บทที่ 4
ผลการดำเนินงานและการทดลอง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

4.1 ผลการศึกษากระบวนการลิเคอแฟกชัน (Liquefaction) ของมันเทศ โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

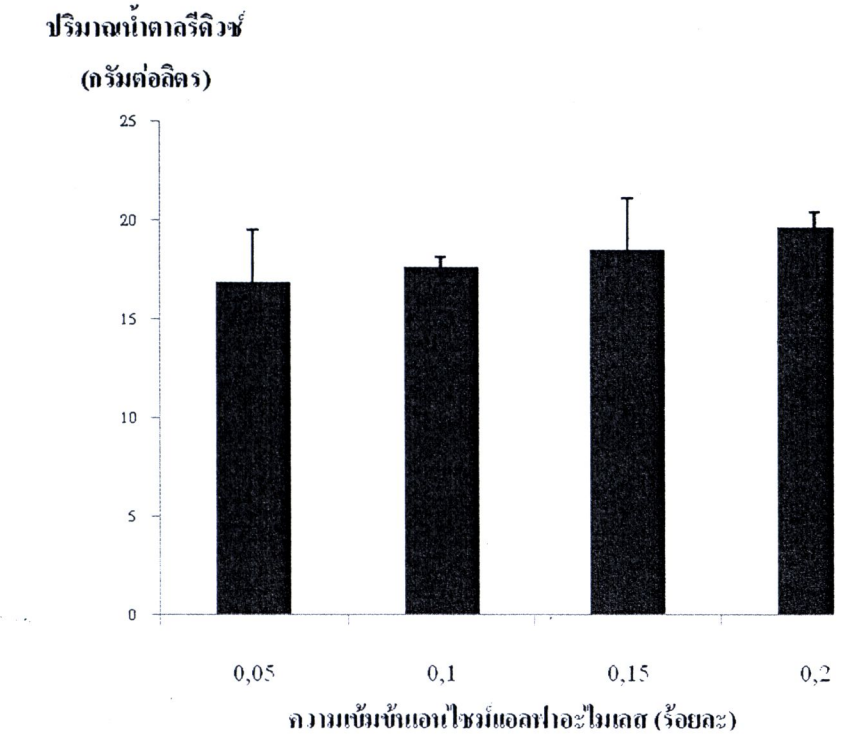
4.1.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้ว ปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสลงไปฟลาสก์ละ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.20 น้ำหนักต่อปริมาตร คือ 19.60 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.1 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Duangjai และคณะ (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งเมล็ดขนุน โดยใช้เอนไซม์และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จากการศึกษาพบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.20 น้ำหนักโดยปริมาตร ย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้ความเข้มข้น ร้อยละ 0.05 0.10 และ 0.15 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นต่างๆ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ในการทดลองต่อไปจึงใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ร้อยละ 0.05 เช่นเดียวกับการทดลองนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.05	16.85±2.64 [a]
0.10	17.62 ± 0.46 [a]
0.15	18.46 ± 2.64 [a]
0.20	19.60 ± 0.80 [a]

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ

4.1.2 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชัน

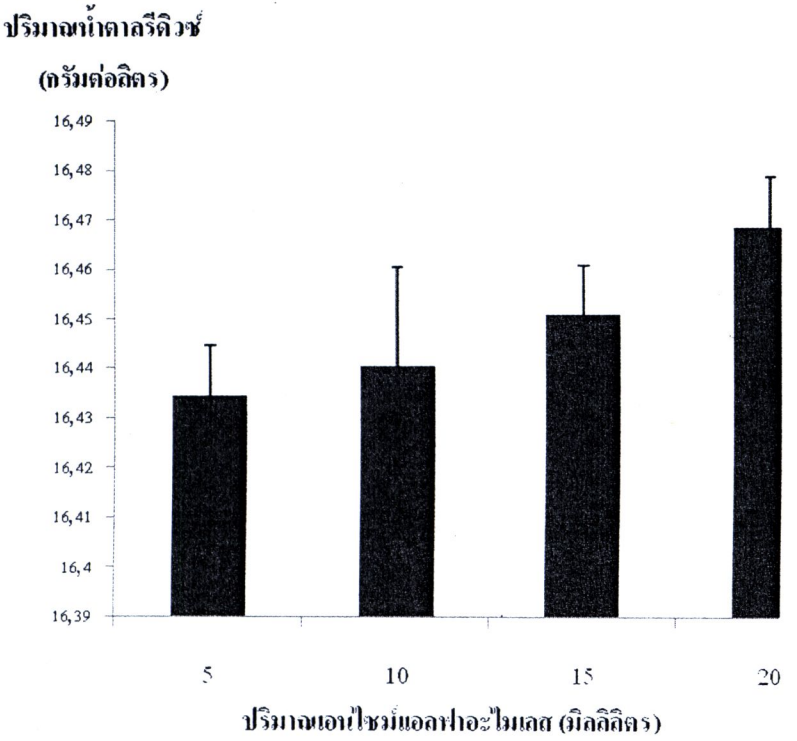
จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการอบแห้งแล้วปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปต้มบน Hot plate stirrer ที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยแปรผันปริมาณของสารละลายเอนไซม์ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 20 มิลลิลิตร คือ 16.47 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในปริมาณ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร

ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.2 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Duangjai และคณะ (2010) ซึ่งพบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ย่อยแป้งเมล็ดขนุนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสปริมาณ 5 10 และ 15 มิลลิลิตร แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้เอนไซม์ปริมาณ 5 10 และ 20 มิลลิลิตร ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกัน ในการทดลองต่อไปจึงได้ใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 5 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการประหยัดปริมาณเอนไซม์ที่ใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
5	16.43 ± 0.01^{a}
10	16.44 ± 0.02^{a}
15	16.45 ± 0.01^{a}
20	16.47 ± 0.01^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในกระบวนการลิเคอแฟกชันของแป้งมันเทศ

4.2 ผลการศึกษากระบวนการแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification) ของแป้งมันเทศ โดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

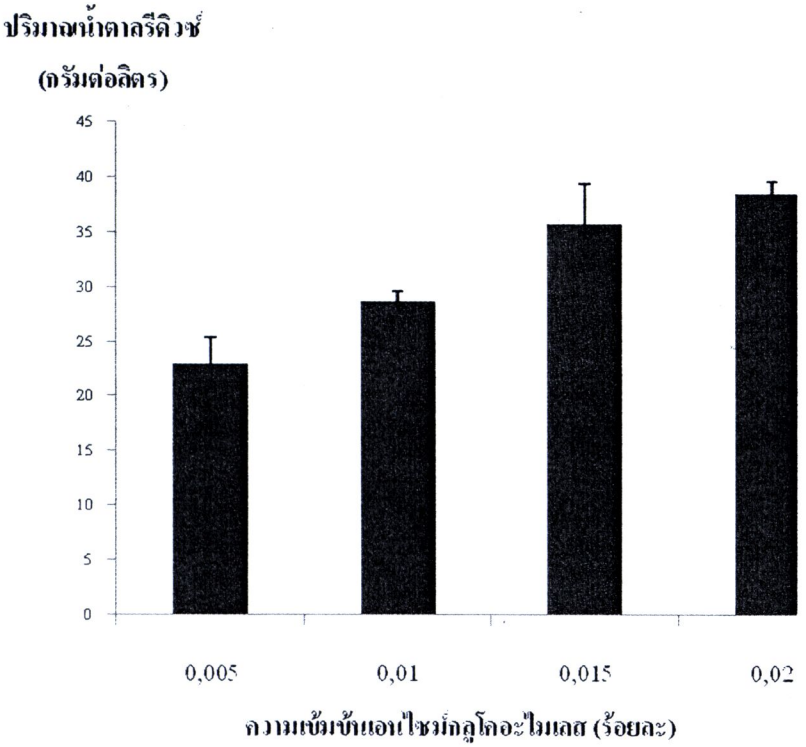
จากการนำแป้งมันเทศมาย่อยด้วยสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยแล้วมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยแปรผันความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 0.010 0.015 และ 0.020 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเติมสารละลายเอนไซม์ฟลาสก์ละ 10 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.020 คือ 38.37 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า การใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.020 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P>0.05$) กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 และมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 และ 0.010 แสดงดังตารางที่ 4.3 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.015 ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.3 แสดงผลความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
0.005	22.91 ± 2.45^{c}
0.010	28.59 ± 0.98^{b}
0.015	35.61 ± 3.65^{a}
0.020	38.37 ± 1.21^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยแปรผันความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคอะ ไมเลสในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ

4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน

จากการนำแป้งมันเทศมาย่อยด้วยสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยแล้วมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.015 โดยเติมสารละลายเอนไซม์ฟลาสก์ละ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วมาทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้วิธี Somogyi-Nelson พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 20 มิลลิลิตร คือ 41.78 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในปริมาณ 5 10 15 และ 20 มิลลิลิตร มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4 ดังนั้นในการ

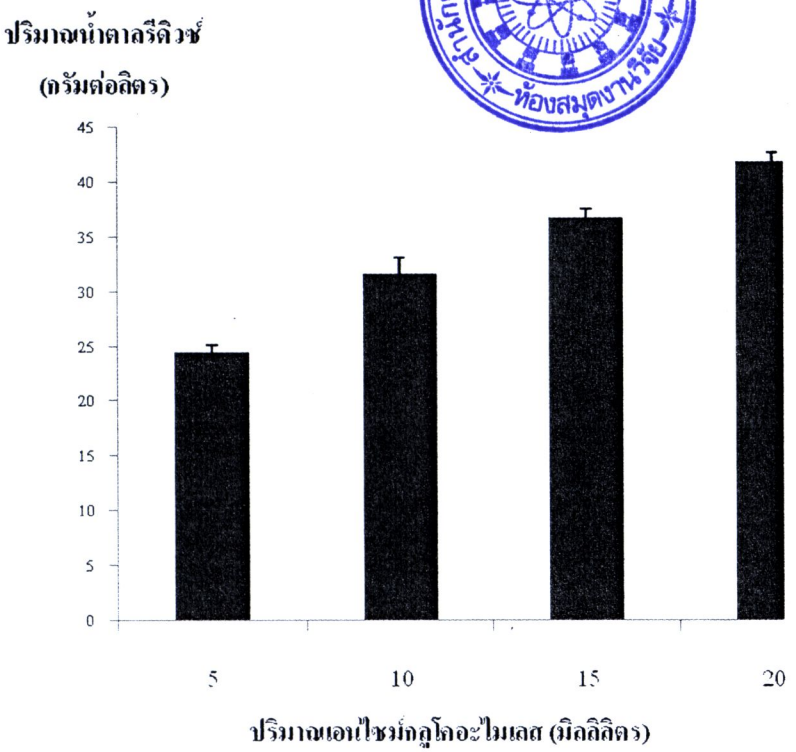
ทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.015 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงผลปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เหมาะสมต่อกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
5	24.43 ± 0.60^{d}
10	31.56 ± 1.45^{c}
15	36.71 ± 0.83^{b}
20	41.78 ± 0.80^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยแปรผันปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในกระบวนการแซคคาริฟิเคชันของแป้งมันเทศ

Jamai และคณะ (2007) ศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลจากแป้งโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* แบบอิสระและตรึงเซลล์ โดยสังเกตจากการแสดงออกของเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) และในการผลิตเอทานอลจากแป้ง ทำการเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ *Candida tropicalis* YMEC14 , *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces occidentalis* โดยพบว่า แป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสและทำการหมักแป้งด้วยเชื้อ *S. occidentalis* หรือ *C. tropicalis* จะทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น ร้อยละ 100 และพบว่าแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสแล้วทำการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* จะทำให้ผลผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นถึง ร้อยละ 400 เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสมาก่อนแล้วทำการหมักด้วยเชื้อ *S. occidentalis* และในการศึกษาครั้งนี้พบว่าในการหมักแป้งด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* จำเป็นต้องใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ในการย่อยแป้งก่อนการหมักควบคู่กัน เพื่อทำให้เกิดการหมักแป้งที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Eksteen (2003) และ Shigechi (2004) ด้วยเช่นกัน

4.3 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (Separate hydrolysis and fermentation ; SHF)

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมแล้วนำมาหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อยีสต์ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจากกระบวนการหมัก ได้ปริมาณเอทานอล 14.55 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.83 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.5

4.4 ผลการศึกษาการหมักเอทานอลจากแป้งมันเทศโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation ; SSF)

จากการนำแป้งมันเทศที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในสภาวะที่เหมาะสมมาย่อยต่อโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่มีความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมพร้อมกับการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจากกระบวนการนี้ ได้ปริมาณเอทานอล 12.62 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.56 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเอทานอลและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักแป้งมันเทศโดยกระบวนการ SHF และ SSF เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

กระบวนการหมัก	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	
SHF เวลาที่ใช้ทั้งหมด 78 ชั่วโมง	41.78 ± 0.65	0.83 ±0.06	14.55 ± 0.21
SSF เวลาที่ใช้ทั้งหมด 74 ชั่วโมง	16.43 ± 0.01	0.56 ±0.03	12.62 ± 0.17

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมัก โดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลแยกกับกระบวนการหมัก (SHF) ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมัก โดยการย่อยเป็นน้ำตาลพร้อมกับกระบวนการหมัก (SSF) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการหมักโดยการทำให้เป็นน้ำตาลแยกจากการหมัก หรือเรียกว่า Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) กระบวนการนี้เป็นการทำให้การย่อยของเอนไซม์ เกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงกว่ากระบวนการหมัก ซึ่งเป็นข้อดีเนื่องมาจากการใช้อุณหภูมิที่สูงในการย่อยของเอนไซม์ จะทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการหมัก ซึ่งต้องใช้อุณหภูมิในการหมักไม่สูงมากนัก (Sderstrm et al, 2005)

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และคณะ (2554) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกทุเรียนโดยใช้เชื้อยีสต์เดี่ยวและเชื้อยีสต์ผสม เปลือกทุเรียนเป็นผลพลอยได้จากผลิตผลทางการเกษตร จึงมีต้นทุนต่ำ การผลิตไบโอเอทานอลจากเปลือกทุเรียนได้นำมาใช้ในการศึกษา โดยกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลแยกจากกระบวนการหมัก (SHF) และกระบวนการทำให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมัก (SSF) ได้ศึกษาการปรับสภาพเปลือกทุเรียนโดยการใช้น้ำกลั่น กรดซัลฟุริกเจือจางและโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางที่อุณหภูมิ 121 และ135 องศาเซลเซียส การหมักทำโดยการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง ใช้เปลือกทุเรียน 1.5% สับสเทรตที่ปรับสภาพมาผสมกับเอนไซม์อะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส ไซแลนเนส เซลลูเลส และเพกติเนส จากการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5221 ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 6.19 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF ที่ให้ผลผลิตเอทานอล 5.88 กรัมต่อลิตร การผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR5045 ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 5.58 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 5.44 กรัมต่อลิตร และการผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5221 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 ร่วมกัน ในกระบวนการ SHF ได้ผลผลิตเอทานอลสูงสุด 9.39 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มากกว่าในกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 8.83 กรัมต่อลิตร

มีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาการหมักเอทานอลโดยกระบวนการหมักแบบ SSF และ SHF ส่วนใหญ่พบว่ากระบวนการหมักแบบ SSF ให้ผลผลิตเอทานอลที่สูงกว่ากระบวนการแบบ SHF ดังเช่นงานวิจัยของ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร (2554) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 *S. cerevisiae* KM1195 *S. cerevisiae* KM72553 และเชื้อยีสต์ผสมระหว่าง *S. cerevisiae* TISTR5048 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 จากการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลโดยเชื้อ *S. cerevisiae* KM1195 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงสุดจากกระบวนการ SSF โดยให้ผลผลิตเอทานอล 3.57 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้เชื้อผสมระหว่าง *S. cerevisiae*

TISTR5048 และ *Candida tropicalis* TISTR5045 พบว่าจากการหมักในกระบวนการ SHF ให้ผลผลิตเอทานอล 3.35 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ซึ่งให้ผลผลิตเอทานอล 3.22 กรัมต่อลิตร

Nikolic et al (2009) ศึกษาการหมักไบโอเอทานอลจากแป้งข้าวโพดโดยกระบวนการ simultaneous enzymatic saccharification and fermentation (SSF) โดยใช้เซลล์ตรึงรูปของ *Saccharomyces cereviae* var *ellipsoideus* พบว่าปริมาณเอทานอลสูงสุดที่ได้คือ ร้อยละ 9.42น้ำหนักต่อน้ำหนัก จะได้หลังจากการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมงโดยใช้กระบวน SSF ขณะที่เมื่อการใช้กระบวนการหมักแบบ SHF จะได้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.01 น้ำหนักต่อน้ำหนัก ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากระบวนการ SSF จะมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมากกว่า ใช้พลังงานน้อยกว่ากระบวนการ SHF และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการหมักเอทานอล พบว่ากระบวนการ SSF สามารถลดเวลาในการหมักลงได้ 4 ชั่วโมง (ในขั้นตอน saccharification) ซึ่งทำให้ประหยัดพลังงานและกระบวนการ SSF สามารถเกิดขึ้นได้ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (55 องศาเซลเซียส)

4.5 คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูง

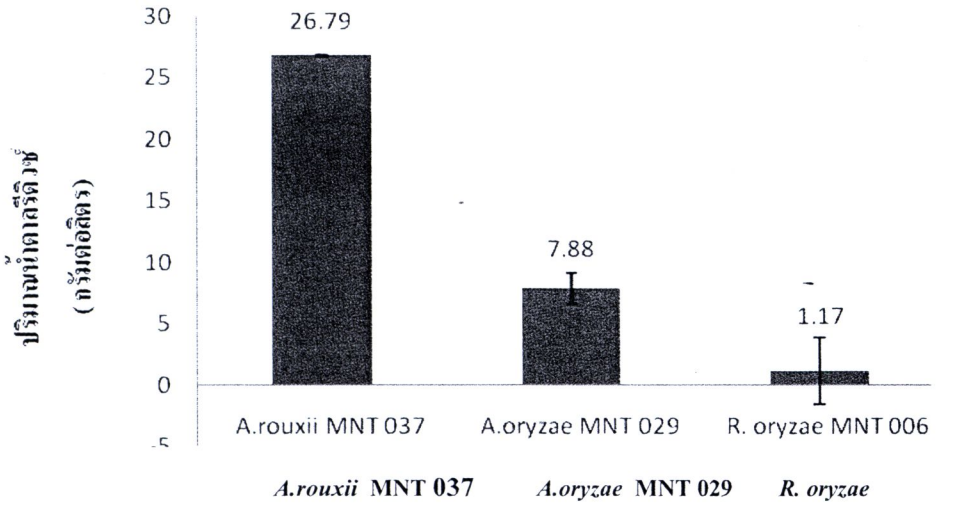
ศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลของเชื้อราแต่ละชนิด โดยเลี้ยงบนแป้งมันเทศเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยนำแป้งมันเทศ 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *Rhizopus oryzae* MNT 006 , *Amylomyces rouxii* MNT 037, *Aspergillus oryzae* MNT 029 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำการเก็บส่วนใสที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีการ Somogyi Nelson จากการทดลองพบว่า การใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 26.79 กรัมต่อลิตร ขณะที่ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.17 และ7.88 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.6 นำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเชื้อราทั้งสามชนิดมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้เชื้อราทั้งสามชนิด มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) จึงได้คัดเลือกเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มาใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ ศศิมา และคณะ (2552)

โดยศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนโดยเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า พบว่าการใช้เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้เชื้อ *R.oryzae* MNT 006 และ *A.oryzae* MNT 029

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้เชื้อราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะเขย่าที่ 130 รอบต่อนาทีที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

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

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อใช้ราชนิดต่างๆหมักแป้งมันเทศในสภาวะอาหารเหลว เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

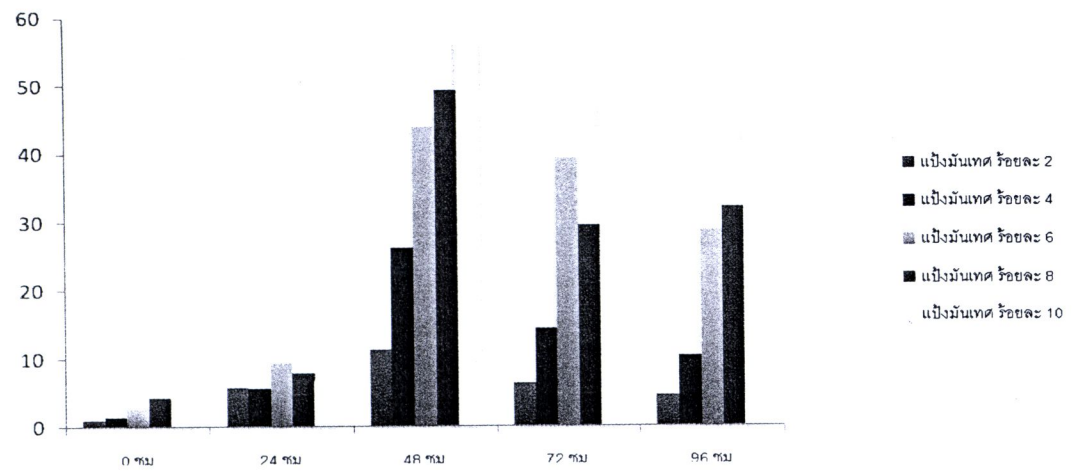
4.6 ผลความเข้มข้นของแป้งมันเทศและระยะเวลาการย่อยแป้งเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037

จากการศึกษาความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 2 4 6 8 และ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะสูงสุดที่ 48 ชั่วโมงของการหมักทุกความเข้มข้นของแป้งมันเทศ เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงตามระยะการหมัก อาจเนื่องมาจาก เชื้อ *A.rouxii* MNT 037 มีการเจริญมากขึ้น ในขณะที่สับสเตรทจะถูกใช้ไปเรื่อยๆตั้งแต่เริ่มใส่เชื้อ ทำให้สับสเตรทมีปริมาณลดลง จึงไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 และเมื่อใช้แป้งมันเทศ ร้อยละ 6 8 และ 10 หมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง คือ 43.81 48.77 และ 56.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้แป้งมันเทศ ความเข้มข้นร้อยละ 6 8 และ 10 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($P > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.7 และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะของสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศ ร้อยละ 6 จะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว มีความหนืดเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแป้งที่ได้จากการใช้ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 ซึ่งจะให้ลักษณะของสารละลายแป้งที่มีลักษณะเป็นของเหลว และมีความหนืดสูง ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองจะสอดคล้องกับการทดลองของ Talisa และคณะ (2010) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะ หลังโดยใช้เชื้อที่แยกได้จาก Tan-koji และ *S. cerevisiae* จากการทดลองหัวข้อนี้ จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้นของแป้ง ร้อยละ 6 และหมักโดยใช้ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูง มาใช้ในการศึกษาต่อไป Yuwa (2010) ศึกษาการปลดปล่อยน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้ง โดยใช้เชื้อรา 2 ชนิด คือ *Rhizopus* sp.#2Bu และ *Rhizopus* sp.#3Bu ย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังที่สุกแล้ว พบว่า ปริมาณน้ำตาลถูกสร้างขึ้นมาในระยะเวลาต่างๆ ของการย่อยแป้งโดยเอนไซม์จากเชื้อราทั้งสองชนิด น้ำตาลที่สร้างขึ้นมาเชื้อราเหล่านี้ใช้ในการเจริญ และน้ำตาลส่วนที่เหลือจะถูกวิเคราะห์ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ที่หลงเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้แป้งตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกมาจะเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะเชื้อ *Rhizopus* sp.#3Bu จะใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าเชื้อ *Rhizopus* sp.#2Bu ที่ความเข้มข้นต่างๆของแป้งพบว่าแป้งที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 หมักเป็นเวลา 3 วัน โดยจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 15.55 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นของแป้งมันเทศต่างๆและระยะเวลาหมักที่ต่างกัน โดยใช้เชื้อรา *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

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

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแถวแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



รูปที่ 4.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแป้งมันเทศที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ในระยะเวลาการหมักที่ต่างกัน

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

4.7.1 กระบวนการย่อยสลายแยกจากการหมัก (Separated Enzymatic Hydrolysis and Fermentation ,SHF)

จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตรหมักด้วยเชื้อ *A.rouxii* MNT 037 เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ปริมาตรร้อยละ 10 หมักต่อ 72 ชั่วโมง ที่สภาวะเดิม เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้น จากการทดลองพบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ใช้น้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยของ *A.rouxii* MNT 037 เปลี่ยนไปเป็นเอทานอล เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นปริมาณเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาล

รีดิวซ์ที่ลดลง เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากการหมักที่ระยะเวลา 24 48 และ72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.8

4.7.2 กระบวนการย่อยสลายกับการหมักเกิดขึ้นในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification and Fermentation , SSF)

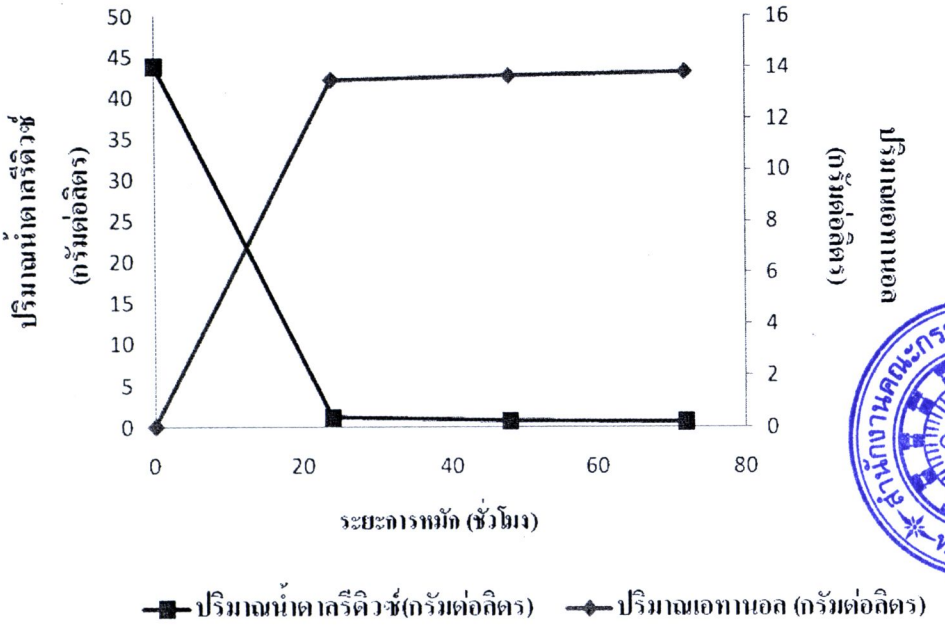
จากการใช้ความเข้มข้นของแป้งมันเทศร้อยละ 6 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอล จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะการหมักนานขึ้น ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้น ใน 72 ชั่วโมง ขบวนการหมักจะให้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักที่ 72 ชั่วโมง มีความแตกต่างทางสถิติกับปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักในชั่วโมงที่ 24 และ48 แสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF และSSF พบว่า จากการหมักโดยกระบวน SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF โดยพบว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอล 13.81 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 72 ของการหมักโดยใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมงขณะที่ใช้กระบวนการ SSF ใช้ปริมาณเอทานอล 9.51 กรัมต่อลิตรโดยใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Marques และคณะ (2008) ศึกษาการนำตะกอนที่ได้จากกระบวนการผลิตกระดาษมาผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการ SHF และ SSF โดยเชื้อ *Pichia stipitis* พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการ SHF คือ 19.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 179 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF ซึ่งให้ปริมาณเอทานอล 18.6 กรัมต่อลิตร ใช้เวลา 48 ชั่วโมง Saha และ Cotta (2006) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากฟางข้าวสาลีที่ย่อยด้วยเอนไซม์ พบว่า การหมักโดยกระบวนการ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการหมักแบบ SSF โดยมีปริมาณเอทานอล 18.9±0.9 กรัมต่อลิตร และ 15.1±0.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ กระบวนการหมักแบบ SHF และ SSF จะเสร็จสมบูรณ์ภายใน 48 ชั่วโมงของการหมักโดยกระบวนการหมักแบบ SHF ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่ากระบวนการSSF หลังจาก 48 ชั่วโมง ปริมาณเอทานอลจะคงที่หรือลดลงเล็กน้อย Saha และคณะ (2008) ศึกษาการใช้เปลือกข้าวที่ผ่านการบำบัดด้วยปูนขาวและใช้เอนไซม์ย่อยให้เป็นน้ำตาล จากนั้นนำมาหมักเอทานอล จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้กระบวนการหมักแบบ SHF ขั้นตอนในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ย่อยใช้เวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาหมักด้วย Recombinant *E.coli* strain FRR 5 ใช้เวลาหมัก 19 ชั่วโมง รวมเวลาที่ใช้ในการผลิตเอทานอล 99 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตเอทานอล 9.8 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ขณะที่ใช้กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาเพียง 53 ชั่วโมง และให้ผลผลิตเอ

ทานอล 11.0 ± 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะระยะเวลาที่ใช้หมัก จะเห็นได้ว่าการหมักโดยใช้กระบวนการ SHF ใช้เวลาในการหมักจริงน้อยกว่าการหมักโดยกระบวนการ SSF คือ 19 และ 53 ชั่วโมง ตามลำดับ Yuwa (2010) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อราที่คัดเลือกได้จากลูกแป้งและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiea* พบว่า *Rhizopus* sp.#3Bu ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้สูง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 25.9 จากการใช้แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 6 ที่เวลา 72 ชั่วโมง การหมักเอทานอลโดยใช้เชื้อผสมของ *Rhizopus* sp.#3Bu และ S. *cerevisiea* 5088 โดยเติมเชื้อยีสต์หมักเอทานอลภายหลังการเติมเชื้อราที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเอทานอลจะได้สูงสุดหลังจากเติมเชื้อราที่ 24 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณเอทานอล 14.36 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation) และกระบวนการหมักแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)

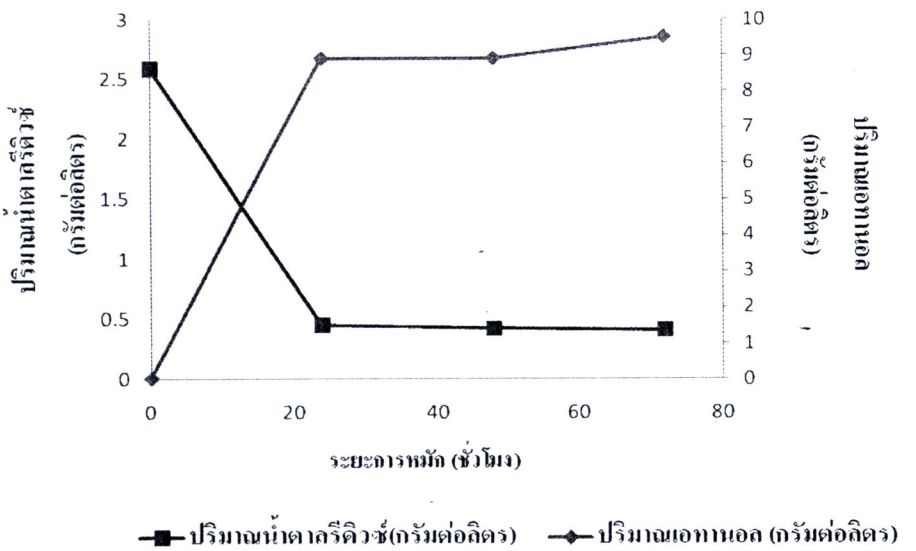
ระยะการหมัก (ชั่วโมง)	กระบวนการหมักแบบ SHF ใช้เวลาทั้งหมด 120 ชั่วโมง			กระบวนการหมักแบบ SSF ใช้เวลาทั้งหมด 72 ชั่วโมง		
	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
4	1.41 ± 0.06^{a}	13.49 ± 0.22^{a}	0.55 ± 0.01^{a}	0.45 ± 0.01^{a}	8.91 ± 0.10^{b}	0.36 ± 0.01^{b}
8	0.73 ± 0.03^{b}	13.65 ± 0.77^{a}	0.56 ± 0.03^{a}	0.42 ± 0.01^{b}	8.89 ± 0.24^{b}	0.36 ± 0.01^{b}
2	0.62 ± 0.02^{c}	13.81 ± 0.22^{a}	0.57 ± 0.01^{a}	0.41 ± 0.02^{b}	9.51 ± 0.16^{a}	0.39 ± 0.01^{a}

กำหนดให้ เมื่อพิจารณาในแนวตั้งตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณน้ำตาลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SHF (Separated Hydrolysis and Fermentation)



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation)