLERASE1500

3.3 อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว (ฟลาสก์ หลอดทดลอง กรวย บีกเกอร์ ฯลฯ)
2. อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต กระบอกตวง ฯลฯ)
3. ลวดเขี่ยเชื้อ
4. แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร (Magnetic Bar)
5. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 และ 1000 มิลลิลิตร
6. โถดูดความชื้น
7. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) รุ่น WNB 45 ยี่ห้อ Memmert
8. ตู้อบแห้ง (Hot Air Oven) รุ่น Modell 600 ยี่ห้อ Memmert
9. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) รุ่น High-Pressure steam sterilizer ES-315 ยี่ห้อ TOMY
10. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) รุ่น BVT123 ยี่ห้อ Issco
11. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น INB 500 ยี่ห้อ Memmert
12. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Z383K ยี่ห้อ Hermle
13. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ OLYMPUS

14. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น Helios Gamma ยี่ห้อ Thermo Electron Corporation
15. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) รุ่น GC 2014 ยี่ห้อ Shimadzu
16. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) รุ่น LC-20A ยี่ห้อ Shimadzu

3.4 ขั้นตอนการดำเนินการ

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างผักตบชวาจากคลองประเวศ เขตลาดกระบัง กรุงเทพ นำมาล้างให้สะอาด ตัดเอาเฉพาะส่วนใบและลำต้นให้มีขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จะได้ผงผักตบชวา (Ganguly และคณะ, 2012)

3.4.2 การปรับสภาพผักตบชวาด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำตัวอย่างผักตบชวา 10 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วนผักตบชวาต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1:10) นำไปให้ความร้อนโดยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำผักตบชวาที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนกากออก ล้างด้วยน้ำสะอาดจนพีเอชของน้ำที่ล้างเป็นกลาง จากนั้นนำกากไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อกากของผักตบชวาแห้งแล้วให้ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นให้มีขนาดเล็กพอประมาณ (ดัดแปลงจาก Eshtiaghi และคณะ, 2012)

3.4.3 การเตรียมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088

ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ที่เจริญบนอาหาร YPD ซึ่งประกอบด้วยยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร น้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร ลงในอาหาร YPD broth เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 (Yadav และคณะ, 2011)

3.4.4 การเตรียมหัวเชื้อ *Pichia stipitis* TISTR 5806

ถ่ายเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ที่เจริญบนอาหาร MGYP (ประกอบด้วยมอลต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร เปปโตน 20 กรัมต่อลิตร กลูโคส 5 กรัมต่อลิตร และไซโลส 30 กรัมต่อลิตร) ลงในอาหาร MGYP broth ซึ่งมีน้ำตาลไซโลส 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 (Yadav และคณะ, 2011)

3.4.5 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500

นำตัวอย่างผักตบชวาส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 2 กรัม เติมเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที (ดัดแปลง Garagain และคณะ, 2011) นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.4.6 การศึกษาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส)

นำผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน และกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ ส่งวิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) โดยทำการวิเคราะห์หา Neutral Detergent Fiber (NDF), Acid Detergent Fiber (ADF) และ Acid Detergent Lignin (ADL) ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตว์บาล คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4.7 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล

3.4.7.1 การหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088

นำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (Pasha และคณะ, 2007) ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* ร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่อง HPLC และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC)

3.4.7.2 การหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *Pichia stipitis* TISTR 5806

ทำการหมักเช่นเดียวกับขั้นต้น โดยใช้เชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่าง

วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3.4.7.3 การหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806

นำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติมหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:1 ปริมาตรร้อยละ 10 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคลโดยใช้เครื่อง HPLC และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC)

3.4.7.4 ศึกษาอัตราส่วนหัวเชื้อผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 *และ Pichia stipitis* TISTR 5806

นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 โดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อดังนี้ 1:1 1:2 1:3 1:4 2:1 3:1 และ 4:1 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี คัดเลือกอัตราส่วนของหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณเอทานอลสูง ใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.4.7.5 ศึกษารูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

<u>รูปแบบที่ 1.</u> นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงเติม *P. stipitis* TISTR 5806 หมักต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อข้างต้น

<u>รูปแบบที่ 2.</u> นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น เติมหัวเชื้อ *P. stipitis*

TISTR 5806 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงเติม *S. cerevisiae* TISTR 5088 หมักต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อข้างต้น

<u>รูปแบบที่ 3.</u> นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 พร้อมกัน โดยใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อข้างต้น หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคล โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี เปรียบเทียบการหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ทั้งสามรูปแบบ

3.4.7.6 ศึกษาสภาวะในการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสม

<u>สภาวะที่ 1</u> นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติมหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 พร้อมกัน โดยใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อข้างต้น หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง

<u>สภาวะที่ 2</u> นำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติมหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 พร้อมกัน โดยใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อข้างต้น หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง

เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS น้ำตาลกลูโคส โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโต กราฟี เปรียบเทียบการหมักทั้งสองสภาวะ

3.4.8 การวิเคราะห์ผล

3.4.8.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เหลือและวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ส่วนตะกอนเซลล์ที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 70

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งหาน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตร โดยคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักหลอดและเซลล์(กรัม)} - \text{น้ำหนักหลอดอบแห้ง(กรัม)}}{\text{ปริมาณน้ำหมัก(มิลลิลิตร)}} \times 1000$$

3.4.8.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

การทำกราฟมาตรฐาน โดยนำกลูโคสมาตรฐานไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบแห้ง 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายดีเอ็นเอส (DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาทีและทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง นำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการเจือจางที่เหมาะสม วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดีเอ็นเอส เช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

3.4.8.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

นำส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) รุ่น LC-20A ด้วยโปรแกรม LC solotion โดยใช้คอลัมน์ BP-100 Ca^{++} ขนาดคอลัมน์ 300×7.8 มิลลิเมตร ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด RID ใช้น้ำกลั่นเป็นพาหะ ความดันคอลัมน์เท่ากับ 155 psi อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส

3.4.8.4 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

นำส่วนใสที่ได้วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี รุ่น Shimadzu 2014 โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวพา คอลัมน์ที่ใช้เป็น DB-1 ยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร อุณหภูมิภายในคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ตัวตรวจวัดเป็นชนิด Flame ionization detector (FID)

3.4.8.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และการวางแผนแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ โดยมีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) ด้วยวิธีของ Duncan โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS) ในการวิเคราะห์

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

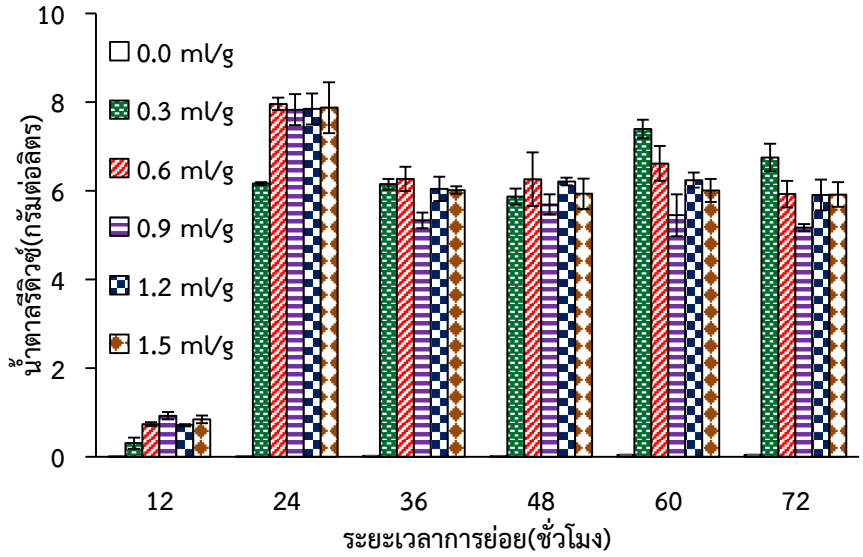
4.1 การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500

เอนไซม์ ACCELLERASE1500 เป็นเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส เฮมิเซลลูเลส และเบต้ากลูโคซิเดส เป็นต้น จึงสามารถย่อยลิกโนเซลลูโลสได้เป็นอย่างดีและมีความสำคัญต่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ช่วยพัฒนากระบวนผลิตให้สะดวกมากขึ้น จากการทดลองนำตัวอย่างผักตบชวาส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 2 กรัม ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เติมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่ 0 12 24 36 48 60 และ 72 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (ดัดแปลง Garagain และคณะ, 2011) นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959) พบว่าเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เมื่อระยะเวลาที่ใช้ย่อยมากขึ้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 24 จากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเล็กน้อย โดยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 7.96±0.24 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 ขณะที่เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวาให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ระยะเวลาการย่อย 60 ชั่วโมง เท่ากับ 7.39±0.37 กรัมต่อลิตร เนื่องจากในผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 ยังมีปริมาณลิกนินเหลืออยู่ ซึ่งลิกนินมักพบรวมกับเซลลูโลสและทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันเซลลูโลสจากการย่อย จึงทำให้เอนไซม์เข้าไปย่อยเซลลูโลสน้อยลง (Qi และคณะ, 2009) และเมื่อพิจารณาในแนวตั้ง เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา ที่ระยะเวลาการย่อย 0 12 24 36 48 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่าที่ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมงให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aswathy และคณะ (2010) พบว่าการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 6.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จาก *T. reesei* ผสมกับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจาก *A. niger* ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 6 FPU/g และเบต้ากลูโคซิเดส 2400 U/g ย่อยนาน 48 ชั่วโมง พบว่าระยะเวลาการย่อยที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดคือ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 44.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลได้เท่ากับ 639.42 มิลลิกรัมต่อกรัมสับเสตรท และ Qi และคณะ (2009) รายงานว่าประสิทธิภาพในการย่อยของเอนไซม์เซลลูโลสเป็นผลมาจากหลายปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของสับเสตรท ความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาการย่อย พีเอช และอุณหภูมิ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาย่อย(ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา)					
	0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
0	0.02±0.03^{a,A}	0.01±0.01^{a,D}	0.02±0.01^{a,C}	0.01±0.01^{a,D}	0.02±0.02^{a,D}	0.01±0.01^{a,C}
12	0.01±0.01^{c,A}	0.31±0.22^{b,D}	0.74±0.07^{a,C}	0.93±0.14^{a,C}	0.71±0.04^{a,C}	0.85±0.15^{a,C}
24	0.01±0.01^{c,A}	6.16±0.05^{b,BC}	7.96±0.24^{a,A}	7.83±0.60^{a,A}	7.85±0.61^{a,A}	7.88±0.99^{a,A}
36	0.02±0.01^{c,A}	6.15±0.55^{ab,BC}	6.27±0.40^{a,B}	5.33±0.08^{b,B}	6.04±0.69^{ab,B}	6.02±0.42^{ab,B}
48	0.02±0.03^{b,A}	5.87±0.28^{a,C}	6.26±0.88^{a,B}	5.69±0.26^{a,B}	6.21±0.16^{a,B}	5.93±0.55^{a,B}
60	0.05±0.03^{d,A}	7.39±0.37^{a,A}	6.62±0.60^{b,B}	5.45±0.29^{c,B}	6.24±0.29^{b,B}	6.01±0.45^{bc,B}
72	0.04±0.03^{d,A}	6.75±0.54 ^{a,B}	5.93±0.52^{b,B}	5.17±0.14^{c,B}	5.91±0.29^{b,B}	5.92±0.48^{b,B}

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72ชั่วโมง

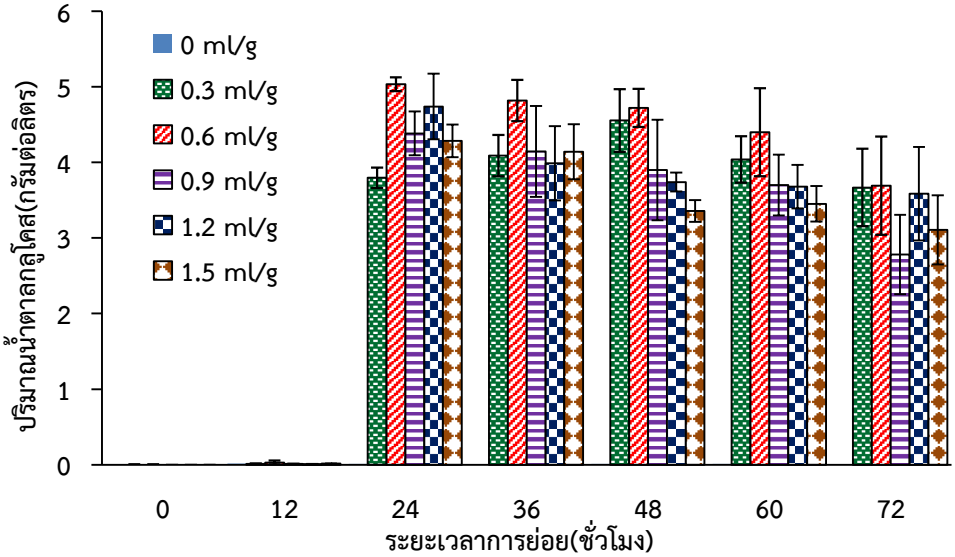
เมื่อนำส่วนใสที่ได้นำมาวิเคราะห์หาน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) โดยใช้คอลัมน์ BP-100 Ca^{++} ขนาดคอลัมน์ 300×7.8 มิลลิเมตร อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้น้ำกลั่นเป็นพาหะ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดชนิด RID พบว่าเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา เมื่อระยะเวลาที่ใช้ย่อยมากขึ้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 24

สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลริดิวซ์ โดยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเท่ากับ 5.03±0.16 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.9 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา โดยที่ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเท่ากับ 4.38±0.05 4.74±0.75 และ 4.28±0.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 4.55±0.72 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาย่อย(ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)					
	ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 (มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา)					
	0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
0	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,C}	0.00±0.00^{a,C}	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,D}
12	0.02±0.01^{a,A}	0.01±0.01^{a,B}	0.03±0.04^{a,C}	0.01±0.01^{a,C}	0.01±0.01^{a,B}	0.01±0.01^{a,D}
24	0.01±0.01^{c,AB}	3.80±0.24^{b,A}	5.03±0.16^{a,A}	4.38±0.50^{ab,A}	4.74±0.75^{a,A}	4.28±0.37^{ab,A}
36	0.01±0.01^{b,AB}	4.09±0.47^{a,A}	4.82±0.47^{a,AB}	4.14±1.04^{a,AB}	3.99±0.85^{a,A}	4.14±0.63^{a,AB}
48	0.01±0.01^{c,AB}	4.55±0.72^{a,A}	4.72±0.44^{a,AB}	3.90±1.15^{ab,AB}	3.74±0.22^{ab,A}	3.35±0.25^{b,BC}
60	0.01±0.01^{b,AB}	4.04±0.53^{a,A}	4.40±1.01^{a,AB}	3.70±0.70^{a,AB}	3.68±0.50^{a,A}	3.45±0.41^{a,BC}
72	0.01±0.01^{b,AB}	3.67±0.89^{a,A}	3.69±1.13^{a,B}	2.78±0.91^{a,B}	3.59±1.07^{a,A}	3.11±0.79^{a,C}

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.2 การศึกษาปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส)

จากการทดลองนำผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อน และกากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์ วิเคราะห์ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) โดยทำการวิเคราะห์หา Neutral Detergent Fiber (NDF), Acid Detergent Fiber (ADF) และ Acid Detergent Lignin (ADL) พบว่าผักตบชวา มีปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เท่ากับร้อยละ 2.16±0.14 31.90±0.86 และ 13.78±1.20 ตามลำดับ เมื่อนำผักตบชวามาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยผสมในอัตราส่วนผักตบชวาต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1:10 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จะทำให้ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เหลือเพียงร้อยละ 1.12±0.15 24.71±2.97 และ 5.21±0.49 ตามลำดับ เนื่องจากการใช้ความร้อนร่วมกับสารละลายด่างทำให้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินลดลง ซึ่งในของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพจะพบสารโมโนแซคคาไรด์ผสมกับโอลิโกแซคคาไรด์สูง (McIntosh และ Vancov, 2011) หลังจากนั้นนำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาย่อยด้วยเอนไซน์ ACCELLERASE1500 ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา ระยะเวลาการย่อย 24 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เท่ากับร้อยละ 1.06±0.14 3.80±0.26 และ 0.33±0.09 แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ประเภทวัสดุ	ปริมาณลิกโนเซลลูโลส (ร้อยละ)		
	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	เซลลูโลส
ผักตบชวา	13.78±1.20[a]	2.16±0.14[a]	31.90±0.86[a]
ผักตบชวาปรับสภาพ	5.21±0.49[b]	1.12±0.15[b]	24.71±2.97[b]
ไฮโดรไลเสทส่วนกาก	0.33±0.09[c]	1.06±0.14[b]	3.80±0.26[c]

หมายเหตุ พิจารณาในแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากรายงานวิจัยต่างๆ เช่น Abraham และ Kurup (1997) ศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวา พบว่ามีปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เท่ากับ 35.02±0.77 18.32±0.38 และ 4.60±0.11 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม และNigam (2002) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวา พบว่ามีเฮมิเซลลูโลสร้อยละ48.70 ±0.027 เซลลูโลสร้อยละ 18.20±0.012 ลิกนินร้อยละ 3.50±0.004 และโปรตีนร้อยละ 13.30±0.020 ขณะที่ Mishima และคณะ (2008) ศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของใบผักตบชวาและใบผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่าง พบว่าใบผักตบชวามีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 19.7 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27.1

และแป้งร้อยละ 4.1 ในขณะที่ใบผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่าง มีปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 34.2 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27.0 และแป้งร้อยละ 4.1 การที่องค์ประกอบของผักตบชวาแตกต่างกันอาจเนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น ประเทศ ฤดูกาล ลักษณะทางภูมิศาสตร์ สารอาหารในแหล่งน้ำ และเวลาในการเก็บเกี่ยว (Jongmeesuk และ Duangjai, 2014)

4.3 การศึกษากระบวนการหมักเอทานอล

4.3.1 การหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสม *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

เมื่อนำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการปรับสภาพโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อนและย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ (อัตราส่วน 1:1) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง พบว่าไฮโดรไลเสทที่หมักด้วย *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 15.18±1.20 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 6.27±0.85 กรัมต่อลิตร การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลจะเพิ่มเล็กน้อย และมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.97±0.07 กรัมต่อลิตร และการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ 60 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.07±0.64 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นน้ำหนักเซลล์จะลดลงเล็กน้อย ค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) ของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 เท่ากับ 0.229 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Q_p) เท่ากับ 0.060 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.4และรูปที่ 4.3

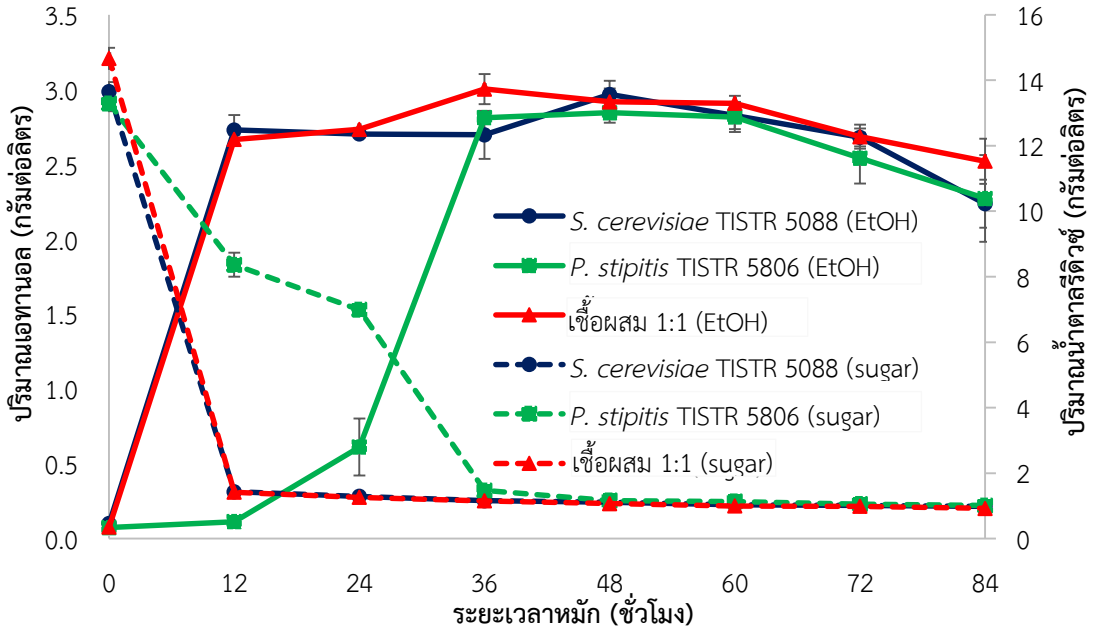
ขณะที่การหมักด้วยเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 15.42±2.11 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 6.16±1.42 กรัมต่อลิตร มีปริมาณเอทานอลเพิ่มเล็กน้อยในช่วง 24 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 24-48 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.85±0.05 กรัมต่อลิตร และการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ 72 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.07±0.23 กรัมต่อลิตร ค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) ของเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 0.229 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Q_p) เท่ากับ 0.058 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 โดยพิจารณาจากกราฟพบว่าเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 มีอัตราการใช้น้ำตาลที่ช้ากว่า *S. cerevisiae* TISTR 5088 แสดงดังตารางที่ 4.4และรูปที่ 4.3

การหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 15.25±1.37 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 7.22±0.61 กรัมต่อลิตร พบว่ามีปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.00±0.18 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลลดลงเล็กน้อย การหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 มีการเจริญของเชื้อสูงสุดที่ 84 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.07±0.61 กรัมต่อลิตร ค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) ของเชื้อผสมเท่ากับ 0.217 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล (Q_p) เท่ากับ 0.081 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.4และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)		
	จุลินทรีย์		
	S.cerevisiae TISTR 5088	*P.stipitis* TISTR 5806	เชื้อผสม
0	0.10±0.01^{a,C}	0.07±0.01^{b,E}	0.08±0.00^{ab,D}
12	2.73±0.17^{a,A}	0.11±0.03^{b,CD}	2.67±0.05^{a,D}
24	2.70±0.04^{a,A}	0.61±0.33^{b,BCD}	2.74±0.02^{a,C}
36	2.70±0.27^{a,A}	2.81±0.07^{a,A}	3.00±0.18^{a,A}
48	2.97±0.07^{a,A}	2.85±0.05^{a,AB}	3.00±0.10^{a,A}
60	2.83±0.15^{a,A}	2.82±0.17^{a,ABC}	2.91±0.09^{a,A}
72	2.68±0.11^{a,A}	2.54±0.30^{a,CD}	2.69±0.14^{a,AB}
84	2.24±0.27^{a,B}	2.27±0.50^{a,D}	2.52±0.27^{a,B}
ค่า $Y_{p/s}$ (g/g)	0.229	0.229	0.217
ค่า Q_p(g/l•h-1)	0.060	0.058	0.081

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

จากการทดลองจะพบว่าการใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หรือ *P. stipitis* TISTR 5806 เพียงสายพันธุ์เดียว อาจเนื่องจากการใช้เชื้อผสมมีความสามารถในการใช้น้ำตาลเฮกโซสและเพนโตสในไฮโดรไลเลส เพื่อเปลี่ยนไปเป็นเอทานอลได้ดีกว่าการใช้สายพันธุ์เดียว (Yadav และคณะ, 2011) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยต่างๆดังเช่น

Taniguchi และคณะ (1997) ทดลองการผลิตเอทานอลจากการผสมกลูโคสและไซโลสโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *P. stipitis* CBS5773 และสายพันธุ์กลายของ *S. cerevisiae* no.701RD พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *P. stipitis* CBS5773 และ *S. cerevisiae* no.701RD สูงกว่าการเลี้ยงด้วย *P. stipitis* เพียงชนิดเดียว โดยมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 37.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.50 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.94 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การเลี้ยง *P. stipitis* ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 35.1 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.41 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.88 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Yadav และคณะ (2011) ศึกษาการหมักไฮโดรไลเสทของฟางข้าวโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *S. cerevesiae* OVB11 และ *P. stipitis* NCIM 3498 เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อ *S. cerevesiae* OVB11 เพียงชนิดเดียว หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที โดยมีน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 ± 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevesiae* OVB11 เพียง

ชนิดเดียว ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.5 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.3 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.20 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ขณะที่การหมักด้วยเชื้อร่วมกันของ *S. cerevesiae* OVB11 และ *P. stipitis* NCIM 3498 ให้ผลผลิตที่ดีกว่า โดยมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 12 กรัมต่อลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.4 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

Laplace และคณะ (1993) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากไซโลสและกลูโคสโดยกระบวนการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน พบว่าการเลี้ยงเชื้อร่วมกันระหว่าง *Saccharomyces diastaticus* NCYC 625 และ *Pichia stipitis* NFUL Y7124 ให้ผลผลิตเอทานอลได้ดีกว่าการใช้ *P. stipitis* NFUL Y7124 เพียงอย่างเดียว โดยการเลี้ยงเชื้อร่วมกันสามารถผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 21.5 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิต($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.45 กรัมต่อกรัมสับเสตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 4.3 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

4.3.2 ศึกษาอัตราส่วนหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 *และ P. stipitis* TISTR 5806

การศึกษาอัตราส่วนหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 *และ P. stipitis* TISTR 5806 โดยนำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการปรับสภาพโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ร่วมกับความร้อน ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หมักด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 โดยมีอัตราส่วนดังนี้ 1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มเท่ากับ 13.42±0.05 13.78±0.33 13.83±0.14 13.94±0.24 และ 13.79±0.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 5.17±1.00 4.89±0.40 5.18±1.31 4.74±0.64 และ 4.92±0.44 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบปริมาณเอทานอล พบว่าการหมักด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.00±0.23 กรัมต่อลิตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราส่วน 1:1 1:3 และ 3:1 ซึ่งมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เช่นกัน โดยมีปริมาณเอทานอล 2.91±0.43 2.88±0.15 และ 2.70±0.12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับอัตราส่วน 1:2 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราส่วน 2:1 ซึ่งมีปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 2.49±0.16 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 36 เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก โดยอัตราส่วนที่ 1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดในวันสุดท้ายของการหมัก (84 ชั่วโมง) เท่ากับ 1.80±0.60 2.07±0.50 1.73±0.12 2.20±0.72 และ 1.67±0.58 กรัมต่อลิตร แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) ของอัตราส่วน 1:1

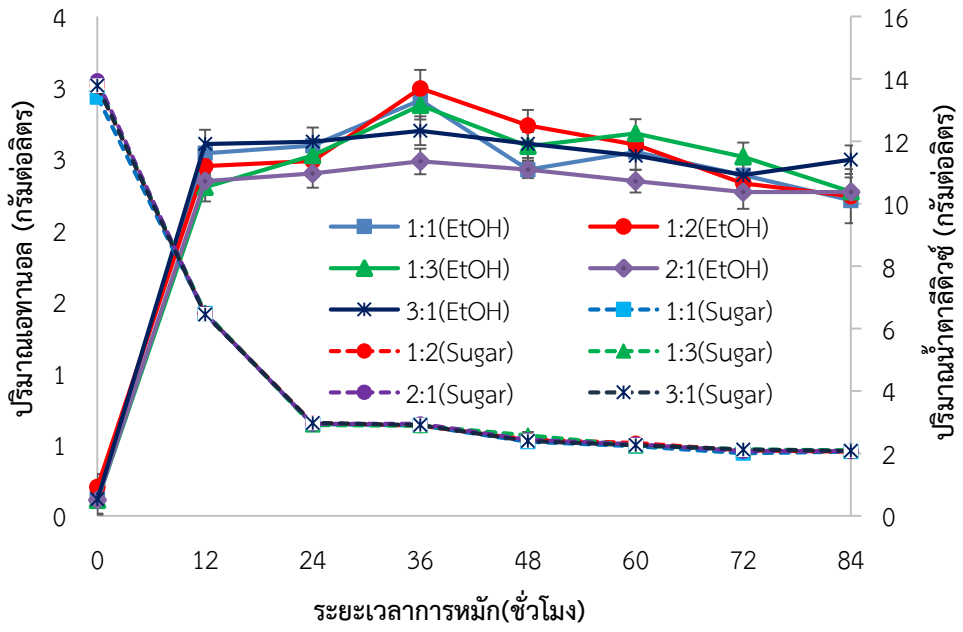
1:2 1:3 2:1 และ 3:1 เท่ากับ 0.241 0.237 0.235 0.202 และ 0.218 กรัมต่อกรัมของน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.077 0.078 0.077 0.066 และ 0.072 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.4 ดังนั้นการผลิตเอทานอลโดยการหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 ร่วมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนต่างๆ ที่ได้ศึกษา สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้เพียงเล็กน้อย

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chandel และคณะ(2011) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของอ้อยป่า จากการเลี้ยงเชื้อร่วมกันของ *Pichia stipitis* NCIM3498 และ *S. cerevisiae*-VS3 โดยใช้เชื้อผสมอัตราส่วนของ *P. stipitis* NCIM3498 ต่อ *S. cerevisiae*-VS3 ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 อัตราส่วน 2.5:7.5 มิลลิลิตร ชุดการทดลองที่ 2 อัตราส่วน 5:5 มิลลิลิตร และชุดการทดลองที่ 3 อัตราส่วน 7.5:2.5 มิลลิลิตร พบว่าชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งใช้เชื้อ *P. stipitis* มากกว่า *S. cerevisiae*-VS3 ผลิตเอทานอลได้สูงกว่าการทดลองชุดอื่นๆ โดยมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 15.80±0.55 กรัมต่อลิตร ผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.49±0.02 กรัมต่อกรัมสับเสตรท

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) อัตราส่วน *S. cerevisiae* : *P. stipitis*				
	1:1	1:2	1:3	2:1	3:1
0	$0.13\pm0.02^{a,C}$	$0.20\pm0.15^{a,D}$	$0.11\pm0.03^{a,D}$	$0.11\pm0.02^{a,C}$	$0.12\pm0.01^{a,D}$
12	$2.54\pm0.14^{a,AB}$	$2.45\pm0.10^{ab,BC}$	$2.30\pm0.11^{b,C}$	$2.35\pm0.06^{b,AB}$	$2.61\pm0.06^{a,AB}$
24	$2.59\pm0.04^{ab,AB}$	$2.49\pm0.02^{ab,BC}$	$2.53\pm0.12^{ab,B}$	$2.40\pm0.17^{b,AB}$	$2.62\pm0.12^{a,AB}$
36	$2.91\pm0.43^{ab,A}$	$3.00\pm0.23^{a,A}$	$2.88\pm0.15^{ab,A}$	$2.49\pm0.16^{b,A}$	$2.70\pm0.12^{ab,A}$
48	$2.43\pm0.10^{b,AB}$	$2.74\pm0.18^{a,AB}$	$2.59\pm0.12^{ab,B}$	$2.43\pm0.10^{b,AB}$	$2.61\pm0.09^{ab,AB}$
60	$2.55\pm0.04^{a,AB}$	$2.60\pm0.11^{a,BC}$	$2.68\pm0.01^{a,B}$	$2.35\pm0.13^{b,AB}$	$2.53\pm0.05^{a,BC}$
72	$2.39\pm0.19^{a,B}$	$2.33\pm0.31^{a,C}$	$2.52\pm0.08^{a,B}$	$2.27\pm0.04^{a,B}$	$2.39\pm0.10^{a,C}$
84	$2.21\pm0.55^{a,B}$	$2.24\pm0.33^{a,C}$	$2.27\pm0.15^{a,C}$	$2.27\pm0.04^{a,B}$	$2.50\pm0.06^{a,BC}$
$Y_{p/s}$ (g/g)	0.241	0.237	0.235	0.202	0.218
Q_p (g/l•h^{-1})	0.077	0.078	0.077	0.066	0.072

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

4.3.3 ศึกษารูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806

จากการนำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น ศึกษารูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทดังนี้ การเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 1), การเติมหัวเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 2) และการเติมหัวเชื้อทั้งสองสายพันธุ์พร้อมกัน (รูปแบบที่ 3) โดยใช้อัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ต่อ *P. stipitis* TISTR 5806 เท่ากับ 1:2 ปริมาตรร้อยละ 10 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง

รูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทโดยการเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 1) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 13.96±0.23 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 4.99±0.11 กรัมต่อลิตร พบว่ามีปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และมีปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.56±0.03 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณเอทานอลลดลงเล็กน้อย การเจริญของเชื้อสูงสุดที่ 72 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 1.80±0.03 กรัมต่อลิตรซึ่งผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.216 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.036 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.5

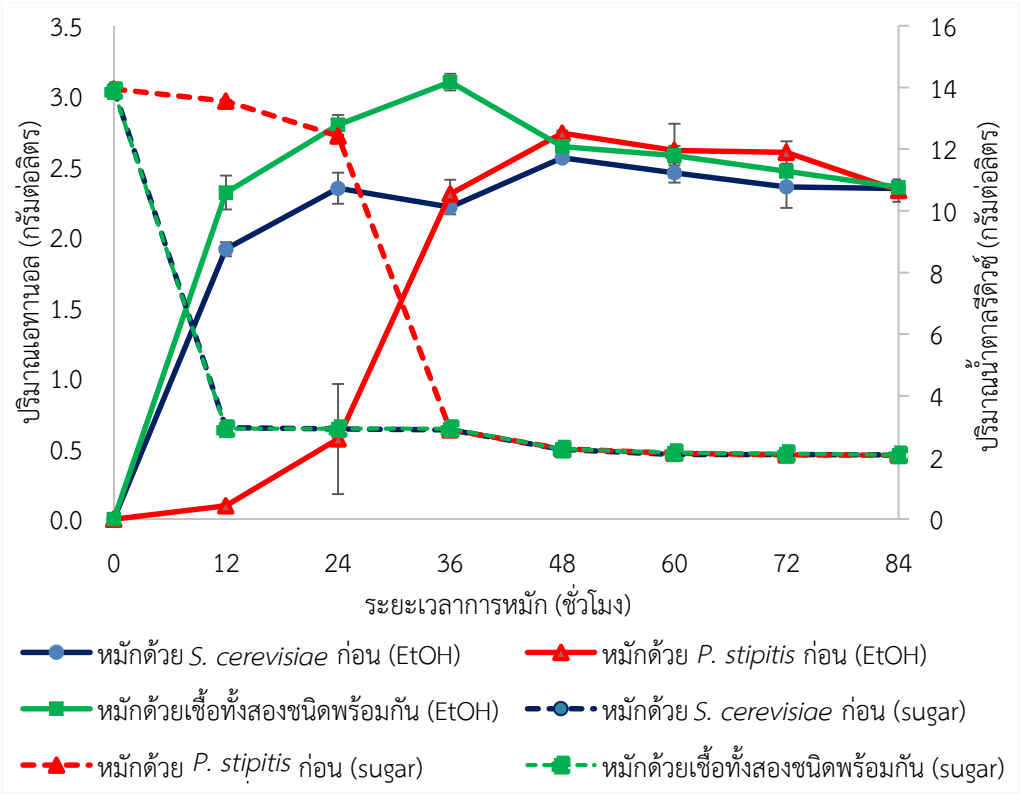
รูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทโดยการเติมหัวเชื้อ *P. stipitis* TISTR 5806 ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 2) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 13.95±0.21 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 5.42±0.40 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง เท่ากับ 2.74±0.04 กรัมต่อลิตร การเจริญของเชื้อในช่วง 24 ชั่วโมงแรก มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เพียงเล็กน้อย หลังจากนั้นเชื้อจึงเริ่มมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.73±0.04 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.216 กรัมต่อกรัมสับสเตรท และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.036 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.5

รูปแบบการหมักไฮโดรไลเสทโดยการเติมหัวเชื้อทั้งสองสายพันธุ์พร้อมกัน (รูปแบบที่ 3) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 13.90±0.22 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 4.95±0.63 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีปริมาณเอทานอลสูงสุด เท่ากับ 3.10±0.011 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง การเจริญของเชื้อสูงสุดที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.80±0.11 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการผลิตเอทานอล ($Y_{p/s}$) เท่ากับ กรัมต่อกรัมสับสเตรท 0.283 และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.086 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)		
	รูปแบบการหมัก		
	รูปแบบที่ 1	รูปแบบที่ 2	รูปแบบที่ 3
0	$0.00\pm0.00^{a,D}$	$0.00\pm0.00^{a,C}$	$0.00\pm0.00^{a,E}$
12	$1.92\pm0.08^{b,C}$	$0.09\pm0.02^{c,BC}$	$2.32\pm0.21^{a,D}$
24	$2.35\pm0.20^{a,AB}$	$0.57\pm0.68^{b,B}$	$2.80\pm0.12^{a,B}$
36	$2.21\pm0.08^{b,B}$	$2.31\pm0.18^{b,A}$	$3.10\pm0.11^{a,A}$
48	$2.56\pm0.03^{a,A}$	$2.74\pm0.04^{a,A}$	$2.64\pm0.18^{a,BC}$
60	$2.46\pm0.12^{a,AB}$	$2.61\pm0.32^{a,A}$	$2.58\pm0.12^{a,BC}$
72	$2.36\pm0.26^{a,AB}$	$2.60\pm0.13^{a,A}$	$2.47\pm0.06^{a,CD}$
84	$2.35\pm0.06^{a,AB}$	$2.33\pm0.13^{a,A}$	$2.35\pm0.07^{a,A}$
ค่า $Y_{p/s}$ (g/g)	0.216	0.234	0.283
ค่า Q_p(g/l•h-1)	0.036	0.057	0.086

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95



รูปที่ 4.5 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

จากการทดลองพบว่าการหมักรูปแบบที่ 3 ซึ่งมีการเติมเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พร้อมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 พร้อมกันในการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่า และใช้เวลาในการหมักสั้นกว่าชุดการทดลองอื่น จึงเลือกชุดการทดลองนี้มาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

4.3.4 ศึกษาการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่ง

จากการทดลองนำไฮโดรไลเสทของผักตบชวาที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติมหัวเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *Pichia stipitis* TISTR 5806 พร้อมกัน อัตราส่วน 1:2 หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นของสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งเท่ากับ 13.89±0.32 และ 13.84±0.26 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 6.71±0.71 และ 6.54±0.76 กรัมต่อลิตร พบว่าการหมักที่สภาวะนิ่งมีประสิทธิภาพการผลิตดีกว่าสภาวะเขย่า ที่สภาวะนิ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมง เท่ากับ 3.39±0.14 กรัมต่อลิตร ในขณะที่สภาวะเขย่าสามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่สุดเท่ากับ 3.00±0.18 กรัมต่อลิตร ระยะเวลา 36 ชั่วโมง เช่นกัน แสดงดังตารางที่ 4.7 และรูป

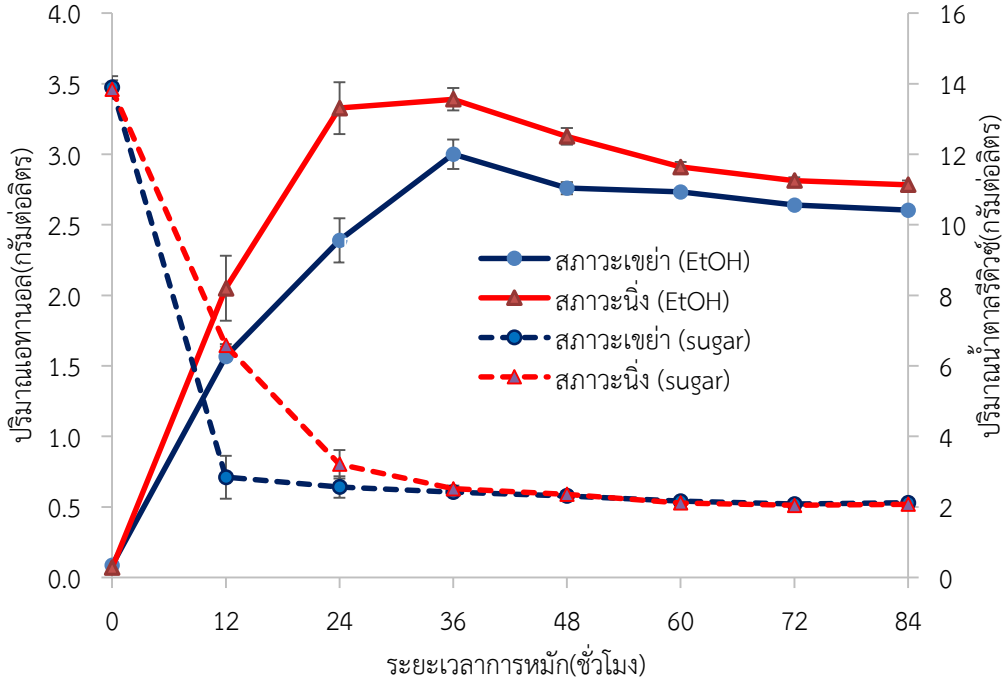
ที่ 4.6 Djelal และคณะ. (2006) รายงานว่าอัตราการกวนสูงยับยั้งการผลิตเอทานอล และออกซิเจนส่งผลให้เกิดการสะสมของผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิ เช่น acetaldehyde และกรดอะซิติก ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลกลูโคส พบว่าที่สภาวะเขย่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเล็กน้อย ขณะที่สภาวะนิ่งน้ำตาลจะถูกใช้ไปอย่างช้าจนถึงชั่วโมงที่ 36 สำหรับน้ำตาลกลูโคสจะถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 36 ทั้งสองสภาวะ และจากการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น เชื้อมีการเพิ่มน้ำหนักเซลล์แห้งตามระยะเวลาการหมัก ซึ่งการหมักในสภาวะเขย่ามีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมากกว่าการหมักในสภาวะนิ่ง โดยการหมักในสภาวะเขย่ามีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.60±0.35 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ขณะที่การหมักในสภาวะนิ่งมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด1.20±0.20 กรัมต่อลิตร ระยะเวลา 72 ชั่วโมง เนื่องจากการเขย่าเป็นการเพิ่มอากาศในฟลาสก์ทำให้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น (Agbogbo, 2007)

จากการทดลองพบว่าการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 พร้อมกับ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วน 1:2 พร้อมกัน ในสภาวะนิ่ง ให้ปริมารเอทานอลสูงกว่าการหมักในสภาวะเขย่า

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	
	สภาวะการหมัก	
	สภาวะเขย่า	สภาวะนิ่ง
0	$0.09\pm0.01^{a,E}$	$0.07\pm0.00^{a,D}$
12	$1.57\pm0.05^{a,D}$	$2.05\pm0.40^{a,C}$
24	$2.39\pm0.27^{b,C}$	$3.33\pm0.32^{a,A}$
36	$3.00\pm0.18^{b,A}$	$3.39\pm0.14^{a,A}$
48	$2.76\pm0.08^{b,B}$	$3.13\pm0.10^{a,AB}$
60	$2.73\pm0.03^{b,B}$	$2.91\pm0.06^{a,B}$
72	$2.64\pm0.02^{b,B}$	$2.81\pm0.04^{a,B}$
84	$2.60\pm0.03^{b,B}$	$2.78\pm0.05^{a,B}$
ค่า $Y_{p/s}$ (g/g)	0.254	0.293
ค่า Q_p(g/l•h-1)	0.081	0.092

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.6 ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองนำตัวอย่างผักตบชวาส่วนกากที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 2 กรัม ย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.0 0.3 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัมผักตบชวา บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อคัดเลือกหาความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาการย่อยที่เหมาะสมสำหรับการย่อยไฮโดรไลเสท พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์เท่ากับ 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา ที่ระยะเวลาการย่อยเท่ากับ 24 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 7.96±0.24 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 5.03±0.16 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของลิกโนเซลลูโลส (ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส) ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสาระลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 และไฮโดรไลเสทส่วนกากที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยผักตบชวามีปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เท่ากับร้อยละ 2.16±0.14 31.90±0.86 และ 13.78±1.20 เมื่อปรับสภาพด้วยสาระลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 ทำให้ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ลดลงเหลือร้อยละ 1.12±0.15 24.71±2.97 และ 5.21±0.49 หลังจากนำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 พบว่าในไฮโดรไลเสทส่วนกากเหลือปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ร้อยละ 1.06±0.14 3.80±0.26 และ 0.33±0.09

ไฮโดรไลเสทส่วนน้ำที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัมของผักตบชวา นำมาศึกษากระบวนการหมักเอทานอลโดยการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์ (อัตราส่วน 1:1) หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 84 ชั่วโมง พบว่าการหมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.00±0.18 กรัมต่อลิตร มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล($Y_{p/s}$) 0.217 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล(Q_p) เท่ากับ 0.081 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง การหมักด้วยเชื้อผสมของทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล และใช้ระยะเวลาการหมักน้อยกว่าการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088 หรือ *P. stipitis* TISTR 5806 เพียงสายพันธุ์เดียว

จากการนำไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยเอนไซม์ ACCELLERASE 1500 มาหมักด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ทำการศึกษาที่ใช้อัตราส่วนดังนี้ 1:1 1:2 1:3 2:1 และ 3:1 พบว่าอัตราส่วนที่ 1:2 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เท่ากับ 3.00±0.23 กรัมต่อลิตร มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.237 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.078 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

การศึกษารูปแบบการเติมหัวเชื้อดังนี้การเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 1) การเติมหัวเชื้อ *P. stipitis* ก่อน 24 ชั่วโมงแรก (รูปแบบที่ 2) และการเติมหัวเชื้อทั้งสองชนิดพร้อมกัน (รูปแบบที่ 3) พบว่ารูปแบบการเติมหัวเชื้อทั้งสองชนิดพร้อมกัน (รูปแบบที่ 3) มีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด โดยให้ปริมาณเอทานอล 3.10±0.011 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมง มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.283กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.086 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการศึกษาสภาวะในการหมักเอทานอลคือ สภาวะเขย่าและสภาวะนิ่ง พบว่าการหมักที่สภาวะนิ่งมีประสิทธิภาพการผลิตสูงกว่าสภาวะเขย่า โดยที่สภาวะนิ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมง เท่ากับ 3.39±0.14 กรัมต่อลิตร มีค่าผลได้ของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.293 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล เท่ากับ 0.092 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอัตราส่วนของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในการหมักเอทานอลจากผักตบชวา ควรเพิ่มความต่างของอัตราส่วนให้มากขึ้น เพื่อให้เห็นความแตกต่างในการผลิตเอทานอลชัดเจนมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ไกรพัฒน์ จีนขจร. 2550. พลังงานหมุนเวียน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

นคร ทิพยาวงศ์. 2552. เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1. 662 น. หน้า 122-147.

ประมุข ภระกลูสุขสถิต. 2555. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการผลิตไบโอเอทานอลจากชีวมวล. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ

เวสารัช สุนทรชัยบรูณ์ และ รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2555. การปรับสภาพผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) และ จอก (*Pistia stratiotes* L.) ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างและกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์. *Sakon nakon graduate studies Journal*.10: 173-184.

รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2558 กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้ง ทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส. *Veridian E-Journal*, Science and Technology Silpakorn University. 2: 143-157.

สมใจ ศิริโภช. 2555. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ.. 352 น. หน้า 87-98

Abraham, M. and Kurup, G. M. 1997. “Pretreatment studies of cellulose wastes for optimization of cellulase enzyme activity”. *Applied Biochemistry and Biotechnology.* 62: 201-211

Agbogbo, F. K. and Kelly, G. C. 2008 “Cellulosic ethanol production using the naturally occurring xylose-fermenting yeast, *Pichia stipitis”*. *Biotechnol Lett.* 30: 1515-1524

Altıntas ¸ M. M. Ulgen, K. O. Kırdar, B. Onsan, Z. I. and Oliver, S. G. 2002. "Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors". *Enzyme and Microbial Technology.* 31(5): 640-647.

Aswathy, U. S. Sukumaran, R. K. Devi, G. L. Rajasree, K. P. Singhania, R. R. and Pandey, A. 2010. “Bio-ethanol from water hyacinth biomass: An evaluation of enzymatic saccharification strategy”. *Bioresource Technology*. 101(3): 925-930

Chandel, A. K. Singh, O. V. Narasu, M. L. and Rao, L. V. 2011. “Bioconversion of Saccharum spontaneum (wild sugarcane) hemicellulosic hydrolysate into ethanol by mono and co-cultures of *Pichia stipitis* NCIM3498 and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae*-VS3”. *New Biotechnology*. 28(6): 593-599

Chen, M. Zhao, J. and Xia, L. 2008. “Enzymatic hydrolysis of maize straw polysaccharides for the production of reducing sugars”. *Carbohydrate Polymer.* 71(3): 411-415.

Cheung, S. W. and Anderson, B. C. 1997. “Laboratory investigation of ethanol production from municipal primary wastewater solids”. *Bioresource Technology*. 59(1): 81-96.

Dash, P. K. Mohaptra, S. Swain, M. R. and Thatoi, H. 2017. “Optimization of bioethanol production from saccharifed sweet potato root flour by co-fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia* sp. using OVAT and response surface methodologies”. *Acta Biologica Szegediensis.* 61(1):13-23

Forrest, A. K. Hernandez, J. and Holtzapple, M. T. 2010. "Effects of temperature and pretreatment conditions on mixed-acid fermentation of water hyacinths using a mixed culture of thermophilic microorganisms". *Bioresource Technology.* 101(19): 7510-7515.

Ganguly, A. Chatterjee, P. K., and Dey, A. 2012. "Studies on ethanol production from water hyacinth—A review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 16(1): 966-972.

Giordano, R. L. C. Trovati, J. and Schmidell, W. 2008. “Continuous production of ethanol from starch using glucoamylase and yeast co-Immobilized in pectin gel”. *Appl Biochem Biotechnol*. 147: 47–61

Goshadrou, A. Karimi, K. and Taherzadeh, M. J. 2011. "Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*". *Industrial Crops and Products.* 34(1): 1219-1225.

Guragain, Y. N. Coninck, J. D. Husson, F. Durand, A. and Rakshit, S. K. 2011. “Comparison of some new pretreatment methods for second generation bioethanol production from wheat straw and water hyacinth*”. Bioresource Technology.* 102: 4416–4424

Horisawa, S. Ando, H. Ariga, O. and Sakuma, Y. 2015. "Direct ethanol production from cellulosic materials by consolidated biological processing using the wood rot fungus *Schizophyllum commune*". *Bioresource Technology*. 197: 37-41.

Hughes, D. B. Tudroszen, N. J. and Moye, C. J. 1984. "The effect of temperature on the kinetics of ethanol production by a thermotolerant strain of *Kluveromyces marxianus*". *Biotechnology Letters*. 6(1): 1-6.

Kumar, A. Singh, L. K. and Ghosh, S. 2009. "Bioconversion of lignocellulosic fraction of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to ethanol by *Pichia stipitis*". *Bioresource Technology*. 100(13): 3293-3297.

Laplace, J. M. Delgenes, J. P. Molettal, R. and Navarro, J. M. 1993. "Ethanol production from glucose and xylose by separated and co-culture processes using high cell density systems" *Process Biochemistry.* 28: 519-525

Liming, X. and Xueliang, S. 2004. "High-yield cellulase production by *Trichoderma reesei* ZU-02 on corn cob residue". *Bioresource Technology*. 91(3): 259-262.

McIntosh, S. and Vancov, T. 2011. "Optimisation of dilute alkaline pretreatment for enzymatic saccharification of wheat straw". *Biomass and Bioenergy*. 35: 3094-3103

Miller, G. L. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing rugar" *Analytical Chemistry*. 31(3): 426-428

Mishima, D. Kuniki, M. Sei, K. Soda, S. Ike, M. and Fujita, M. 2008. "Ethanol production from candidate energy crops: Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.)" *Bioresource Technology*. 99: 2495–2500

Mussatto, S. I. Dragone, G. and Roberto, I. C. 2005. "Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by Candida guilliermondii". *Process Biochemistry*. 40(12): 3801-3806.

Nigam, J. N. 2002. "Bioconversion of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose–fermenting yeast". *Journal of Biotechnology*. 97(2): 107-116.

Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2000. "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates inhibition and detoxification". *Bioresource Technology*. 74(1): 17-24.

Qi, B. Chen, X. Shen, F. Su, Y. and Wan Y. Ind. 2009, “Optimization of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by alkaline peroxide using response surface methodology”. *Eng. Chem. Res*. 48: 7346–7353

Silverstein, R. A. Chen, Y. Sharma-Shivappa, R. R. Boyette, M. D. and Osborne, J. 2007. "A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks". *Bioresource Technology*. 98(16): 3000-3011.

Sreenath, H. K. Koegel, R. G. Moldes, A. B. Jeffries, T. W. and Straub, R. J. 2001. "Ethanol production from alfalfa fiber fractions by saccharification and fermentation". *Process Biochemistry*. 36(12): 1199-1204.

Suali, E. and Sarbatly, R. 2012. "Conversion of microalgae to biofuel". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16(6): 4316-4342.

Sun, Y. and Cheng, J. 2002. "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review". *Bioresource Technology*. 83(1): 1-11.

Taniguchi, M. Tohma, T. Itaya, T. and Fujii M. 1997. “Ethanol production from a mixture of glucose and xylose by co-culture of *Pichia stipitis* and a respiratory-deficient mutant of *Saccharomyces cerevisiae”*. *Fermentation and Bioengineering*. 83(4): 364-370.

Xu, F. Chen, L. Wang, A. and Yan, Z. 2016. "Influence of surfactant-free ionic liquid microemulsions pretreatment on the composition, structure and enzymatic hydrolysis of water hyacinth". *Bioresource Technology*. 208: 19-23.

Yadav, S. K. Naseeruddin, S. Sai Prashanthi, G. Sateesh, L. and Venkateswar Rao, L. 2011. "Bioethanol fermentation of concentrated rice straw hydrolysate using co-culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*". *Bioresource Technology.* 102(11): 6473-6478.

Yan, J. Wei, Z. Wang, Q. He, M. Li, S. and Irbis, C. 2015. "Bioethanol production from sodium hydroxide/hydrogen peroxide-pretreated water hyacinth via simultaneous saccharification and fermentation with a newly isolated thermotolerant *Kluyveromyces marxianu* strain". *Bioresource Technology.* 193: 103-109.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) Agar

Yeast extract	10	กรัมต่อลิตร
Peptone	20	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) Broth

Yeast extract	10	กรัมต่อลิตร
Peptone	20	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20	กรัมต่อลิตร

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ MGYP Agar

Malt extract	5	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	5	กรัมต่อลิตร
Peptone	20	กรัมต่อลิตร
Dextrose	5	กรัมต่อลิตร
Xylose	30	กรัมต่อลิตร
Agar	15	กรัมต่อลิตร

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ MGYP Broth

Malt extract	5	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	5	กรัมต่อลิตร
Peptone	20	กรัมต่อลิตร
Xylose	20	กรัมต่อลิตร

วิธีการเตรียม

1. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

2. ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

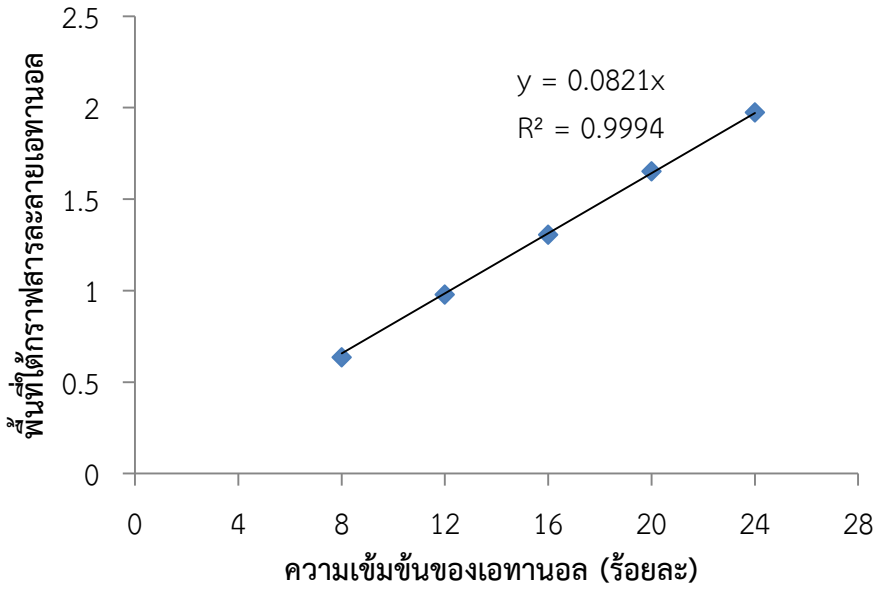
ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือ

1. วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

1.1 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้โพรพานอล (N-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (Internal standard) และสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4 6 8 10 และ 12 โดยปริมาตร ผสมสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับสารละลายมาตรฐานเอทานอลแต่ละความเข้มข้น 500 ไมโครลิตร วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโตกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด FID เท่ากับ 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะ ความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์เท่ากับ 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์ นำพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x แสดงดังรูปที่ ข-1



รูปที่ ข-1 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

1.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง ทำการผสมตัวอย่าง 500 ไมโครลิตรกับสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ฉีกตัวอย่างเข้าเครื่อง จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอลหรือคำนวนได้จากสูตรดังนี้

สูตรการคำนวณปริมาณเอทานอล

สมการ y = 0.0821x

กำหนดให้ y = ค่าอัตราส่วนระหว่างเอทานอลต่อโพรพานอล

แทนค่าหา x

ปริมาณเอทานอล = (x) (ความหนาแน่นของเอทานอล) (10) กรัมต่อลิตร

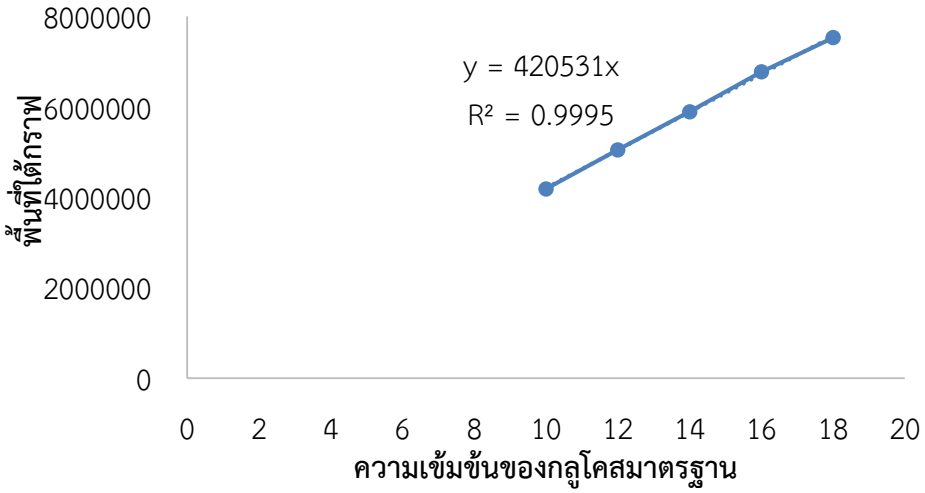
ค่าความหนาแน่นของเอทานอล = 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร

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

2. วิธีการวิเคราะห์กลูโคสโดยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.1 กราฟมาตรฐานของกลูโคส

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 10 12 14 16 และ 18 กรัมต่อลิตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส โดยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) รุ่น LC-20A ยี่ห้อ Shimadzu ใช้คอลัมน์ BP-100 Ca^{++} ขนาดคอลัมน์ 300±7.8 มิลลิเมตร อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้น้ำกลั่นเป็นพาหะ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวตรวจวัดชนิด RID โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่กลูโคสถูกชะออกจากคอลัมน์ประมาณ 17 นาทีนำพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคสเป็นแกน x แสดงดังรูปที่ ข-2



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคสวัดโดยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

2.2 วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสในตัวอย่าง

จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง โดยนำค่าพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างมาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสหรือคำนวนได้จากสูตรดังนี้

สูตรการคำนวณปริมาณกลูโคส	y	=	420531x
กำหนดให้	y	=	พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง
กำหนดให้	X	=	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)
ดังนั้น	ปริมาณกลูโคส	=	y ÷ 420531 กรัมต่อลิตร

3. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS Method (Miller, 1959)

3.1 วิธีการเตรียมสารละลาย DNS ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย 3, 5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1 (10 กรัม) ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ (16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) ผสมสารละลายให้เข้ากันทีละน้อย หลังจากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาเทท ลงไปทีละน้อยพร้อมกับคนให้เข้ากัน จนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.2 วิธีการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

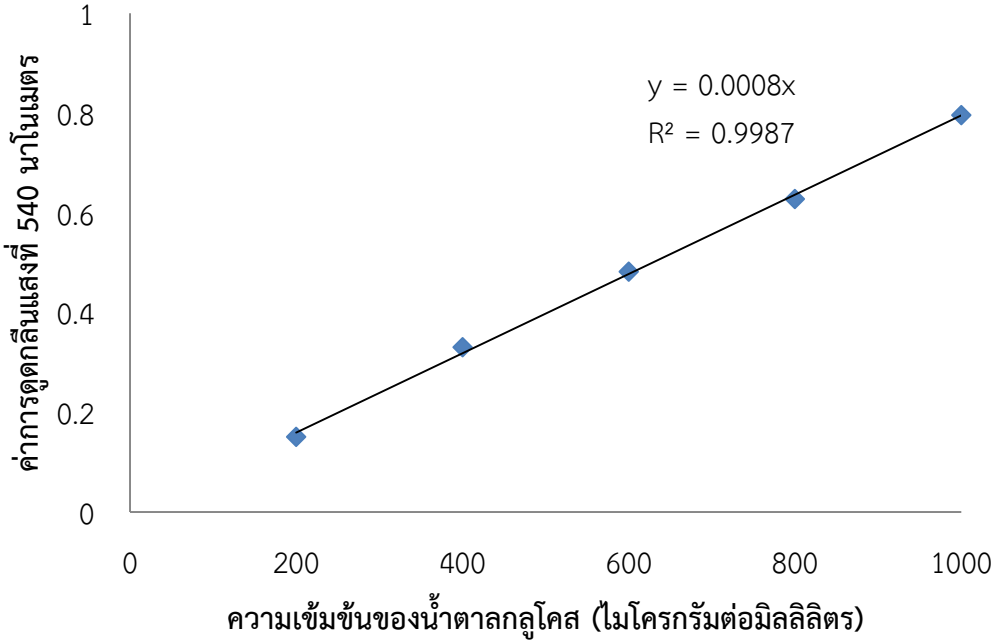
อบกลูโคสที่ตู้อบ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับ

ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จะทำให้สารละลายกลูโคสมีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการเจือจางสารละลายกลูโคสโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมกับสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร เขย่าสารให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา5 นาที หลังจากทำให้อุณหภูมิลดลง ปิเปตน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลอง เขย่าสารให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จากสูตร

$$\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น } \mathbf{540} \text{ นาโนเมตร } \boldsymbol{x} \text{ อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน } \boldsymbol{x}\ \mathbf{1000}}$$



รูปที่ ข-3 กราฟสารละลายมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลายความเข้มข้นต่างๆ

1. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

$$\text{จากสูตร \% (w/v)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่จะชั่ง (กรัม)} \times 100}{\text{ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}$$

$$2\ \% = \frac{\text{NaOH(กรัม)} \times 100}{500\text{(มิลลิลิตร)}}$$

$$2\ \% = 10 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วนน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

2. การเตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5 (Guragain และคณะ, 2011)

2.1 สารละลาย A : กรดอะซิติก (CH_3 COOH) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (มวลโมเลกุล 60 ความถ่วงจำเพาะ 1.05 ความเข้มข้นร้อยละ 99.6)

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อกรด 0.2 โมลาร์		0.2×60	กรัม
มีเนื้อกรด 99.6 กรัม จากสารละลาย		100	กรัม
มีเนื้อกรด 0.2×60 กรัม จากสารละลาย	$\frac{100\times0.2\times60}{99.6}$ =	12.05	กรัม
มีกรดอะซิติก 1.05 กรัม ในปริมาตร	1		มิลลิลิตร
มีกรดอะซิติก 12.05 กรัม ในปริมาตร	$\frac{12.05}{1.05}$	= 11.48	มิลลิลิตร

ดังนั้น การเตรียมการเตรียมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยปิเปตกรดอะซิติก 11.5 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

2.2 สารละลาย B : โซเดียมอะซิเตท (CH_3COONa) ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

การเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (มวลโมเลกุล 82.03) ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร ต้องการให้มีเนื้อสาร 0.2 โมลาร์ = 0.2×82.03 กรัม

= 16.406 กรัม

ดังนั้น การเตรียมการเตรียมโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร โดยชั่งโซเดียมอะซิเตท 16.4 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ผสมสารละลาย A 74 มิลลิลิตรและสารละลาย B 176 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ระดับพีเอชที่ต้องการคือเท่ากับ 5.0 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ง

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ง-1 ตารางปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE1500 (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0*	0.00	0.01	0.05	0.017
	0.3	0.02	0.00	0.01	0.010
	0.6	0.02	0.01	0.02	0.018
	0.9	0.02	0.00	0.01	0.011
	1.2	0.02	0.00	0.04	0.021
	1.5	0.02	0.00	0.01	0.009
12	0.0*	0.00	0.01	0.02	0.010
	0.3	0.06	0.44	0.43	0.310
	0.6	0.67	0.73	0.82	0.739
	0.9	0.93	0.79	1.07	0.928
	1.2	0.76	0.70	0.68	0.713
	1.5	0.97	0.90	0.68	0.846
24	0.0*	0.01	0.03	0.04	0.010
	0.3	6.19	6.10	6.20	6.163
	0.6	8.24	7.84	7.80	7.958
	0.9	7.49	8.53	7.48	7.829
	1.2	7.59	7.41	8.54	7.846
	1.5	7.08	8.99	7.56	7.875

หมายเหตุ : * ใชน้ำกลั่นแทนเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0

ตารางที่ ง-1 (ต่อ) ตารางปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE1500 (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
36	0.0*	0.03	0.01	0.02	0.019
	0.3	6.78	5.93	5.75	6.150
	0.6	5.83	6.60	6.38	6.267
	0.9	5.40	5.25	5.35	5.333
	1.2	5.95	5.40	6.78	6.042
	1.5	6.08	6.40	5.58	6.017
48	0.0*	0.00	0.01	0.05	0.017
	0.3	6.15	5.85	5.60	5.867
	0.6	6.98	5.28	6.53	6.258
	0.9	5.40	5.88	5.80	5.692
	1.2	6.03	6.30	6.30	6.208
	1.5	5.35	6.45	6.00	5.933
60	0.0*	0.04	0.02	0.08	0.046
	0.3	7.00	7.45	7.73	7.392
	0.6	6.00	6.65	7.20	6.617
	0.9	5.53	5.70	5.13	5.450
	1.2	6.10	6.58	6.05	6.242
	1.5	5.63	5.90	6.50	6.008
72	0.0*	0.02	0.02	0.08	0.043
	0.3	6.20	7.28	6.78	6.750
	0.6	5.50	6.50	5.78	5.925
	0.9	5.08	5.33	5.10	5.167
	1.2	6.23	5.85	5.65	5.908
	1.5	5.53	5.78	6.45	5.917

หมายเหตุ : * ใชน้ำกลั่นแทนเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0

ตารางที่ ง-2 ตารางปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE1500 (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0*	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.3	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.6	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.9	0.00	0.00	0.00	0.00
	1.2	0.00	0.00	0.00	0.00
	1.5	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.0*	0.00	0.02	0.02	0.017
	0.3	0.00	0.02	0.01	0.011
	0.6	0.00	0.08	0.01	0.030
	0.9	0.01	0.02	0.01	0.011
	1.2	0.01	0.00	0.00	0.007
	1.5	0.01	0.02	0.01	0.014
24	0.0*	0.01	0.02	0.01	0.011
	0.3	3.59	4.05	3.74	3.796
	0.6	5.00	5.21	4.89	5.033
	0.9	4.39	3.88	4.88	4.383
	1.2	5.34	3.89	4.98	4.739
	1.5	4.71	4.05	4.09	4.284

หมายเหตุ : * ใช้น้ำกลั่นแทนเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0

ตารางที่ ง-2 (ต่อ) ตารางปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเอนไซม์ ACCELLERASE1500 (มิลลิลิตรต่อกรัม)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
36	0.0*	0.00	0.00	0.01	0.007
	0.3	4.44	3.55	4.27	4.088
	0.6	4.85	4.33	5.28	4.818
	0.9	2.94	4.75	4.74	4.144
	1.2	3.02	4.63	4.31	3.988
	1.5	4.86	3.85	3.70	4.140
48	0.0*	0.01	0.02	0.01	0.011
	0.3	5.34	4.39	3.93	4.554
	0.6	4.90	4.22	5.04	4.719
	0.9	3.62	5.17	2.92	3.900
	1.2	3.86	3.86	3.49	3.739
	1.5	3.30	3.14	3.63	3.355
60	0.0*	0.02	0.01	0.00	0.011
	0.3	4.31	3.43	4.38	4.037
	0.6	3.59	4.08	5.53	4.399
	0.9	4.33	3.82	2.95	3.699
	1.2	4.08	3.84	3.12	3.679
	1.5	2.99	3.58	3.78	3.452
72	0.0*	0.00	0.00	0.01	0.007
	0.3	2.79	3.65	4.56	3.667
	0.6	4.40	2.39	4.28	3.693
	0.9	3.26	3.36	1.73	2.781
	1.2	4.13	4.27	2.35	3.585
	1.5	3.96	2.38	2.98	3.108

หมายเหตุ : * ใช้น้ำกลั่นแทนเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0

ตารางที่ ง-3 ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ของผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ประเภทของวัสดุ		เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยเฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ)	ลิกนิน(ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยลิกนิน (ร้อยละ)	เซลลูโลส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยเซลลูโลส (ร้อยละ)
ผักตบชวา	ซ้ำที่ 1	14.865	13.776	2.302	2.159	31.351	31.899
	ซ้ำที่ 2	13.976		2.141		31.452	
	ซ้ำที่ 3	12.486		2.033		32.895	
ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ	ซ้ำที่ 1	5.190	5.205	0.982	1.123	24.543	24.706
	ซ้ำที่ 2	4.721		1.114		21.819	
	ซ้ำที่ 3	5.705		1.274		27.757	
ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพและย่อยด้วยอนไซม์	ซ้ำที่ 1	0.362	0.330	1.217	1.060	4.064	3.804
	ซ้ำที่ 2	0.231		1.025		3.538	
	ซ้ำที่ 3	0.398		0.938		3.811	

ตารางที่ ง-4 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.1028	0.0935	0.1033	0.10
	P. stipitis TISTR 5806	0.0656	0.086	0.0689	0.07
	เชื้อผสม	0.0768	0.075	0.0784	0.08
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.574	2.9032	2.7143	2.73
	P. stipitis TISTR 5806	0.1451	0.1123	0.0812	0.11
	เชื้อผสม	2.6074	2.6822	2.710	2.67
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.6955	2.6655	2.7491	2.70
	P. stipitis TISTR 5806	0.4274	0.4196	0.9879	0.61
	เชื้อผสม	2.7305	2.7519	2.7221	2.73

ตารางที่ ง-4 (ต่อ)ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.7779	2.3965	2.919	2.70
	P. stipitis TISTR 5806	2.8122	2.8866	2.7387	2.81
	เชื้อผสม	3.1359	2.8032	3.0716	3.00
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	3.0337	2.8965	2.9716	2.97
	P. stipitis TISTR 5806	2.8473	2.7941	2.8956	2.85
	เชื้อผสม	3.0849	2.9202	2.891	2.92
60	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.6925	2.9949	2.7929	2.83
	P. stipitis TISTR 5806	2.6697	3.0011	2.7803	2.82
	เชื้อผสม	2.8203	3.0013	2.9055	2.91
72	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.6255	2.6098	2.807	2.68
	P. stipitis TISTR 5806	2.1949	2.7315	2.6982	2.54
	เชื้อผสม	2.6348	2.5757	2.8456	2.69
84	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.1332	2.035	2.544	2.24
	P. stipitis TISTR 5806	1.7055	2.4761	2.6353	2.27
	เชื้อผสม	2.4286	2.3137	2.8214	2.52

ตารางที่ ง-5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	12.74	13.25	15.42	13.20	13.65
	P. stipitis TISTR 5806	12.65	12.02	16.43	12.06	13.29
	เชื้อผสม	13.63	13.83	16.63	14.60	14.67

ตารางที่ ง-5 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)				
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.40	1.36	1.44	1.53	1.43
	P. stipitis TISTR 5806	8.59	8.38	9.14	7.35	8.37
	เชื้อผสม	1.30	1.49	1.46	1.42	1.42
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.16	1.30	1.32	1.38	1.29
	P. stipitis TISTR 5806	7.25	7.28	6.76	6.66	6.99
	เชื้อผสม	1.21	1.31	1.24	1.29	1.26
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.14	1.14	1.13	1.22	1.16
	P. stipitis TISTR 5806	1.66	1.35	1.63	1.25	1.47
	เชื้อผสม	1.15	1.22	1.02	1.22	1.15
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.07	1.13	1.09	1.16	1.11
	P. stipitis TISTR 5806	1.06	1.25	1.24	1.10	1.16
	เชื้อผสม	0.99	1.15	1.01	1.12	1.07
60	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.00	1.07	1.02	1.05	1.04
	P. stipitis TISTR 5806	1.06	1.13	1.15	1.20	1.14
	เชื้อผสม	0.95	1.06	0.92	1.05	1.00
72	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.99	1.03	1.02	1.00	1.01
	P. stipitis TISTR 5806	1.05	1.05	1.09	1.04	1.06
	เชื้อผสม	0.93	1.06	0.90	1.05	0.99
84	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.99	1.02	0.96	0.98	0.99
	P. stipitis TISTR 5806	0.98	1.02	1.04	1.00	1.01
	เชื้อผสม	0.91	0.96	0.89	0.93	0.92

ตารางที่ ง-6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	6.58	6.93	5.32	6.27
	P. stipitis TISTR 5806	7.01	6.96	4.52	6.16
	เชื้อผสม	6.98	7.92	6.76	7.22
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.91	0.42	0.07	0.46
	P. stipitis TISTR 5806	5.77	4.41	4.55	4.91
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.06	0.05	0.01	0.37
	P. stipitis TISTR 5806	4.68	3.90	3.90	4.16
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.00	0.00	0.00	0.00
	P. stipitis TISTR 5806	0.00	0.00	0.00	0.00
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.00	0.00	0.00	0.00
	P. stipitis TISTR 5806	0.00	0.00	0.00	0.00
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00
60	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.00	0.00	0.00	0.00
	P. stipitis TISTR 5806	0.00	0.00	0.00	0.00
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00
72	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.00	0.00	0.00	0.00
	P. stipitis TISTR 5806	0.00	0.00	0.00	0.00
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ ง-6 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
84	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0.00	0.00	0.00	0.00
	P. stipitis TISTR 5806	0.00	0.00	0.00	0.00
	เชื้อผสม	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ ง-7 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	*S. cerevisiae* TISTR 5088	0	0	0	0.000
	P. stipitis TISTR 5806	0	0	0	0.000
	เชื้อผสม	0	0	0	0.000
12	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.2	1.6	1	1.267
	P. stipitis TISTR 5806	0.6	0.4	0.6	0.533
	เชื้อผสม	1	0.6	1	0.867
24	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2	1.2	1.4	1.533
	P. stipitis TISTR 5806	0.8	0.6	0.6	0.667
	เชื้อผสม	1.4	1.2	1.2	1.267
36	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.6	1.6	1.6	1.600
	P. stipitis TISTR 5806	1.4	1.6	1.4	1.467
	เชื้อผสม	1.4	1.6	1.6	1.533
48	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.2	2	1.2	1.800
	P. stipitis TISTR 5806	2.2	2	1.2	1.800
	เชื้อผสม	2	1.6	1.6	1.733

ตารางที่ ง-7 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	เชื้อจุลินทรีย์	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
60	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.4	2.2	1.6	2.067
	P. stipitis TISTR 5806	1.6	1.4	1.8	1.600
	เชื้อผสม	1.4	1.6	2	1.667
72	*S. cerevisiae* TISTR 5088	2.6	1.6	1.4	1.867
	P. stipitis TISTR 5806	2.4	2	1.8	2.067
	เชื้อผสม	2.2	1.8	1.8	1.933
84	*S. cerevisiae* TISTR 5088	1.8	1.8	1.4	1.667
	P. stipitis TISTR 5806	2.4	2.4	1.2	2.000
	เชื้อผสม	2	1.8	2.4	2.067

ตารางที่ ง-8 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณน้ำตาลเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	1:1	0.125	0.118	0.153	0.13
	1:2	0.378	0.085	0.148	0.20
	1:3	0.081	0.138	0.109	0.11
	2:1	0.093	0.102	0.139	0.11
	3:1	0.109	0.126	0.116	0.12
12	1:1	2.591	2.386	2.648	2.54
	1:2	2.569	2.406	2.379	2.45
	1:3	2.414	2.192	2.306	2.30
	2:1	2.358	2.283	2.397	2.35
	3:1	2.56	2.594	2.668	2.61
24	1:1	2.563	2.638	2.582	2.59
	1:2	2.488	2.466	2.510	2.49
	1:3	2.648	2.419	2.511	2.53
	2:1	2.44	2.215	2.545	2.40
	3:1	2.496	2.629	2.743	2.62
36	1:1	2.609	3.41	2.724	2.91
	1:2	2.734	3.143	3.113	3.00
	1:3	2.706	3.007	2.919	2.88
	2:1	2.585	2.3	2.571	2.49
	3:1	2.596	2.68	2.823	2.70
48	1:1	2.438	2.525	2.318	2.43
	1:2	2.541	2.757	2.908	2.74
	1:3	2.452	2.644	2.676	2.59
	2:1	2.545	2.356	2.381	2.43
	3:1	2.608	2.517	2.699	2.61

ตารางที่ ง-8 (ต่อ) ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
60	1:1	2.595	2.518	2.542	2.55
	1:2	2.479	2.701	2.628	2.60
	1:3	2.67	2.684	2.691	2.68
	2:1	2.425	2.196	2.419	2.35
	3:1	2.539	2.474	2.565	2.53
72	1:1	2.39	2.199	2.578	2.39
	1:2	1.974	2.57	2.45	2.33
	1:3	2.551	2.571	2.43	2.52
	2:1	2.304	2.227	2.279	2.27
	3:1	2.453	2.443	2.268	2.39
84	1:1	2.7	1.621	2.314	2.21
	1:2	1.911	2.247	2.564	2.24
	1:3	2.341	2.376	2.102	2.27
	2:1	2.304	2.227	2.279	2.27
	3:1	2.436	2.545	2.511	2.50

ตารางที่ ง-9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	1:1	13.365	13.439	13.463	13.42
	1:2	14.133	13.703	13.49	13.78
	1:3	13.678	13.95	13.849	13.83
	2:1	14.04	14.114	13.668	13.94
	3:1	13.925	13.421	14.013	13.79
12	1:1	6.445	6.486	6.526	6.49
	1:2	6.511	6.48	6.479	6.49
	1:3	6.513	6.454	6.606	6.52
	2:1	6.486	6.494	6.458	6.48
	3:1	6.43	6.469	6.473	6.46
24	1:1	2.909	2.881	3.026	2.94
	1:2	2.971	2.959	2.975	2.97
	1:3	2.92	2.878	2.939	2.91
	2:1	2.964	2.898	2.984	2.95
	3:1	2.966	2.98	2.994	2.98
36	1:1	2.916	2.905	2.89	2.90
	1:2	2.876	2.879	2.924	2.89
	1:3	2.863	2.911	2.903	2.89
	2:1	2.966	2.9	2.991	2.95
	3:1	2.884	2.943	2.924	2.92
48	1:1	2.366	2.33	2.445	2.38
	1:2	2.368	2.45	2.545	2.45
	1:3	2.484	2.798	2.473	2.58
	2:1	2.493	2.351	2.474	2.44
	3:1	2.385	2.394	2.426	2.40

ตารางที่ ง-9 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
60	1:1	2.22	2.144	2.341	2.24
	1:2	2.36	2.245	2.403	2.34
	1:3	2.334	2.189	2.241	2.25
	2:1	2.345	2.229	2.319	2.30
	3:1	2.234	2.25	2.325	2.27
72	1:1	1.989	1.895	2.154	2.01
	1:2	2.188	2.033	2.073	2.10
	1:3	2.08	2.209	2.105	2.13
	2:1	2.109	1.956	2.173	2.08
	3:1	2.038	2.134	2.214	2.13
84	1:1	2.076	1.975	2.136	2.06
	1:2	2.145	1.971	2.073	2.06
	1:3	2.101	2.111	2.098	2.10
	2:1	2.086	1.99	2.158	2.08
	3:1	1.978	2.104	2.171	2.08

ตารางที่ ง-10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	1:1	5.582	5.903	4.035	0.58
	1:2	4.857	5.314	4.508	0.23
	1:3	3.860	6.486	5.203	0.76
	2:1	4.375	4.357	5.478	0.37
	3:1	4.739	5.431	4.604	0.26

ตารางที่ ง-10 (ต่อ) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
12	1:1	0.824	0.000	0.000	0.27
	1:2	0.000	0.000	0.000	0.00
	1:3	0.000	0.000	0.000	0.00
	2:1	0.000	0.000	0.000	0.00
	3:1	0.000	0.000	0.000	0.00

ตารางที่ ง-11 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	1:1	0.00	0.00	0.00	0.00
	1:2	0.00	0.00	0.00	0.00
	1:3	0.00	0.00	0.00	0.00
	2:1	0.00	0.00	0.00	0.00
	3:1	0.00	0.00	0.00	0.00
12	1:1	1.00	0.80	1.20	1.00
	1:2	0.60	1.00	0.80	0.80
	1:3	1.00	1.20	1.00	1.07
	2:1	1.20	1.20	0.80	1.07
	3:1	0.80	0.20	1.00	0.67
24	1:1	1.40	1.40	1.60	1.47
	1:2	1.00	1.40	1.40	1.27
	1:3	1.20	1.20	1.20	1.20
	2:1	1.20	1.20	1.20	1.20
	3:1	1.40	0.40	1.00	0.93

ตารางที่ ง-11 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
36	1:1	1.80	1.80	1.20	1.60
	1:2	1.00	1.60	1.80	1.47
	1:3	1.00	1.40	1.60	1.33
	2:1	1.40	1.20	1.00	1.20
	3:1	0.80	0.60	1.40	0.93
48	1:1	1.40	2.20	1.80	1.80
	1:2	1.00	1.60	2.20	1.60
	1:3	1.80	1.00	1.80	1.53
	2:1	1.40	1.20	1.00	1.20
	3:1	1.00	0.80	2.20	1.33
60	1:1	1.40	1.60	2.20	1.73
	1:2	1.60	2.00	2.20	1.93
	1:3	1.40	1.20	1.60	1.40
	2:1	1.80	2.60	1.00	1.80
	3:1	1.40	0.20	1.80	1.13
72	1:1	1.40	2.40	1.40	1.73
	1:2	1.60	1.40	3.00	2.00
	1:3	1.60	1.60	1.60	1.60
	2:1	1.40	2.60	1.20	1.73
	3:1	1.20	0.80	1.40	1.13

ตารางที่ ง-11 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	อัตราส่วนของ *S.cerevisiae* ต่อ *P. stipitis*	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
84	1:1	1.20	2.40	1.80	1.80
	1:2	2.00	1.60	2.60	2.07
	1:3	1.80	1.80	1.60	1.73
	2:1	1.60	3.00	2.00	2.20
	3:1	2.00	1.00	2.00	1.67

ตารางที่ ง-12 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	รูปแบบ 1	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 2	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 3	0.00	0.00	0.00	0.00
12	รูปแบบ 1	2.01	1.88	1.86	1.92
	รูปแบบ 2	0.11	0.09	0.08	0.09
	รูปแบบ 3	2.53	2.30	2.12	2.32
24	รูปแบบ 1	2.14	2.54	2.36	2.35
	รูปแบบ 2	0.29	0.07	1.35	0.57
	รูปแบบ 3	2.67	2.91	2.81	2.80
36	รูปแบบ 1	2.30	2.20	2.14	2.21
	รูปแบบ 2	2.45	2.11	2.36	2.31
	รูปแบบ 3	3.12	2.99	3.20	3.10

ตารางที่ ง-12 (ต่อ) ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
48	รูปแบบ 1	2.55	2.60	2.53	2.56
	รูปแบบ 2	2.72	2.71	2.78	2.74
	รูปแบบ 3	2.54	2.85	2.54	2.64
60	รูปแบบ 1	2.34	2.45	2.58	2.46
	รูปแบบ 2	2.43	2.42	2.99	2.61
	รูปแบบ 3	2.45	2.69	2.60	2.58
72	รูปแบบ 1	2.49	2.06	2.52	2.36
	รูปแบบ 2	2.60	2.47	2.73	2.60
	รูปแบบ 3	2.40	2.52	2.48	2.47
84	รูปแบบ 1	2.38	2.28	2.38	2.35
	รูปแบบ 2	2.18	2.39	2.43	2.33
	รูปแบบ 3	2.44	2.31	2.32	2.35

ตารางที่ ง-13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	รูปแบบ 1	14.04	14.13	13.70	13.96
	รูปแบบ 2	14.01	14.11	13.72	13.95
	รูปแบบ 3	13.93	14.11	13.67	13.90
12	รูปแบบ 1	2.97	2.96	2.98	2.97
	รูปแบบ 2	13.51	13.57	13.60	13.56
	รูปแบบ 3	2.95	3.01	2.83	2.93
24	รูปแบบ 1	2.95	2.85	2.97	2.92
	รูปแบบ 2	12.40	12.47	12.38	12.42
	รูปแบบ 3	2.94	2.92	2.94	2.93
36	รูปแบบ 1	2.88	2.88	2.92	2.89
	รูปแบบ 2	2.86	2.91	2.90	2.89
	รูปแบบ 3	2.98	2.88	2.94	2.93
48	รูปแบบ 1	2.33	2.19	2.24	2.25
	รูปแบบ 2	2.31	2.23	2.30	2.28
	รูปแบบ 3	2.23	2.25	2.33	2.27
60	รูปแบบ 1	2.19	2.03	2.07	2.10
	รูปแบบ 2	2.08	2.21	2.11	2.13
	รูปแบบ 3	2.16	2.09	2.21	2.15
72	รูปแบบ 1	2.16	2.09	2.03	2.09
	รูปแบบ 2	2.11	1.96	2.17	2.08
	รูปแบบ 3	2.15	2.19	2.03	2.12
84	รูปแบบ 1	2.10	2.17	1.98	2.08
	รูปแบบ 2	1.98	2.17	2.08	2.08
	รูปแบบ 3	1.98	2.14	2.15	2.09

ตารางที่ ง-14 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	รูปแบบ 1	5.11	4.92	4.93	4.99
	รูปแบบ 2	5.22	5.16	5.88	5.42
	รูปแบบ 3	5.68	4.59	4.60	4.95
12	รูปแบบ 1	0.91	0.85	0.95	0.90
	รูปแบบ 2	4.83	5.24	5.14	5.07
	รูปแบบ 3	4.59	0.12	0.03	0.23
24	รูปแบบ 1	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 2	4.42	4.44	4.44	4.43
	รูปแบบ 3	4.60	0.00	0.00	0.27
36	รูปแบบ 1	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 2	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 3	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ ง-15 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	รูปแบบ 1	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 2	0.00	0.00	0.00	0.00
	รูปแบบ 3	0.00	0.00	0.00	0.00
12	รูปแบบ 1	1.80	0.80	1.00	1.20
	รูปแบบ 2	0.20	0.00	0.40	0.20
	รูปแบบ 3	1.00	1.20	1.00	1.07
24	รูปแบบ 1	1.80	1.00	1.40	1.40
	รูปแบบ 2	0.40	0.00	0.60	0.33
	รูปแบบ 3	1.20	1.40	1.00	1.20
36	รูปแบบ 1	1.60	1.20	1.20	1.33
	รูปแบบ 2	1.40	1.00	1.00	1.13
	รูปแบบ 3	1.60	2.20	1.60	1.80
48	รูปแบบ 1	1.80	1.80	1.20	1.60
	รูปแบบ 2	1.80	1.60	1.80	1.73
	รูปแบบ 3	1.60	2.00	1.80	1.80
60	รูปแบบ 1	2.40	1.20	1.40	1.67
	รูปแบบ 2	1.40	1.20	1.60	1.40
	รูปแบบ 3	1.20	1.40	1.60	1.40
72	รูปแบบ 1	2.20	1.60	1.60	1.80
	รูปแบบ 2	1.60	1.00	1.60	1.40
	รูปแบบ 3	1.40	1.20	1.80	1.47
84	รูปแบบ 1	1.80	1.20	1.80	1.60
	รูปแบบ 2	1.40	1.20	1.00	1.20
	รูปแบบ 3	1.20	1.60	1.40	1.40

ตารางที่ ง-16 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	สภาวะเขย่า	0.08	0.08	0.10	0.09
	สภาวะนิ่ง	0.07	0.07	0.07	0.07
12	สภาวะเขย่า	1.58	1.61	1.51	1.57
	สภาวะนิ่ง	1.80	2.51	1.84	2.05
24	สภาวะเขย่า	2.39	2.66	2.12	2.39
	สภาวะนิ่ง	3.47	3.55	2.96	3.33
36	สภาวะเขย่า	2.83	3.19	2.98	3.00
	สภาวะนิ่ง	3.48	3.46	3.23	3.39
48	สภาวะเขย่า	2.69	2.84	2.75	2.76
	สภาวะนิ่ง	2.94	3.04	2.90	3.13
60	สภาวะเขย่า	2.72	2.77	2.71	2.73
	สภาวะนิ่ง	2.89	2.98	2.86	2.91
72	สภาวะเขย่า	2.65	2.65	2.62	2.64
	สภาวะนิ่ง	2.80	2.86	2.78	2.81
84	สภาวะเขย่า	2.63	2.57	2.61	2.60
	สภาวะนิ่ง	2.84	2.74	2.77	2.78

ตารางที่ ง-17 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	สภาวะเขย่า	14.04	14.11	13.53	13.89
	สภาวะนิ่ง	13.68	14.13	13.70	13.84
12	สภาวะเขย่า	3.55	2.47	2.52	2.85
	สภาวะนิ่ง	6.61	6.60	6.54	6.58
24	สภาวะเขย่า	2.92	2.39	2.39	2.57
	สภาวะนิ่ง	3.68	2.95	3.01	3.21
36	สภาวะเขย่า	2.45	2.37	2.45	2.42
	สภาวะนิ่ง	2.42	2.60	2.54	2.52
48	สภาวะเขย่า	2.34	2.36	2.25	2.32
	สภาวะนิ่ง	2.34	2.28	2.47	2.36
60	สภาวะเขย่า	2.15	2.19	2.16	2.17
	สภาวะนิ่ง	2.21	2.11	2.02	2.11
72	สภาวะเขย่า	2.14	2.15	1.97	2.08
	สภาวะนิ่ง	2.17	1.98	1.98	2.04
84	สภาวะเขย่า	2.10	2.18	2.07	2.12
	สภาวะนิ่ง	2.16	1.98	2.10	2.08

ตารางที่ ง-18 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	สภาวะเขย่า	5.94	6.86	7.33	6.71
	สภาวะนิ่ง	7.01	5.66	6.93	6.54
12	สภาวะเขย่า	0.72	0.00	0.00	0.24
	สภาวะนิ่ง	1.41	1.33	1.42	1.39
24	สภาวะเขย่า	0.37	0.00	0.00	0.12
	สภาวะนิ่ง	0.00	0.01	0.04	0.02
36	สภาวะเขย่า	0.00	0.00	0.00	0.00
	สภาวะนิ่ง	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ ง-19 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	สภาวะการหมัก	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)			
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	สภาวะเขย่า	0.0	0.0	0.0	0.00
	สภาวะนิ่ง	0.0	0.0	0.0	0.00
12	สภาวะเขย่า	1.6	0.8	0.8	1.07
	สภาวะนิ่ง	0.6	0.8	0.6	0.67
24	สภาวะเขย่า	1.8	1.0	1.4	1.40
	สภาวะนิ่ง	0.8	0.6	0.8	0.73
36	สภาวะเขย่า	1.8	1.2	1.2	1.40
	สภาวะนิ่ง	0.6	0.8	1.0	0.80
48	สภาวะเขย่า	1.8	1.8	1.2	1.60
	สภาวะนิ่ง	0.8	1.2	0.8	0.93
60	สภาวะเขย่า	1.8	1.2	1.4	1.47
	สภาวะนิ่ง	0.8	1.2	1.0	1.00
72	สภาวะเขย่า	1.8	1.6	1.2	1.53
	สภาวะนิ่ง	1.0	1.4	1.2	1.20
84	สภาวะเขย่า	1.8	1.2	1.4	1.47
	สภาวะนิ่ง	1.2	1.6	0.8	1.20

ตารางที่ ง-20 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ S. *cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

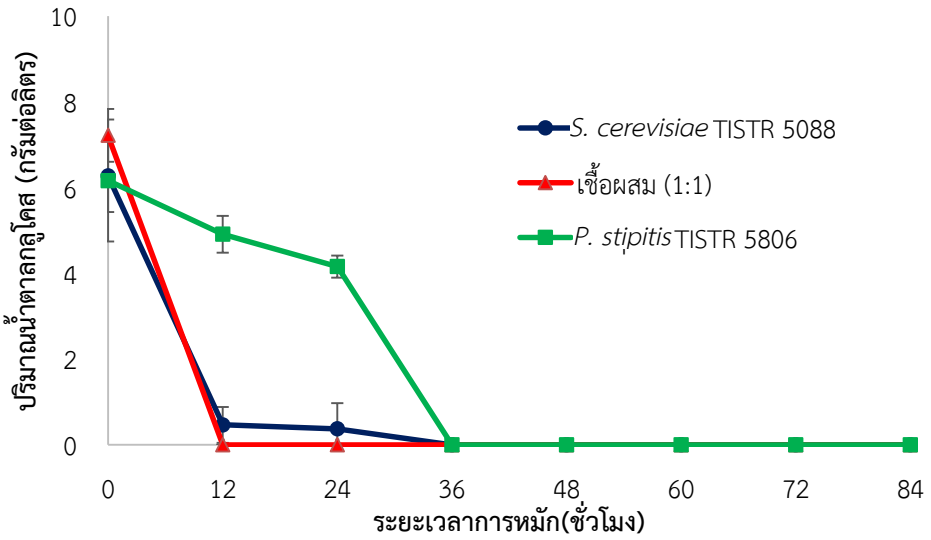
ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	จุลินทรีย์		
	S.cerevisiae TISTR 5088	*P.stipitis* TISTR 5806	เชื้อผสม
0	15.18±1.20^{a,A}	15.42±2.11^{a,A}	15.25±1.37^{a,A}
12	1.43±0.07^{a,B}	8.37±0.75^{b,B}	1.42±0.08^{a,B}
24	1.29±0.09^{a,B}	7.00±0.32^{b,B}	1.26±0.05^{a,B}
36	1.16±0.04^{a,B}	1.47±0.20^{b,B}	1.15±0.09^{a,B}
48	1.11±0.04^{ab,B}	1.20±0.10^{b,B}	1.07±0.08^{a,B}
60	1.04±0.03^{a,B}	1.14±0.06^{b,B}	1.00±0.07^{a,B}
72	1.01±0.02^{a,B}	1.06±0.02^{a,B}	0.99±0.08^{a,B}
84	0.99±0.03^{a,B}	1.01±0.03^{b,B}	0.92±0.03^{b,B}

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง-21 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)		
	จุลินทรีย์		
	S.cerevisiae TISTR 5088	*P.stipitis TISTR 5806*	เชื้อผสม
0	6.27±0.85^{a,A}	6.16±1.42^{a,A}	7.22±0.61^{a,A}
12	0.46±0.42^{a,B}	4.91±0.75^{b,B}	0.00±0.00^{a,B}
24	0.37±0.60^{a,B}	4.16±0.45^{b,B}	0.00±0.00^{a,B}
36	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
48	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
84	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

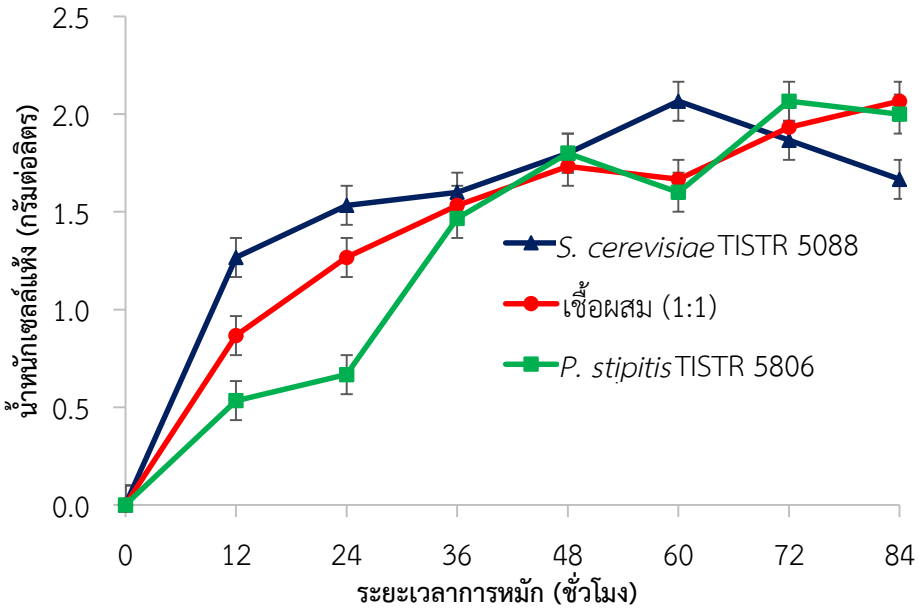


รูปที่ ง-1 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ตารางที่ ง-22 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		
	จุลินทรีย์		
	S.cerevisiae TISTR 5088	*P.stipitis TISTR 5806*	เชื้อผสม
0	$0.00\pm0.00^{a,C}$	$0.00\pm0.00^{a,E}$	$0.00\pm0.00^{a,D}$
12	$1.27\pm0.31^{a,B}$	$0.53\pm0.23^{b,D}$	$0.87\pm0.12^{ab,CD}$
24	$1.53\pm0.42^{a,AB}$	$0.67\pm0.12^{a,C}$	$1.27\pm0.12^{a,BC}$
36	$1.60\pm0.00^{a,AB}$	$1.47\pm0.12^{a,BC}$	$1.53\pm0.12^{a,AB}$
48	$1.80\pm0.53^{a,AB}$	$1.80\pm0.23^{a,AB}$	$1.73\pm0.53^{a,A}$
60	$2.07\pm0.42^{a,A}$	$1.60\pm0.31^{a,AB}$	$1.67\pm0.20^{a,AB}$
72	$1.87\pm0.64^{a,AB}$	$2.07\pm0.23^{a,AB}$	$1.93\pm0.31^{a,A}$
84	$1.67\pm0.23^{a,AB}$	$2.00\pm0.31^{a,A}$	$2.07\pm0.69^{a,A}$

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ ง-2 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

ตารางที่ ง-23 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

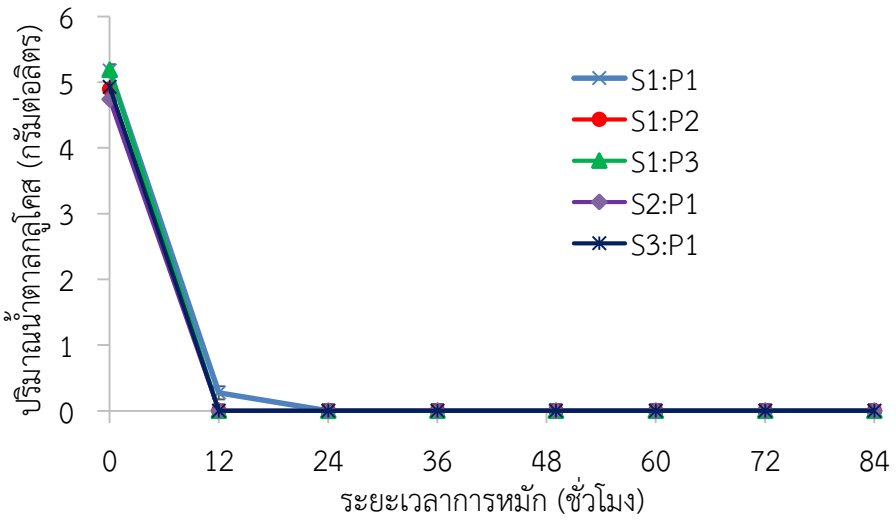
ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) อัตราส่วน *S. cerevisiae* : *P. stipitis*				
	1:1	1:2	1:3	2:1	3:1
0	$13.42\pm0.05^{b,A}$	$13.78\pm0.33^{ab,A}$	$13.83\pm0.14^{ab,A}$	$13.94\pm0.24^{a,A}$	$13.79\pm0.32^{ab,A}$
12	$6.49\pm0.04^{a,B}$	$6.49\pm0.02^{a,B}$	$6.52\pm0.08^{a,B}$	$6.48\pm0.02^{a,B}$	$6.46\pm0.02^{a,B}$
24	$2.94\pm0.08^{a,C}$	$2.97\pm0.01^{a,C}$	$2.91\pm0.03^{a,C}$	$2.95\pm0.05^{a,C}$	$2.98\pm0.01^{a,C}$
36	$2.90\pm0.01^{a,C}$	$2.89\pm0.03^{a,C}$	$2.89\pm0.03^{a,C}$	$2.95\pm0.05^{a,C}$	$2.92\pm0.03^{a,C}$
48	$2.38\pm0.06^{b,D}$	$2.45\pm0.09^{ab,D}$	$2.58\pm0.18^{a,D}$	$2.44\pm0.08^{ab,D}$	$2.40\pm0.02^{ab,D}$
60	$2.24\pm0.10^{a,E}$	$2.34\pm0.08^{a,D}$	$2.25\pm0.07^{a,E}$	$2.30\pm0.06^{a,D}$	$2.27\pm0.05^{a,DE}$
72	$2.01\pm0.13^{a,F}$	$2.10\pm0.08^{a,E}$	$2.13\pm0.07^{a,E}$	$2.08\pm0.11^{a,E}$	$2.13\pm0.09^{a,E}$
84	$2.06\pm0.08^{a,F}$	$2.06\pm0.09^{a,E}$	$2.10\pm0.01^{a,E}$	$2.08\pm0.08^{a,E}$	$2.08\pm0.10^{a,E}$

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง-24 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)				
	อัตราส่วน *S. cerevisiae* : *P. stipitis*				
	1:1	1:2	1:3	2:1	3:1
0	5.17±1.00^{a,A}	4.89±0.40^{a,A}	5.18±1.31^{a,A}	4.74±0.64^{a,A}	4.92±0.44^{a,A}
12	0.27±0.48^{a,B}	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,B}
24	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
36	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
48	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
84	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

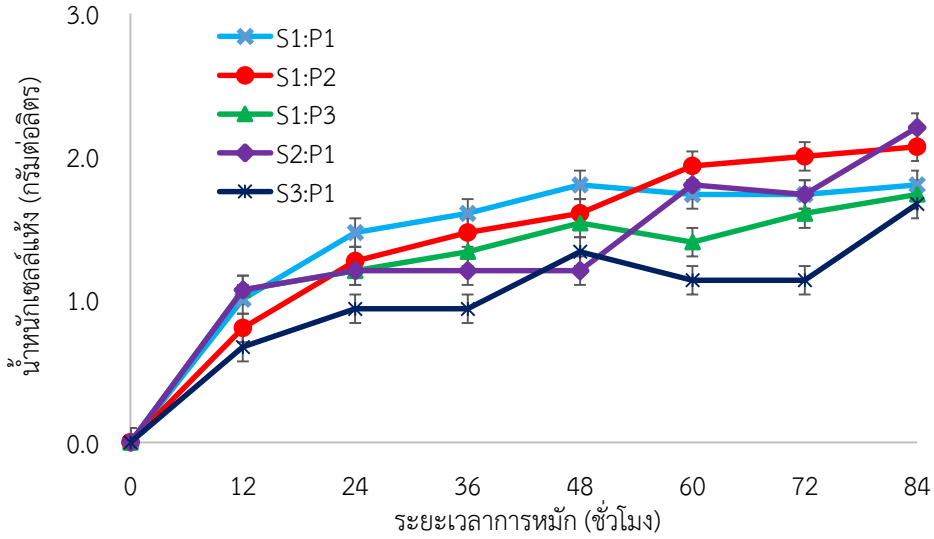


รูปที่ ง-3 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ง-25 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่าง

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) อัตราส่วน *S. cerevisiae* : *P. stipitis*				
	1:1	1:2	1:3	2:1	3:1
0	0.00±0.00^{a,C}	0.00±0.00^{a,C}	0.00±0.00^{a,D}	0.00±0.00^{a,C}	0.00±0.00^{a,B}
12	1.00±0.20^{a,B}	0.80±0.20^{a,BC}	1.07±0.12^{a,C}	1.07±0.23^{a,B}	0.67±0.42^{a,AB}
24	1.47±0.12^{a,AB}	1.27±0.23^{ab,AB}	1.20±0.00^{ab,BC}	1.20±0.00^{ab,B}	0.93±0.50^{b,AB}
36	1.60±0.35^{a,AB}	1.47±0.42^{a,AB}	1.33±0.31^{a,ABC}	1.20±0.20^{a,B}	0.93±0.42^{a,AB}
48	1.80±0.40^{a,A}	1.60±0.60^{a,AB}	1.53±0.46^{a,AB}	1.20±0.20^{a,B}	1.33±0.76^{a,A}
60	1.73±0.42^{a,AB}	1.93±0.31^{a,A}	1.40±0.20^{a,ABC}	1.80±0.80^{a,AB}	1.13±0.83^{a,A}
72	1.73±0.58^{a,AB}	2.00±0.87^{a,A}	1.60±0.00^{a,AB}	1.73±0.76^{a,AB}	1.13±0.31^{a,A}
84	1.80±0.60^{a,A}	2.07±0.50^{a,A}	1.73±0.12^{a,A}	2.20±0.72^{a,AB}	1.67±0.58^{a,A}

หมายเหตุ ตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ ง-4 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ง-26 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

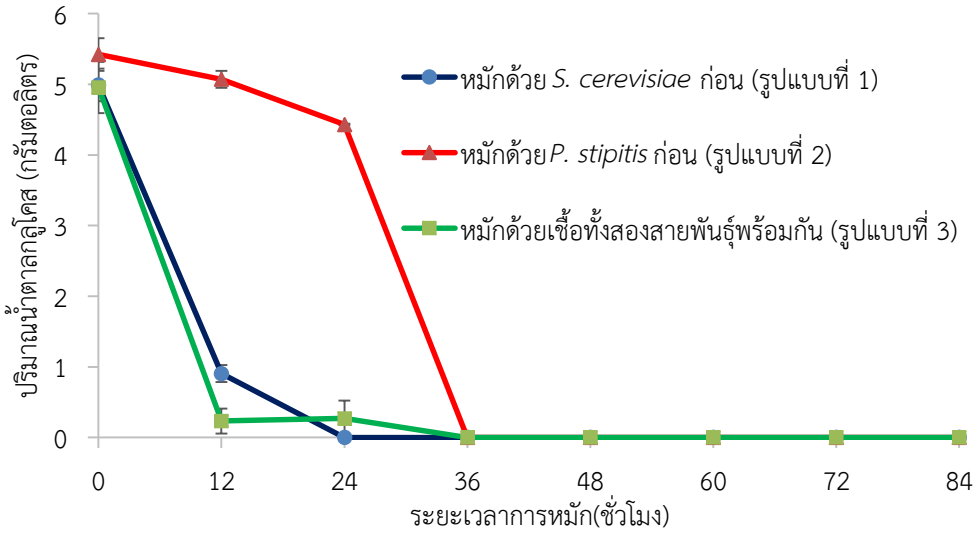
ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	รูปแบบการหมัก		
	รูปแบบที่ 1	รูปแบบที่ 2	รูปแบบที่ 3
0	13.96±0.23^{a,A}	13.95±0.21^{a,A}	13.90±0.22^{a,A}
12	2.97±0.01^{b,B}	13.56±0.05^{a,B}	2.93±0.09^{b,B}
24	2.92±0.06^{b,B}	12.42±0.05^{a,C}	2.93±0.01^{b,B}
36	2.89±0.03^{a,B}	2.89±0.03^{a,D}	2.93±0.05^{a,B}
48	2.25±0.07^{a,C}	2.28±0.05^{a,E}	2.27±0.05^{a,C}
60	2.10±0.08^{a,C}	2.13±0.07^{a,EF}	2.15±0.06^{a,C}
72	2.09±0.07^{a,C}	2.08±0.11^{a,F}	2.12±0.08^{a,C}
84	2.08±0.10^{a,C}	2.08±0.09^{a,F}	2.09±0.10^{a,C}

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง-27 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)		
	รูปแบบการหมัก		
	รูปแบบที่ 1	รูปแบบที่ 2	รูปแบบที่ 3
0	4.99±0.11^{a,A}	5.42±0.40^{a,A}	4.95±0.63^{a,A}
12	0.90±0.05^{b,B}	5.07±0.21^{a,B}	0.23±0.30^{c,B}
24	0.00±0.00^{b,C}	4.43±0.01^{a,C}	0.27±0.44^{b,B}
36	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
48	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
60	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
72	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
84	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

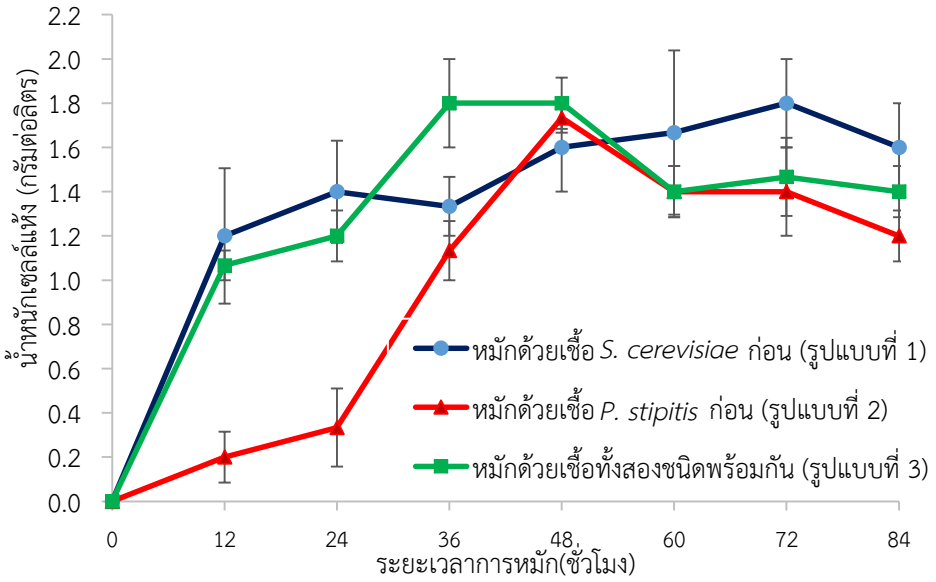


รูปที่ ง-5 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* และ *P. stipitis* ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ตารางที่ ง-28 น้ำหนักเซลล์แห้งได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก(ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		
	รูปแบบการหมัก		
	รูปแบบที่ 1	รูปแบบที่ 2	รูปแบบที่ 3
0	$0.00\pm0.00^{a,B}$	$0.00\pm0.00^{a,C}$	$0.00\pm0.00^{a,C}$
12	$1.20\pm0.08^{a,A}$	$0.20\pm0.02^{b,C}$	$1.07\pm0.21^{a,B}$
24	$1.40\pm0.20^{a,A}$	$0.33\pm0.68^{b,C}$	$1.20\pm0.12^{a,B}$
36	$1.33\pm0.08^{ab,A}$	$1.13\pm0.18^{b,B}$	$1.80\pm0.11^{a,A}$
48	$1.60\pm0.12^{a,A}$	$1.73\pm0.04^{a,A}$	$1.80\pm0.18^{a,A}$
60	$1.67\pm0.26^{a,A}$	$1.40\pm0.13^{a,AB}$	$1.40\pm0.12^{a,AB}$
72	$1.80\pm0.03^{a,A}$	$1.40\pm0.13^{a,AB}$	$1.47\pm0.06^{a,AB}$
84	$1.60\pm0.06^{a,A}$	$1.20\pm0.32^{a,B}$	$1.40\pm0.07^{a,AB}$

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ ง-6 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

ตารางที่ ง-29 น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	สภาวะการหมัก	
	สภาวะเขย่า	สภาวะนิ่ง
0	$13.89\pm0.32^{a,A}$	$13.84\pm0.26^{a,A}$
12	$2.85\pm0.61^{b,B}$	$6.58\pm0.04^{a,B}$
24	$2.57\pm0.31^{a,AB}$	$3.21\pm0.40^{a,C}$
36	$2.42\pm0.05^{a,AB}$	$2.52\pm0.09^{a,D}$
48	$2.32\pm0.06^{a,B}$	$2.36\pm0.10^{a,DE}$
60	$2.17\pm0.02^{a,B}$	$2.11\pm0.10^{a,E}$
72	$2.08\pm0.10^{a,B}$	$2.04\pm0.11^{a,E}$
84	$2.12\pm0.06^{a,B}$	$2.08\pm0.09^{a,E}$

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

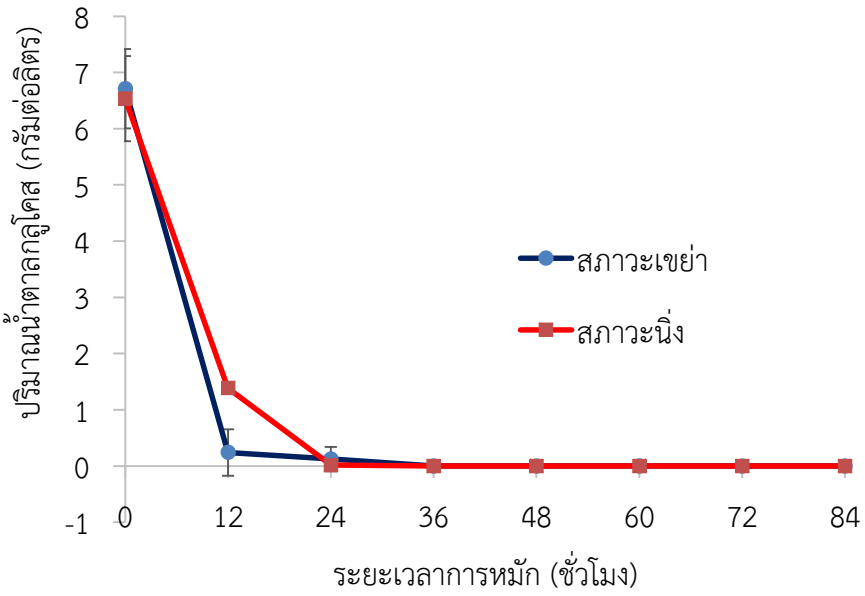
ตารางที่ ง-30 ปริมาณกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	
	สภาวะการหมัก	
	สภาวะเขย่า	สภาวะนิ่ง
0	6.71±0.71^{a,A}	6.54±0.76^{a,A}
12	0.24±0.41^{b,B}	1.39±0.05^{a,B}
24	0.12±0.22^{a,B}	0.00±0.00^{a,C}
36	0.00±0.00	0.00±0.00
48	0.00±0.00	0.00±0.00
60	0.00±0.00	0.00±0.00
72	0.00±0.00	0.00±0.00
84	0.00±0.00	0.00±0.00

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง

ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

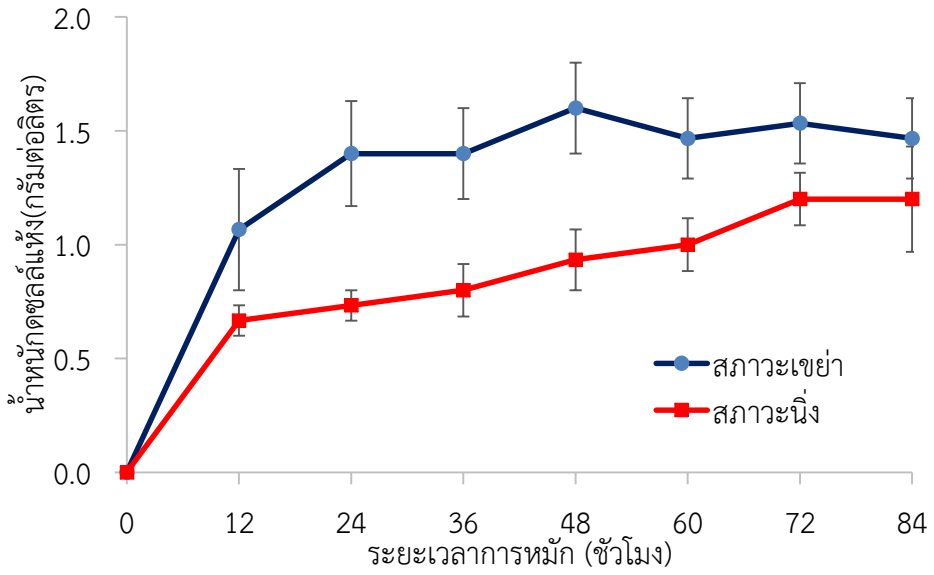


รูปที่ ง-7 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ตารางที่ ง-31 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	
	สภาวะการหมัก	
	สภาวะเขย่า	สภาวะนิ่ง
0	0.00±0.00^{a,B}	0.00±0.00^{a,C}
12	1.07±0.46^{a,A}	0.67±0.12^{a,B}
24	1.40±0.40^{a,A}	0.73±0.12^{a,B}
36	1.40±0.35^{a,A}	0.80±0.20^{a,AB}
48	1.60±0.35^{a,A}	0.93±0.23^{a,AB}
60	1.47±0.31^{a,A}	1.00±0.20^{a,AB}
72	1.53±0.31^{a,A}	1.20±0.20^{a,A}
84	1.47±0.31^{a,A}	1.20±0.40^{a,A}

หมายเหตุ อักษรตัวพิมพ์เล็กพิจารณาในแถวแนวนอน, อักษรตัวพิมพ์ใหญ่พิจารณาในแถวแนวตั้ง
ตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
ตัวอักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ ง-8 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

ภาคผนวก จ

การวิเคราะหทางสถิติ

วิเคราะหข่อมูลทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุม (Completely Randomized Design; CRD) โดยใชโปรแกรม SPSS โดยวิเคราะหความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกตางแตละตัวอยางดวยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นรอยละ 95 (P≤0.05)

ตารางที่ จ-1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	0.0	3	.0171	.02541	.01467	-.0460	.0802	.00	.05
	0.3	3	.0104	.01090	.00629	-.0166	.0375	.00	.02
	0.6	3	.0179	.00906	.00523	-.0046	.0404	.01	.02
	0.9	3	.0109	.01162	.00671	-.0180	.0397	.00	.02
	1.2	3	.0209	.01880	.01086	-.0258	.0676	.00	.04
	1.5	3	.0092	.00887	.00512	-.0128	.0312	.00	.02
	Total	18	.0144	.01367	.00322	.0076	.0212	.00	.05
12 hr.	0.0	3	.0104	.01090	.00629	-.0166	.0375	.00	.02
	0.3	3	.3105	.21901	.12645	-.2336	.8545	.06	.44
	0.6	3	.7392	.07217	.04167	.5599	.9185	.67	.82
	0.9	3	.9279	.14065	.08120	.5785	1.2773	.79	1.07
	1.2	3	.7133	.04474	.02583	.6022	.8245	.68	.76
	1.5	3	.8458	.15232	.08794	.4674	1.2242	.68	.97
	Total	18	.5912	.35063	.08264	.4168	.7656	.00	1.07
24 hr.	0.0	3	.0254	.01186	.00685	-.0040	.0549	.01	.04
	0.3	3	6.1625	.05449	.03146	6.0271	6.2979	6.10	6.20
	0.6	3	7.9583	.24249	.14000	7.3560	8.5607	7.80	8.24
	0.9	3	7.8292	.60264	.34794	6.3321	9.3262	7.48	8.53
	1.2	3	7.8458	.60536	.34950	6.3420	9.3496	7.41	8.54
	1.5	3	7.8750	.99381	.57378	5.4062	10.343	7.08	8.99
	Total	18	6.2827	2.98621	.70386	4.7977	7.7677	.01	8.99

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
36 hr.	0.0	3	.0192	.01252	.00723	-.0119	.0503	.01	.03
	0.3	3	6.1500	.54829	.31656	4.7880	7.5120	5.75	6.78
	0.6	3	6.2667	.39870	.23019	5.2763	7.2571	5.83	6.60
	0.9	3	5.3333	.07638	.04410	5.1436	5.5231	5.25	5.40
	1.2	3	6.0417	.69207	.39957	4.3225	7.7609	5.40	6.78
	1.5	3	6.0167	.41558	.23994	4.9843	7.0490	5.58	6.40
	Total	18	4.9713	2.32777	.54866	3.8137	6.1288	.01	6.78
48 hr.	0.0	3	.0171	.02541	.01467	-.0460	.0802	.00	.05
	0.3	3	5.8667	.27538	.15899	5.1826	6.5507	5.60	6.15
	0.6	3	6.2583	.88081	.50854	4.0703	8.4464	5.28	6.98
	0.9	3	5.6917	.25536	.14743	5.0573	6.3260	5.40	5.88
	1.2	3	6.2083	.15877	.09167	5.8139	6.6027	6.03	6.30
	1.5	3	5.9333	.55302	.31929	4.5596	7.3071	5.35	6.45
	Total	18	4.9959	2.33159	.54956	3.8364	6.1554	.00	6.98
60 hr.	0.0	3	.0463	.03192	.01843	-.0330	.1256	.02	.08
	0.3	3	7.3917	.36600	.21131	6.4825	8.3009	7.00	7.73
	0.6	3	6.6167	.60069	.34681	5.1245	8.1089	6.00	7.20
	0.9	3	5.4500	.29475	.17017	4.7178	6.1822	5.13	5.70
	1.2	3	6.2417	.28976	.16729	5.5219	6.9615	6.05	6.58
	1.5	3	6.0083	.44745	.25833	4.8968	7.1199	5.63	6.50
	Total	18	5.2924	2.50993	.59160	4.0443	6.5406	.02	7.73
72 hr.	0.0	3	.0430	.03320	.01917	-.0395	.1254	.02	.08
	0.3	3	6.7500	.53794	.31058	5.4137	8.0863	6.20	7.28
	0.6	3	5.9250	.51660	.29826	4.6417	7.2083	5.50	6.50
	0.9	3	5.1667	.13769	.07949	4.8246	5.5087	5.08	5.33
	1.2	3	5.9083	.29190	.16853	5.1832	6.6335	5.65	6.23
	1.5	3	5.9167	.47850	.27626	4.7280	7.1053	5.53	6.45
	Total	18	4.9516	2.32997	.54918	3.7929	6.1103	.02	7.28

ตารางที่ จ-2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พิจารณาในแถวแนวนอน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr	Between Groups	.000	5	.000	.298	.905
	Within Groups	.003	12	.000		
	Total	.003	17			
12 hr	Between Groups	1.893	5	.379	23.119	.000
	Within Groups	.197	12	.016		
	Total	2.090	17			
24 hr	Between Groups	148.038	5	29.608	99.845	.000
	Within Groups	3.558	12	.297		
	Total	151.596	17			
36 hr	Between Groups	89.880	5	17.976	96.538	.000
	Within Groups	2.234	12	.186		
	Total	92.115	17			
48 hr	Between Groups	89.920	5	17.984	86.422	.000
	Within Groups	2.497	12	.208		
	Total	92.417	17			
60 hr	Between Groups	105.362	5	21.072	145.855	.000
	Within Groups	1.734	12	.144		
	Total	107.096	17			
72 hr	Between Groups	90.508	5	18.102	121.968	.000
	Within Groups	1.781	12	.148		
	Total	92.289	17			

0 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1.5	3	.0092
0.3	3	.0104
0.9	3	.0109
0.0	3	.0171
0.6	3	.0179
1.2	3	.0209
Sig.		.414

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.0	3	.0104		
0.3	3		.3105	
1.2	3			.7133
0.6	3			.7392
1.5	3			.8458
0.9	3			.9279
Sig.		1.000	1.000	.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.0	3	.0254		
0.3	3		6.1625	
0.9	3			7.8292
1.2	3			7.8458
1.5	3			7.8750
0.6	3			7.9583
Sig.		1.000	1.000	.792

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.0	3	.0192		
0.9	3		5.3333	
1.5	3		6.0167	6.0167
1.2	3		6.0417	6.0417
0.3	3		6.1500	6.1500
0.6	3			6.2667
Sig.		1.000	.052	.523

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.0	3	.0171	
0.9	3		5.6917
0.3	3		5.8667
1.5	3		5.9333
1.2	3		6.2083
0.6	3		6.2583
Sig.		1.000	.190

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.0	3	.0463			
0.9	3		5.4500		
1.5	3		6.0083	6.0083	
1.2	3			6.2417	
0.6	3			6.6167	
0.3	3				7.3917
Sig.		1.000	.097	.086	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.0	3	.0430			
0.9	3		5.1667		
1.2	3			5.9083	
1.5	3			5.9167	
0.6	3			5.9250	
0.3	3				6.7500
Sig.		1.000	1.000	.961	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พิจารณาในแถวแนวตั้ง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
con0	Between Groups	.003	6	.001	1.047	.437
	Within Groups	.008	14	.001		
	Total	.011	20			
con0.3	Between Groups	174.902	6	29.150	239.823	.000
	Within Groups	1.702	14	.122		
	Total	176.603	20			
con0.6	Between Groups	174.517	6	29.086	125.172	.000
	Within Groups	3.253	14	.232		
	Total	177.770	20			
con0.9	Between Groups	141.861	6	23.643	295.559	.000
	Within Groups	1.120	14	.080		
	Total	142.981	20			
con1.2	Between Groups	166.785	6	27.798	186.713	.000
	Within Groups	2.084	14	.149		
	Total	168.870	20			
con1.5	Between Groups	160.119	6	26.687	97.363	.000
	Within Groups	3.837	14	.274		
	Total	163.957	20			

ความเข้นข้น 0.0 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

Hour	N	Subset for alpha = 0.05
		1
12	3	.0104
0	3	.0171
48	3	.0171
36	3	.0192
24	3	.0254
72	3	.0430
60	3	.0463
Sig.		.116

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้นข้น 0.3 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

Hour	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.0104			
12	3	.3105			
48	3		5.8667		
36	3		6.1500	6.1500	
24	3		6.1625	6.1625	
72	3			6.7500	
60	3				7.3917
Sig.		.310	.341	.064	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

Hour	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.0179		
12	3	.7392		
72	3		5.9250	
48	3		6.2583	
36	3		6.2667	
60	3		6.6167	
24	3			7.9583
Sig.		.088	.126	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 0.9 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

Hour	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.0109			
12	3		.9279		
72	3			5.1667	
36	3			5.3333	
60	3			5.4500	
48	3			5.6917	
24	3				7.8292
Sig.		1.000	1.000	.053	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 1.2 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

hour	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.0209			
12	3		.7133		
72	3			5.9083	
36	3			6.0417	
48	3			6.2083	
60	3			6.2417	
24	3				7.8458
Sig.		1.000	1.000	.345	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.0092		
12	3	.8458		
72	3		5.9167	
48	3		5.9333	
60	3		6.0083	
36	3		6.0167	
24	3			7.8750
Sig.		.071	.832	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	0.0	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	0.3	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	0.6	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	0.9	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	1.2	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	1.5	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	18	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
12 hr.	0.0	3	.0170	.01219	.00704	-.0133	.0473	.00	.02
	0.3	3	.0114	.01095	.00632	-.0158	.0386	.00	.02
	0.6	3	.0299	.04331	.02500	-.0776	.1375	.00	.08
	0.9	3	.0109	.00671	.00387	-.0057	.0276	.01	.02
	1.2	3	.0067	.00712	.00411	-.0109	.0244	.00	.01
	1.5	3	.0138	.00635	.00367	-.0020	.0295	.01	.02
	Total	18	.0150	.01805	.00425	.0060	.0239	.00	.08
24 hr.	0.0	3	.0109	.00671	.00387	-.0057	.0276	.01	.02
	0.3	3	3.7956	.23664	.13663	3.2078	4.3835	3.59	4.05
	0.6	3	5.0330	.15900	.09180	4.6380	5.4279	4.89	5.21
	0.9	3	4.3832	.50217	.28993	3.1358	5.6307	3.88	4.88
	1.2	3	4.7385	.75278	.43462	2.8685	6.6085	3.89	5.34
	1.5	3	4.2837	.37280	.21524	3.3577	5.2098	4.05	4.71
	Total	18	3.7075	1.78096	.41978	2.8219	4.5932	.01	5.34
36 hr.	0.0	3	.0065	.00679	.00392	-.0103	.0234	.00	.01
	0.3	3	4.0884	.47074	.27178	2.9190	5.2578	3.55	4.44
	0.6	3	4.8176	.47332	.27327	3.6418	5.9934	4.33	5.28
	0.9	3	4.1441	1.03911	.59993	1.5629	6.7254	2.94	4.75
	1.2	3	3.9879	.85262	.49226	1.8699	6.1059	3.02	4.63
	1.5	3	4.1400	.63080	.36419	2.5730	5.7070	3.70	4.86
	Total	18	3.5308	1.73766	.40957	2.6667	4.3949	.00	5.28

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
48 hr.	0.0	3	.0109	.00671	.00387	-.0057	.0276	.01	.02
	0.3	3	4.5541	.71930	.41529	2.7673	6.3410	3.93	5.34
	0.6	3	4.7194	.43913	.25353	3.6286	5.8103	4.22	5.04
	0.9	3	3.9000	1.15090	.66447	1.0410	6.7590	2.92	5.17
	1.2	3	3.7387	.21785	.12577	3.1975	4.2798	3.49	3.86
	1.5	3	3.3554	.24874	.14361	2.7375	3.9733	3.14	3.63
	Total	18	3.3798	1.69874	.40040	2.5350	4.2245	.01	5.34
60 hr.	0.0	3	.0114	.01095	.00632	-.0158	.0386	.00	.02
	0.3	3	4.0372	.53034	.30619	2.7198	5.3546	3.43	4.38
	0.6	3	4.3987	1.00813	.58204	1.8944	6.9030	3.59	5.53
	0.9	3	3.6990	.69780	.40287	1.9656	5.4324	2.95	4.33
	1.2	3	3.6792	.50078	.28913	2.4352	4.9232	3.12	4.08
	1.5	3	3.4517	.40737	.23519	2.4397	4.4636	2.99	3.78
	Total	18	3.2129	1.58931	.37460	2.4225	4.0032	.00	5.53
72 hr.	0.0	3	.0065	.00679	.00392	-.0103	.0234	.00	.01
	0.3	3	3.6672	.88704	.51213	1.4637	5.8707	2.79	4.56
	0.6	3	3.6929	1.12604	.65012	.8956	6.4901	2.39	4.40
	0.9	3	2.7812	.91033	.52558	.5198	5.0426	1.73	3.36
	1.2	3	3.5846	1.06909	.61724	.9288	6.2404	2.35	4.27
	1.5	3	3.1081	.79254	.45757	1.1393	5.0768	2.38	3.96
	Total	18	2.8068	1.52429	.35928	2.0487	3.5648	.00	4.56

ตารางที่ จ-5 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พิจารณาในแถวแนวนอน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr	Between Groups	.000	5	.000	.	.
	Within Groups	.000	12	.000		
	Total	.000	17			
12 hr	Between Groups	.001	5	.000	.516	.760
	Within Groups	.005	12	.000		
	Total	.006	17			
24 hr	Between Groups	51.843	5	10.369	59.867	.000
	Within Groups	2.078	12	.173		
	Total	53.921	17			
36 hr	Between Groups	46.030	5	9.206	20.842	.000
	Within Groups	5.301	12	.442		
	Total	51.331	17			
48 hr	Between Groups	44.769	5	8.954	25.055	.000
	Within Groups	4.288	12	.357		
	Total	49.057	17			
60 hr	Between Groups	38.538	5	7.708	21.008	.000
	Within Groups	4.403	12	.367		
	Total	42.940	17			
72 hr	Between Groups	30.190	5	6.038	7.783	.002
	Within Groups	9.309	12	.776		
	Total	39.499	17			

12 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1.2	3	.0067
0.9	3	.0109
0.3	3	.0114
1.5	3	.0138
0.0	3	.0170
0.6	3	.0299
Sig.		.211

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.0	3	.0109		
0.3	3		3.7956	
1.5	3		4.2837	4.2837
0.9	3		4.3832	4.3832
1.2	3			4.7385
0.6	3			5.0330
Sig.		1.000	.125	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.0	3	.0065	
1.2	3		3.9879
0.3	3		4.0884
1.5	3		4.1400
0.9	3		4.1441
0.6	3		4.8176
Sig.		1.000	.188

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.0	3	.0109		
1.5	3		3.3554	
1.2	3		3.7387	3.7387
0.9	3		3.9000	3.9000
0.3	3			4.5541
0.6	3			4.7194
Sig.		1.000	.309	.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.0	3	.0114	
1.5	3		3.4517
1.2	3		3.6792
0.9	3		3.6990
0.3	3		4.0372
0.6	3		4.3987
Sig.		1.000	.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

con	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.0	3	.0065	
0.9	3		2.7812
1.5	3		3.1081
1.2	3		3.5846
0.3	3		3.6672
0.6	3		3.6929
Sig.		1.000	.269

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ ACCELLERASE1500 โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แตกต่างกันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พิจารณาในแถวแนวตั้ง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
con0.0	Between Groups	.001	6	.000	1.321	.311
	Within Groups	.001	14	.000		
	Total	.001	20			
con0.3	Between Groups	70.750	6	11.792	44.301	.000
	Within Groups	3.726	14	.266		
	Total	74.477	20			
con0.6	Between Groups	90.726	6	15.121	38.796	.000
	Within Groups	5.457	14	.390		
	Total	96.183	20			
con0.9	Between Groups	65.653	6	10.942	19.283	.000
	Within Groups	7.944	14	.567		
	Total	73.597	20			
con1.2	Between Groups	69.235	6	11.539	29.535	.000
	Within Groups	5.470	14	.391		
	Total	74.705	20			
con1.5	Between Groups	60.618	6	10.103	50.773	.000
	Within Groups	2.786	14	.199		
	Total	63.404	20			

ความเข้มข้น 0.0 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
day	N	1	2
0	3	.0000	
36	3	.0065	.0065
72	3	.0065	.0065
24	3	.0109	.0109
48	3	.0109	.0109
60	3	.0114	.0114
12	3		.0170
Sig.		.140	.174

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 0.3 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.0000	
12	3	.0114	
72	3		3.6672
24	3		3.7956
60	3		4.0372
36	3		4.0884
48	3		4.5541
Sig.		.979	.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 0.6 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.0000		
12	3	.0299		
72	3		3.6929	
60	3		4.3987	4.3987
48	3		4.7194	4.7194
36	3		4.8176	4.8176
24	3			5.0330
Sig.		.954	.060	.270

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 1.2 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.0000		
12	3	.0109		
72	3		2.7812	
60	3		3.6990	3.6990
48	3		3.9000	3.9000
36	3		4.1441	4.1441
24	3			4.3832
Sig.		.986	.059	.322

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 1.2 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0	3	.0000	
12	3	.0067	
72	3		3.5846
60	3		3.6792
48	3		3.7387
36	3		3.9879
24	3		4.7385
Sig.		.990	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อกรัม

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	3	.0000			
12	3	.0138			
72	3		3.1081		
48	3		3.3554	3.3554	
60	3		3.4517	3.4517	
36	3			4.1400	4.1400
24	3				4.2837
Sig.		.970	.386	.059	.699

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-7 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	*S.cerevisiae*	3	.09988	.0055078	.0031799	.086201	.113565	.0935	.1033
	เชื้อผสม	3	.07674	.0017084	.0009863	.072497	.080984	.0750	.0784
	P. stipitis	3	.07350	.0109662	.0063313	.046260	.100743	.0656	.0860
	Total	9	.08337	.0139151	.0046384	.072679	.094071	.0656	.1033
12 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.73049	.1652139	.0953863	2.320079	3.140907	2.5740	2.9032
	เชื้อผสม	3	2.66655	.0530458	.0306260	2.534781	2.798327	2.6074	2.7100
	P. stipitis	3	.11288	.0319121	.0184245	.033610	.192158	.0812	.1451
	Total	9	1.83664	1.2961214	.4320405	.840356	2.832931	.0812	2.9032
24 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.70333	.0423644	.0244591	2.598094	2.808572	2.6655	2.7491
	เชื้อผสม	3	2.73482	.0153633	.0088700	2.696664	2.772994	2.7221	2.7519
	P. stipitis	3	.61160	.3258807	.1881473	-.197928	1.421137	.4196	.9879
	Total	9	2.01658	1.0665871	.3555290	1.196737	2.836440	.4196	2.7519
36 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.69778	.2703382	.1560798	2.026223	3.369338	2.3965	2.9190
	เชื้อผสม	3	3.00354	.1764430	.1018694	2.565240	3.441858	2.8032	3.1359
	P. stipitis	3	2.81251	.0739907	.0427186	2.628716	2.996322	2.7387	2.8866
	Total	9	2.83795	.2128763	.0709588	2.674318	3.001581	2.3965	3.1359
48 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.96727	.0687008	.0396645	2.796614	3.137939	2.8965	3.0337
	เชื้อผสม	3	2.96536	.1045500	.0603620	2.705649	3.225082	2.8910	3.0849
	P. stipitis	3	2.84567	.0507555	.0293037	2.719590	2.971757	2.7941	2.8956
	Total	9	2.92610	.0905334	.0301778	2.856515	2.995695	2.7941	3.0849
60 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.82674	.1540345	.0889319	2.444098	3.209384	2.6925	2.9949
	เชื้อผสม	3	2.90905	.0905628	.0522864	2.684086	3.134026	2.8203	3.0013
	P. stipitis	3	2.81701	.1686852	.0973904	2.397978	3.236052	2.6697	3.0011
	Total	9	2.85093	.1304356	.0434785	2.750676	2.951199	2.6697	3.0013
72 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.68076	.1096312	.0632956	2.408426	2.953104	2.6098	2.8070
	เชื้อผสม	3	2.68538	.1418832	.0819163	2.332923	3.037838	2.5757	2.8456
	P. stipitis	3	2.54152	.3006392	.1735741	1.794700	3.288358	2.1949	2.7315
	Total	9	2.63589	.1888017	.0629339	2.490766	2.781017	2.1949	2.8456
84 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.23737	.2700303	.1559021	1.566578	2.908163	2.0350	2.5440
	เชื้อผสม	3	2.52122	.2662542	.1537219	1.859809	3.182633	2.3137	2.8214
	P. stipitis	3	2.27230	.4972820	.2871059	1.036992	3.507626	1.7055	2.6353
	Total	9	2.34363	.3402101	.1134034	2.082125	2.605142	1.7055	2.8214

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hr0	Between Groups	.001	2	.001	12.136	.008
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.002	8			
hr12	Between Groups	13.377	2	6.689	644.624	.000
	Within Groups	.062	6	.010		
	Total	13.439	8			
hr24	Between Groups	8.884	2	4.442	123.133	.000
	Within Groups	.216	6	.036		
	Total	9.101	8			
hr36	Between Groups	.143	2	.072	1.958	.222
	Within Groups	.219	6	.037		
	Total	.363	8			
hr48	Between Groups	.029	2	.015	2.396	.172
	Within Groups	.036	6	.006		
	Total	.066	8			
hr60	Between Groups	.015	2	.008	.381	.699
	Within Groups	.121	6	.020		
	Total	.136	8			
hr72	Between Groups	.040	2	.020	.491	.635
	Within Groups	.245	6	.041		
	Total	.285	8			
hr84	Between Groups	.144	2	.072	.551	.603
	Within Groups	.782	6	.130		
	Total	.926	8			

0 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S. cerevisiae	3	.073502	
เชื้อผสม	3	.076741	
P. stipitis	3		.099883
Sig.		.599	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P. stipitis	3	.611604	
S. cerevisiae	3		2.703333
เชื้อผสม	3		2.734829
Sig.		1.000	.846

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S. cerevisiae	3	2.697781
P. stipitis	3	2.812519
เชื้อผสม	3	3.003549
Sig.		.107

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P. stipitis	3	2.845674
เชื้อผสม	3	2.965365
S. cerevisiae	3	2.967277
Sig.		.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P. stipitis	3	2.817015
S. cerevisiae	3	2.826741
เชื้อผสม	3	2.909056
Sig.		.471

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P. stipitis	3	2.541529
S. cerevisiae	3	2.680765
เชื้อผสม	3	2.685380
Sig.		.431

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S. cerevisiae	3	2.237371
P. stipitis	3	2.272309
เชื้อผสม	3	2.521221
Sig.		.387

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	*S.cerevisiae*	4	13.65025	1.200354	.600177	11.74022	15.56028	12.740	15.418
	เชื้อผสม	4	14.66950	1.368338	.684169	12.49217	16.84683	13.633	16.625
	P. stipitis	4	13.29175	2.114026	1.057013	9.92786	16.65564	12.023	16.433
	Total	12	13.87050	1.579251	.455890	12.86709	14.87391	12.023	16.625
12 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.43250	.072744	.036372	1.31675	1.54825	1.360	1.530
	เชื้อผสม	4	1.41750	.083417	.041708	1.28477	1.55023	1.300	1.490
	P. stipitis	4	8.36500	.748710	.374355	7.17364	9.55636	7.350	9.140
	Total	12	3.73833	3.439809	.992987	1.55278	5.92388	1.300	9.140
24 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.29000	.093095	.046547	1.14187	1.43813	1.160	1.380
	เชื้อผสม	4	1.26250	.045735	.022867	1.18973	1.33527	1.210	1.310
	P. stipitis	4	6.98750	.323252	.161626	6.47313	7.50187	6.660	7.280
	Total	12	3.18000	2.817633	.813381	1.38976	4.97024	1.160	7.280
36 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.15750	.041932	.020966	1.09078	1.22422	1.130	1.220
	เชื้อผสม	4	1.15250	.094296	.047148	1.00245	1.30255	1.020	1.220
	P. stipitis	4	1.47250	.203695	.101848	1.14838	1.79662	1.250	1.660
	Total	12	1.26083	.196629	.056762	1.13590	1.38577	1.020	1.660
48 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.11250	.040311	.020156	1.04836	1.17664	1.070	1.160
	เชื้อผสม	4	1.06750	.079320	.039660	.94128	1.19372	.990	1.150
	P. stipitis	4	1.16250	.096738	.048369	1.00857	1.31643	1.060	1.250
	Total	12	1.11417	.079711	.023010	1.06352	1.16481	.990	1.250
60 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.03500	.031091	.015546	.98553	1.08447	1.000	1.070
	เชื้อผสม	4	.99500	.070475	.035237	.88286	1.10714	.920	1.060
	P. stipitis	4	1.13500	.058023	.029011	1.04267	1.22733	1.060	1.200
	Total	12	1.05500	.079487	.022946	1.00450	1.10550	.920	1.200
72 hr.	*S.cerevisiae*	4	1.01000	.018257	.009129	.98095	1.03905	.990	1.030
	เชื้อผสม	4	.98500	.081854	.040927	.85475	1.11525	.900	1.060
	P. stipitis	4	1.05750	.022174	.011087	1.02222	1.09278	1.040	1.090
	Total	12	1.01750	.055124	.015913	.98248	1.05252	.900	1.090
84 hr.	*S.cerevisiae*	4	.98750	.025000	.012500	.94772	1.02728	.960	1.020
	เชื้อผสม	4	.92250	.029861	.014930	.87498	.97002	.890	.960
	P. stipitis	4	1.01000	.025820	.012910	.96891	1.05109	.980	1.040
	Total	12	.97333	.045793	.013219	.94424	1.00243	.890	1.040

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
h0	Between Groups	4.087	2	2.044	.788	.484
	Within Groups	23.347	9	2.594		
	Total	27.434	11			
h12	Between Groups	128.437	2	64.218	336.329	.000
	Within Groups	1.718	9	.191		
	Total	130.155	11			
h24	Between Groups	86.984	2	43.492	1132.111	.000
	Within Groups	.346	9	.038		
	Total	87.330	11			
h36	Between Groups	.269	2	.134	7.735	.011
	Within Groups	.156	9	.017		
	Total	.425	11			
h48	Between Groups	.018	2	.009	1.569	.260
	Within Groups	.052	9	.006		
	Total	.070	11			
h60	Between Groups	.042	2	.021	6.710	.016
	Within Groups	.028	9	.003		
	Total	.070	11			
h72	Between Groups	.011	2	.005	2.163	.171
	Within Groups	.023	9	.003		
	Total	.033	11			
h84	Between Groups	.017	2	.008	11.347	.003
	Within Groups	.007	9	.001		
	Total	.023	11			

0 hr.

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05
spss	N	1
P. stipitis	4	13.29175
S.cerevisiae	4	13.65025
เชื้อผสม	4	14.66950
Sig.		.277

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

12 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	4	1.41750	
S.cerevisiae	4	1.43250	
P. stipitis	4		8.36500
Sig.		.962	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

24 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	4	1.26250	
S.cerevisiae	4	1.29000	
P. stipitis	4		6.98750
Sig.		.847	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

36 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	4	1.15250	
S.cerevisiae	4	1.15750	
P. stipitis	4		1.47250
Sig.		.958	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

48 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เชื้อผสม	4	1.06750
S.cerevisiae	4	1.11250
P. stipitis	4	1.16250
Sig.		.124

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

60 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	4	.99500	
S.cerevisiae	4	1.03500	
P. stipitis	4		1.13500
Sig.		.336	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

72 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เชื้อผสม	4	.98500
S.cerevisiae	4	1.01000
P. stipitis	4	1.05750
Sig.		.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

84 hr.

Duncan[a]

spss	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	4	.92250	
S.cerevisiae	4		.98750
P. stipitis	4		1.01000
Sig.		1.000	.268

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ตารางที่ จ-9 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	*S. cerevisiae*	3	6.274117	.8487111	.4900036	4.165802	8.382432	5.3158	6.9307
	เชื้อผสม	3	7.218045	.6147057	.3549005	5.691031	8.745059	6.7606	7.9168
	P. stipitis	3	6.163389	1.4242694	.8223023	2.625307	9.701470	4.5190	7.0063
	Total	9	6.551850	1.0166732	.3388911	5.770366	7.333334	4.5190	7.9168
12 hr.	*S. cerevisiae*	3	.464742	.4191570	.2420004	-.576502	1.505985	.0720	.9061
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	4.910844	.7471865	.4313883	3.054730	6.766958	4.4128	5.7700
	Total	9	1.791862	2.3866334	.7955445	-.042667	3.626391	.0000	5.7700
24 hr.	*S. cerevisiae*	3	.371923	.5977407	.3451058	-1.112948	1.856793	.0065	1.0617
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	4.155517	.4506139	.2601621	3.036130	5.274904	3.8950	4.6758
	Total	9	1.509147	2.0261702	.6753901	-.048306	3.066599	.0000	4.6758
36 hr.	*S. cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
48 hr.	*S. cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
60 hr.	*S. cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
72 hr.	*S. cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
84 hr.	*S. cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P. stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	2.016	2	1.008	.967	.433
	Within Groups	6.253	6	1.042		
	Total	8.269	8			
12 hr.	Between Groups	44.100	2	22.050	90.125	.000
	Within Groups	1.468	6	.245		
	Total	45.568	8			
24 hr.	Between Groups	31.722	2	15.861	84.918	.000
	Within Groups	1.121	6	.187		
	Total	32.843	8			
36 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
48 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
60 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
72 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
84 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			

0 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P.stipitis	3	6.163389
S.cerevisiae	3	6.274117
เชื้อผสม	3	7.218045
Sig.		.267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	3	.000000	
S.cerevisiae	3	.464742	
P.stipitis	3		4.910844
Sig.		.294	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เชื้อผสม	3	.000000	
S.cerevisiae	3	.371923	
P.stipitis	3		4.155517
Sig.		.332	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-10 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5088, *P. stipitis* TISTR 5806 และเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	*S.cerevisiae*	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เชื้อผสม	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	P.stipitis	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
12 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.266667	.3055050	.1763834	.507750	2.025583	1.0000	1.6000
	เชื้อผสม	3	.866667	.2309401	.1333333	.292980	1.440354	.6000	1.0000
	P.stipitis	3	.533333	.1154701	.0666667	.246490	.820177	.4000	.6000
	Total	9	.888889	.3756476	.1252159	.600141	1.177637	.4000	1.6000
24 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.533333	.4163332	.2403701	.499104	2.567562	1.2000	2.0000
	เชื้อผสม	3	1.266667	.1154701	.0666667	.979823	1.553510	1.2000	1.4000
	P.stipitis	3	1.000000	.3464102	.2000000	.139469	1.860531	.8000	1.4000
	Total	9	1.266667	.3605551	.1201850	.989519	1.543814	.8000	2.0000
36 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.600000	.0000000	.0000000	1.600000	1.600000	1.6000	1.6000
	เชื้อผสม	3	1.533333	.1154701	.0666667	1.246490	1.820177	1.4000	1.6000
	P.stipitis	3	1.466667	.1154701	.0666667	1.179823	1.753510	1.4000	1.6000
	Total	9	1.533333	.1000000	.0333333	1.456467	1.610200	1.4000	1.6000
48 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.800000	.5291503	.3055050	.485518	3.114482	1.2000	2.2000
	เชื้อผสม	3	1.733333	.2309401	.1333333	1.159646	2.307020	1.6000	2.0000
	P.stipitis	3	1.800000	.5291503	.3055050	.485518	3.114482	1.2000	2.2000
	Total	9	1.777778	.3929942	.1309981	1.475696	2.079860	1.2000	2.2000
60 hr.	*S.cerevisiae*	3	2.066667	.4163332	.2403701	1.032438	3.100896	1.6000	2.4000
	เชื้อผสม	3	1.666667	.3055050	.1763834	.907750	2.425583	1.4000	2.0000
	P.stipitis	3	1.600000	.2000000	.1154701	1.103172	2.096828	1.4000	1.8000
	Total	9	1.777778	.3527668	.1175889	1.506617	2.048938	1.4000	2.4000
72 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.866667	.6429101	.3711843	.269590	3.463744	1.4000	2.6000
	เชื้อผสม	3	1.933333	.2309401	.1333333	1.359646	2.507020	1.8000	2.2000
	P.stipitis	3	2.066667	.3055050	.1763834	1.307750	2.825583	1.8000	2.4000
	Total	9	1.955556	.3844188	.1281396	1.660065	2.251046	1.4000	2.6000
84 hr.	*S.cerevisiae*	3	1.666667	.2309401	.1333333	1.092980	2.240354	1.4000	1.8000
	เชื้อผสม	3	2.066667	.3055050	.1763834	1.307750	2.825583	1.8000	2.4000
	P.stipitis	3	2.000000	.6928203	.4000000	.278939	3.721061	1.2000	2.4000
	Total	9	1.911111	.4371626	.1457209	1.575078	2.247144	1.2000	2.4000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
12 hr.	Between Groups	.809	2	.404	7.583	.023
	Within Groups	.320	6	.053		
	Total	1.129	8			
24 hr.	Between Groups	.427	2	.213	2.087	.205
	Within Groups	.613	6	.102		
	Total	1.040	8			
36 hr.	Between Groups	.027	2	.013	1.500	.296
	Within Groups	.053	6	.009		
	Total	.080	8			
48 hr.	Between Groups	.009	2	.004	.022	.979
	Within Groups	1.227	6	.204		
	Total	1.236	8			
60 hr.	Between Groups	.382	2	.191	1.870	.234
	Within Groups	.613	6	.102		
	Total	.996	8			
72 hr.	Between Groups	.062	2	.031	.167	.850
	Within Groups	1.120	6	.187		
	Total	1.182	8			
84 hr.	Between Groups	.276	2	.138	.660	.551
	Within Groups	1.253	6	.209		
	Total	1.529	8			

12 hr.

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
treament	N	1	2
P.stipitis	3	.533333	
เชื้อผสม	3	.866667	.866667
S.cerevisiae	3		1.266667
Sig.		.128	.078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P.stipitis	3	1.000000
เชื้อผสม	3	1.266667
S.cerevisiae	3	1.533333
Sig.		.096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P.stipitis	3	1.466667
เชื้อผสม	3	1.533333
S.cerevisiae	3	1.600000
Sig.		.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เชื้อผสม	3	1.733333
S.cerevisiae	3	1.800000
P.stipitis	3	1.800000
Sig.		.867

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
P.stipitis	3	1.600000
เชื้อผสม	3	1.666667
S.cerevisiae	3	2.066667
Sig.		.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S.cerevisiae	3	1.866667
เชื้อผสม	3	1.933333
P.stipitis	3	2.066667
Sig.		.602

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S.cerevisiae	3	1.666667
P.stipitis	3	2.000000
เชื้อผสม	3	2.066667
Sig.		.339

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-11 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

Descriptives

						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
h0	s1:p1	3	.13170	.018483	.010671	.08578	.17761	.118	.153
	s1:p2	3	.20367	.154236	.089048	-.17947	.58682	.085	.378
	s1:p3	3	.10917	.028593	.016508	.03815	.18020	.081	.138
	s2:p1	3	.11115	.024485	.014136	.05033	.17198	.093	.139
	s3:p1	3	.11695	.008305	.004795	.09632	.13758	.109	.126
	Total	15	.13453	.070759	.018270	.09535	.17371	.081	.378
h12	s1:p1	3	2.54171	.138188	.079783	2.19844	2.88499	2.386	2.648
	s1:p2	3	2.45109	.102866	.059390	2.19556	2.70662	2.379	2.569
	s1:p3	3	2.30405	.111314	.064267	2.02753	2.58057	2.192	2.414
	s2:p1	3	2.34614	.057889	.033422	2.20233	2.48994	2.283	2.397
	s3:p1	3	2.60730	.055114	.031820	2.47039	2.74421	2.560	2.668
	Total	15	2.45006	.144581	.037331	2.36999	2.53012	2.192	2.668
h24	s1:p1	3	2.59446	.038854	.022433	2.49794	2.69098	2.563	2.638
	s1:p2	3	2.48781	.021938	.012666	2.43331	2.54231	2.466	2.510
	s1:p3	3	2.52615	.115162	.066489	2.24007	2.81223	2.419	2.648
	s2:p1	3	2.39965	.168501	.097284	1.98107	2.81823	2.215	2.545
	s3:p1	3	2.62270	.123256	.071162	2.31651	2.92888	2.496	2.743
	Total	15	2.52615	.123072	.031777	2.45800	2.59431	2.215	2.743
h36	s1:p1	3	2.91444	.433163	.250087	1.83840	3.99047	2.609	3.410
	s1:p2	3	2.99672	.228152	.131724	2.42996	3.56348	2.734	3.143
	s1:p3	3	2.87746	.154655	.089290	2.49328	3.26165	2.706	3.007
	s2:p1	3	2.48521	.160645	.092748	2.08615	2.88428	2.300	2.585
	s3:p1	3	2.69972	.115026	.066411	2.41397	2.98546	2.596	2.823
	Total	15	2.79471	.281030	.072562	2.63908	2.95034	2.300	3.410
h48	s1:p1	3	2.42703	.104140	.060125	2.16833	2.68573	2.318	2.525
	s1:p2	3	2.73564	.184447	.106491	2.27745	3.19383	2.541	2.908
	s1:p3	3	2.59029	.121218	.069985	2.28917	2.89142	2.452	2.676
	s2:p1	3	2.42724	.102630	.059253	2.17229	2.68219	2.356	2.545
	s3:p1	3	2.60800	.090657	.052341	2.38280	2.83321	2.517	2.699
	Total	15	2.55764	.161394	.041672	2.46826	2.64702	2.318	2.908

หมายเหตุ S = *S. cerevisiae*

P = *P. stipitis*

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
h60	s1p1	3	2.55160	.039777	.022965	2.45279	2.65041	2.518	2.595
	s1p2	3	2.60287	.113325	.065428	2.32136	2.88439	2.479	2.701
	s1p3	3	2.68151	.010823	.006249	2.65462	2.70839	2.670	2.691
	s2p1	3	2.34655	.130737	.075481	2.02178	2.67132	2.196	2.425
	s3p1	3	2.52586	.046878	.027065	2.40941	2.64231	2.474	2.565
	Total	15	2.54168	.134384	.034698	2.46726	2.61610	2.196	2.701
h72	s1p1	3	2.38887	.189593	.109462	1.91790	2.85985	2.199	2.578
	s1p2	3	2.33149	.314915	.181816	1.54919	3.11378	1.974	2.570
	s1p3	3	2.51742	.076201	.043995	2.32813	2.70671	2.430	2.571
	s2p1	3	2.27027	.039326	.022705	2.17257	2.36796	2.227	2.304
	s3p1	3	2.38819	.103792	.059924	2.13036	2.64602	2.268	2.453
	Total	15	2.37925	.170452	.044010	2.28485	2.47364	1.974	2.578
h84	s1p1	3	2.21146	.546875	.315739	.85295	3.56998	1.621	2.700
	s1p2	3	2.24080	.326684	.188611	1.42927	3.05232	1.911	2.564
	s1p3	3	2.27317	.149040	.086048	1.90293	2.64340	2.102	2.376
	s2p1	3	2.27027	.039326	.022705	2.17257	2.36796	2.227	2.304
	s3p1	3	2.49730	.055390	.031979	2.35970	2.63489	2.436	2.545
	Total	15	2.29860	.270031	.069722	2.14906	2.44814	1.621	2.700

หมายเหตุ S = *S. cerevisiae*

P = *P. stipitis*

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.019	4	.005	.920	.489
	Within Groups	.051	10	.005		
	Total	.070	14			
12 hr.	Between Groups	.196	4	.049	5.049	.017
	Within Groups	.097	10	.010		
	Total	.293	14			
24 hr.	Between Groups	.094	4	.024	2.005	.170
	Within Groups	.118	10	.012		
	Total	.212	14			
36 hr.	Between Groups	.500	4	.125	2.067	.160
	Within Groups	.605	10	.061		
	Total	1.106	14			
48 hr.	Between Groups	.208	4	.052	3.321	.056
	Within Groups	.157	10	.016		
	Total	.365	14			
60 hr.	Between Groups	.185	4	.046	6.841	.006
	Within Groups	.068	10	.007		
	Total	.253	14			
72 hr.	Between Groups	.100	4	.025	.818	.542
	Within Groups	.306	10	.031		
	Total	.407	14			
84 hr.	Between Groups	.156	4	.039	.450	.771
	Within Groups	.865	10	.087		
	Total	1.021	14			

0 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p3	3	.10917
s2p1	3	.11115
s3p1	3	.11695
s1p1	3	.13170
s1p2	3	.20367
Sig.		.167

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s1p3	3	2.30405	
s2p1	3	2.34614	
s1p2	3	2.45109	2.45109
s1p1	3		2.54171
s3p1	3		2.60730
Sig.		.111	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s2p1	3	2.39965	
s1p2	3	2.48781	2.48781
s1p3	3	2.52615	2.52615
s1p1	3	2.59446	2.59446
s3p1	3		2.62270
Sig.		.067	.186

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s2p1	3	2.48521	
s3p1	3	2.69972	2.69972
s1p3	3	2.87746	2.87746
s1p1	3	2.91444	2.91444
s1p2	3		2.99672
Sig.		.074	.198

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s1p1	3	2.42703	
s2p1	3	2.42724	
s1p3	3	2.59029	2.59029
s3p1	3	2.60800	2.60800
s1p2	3		2.73564
Sig.		.130	.204

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s2p1	3	2.34655	
s3p1	3		2.52586
s1p1	3		2.55160
s1p2	3		2.60287
s1p3	3		2.68151
Sig.		1.000	.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s2p1	3	2.27027
s1p2	3	2.33149
s3p1	3	2.38819
s1p1	3	2.38887
s1p3	3	2.51742
Sig.		.143

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p1	3	2.21146
s1p2	3	2.24080
s2p1	3	2.27027
s1p3	3	2.27317
s3p1	3	2.49730
Sig.		.298

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	s1p1	3	13.42208	.050842	.029354	13.29579	13.54838	13.365	13.463
	s1p2	3	13.77500	.327328	.188983	12.96187	14.58813	13.490	14.133
	s1p3	3	13.82542	.137740	.079524	13.48325	14.16758	13.678	13.950
	s2p1	3	13.94042	.239212	.138109	13.34618	14.53465	13.668	14.114
	s3p1	3	13.78625	.319113	.184240	12.99353	14.57897	13.421	14.013
	Total	15	13.74983	.271208	.070026	13.59964	13.90002	13.365	14.133
12 hr.	s1p1	3	6.48583	.040627	.023456	6.38491	6.58676	6.445	6.526
	s1p2	3	6.49000	.018414	.010631	6.44426	6.53574	6.479	6.511
	s1p3	3	6.52417	.076916	.044408	6.33310	6.71524	6.454	6.606
	s2p1	3	6.47917	.019135	.011048	6.43163	6.52670	6.458	6.494
	s3p1	3	6.45708	.023530	.013585	6.39863	6.51553	6.430	6.473
	Total	15	6.48725	.041999	.010844	6.46399	6.51051	6.430	6.606
24 hr.	s1p1	3	2.93875	.077015	.044464	2.74744	3.13006	2.881	3.026
	s1p2	3	2.96833	.008509	.004912	2.94720	2.98947	2.959	2.975
	s1p3	3	2.91208	.031383	.018119	2.83412	2.99004	2.878	2.939
	s2p1	3	2.94833	.045144	.026064	2.83619	3.06048	2.898	2.984
	s3p1	3	2.98000	.013750	.007939	2.94584	3.01416	2.966	2.994
	Total	15	2.94950	.043783	.011305	2.92525	2.97375	2.878	3.026

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
36 hr.	s1p1	3	2.90375	.013170	.007603	2.87103	2.93647	2.890	2.916
	s1p2	3	2.89292	.026732	.015434	2.82651	2.95932	2.876	2.924
	s1p3	3	2.89208	.025991	.015006	2.82752	2.95665	2.863	2.911
	s2p1	3	2.95250	.047153	.027224	2.83536	3.06964	2.900	2.991
	s3p1	3	2.91667	.030009	.017326	2.84212	2.99121	2.884	2.943
	Total	15	2.91158	.034688	.008956	2.89237	2.93079	2.863	2.991
48 hr.	s1p1	3	2.38042	.058794	.033945	2.23436	2.52647	2.330	2.445
	s1p2	3	2.45417	.088823	.051282	2.23352	2.67482	2.368	2.545
	s1p3	3	2.58458	.184477	.106508	2.12632	3.04285	2.473	2.798
	s2p1	3	2.43917	.076713	.044290	2.24860	2.62973	2.351	2.493
	s3p1	3	2.40167	.021735	.012549	2.34767	2.45566	2.385	2.426
	Total	15	2.45200	.113291	.029252	2.38926	2.51474	2.330	2.798
60 hr.	s1p1	3	2.23500	.099601	.057505	1.98758	2.48242	2.144	2.341
	s1p2	3	2.33583	.081484	.047045	2.13342	2.53825	2.245	2.403
	s1p3	3	2.25458	.073414	.042385	2.07221	2.43695	2.189	2.334
	s2p1	3	2.29750	.060969	.035200	2.14605	2.44895	2.229	2.345
	s3p1	3	2.26958	.048675	.028103	2.14867	2.39050	2.234	2.325
	Total	15	2.27850	.073020	.018854	2.23806	2.31894	2.144	2.403
72 hr.	s1p1	3	2.01250	.131000	.075633	1.68708	2.33792	1.895	2.154
	s1p2	3	2.09750	.080467	.046458	1.89761	2.29739	2.033	2.188
	s1p3	3	2.13125	.068271	.039416	1.96166	2.30084	2.080	2.209
	s2p1	3	2.07917	.111119	.064154	1.80313	2.35520	1.956	2.173
	s3p1	3	2.12833	.088250	.050951	1.90911	2.34756	2.038	2.214
	Total	15	2.08975	.094459	.024389	2.03744	2.14206	1.895	2.214
84 hr.	s1p1	3	2.06250	.081500	.047054	1.86004	2.26496	1.975	2.136
	s1p2	3	2.06292	.087271	.050386	1.84612	2.27971	1.971	2.145
	s1p3	3	2.10333	.007108	.004104	2.08568	2.12099	2.098	2.111
	s2p1	3	2.07792	.084060	.048532	1.86910	2.28673	1.990	2.158
	s3p1	3	2.08417	.098348	.056781	1.83986	2.32848	1.978	2.171
	Total	15	2.07817	.068419	.017666	2.04028	2.11606	1.971	2.171

หมายเหตุ S = *S. cerevisiae*

P = *P. stipitis*

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.454	4	.114	1.973	.175
	Within Groups	.576	10	.058		
	Total	1.030	14			
12 hr.	Between Groups	.007	4	.002	.998	.453
	Within Groups	.018	10	.002		
	Total	.025	14			
24 hr.	Between Groups	.008	4	.002	1.140	.392
	Within Groups	.018	10	.002		
	Total	.027	14			
36 hr.	Between Groups	.007	4	.002	1.992	.172
	Within Groups	.009	10	.001		
	Total	.017	14			
48 hr.	Between Groups	.076	4	.019	1.841	.198
	Within Groups	.103	10	.010		
	Total	.180	14			
60 hr.	Between Groups	.019	4	.005	.828	.537
	Within Groups	.056	10	.006		
	Total	.075	14			
72 hr.	Between Groups	.028	4	.007	.724	.595
	Within Groups	.097	10	.010		
	Total	.125	14			
84 hr.	Between Groups	.003	4	.001	.139	.964
	Within Groups	.062	10	.006		
	Total	.066	14			

0 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s1p1	3	13.42208	
s1p2	3	13.77500	13.77500
s3p1	3	13.78625	13.78625
s1p3	3	13.82542	13.82542
s2p1	3		13.94042
Sig.		.084	.449

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	6.45708
s2p1	3	6.47917
s1p1	3	6.48583
s1p2	3	6.49000
s1p3	3	6.52417
Sig.		.102

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p3	3	2.91208
s1p1	3	2.93875
s2p1	3	2.94833
s1p2	3	2.96833
s3p1	3	2.98000
Sig.		.105

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p3	3	2.89208
s1p2	3	2.89292
s1p1	3	2.90375
s3p1	3	2.91667
s2p1	3	2.95250
Sig.		.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s1p1	3	2.38042	
s3p1	3	2.40167	2.40167
s2p1	3	2.43917	2.43917
s1p2	3	2.45417	2.45417
s1p3	3		2.58458
Sig.		.426	.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p1	3	2.23500
s1p3	3	2.25458
s3p1	3	2.26958
s2p1	3	2.29750
s1p2	3	2.33583
Sig.		.160

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p1	3	2.01250
s2p1	3	2.07917
s1p2	3	2.09750
s3p1	3	2.12833
s1p3	3	2.13125
Sig.		.203

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p1	3	2.06250
s1p2	3	2.06292
s2p1	3	2.07792
s3p1	3	2.08417
s1p3	3	2.10333
Sig.		.570

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-13 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	s1p1	3	5.17317	.998710	.576606	2.69224	7.65410	4.035	5.903
	s1p2	3	4.89310	.404406	.233484	3.88850	5.89770	4.508	5.314
	s1p3	3	5.18277	1.312864	.757982	1.92143	8.44410	3.860	6.486
	s2p1	3	4.73674	.642337	.370853	3.14109	6.33239	4.357	5.478
	s3p1	3	4.92485	.443270	.255922	3.82370	6.02599	4.604	5.431
	Total	15	4.98213	.728592	.188122	4.57864	5.38561	3.860	6.486
12 hr.	s1p1	3	.27462	.475658	.274621	-.90698	1.45622	.000	.824
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.05492	.212721	.054924	-.06288	.17272	.000	.824
24 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
36 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
48 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000

หมายเหตุ S = *S. cerevisiae*

P = *P. stipitis*

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
60 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
72 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
84 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000

หมายเหตุ S = *S. cerevisiae*

P = *P. stipitis*

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.445	4	.111	.159	.954
	Within Groups	6.987	10	.699		
	Total	7.432	14			
12 hr.	Between Groups	.181	4	.045	1.000	.452
	Within Groups	.453	10	.045		
	Total	.634	14			
24 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
36 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
48 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
60 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
72 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
84 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			

0 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s2p1	3	4.73674
s1p2	3	4.89310
s3p1	3	4.92485
s1p1	3	5.17317
s1p3	3	5.18277
Sig.		.559

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s1p2	3	.00000
s1p3	3	.00000
s2p1	3	.00000
s3p1	3	.00000
s1p1	3	.27462
Sig.		.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-14 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากกระบวนการหมักไฮโดรไลเสทด้วยเชื้อผสมของ *S.cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	s1p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p2	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s1p3	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s2p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	s3p1	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
	Total	15	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
12 hr.	s1p1	3	1.00000	.200000	.115470	.50317	1.49683	.800	1.200
	s1p2	3	.80000	.200000	.115470	.30317	1.29683	.600	1.000
	s1p3	3	1.06667	.115470	.066667	.77982	1.35351	1.000	1.200
	s2p1	3	1.06667	.230940	.133333	.49298	1.64035	.800	1.200
	s3p1	3	.66667	.416333	.240370	-.36756	1.70090	.200	1.000
	Total	15	.92000	.270449	.069830	.77023	1.06977	.200	1.200
24 hr.	s1p1	3	1.46667	.115470	.066667	1.17982	1.75351	1.400	1.600
	s1p2	3	1.26667	.230940	.133333	.69298	1.84035	1.000	1.400
	s1p3	3	1.20000	.000000	.000000	1.20000	1.20000	1.200	1.200
	s2p1	3	1.20000	.000000	.000000	1.20000	1.20000	1.200	1.200
	s3p1	3	.93333	.503322	.290593	-.31699	2.18366	.400	1.400
	Total	15	1.21333	.277403	.071625	1.05971	1.36695	.400	1.600
36 hr.	s1p1	3	1.60000	.346410	.200000	.73947	2.46053	1.200	1.800
	s1p2	3	1.46667	.416333	.240370	.43244	2.50090	1.000	1.800
	s1p3	3	1.33333	.305505	.176383	.57442	2.09225	1.000	1.600
	s2p1	3	1.20000	.200000	.115470	.70317	1.69683	1.000	1.400
	s3p1	3	.93333	.416333	.240370	-.10090	1.96756	.600	1.400
	Total	15	1.30667	.376955	.097329	1.09792	1.51542	.600	1.800
48 hr.	s1p1	3	1.80000	.400000	.230940	.80634	2.79366	1.400	2.200
	s1p2	3	1.60000	.600000	.346410	.10952	3.09048	1.000	2.200
	s1p3	3	1.53333	.461880	.266667	.38596	2.68071	1.000	1.800
	s2p1	3	1.20000	.200000	.115470	.70317	1.69683	1.000	1.400
	s3p1	3	1.33333	.757188	.437163	-.54763	3.21429	.800	2.200
	Total	15	1.49333	.489120	.126290	1.22247	1.76420	.800	2.200

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
60 hr.	s1p1	3	1.73333	.416333	.240370	.69910	2.76756	1.400	2.200
	s1p2	3	1.93333	.305505	.176383	1.17442	2.69225	1.600	2.200
	s1p3	3	1.40000	.200000	.115470	.90317	1.89683	1.200	1.600
	s2p1	3	1.80000	.800000	.461880	-.18731	3.78731	1.000	2.600
	s3p1	3	1.13333	.832666	.480740	-.93512	3.20179	.200	1.800
	Total	15	1.60000	.570714	.147358	1.28395	1.91605	.200	2.600
72 hr.	s1p1	3	1.73333	.577350	.333333	.29912	3.16755	1.400	2.400
	s1p2	3	2.00000	.871780	.503322	-.16562	4.16562	1.400	3.000
	s1p3	3	1.60000	.000000	.000000	1.60000	1.60000	1.600	1.600
	s2p1	3	1.73333	.757188	.437163	-.14763	3.61429	1.200	2.600
	s3p1	3	1.13333	.305505	.176383	.37442	1.89225	.800	1.400
	Total	15	1.64000	.581623	.150175	1.31791	1.96209	.800	3.000
84 hr.	s1p1	3	1.80000	.600000	.346410	.30952	3.29048	1.200	2.400
	s1p2	3	2.06667	.503322	.290593	.81634	3.31699	1.600	2.600
	s1p3	3	1.73333	.115470	.066667	1.44649	2.02018	1.600	1.800
	s2p1	3	2.20000	.721110	.416333	.40866	3.99134	1.600	3.000
	s3p1	3	1.66667	.577350	.333333	.23245	3.10088	1.000	2.000
	Total	15	1.89333	.506341	.130737	1.61293	2.17374	1.000	3.000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.000	4	.000	.	.
	Within Groups	.000	10	.000		
	Total	.000	14			
12 hr.	Between Groups	.384	4	.096	1.500	.274
	Within Groups	.640	10	.064		
	Total	1.024	14			
24 hr.	Between Groups	.437	4	.109	1.708	.224
	Within Groups	.640	10	.064		
	Total	1.077	14			
36 hr.	Between Groups	.789	4	.197	1.644	.238
	Within Groups	1.200	10	.120		
	Total	1.989	14			

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
48 hr.	Between Groups	.656	4	.164	.609	.666
	Within Groups	2.693	10	.269		
	Total	3.349	14			
60 hr.	Between Groups	1.280	4	.320	.976	.463
	Within Groups	3.280	10	.328		
	Total	4.560	14			
72 hr.	Between Groups	1.216	4	.304	.864	.518
	Within Groups	3.520	10	.352		
	Total	4.736	14			
84 hr.	Between Groups	.629	4	.157	.532	.716
	Within Groups	2.960	10	.296		
	Total	3.589	14			

12 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	.66667
s1p2	3	.80000
s1p1	3	1.00000
s1p3	3	1.06667
s2p1	3	1.06667
Sig.		.105

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
s3p1	3	.93333	
s1p3	3	1.20000	1.20000
s2p1	3	1.20000	1.20000
s1p2	3	1.26667	1.26667
s1p1	3		1.46667
Sig.		.163	.256

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	.93333
s2p1	3	1.20000
s1p3	3	1.33333
s1p2	3	1.46667
s1p1	3	1.60000
Sig.		.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s2p1	3	1.20000
s3p1	3	1.33333
s1p3	3	1.53333
s1p2	3	1.60000
s1p1	3	1.80000
Sig.		.221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	1.13333
s1p3	3	1.40000
s1p1	3	1.73333
s2p1	3	1.80000
s1p2	3	1.93333
Sig.		.147

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	1.13333
s1p3	3	1.60000
s1p1	3	1.73333
s2p1	3	1.73333
s1p2	3	2.00000
Sig.		.131

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

h84

Duncan[a]

ps	N	Subset for alpha = 0.05
		1
s3p1	3	1.66667
s1p3	3	1.73333
s1p1	3	1.80000
s1p2	3	2.06667
s2p1	3	2.20000
Sig.		.294

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-15 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis* ก่อน	3	.000000	.0000000	.000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.000000	.000000	.000000	.0000	.0000
12 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	1.91559	.0833176	.048103	1.70862	2.12257	1.8551	2.0106
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.094709	.0159677	.009219	.055043	.134375	.0812	.1124
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.31649	.2053025	.118531	1.80649	2.82649	2.1193	2.5291
	Total	9	1.44226	1.031466	.343822	.649413	2.23512	.0812	2.5291
24 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.34664	.1963579	.113367	1.85886	2.83442	2.1440	2.5361
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.568486	.6828944	.394269	-1.12791	2.26489	.0705	1.3470
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.79719	.1164590	.067237	2.50789	3.08649	2.6740	2.9055
	Total	9	1.90410	1.082178	.360726	1.07227	2.73594	.0705	2.9055
36 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.21270	.0817914	.047222	2.00952	2.41589	2.1407	2.3016
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.30704	.1781433	.102851	1.86451	2.74958	2.1083	2.4525
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	3.10028	.1071401	.061857	2.83413	3.36643	2.9862	3.1988
	Total	9	2.54001	.4367076	.145569	2.20433	2.87569	2.1083	3.1988

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
48 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.56249	.0341005	.019687	2.47778	2.64720	2.5340	2.6003
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.73754	.0413560	.023876	2.63480	2.84027	2.7060	2.7844
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.64332	.1771242	.102262	2.20332	3.08332	2.5381	2.8478
	Total	9	2.61268	.1649338	.054977	2.48590	2.73946	2.3421	2.8478
60 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.45719	.1211250	.069931	2.15630	2.75808	2.3421	2.5835
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.61456	.3220648	.185944	1.81451	3.41461	2.4247	2.9864
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.57940	.1181601	.068219	2.28587	2.87293	2.4536	2.6881
	Total	9	2.42240	.1960627	.065354	2.27169	2.57311	2.0607	2.6881
72 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.35701	.2573166	.148561	1.71780	2.99622	2.0607	2.5247
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.60084	.1305612	.075379	2.27651	2.92516	2.4696	2.7308
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.46669	.0596114	.034416	2.31861	2.61477	2.4023	2.5200
	Total	9	2.54334	.0949801	.031660	2.47033	2.61635	2.4023	2.7308
84 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	2.34576	.0557793	.032204	2.20719	2.48432	2.2814	2.3798
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.33079	.1327153	.076623	2.00111	2.66047	2.1792	2.4261
	เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.35406	.0740449	.042749	2.17012	2.53800	2.3077	2.4395
	Total	9	2.43812	.2135484	.071182	2.27398	2.60227	2.2814	2.9864

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
12 hr	Between Groups	8.413	2	4.206	255.726	.000
	Within Groups	.099	6	.016		
	Total	8.511	8			
24 hr	Between Groups	8.332	2	4.166	24.106	.001
	Within Groups	1.037	6	.173		
	Total	9.369	8			
36 hr	Between Groups	1.426	2	.713	42.859	.000
	Within Groups	.100	6	.017		
	Total	1.526	8			
48 hr	Between Groups	.046	2	.023	2.017	.214
	Within Groups	.068	6	.011		
	Total	.115	8			
60 hr	Between Groups	.041	2	.020	.464	.650
	Within Groups	.265	6	.044		
	Total	.306	8			
72 hr	Between Groups	.089	2	.045	1.546	.287
	Within Groups	.174	6	.029		
	Total	.263	8			
84 hr	Between Groups	.001	2	.000	.048	.954
	Within Groups	.052	6	.009		
	Total	.053	8			

12 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.094709		
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3		1.915599	
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3			2.316496
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.568486	
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3		2.346643
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3		2.797191
Sig.		1.000	.233

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	2.212708	
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.307049	
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3		3.100281
Sig.		.405	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	2.562494
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.643326
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.737540
Sig.		.101

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	2.457193
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.579404
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.614563
Sig.		.408

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	2.357016
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.466694
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.600844
Sig.		.141

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	2.330794
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	2.345763
เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน	3	2.354062
Sig.		.777

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	bs	3	13.9583	.22633	.13067	13.3961	14.5206	13.70	14.13
	bp	3	13.9479	.20587	.11886	13.4365	14.4593	13.72	14.11
	ps	3	13.9021	.22401	.12933	13.3456	14.4585	13.67	14.11
	Total	9	13.9361	.19136	.06379	13.7890	14.0832	13.67	14.13
12 hr.	bs	3	2.9683	.00851	.00491	2.9472	2.9895	2.96	2.98
	bp	3	13.5579	.04803	.02773	13.4386	13.6772	13.51	13.60
	ps	3	2.9304	.09139	.05276	2.7034	3.1574	2.83	3.01
	Total	9	6.4856	5.30455	1.76818	2.4081	10.5630	2.83	13.60
24 hr.	bs	3	2.9221	.06002	.03465	2.7730	3.0712	2.85	2.97
	bp	3	12.4154	.05127	.02960	12.2881	12.5428	12.38	12.47
	ps	3	2.9338	.00944	.00545	2.9103	2.9572	2.92	2.94
	Total	9	6.0904	4.74392	1.58131	2.4439	9.7369	2.85	12.47
36 hr.	bs	3	2.8929	.02673	.01543	2.8265	2.9593	2.88	2.92
	bp	3	2.8921	.02599	.01501	2.8275	2.9566	2.86	2.91
	ps	3	2.9338	.04625	.02670	2.8189	3.0486	2.88	2.98
	Total	9	2.9063	.03616	.01205	2.8785	2.9340	2.86	2.98

หมายเหตุ bs =เติม *S.cerevisiae* ก่อน

bp =เติม *P.stipitis* ก่อน

ps =เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
48 hr.	bs	3	2.2546	.07341	.04239	2.0722	2.4370	2.19	2.33
	bp	3	2.2792	.04502	.02599	2.1673	2.3910	2.23	2.31
	ps	3	2.2696	.04868	.02810	2.1487	2.3905	2.23	2.33
	Total	9	2.2678	.05061	.01687	2.2289	2.3067	2.19	2.33
60 hr.	bs	3	2.0975	.08047	.04646	1.8976	2.2974	2.03	2.19
	bp	3	2.1313	.06827	.03942	1.9617	2.3008	2.08	2.21
	ps	3	2.1542	.06342	.03662	1.9966	2.3117	2.09	2.21
	Total	9	2.1276	.06632	.02211	2.0767	2.1786	2.03	2.21
72 hr.	bs	3	2.0913	.06820	.03938	1.9218	2.2607	2.03	2.16
	bp	3	2.0792	.11112	.06415	1.8031	2.3552	1.96	2.17
	ps	3	2.1246	.08151	.04706	1.9221	2.3271	2.03	2.19
	Total	9	2.0983	.07953	.02651	2.0372	2.1595	1.96	2.19
84 hr.	bs	3	2.0842	.09835	.05678	1.8399	2.3285	1.98	2.17
	bp	3	2.0771	.09375	.05413	1.8442	2.3100	1.98	2.17
	ps	3	2.0854	.09572	.05527	1.8476	2.3232	1.98	2.15
	Total	9	2.0822	.08319	.02773	2.0183	2.1462	1.98	2.17

หมายเหตุ bs =เติม *S.cerevisiae* ก่อน

bp =เติม *P.stipitis* ก่อน

ps =เติมทั้งสองชนิดพร้อมกัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.005	2	.003	.056	.946
	Within Groups	.288	6	.048		
	Total	.293	8			
12 hr.	Between Groups	225.084	2	112.542	31462.011	.000
	Within Groups	.021	6	.004		
	Total	225.106	8			
24 hr.	Between Groups	180.026	2	90.013	42728.984	.000
	Within Groups	.013	6	.002		
	Total	180.038	8			
36 hr.	Between Groups	.003	2	.002	1.447	.307
	Within Groups	.007	6	.001		
	Total	.010	8			
48 hr.	Between Groups	.001	2	.000	.141	.871
	Within Groups	.020	6	.003		
	Total	.020	8			
60 hr.	Between Groups	.005	2	.002	.482	.639
	Within Groups	.030	6	.005		
	Total	.035	8			
72 hr.	Between Groups	.003	2	.002	.211	.816
	Within Groups	.047	6	.008		
	Total	.051	8			
84 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.007	.993
	Within Groups	.055	6	.009		
	Total	.055	8			

0 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ps	3	13.9021
bp	3	13.9479
bs	3	13.9583
Sig.		.771

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ps	3	2.9304	
bs	3	2.9683	
bp	3		13.5579
Sig.		.467	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
bs	3	2.9221	
ps	3	2.9338	
bp	3		12.4154
Sig.		.766	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bp	3	2.8921
bs	3	2.8929
ps	3	2.9338
Sig.		.200

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bs	3	2.2546
ps	3	2.2696
bp	3	2.2792
Sig.		.628

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bs	3	2.0975
bp	3	2.1313
ps	3	2.1542
Sig.		.381

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bp	3	2.0792
bs	3	2.0913
ps	3	2.1246
Sig.		.566

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
bp	3	2.0771
bs	3	2.0842
ps	3	2.0854
Sig.		.921

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-17 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	4.990257	.1076649	.0621604	4.722802	5.257711	4.9248	5.1145
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	5.421152	.3991509	.2304499	4.429607	6.412698	5.1612	5.8807
	เติมพร้อมกัน	3	4.954875	.6265666	.3617484	3.398398	6.511353	4.5879	5.6783
	Total	9	5.122095	.4375121	.1458374	4.785793	5.458396	4.5879	5.8807
12 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.903601	.0512391	.0295829	.776316	1.030886	.8512	.9536
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	5.071119	.2144037	.1237861	4.538510	5.603727	4.8305	5.2419
	เติมพร้อมกัน	3	.233611	.3034839	.1752165	-.520285	.987507	.0025	.5773
	Total	9	2.069444	2.2776074	.7592025	.318720	3.820168	.0025	5.2419
24 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	4.433729	.0142398	.0082213	4.398355	4.469102	4.4174	4.4435
	เติมพร้อมกัน	3	.269715	.4381689	.2529769	-.818757	1.358186	.0028	.7754
	Total	9	1.567814	2.1637380	.7212460	-.095382	3.231011	.0000	4.4435
36 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
48 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
60 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
72 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
84 hr.	เติม*S.cerevisiae* ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติม*P.stipitis*ก่อน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	เติมพร้อมกัน	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
	Total	9	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.404	2	.202	1.076	.399
	Within Groups	1.127	6	.188		
	Total	1.531	8			
12 hr.	Between Groups	41.219	2	20.609	439.440	.000
	Within Groups	.281	6	.047		
	Total	41.500	8			
24 hr.	Between Groups	37.070	2	18.535	289.314	.000
	Within Groups	.384	6	.064		
	Total	37.454	8			
36 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
48 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
60 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
72 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
84 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			

0 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติมพร้อมกัน	3	4.954875
เติม*S.cerevisiae*ก่อน	3	4.990257
เติม*P.stipitis*ก่อน	3	5.421152
Sig.		.250

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เติมพร้อมกัน	3	.233611		
เติม*S.cerevisiae*ก่อน	3		.903601	
เติม*P.stipitis*ก่อน	3			5.071119
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม*S.cerevisiae*ก่อน	3	.000000	
เติมพร้อมกัน	3	.269715	
เติม*P.stipitis*ก่อน	3		4.433729
Sig.		.240	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-18 น้ำหนักเซลล์แห้งได้จากการหมักไฮโดรไลเสทของผักตบชวาด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 ในรูปแบบการหมักที่ต่างกัน

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	เติมพร้อมกัน	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	9	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
12 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.2000	.52915	.30551	-.1145	2.5145	.80	1.80
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.2000	.20000	.11547	-.2968	.6968	.00	.40
	เติมพร้อมกัน	3	1.0667	.11547	.06667	.7798	1.3535	1.00	1.20
	Total	9	.8222	.55176	.18392	.3981	1.2463	.00	1.80
24 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.4000	.40000	.23094	.4063	2.3937	1.00	1.80
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.3333	.30551	.17638	-.4256	1.0922	.00	.60
	เติมพร้อมกัน	3	1.2000	.20000	.11547	.7032	1.6968	1.00	1.40
	Total	9	.9778	.56075	.18692	.5467	1.4088	.00	1.80
36 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.3333	.23094	.13333	.7596	1.9070	1.20	1.60
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.1333	.23094	.13333	.5596	1.7070	1.00	1.40
	เติมพร้อมกัน	3	1.8000	.34641	.20000	.9395	2.6605	1.60	2.20
	Total	9	1.4222	.38006	.12669	1.1301	1.7144	1.00	2.20
48 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6000	.34641	.20000	.7395	2.4605	1.20	1.80
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.7333	.11547	.06667	1.4465	2.0202	1.60	1.80
	เติมพร้อมกัน	3	1.8000	.20000	.11547	1.3032	2.2968	1.60	2.00
	Total	9	1.7111	.22608	.07536	1.5373	1.8849	1.20	2.00
60 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6667	.64291	.37118	.0696	3.2637	1.20	2.40
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.4000	.20000	.11547	.9032	1.8968	1.20	1.60
	เติมพร้อมกัน	3	1.4000	.20000	.11547	.9032	1.8968	1.20	1.60
	Total	9	1.4889	.37565	.12522	1.2001	1.7776	1.20	2.40

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
72 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.8000	.34641	.20000	.9395	2.6605	1.60	2.20
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.4000	.34641	.20000	.5395	2.2605	1.00	1.60
	เติมพร้อมกัน	3	1.4667	.30551	.17638	.7078	2.2256	1.20	1.80
	Total	9	1.5556	.34319	.11440	1.2918	1.8194	1.00	2.20
84 hr	เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6000	.34641	.20000	.7395	2.4605	1.20	1.80
	เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.2000	.20000	.11547	.7032	1.6968	1.00	1.40
	เติมพร้อมกัน	3	1.4000	.20000	.11547	.9032	1.8968	1.20	1.60
	Total	9	1.4000	.28284	.09428	1.1826	1.6174	1.00	1.80

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.000	2	.000	.	.
	Within Groups	.000	6	.000		
	Total	.000	8			
12 hr.	Between Groups	1.769	2	.884	7.960	.021
	Within Groups	.667	6	.111		
	Total	2.436	8			
24 hr.	Between Groups	1.929	2	.964	9.864	.013
	Within Groups	.587	6	.098		
	Total	2.516	8			
36 hr.	Between Groups	.702	2	.351	4.647	.060
	Within Groups	.453	6	.076		
	Total	1.156	8			
48 hr.	Between Groups	.062	2	.031	.538	.609
	Within Groups	.347	6	.058		
	Total	.409	8			

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
60 hr.	Between Groups	.142	2	.071	.432	.668
	Within Groups	.987	6	.164		
	Total	1.129	8			
72 hr.	Between Groups	.276	2	.138	1.240	.354
	Within Groups	.667	6	.111		
	Total	.942	8			
84 hr.	Between Groups	.240	2	.120	1.800	.244
	Within Groups	.400	6	.067		
	Total	.640	8			

12 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.2000	
เติมพร้อมกัน	3		1.0667
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3		1.2000
Sig.		1.000	.642

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

24 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	.3333	
เติมพร้อมกัน	3		1.2000
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3		1.4000
Sig.		1.000	.463

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

36 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.1333	
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.3333	1.3333
เติมพร้อมกัน	3		1.8000
Sig.		.407	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

48 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6000
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.7333
เติมพร้อมกัน	3	1.8000
Sig.		.362

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

60 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.4000
เติมพร้อมกัน	3	1.4000
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6667
Sig.		.465

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

72 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.4000
เติมพร้อมกัน	3	1.4667
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.8000
Sig.		.205

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

84 hr.

Duncan[a]

treament	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เติม *P.stipitis* ก่อน	3	1.2000
เติมพร้อมกัน	3	1.4000
เติม *S.cerevisiae* ก่อน	3	1.6000
Sig.		.117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ จ-19 ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	เขย่า	3	.0867	.01155	.00667	.0580	.1154	.08	.10
	นิ่ง	3	.0700	.00000	.00000	.0700	.0700	.07	.07
	Total	6	.0783	.01169	.00477	.0661	.0906	.07	.10
12 hr.	เขย่า	3	1.5667	.05132	.02963	1.4392	1.6941	1.51	1.61
	นิ่ง	3	2.0500	.39887	.23029	1.0591	3.0409	1.80	2.51
	Total	6	1.8083	.36712	.14988	1.4231	2.1936	1.51	2.51
24 hr.	เขย่า	3	2.3900	.27000	.15588	1.7193	3.0607	2.12	2.66
	นิ่ง	3	3.3267	.32005	.18478	2.5316	4.1217	2.96	3.55
	Total	6	2.8583	.57735	.23570	2.2524	3.4642	2.12	3.55
36 hr.	เขย่า	3	3.0000	.18083	.10440	2.5508	3.4492	2.83	3.19
	นิ่ง	3	3.3900	.13892	.08021	3.0449	3.7351	3.23	3.48
	Total	6	3.1950	.25774	.10522	2.9245	3.4655	2.83	3.48
48 hr.	เขย่า	3	2.7600	.07550	.04359	2.5725	2.9475	2.69	2.84
	นิ่ง	3	3.1267	.10263	.05925	2.8717	3.3816	3.04	3.24
	Total	6	2.9433	.21639	.08834	2.7162	3.1704	2.69	3.24
60 hr.	เขย่า	3	2.7333	.03215	.01856	2.6535	2.8132	2.71	2.77
	นิ่ง	3	2.9100	.06245	.03606	2.7549	3.0651	2.86	2.98
	Total	6	2.8217	.10647	.04347	2.7099	2.9334	2.71	2.98
72 hr.	เขย่า	3	2.6400	.01732	.01000	2.5970	2.6830	2.62	2.65
	นิ่ง	3	2.8133	.04163	.02404	2.7099	2.9168	2.78	2.86
	Total	6	2.7267	.09913	.04047	2.6226	2.8307	2.62	2.86
84 hr.	เขย่า	3	2.6033	.03055	.01764	2.5274	2.6792	2.57	2.63
	นิ่ง	3	2.7833	.05132	.02963	2.6559	2.9108	2.74	2.84
	Total	6	2.6933	.10558	.04310	2.5825	2.8041	2.57	2.84

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.000	1	.000	6.250	.067
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.001	5			
12 hr.	Between Groups	.350	1	.350	4.333	.106
	Within Groups	.323	4	.081		
	Total	.674	5			
24 hr.	Between Groups	1.316	1	1.316	15.012	.018
	Within Groups	.351	4	.088		
	Total	1.667	5			
36 hr.	Between Groups	.228	1	.228	8.775	.041
	Within Groups	.104	4	.026		
	Total	.332	5			
48 hr.	Between Groups	.202	1	.202	24.846	.008
	Within Groups	.032	4	.008		
	Total	.234	5			
60 hr.	Between Groups	.047	1	.047	18.980	.012
	Within Groups	.010	4	.002		
	Total	.057	5			
72 hr.	Between Groups	.045	1	.045	44.328	.003
	Within Groups	.004	4	.001		
	Total	.049	5			
84 hr.	Between Groups	.049	1	.049	27.252	.006
	Within Groups	.007	4	.002		
	Total	.056	5			

ตารางที่ จ-20 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0	sk	3	13.8937	.31932	.18436	13.1005	14.6870	13.53	14.11
	no	3	13.8375	.25578	.14768	13.2021	14.4729	13.68	14.13
	Total	6	13.8656	.26059	.10638	13.5922	14.1391	13.53	14.13
12 hr.	sk	3	2.8454	.60842	.35127	1.3340	4.3568	2.47	3.55
	no	3	6.5804	.03742	.02161	6.4875	6.6734	6.54	6.61
	Total	6	4.7129	2.08175	.84987	2.5283	6.8976	2.47	6.61
24 hr.	sk	3	2.5662	.30639	.17689	1.8051	3.3274	2.39	2.92
	no	3	3.2121	.40319	.23278	2.2105	4.2137	2.95	3.68
	Total	6	2.8892	.47718	.19481	2.3884	3.3899	2.39	3.68
36 hr.	sk	3	2.4208	.04626	.02671	2.3059	2.5357	2.37	2.45
	no	3	2.5200	.08838	.05103	2.3005	2.7395	2.42	2.60
	Total	6	2.4704	.08325	.03399	2.3831	2.5578	2.37	2.60
48 hr.	sk	3	2.3154	.06170	.03562	2.1621	2.4687	2.25	2.36
	no	3	2.3604	.09522	.05497	2.1239	2.5969	2.28	2.47
	Total	6	2.3379	.07587	.03097	2.2583	2.4175	2.25	2.47
60 hr.	sk	3	2.1663	.01850	.01068	2.1203	2.2122	2.15	2.19
	no	3	2.1146	.09582	.05532	1.8765	2.3526	2.02	2.21
	Total	6	2.1404	.06790	.02772	2.0692	2.2117	2.02	2.21
72 hr.	sk	3	2.0842	.09789	.05651	1.8410	2.3273	1.97	2.15
	no	3	2.0442	.11010	.06357	1.7707	2.3177	1.98	2.17
	Total	6	2.0642	.09572	.03908	1.9637	2.1646	1.97	2.17
84 hr.	sk	3	2.1171	.05815	.03357	1.9726	2.2615	2.07	2.18
	no	3	2.0796	.09240	.05335	1.8500	2.3091	1.98	2.16
	Total	6	2.0983	.07204	.02941	2.0227	2.1739	1.98	2.18

หมายเหตุ Sk = สภาวะเขย่า

No = สภาวะนิ่ง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.005	1	.005	.057	.823
	Within Groups	.335	4	.084		
	Total	.340	5			
12 hr.	Between Groups	20.925	1	20.925	112.632	.000
	Within Groups	.743	4	.186		
	Total	21.668	5			
24 hr.	Between Groups	.626	1	.626	4.880	.092
	Within Groups	.513	4	.128		
	Total	1.139	5			
36 hr.	Between Groups	.015	1	.015	2.965	.160
	Within Groups	.020	4	.005		
	Total	.035	5			
48 hr.	Between Groups	.003	1	.003	.472	.530
	Within Groups	.026	4	.006		
	Total	.029	5			
60 hr.	Between Groups	.004	1	.004	.841	.411
	Within Groups	.019	4	.005		
	Total	.023	5			
72 hr.	Between Groups	.002	1	.002	.221	.663
	Within Groups	.043	4	.011		
	Total	.046	5			
84 hr.	Between Groups	.002	1	.002	.354	.584
	Within Groups	.024	4	.006		
	Total	.026	5			

ตารางที่ จ-21 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	sk	3	6.7125	.70606	.40764	4.9585	8.4664	5.94	7.33
	no	3	6.5358	.75835	.43783	4.6519	8.4196	5.66	7.01
	Total	6	6.6241	.66243	.27044	5.9290	7.3193	5.66	7.33
12 hr.	sk	3	.2396	.41494	.23957	-.7912	1.2703	.00	.72
	no	3	1.3857	.04638	.02678	1.2704	1.5009	1.33	1.42
	Total	6	.8126	.68102	.27802	.0979	1.5273	.00	1.42
24 hr.	sk	3	.1248	.21614	.12479	-.4121	.6617	.00	.37
	no	3	.0160	.01876	.01083	-.0306	.0626	.00	.04
	Total	6	.0704	.14959	.06107	-.0866	.2274	.00	.37
36 hr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
48 hr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
60 nr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
72 hr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
84 hr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00

หมายเหตุ Sk = สภาวะเขย่า

No = สภาวะนิ่ง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.047	1	.047	.087	.782
	Within Groups	2.147	4	.537		
	Total	2.194	5			
12 hr.	Between Groups	1.970	1	1.970	22.604	.009
	Within Groups	.349	4	.087		
	Total	2.319	5			
24 hr.	Between Groups	.018	1	.018	.754	.434
	Within Groups	.094	4	.024		
	Total	.112	5			
36 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
48 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
60 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
72 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
84 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			

ตารางที่ จ-22 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการหมักในสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งด้วยเชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *P. stipitis* TISTR 5806 อัตราส่วน 1:2

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
0 hr.	sk	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	no	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
	Total	6	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
12 hr.	sk	3	1.0667	.46188	.26667	-.0807	2.2140	.80	1.60
	no	3	.6667	.11547	.06667	.3798	.9535	.60	.80
	Total	6	.8667	.37238	.15202	.4759	1.2575	.60	1.60
24 hr.	sk	3	1.4000	.40000	.23094	.4063	2.3937	1.00	1.80
	no	3	.7333	.11547	.06667	.4465	1.0202	.60	.80
	Total	6	1.0667	.45019	.18379	.5942	1.5391	.60	1.80
36 hr.	sk	3	1.4000	.34641	.20000	.5395	2.2605	1.20	1.80
	no	3	.8000	.20000	.11547	.3032	1.2968	.60	1.00
	Total	6	1.1000	.41473	.16931	.6648	1.5352	.60	1.80
48 hr.	sk	3	1.6000	.34641	.20000	.7395	2.4605	1.20	1.80
	no	3	.9333	.23094	.13333	.3596	1.5070	.80	1.20
	Total	6	1.2667	.45019	.18379	.7942	1.7391	.80	1.80
60 hr.	sk	3	1.4667	.30551	.17638	.7078	2.2256	1.20	1.80
	no	3	1.0000	.20000	.11547	.5032	1.4968	.80	1.20
	Total	6	1.2333	.34448	.14063	.8718	1.5948	.80	1.80
72 hr.	sk	3	1.5333	.30551	.17638	.7744	2.2922	1.20	1.80
	no	3	1.2000	.20000	.11547	.7032	1.6968	1.00	1.40
	Total	6	1.3667	.29439	.12019	1.0577	1.6756	1.00	1.80
84 hr.	sk	3	1.4667	.30551	.17638	.7078	2.2256	1.20	1.80
	no	3	1.2000	.40000	.23094	.2063	2.1937	.80	1.60
	Total	6	1.3333	.35024	.14298	.9658	1.7009	.80	1.80

หมายเหตุ Sk = สภาวะเขย่า

No = สภาวะนิ่ง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0 hr.	Between Groups	.000	1	.000	.	.
	Within Groups	.000	4	.000		
	Total	.000	5			
12 hr.	Between Groups	.240	1	.240	2.118	.219
	Within Groups	.453	4	.113		
	Total	.693	5			
24 hr.	Between Groups	.667	1	.667	7.692	.050
	Within Groups	.347	4	.087		
	Total	1.013	5			
36 hr.	Between Groups	.540	1	.540	6.750	.060
	Within Groups	.320	4	.080		
	Total	.860	5			
48 hr.	Between Groups	.667	1	.667	7.692	.050
	Within Groups	.347	4	.087		
	Total	1.013	5			
60 hr.	Between Groups	.327	1	.327	4.900	.091
	Within Groups	.267	4	.067		
	Total	.593	5			
72 hr.	Between Groups	.167	1	.167	2.500	.189
	Within Groups	.267	4	.067		
	Total	.433	5			
84 hr.	Between Groups	.107	1	.107	.842	.411
	Within Groups	.507	4	.127		
	Total	.613	5			

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวอิสรียา จันเกิด
วันเดือนปีเกิด	24 พฤษภาคม 2535
ที่อยู่ปัจจุบัน	42/1 หมู่ 6 ตำบลบ้านกล้วย อำเภอเมือง จังหวัดสุโขทัย 64000
ประวัติการศึกษา (2557)	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพืชสวน เกรดเฉลี่ย 2.93 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานวิชาการ	การผลิตไบโอเอทานอลจากผักตบชวาโดยใช้เชื้อร่วมกันของ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 และ *Pichia stipitis* TISTR 5806