การศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์

The study of efficiency and cost of cassava plup hydrolysis by acid and enzymes

ณัฐพงษ์ ดิฐกุลชัยมงคล [1], ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์ [2]
[1]นิสิตระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี
[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยกากมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยกรดและเอนไซม์เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส การศึกษาแบ่งเป็นการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0 - 3.0 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 120 องศาเซลเซียส และการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส ผลการทดลองพบว่า สามารถย่อยกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ 79.17 กรัมต่อลิตร โดยการใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส ตามลำดับ สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้เท่ากับ 82.37 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าน้ำตาลกลูโคสที่ได้การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรด อย่างไรก็ตามพบว่าต้นทุนและความสิ้นเปลืองพลังงานในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดต่ำกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ถึง 16.46 และ 56.4 เท่า ตามลำดับ ผลจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการในการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลังต่อไป

คำสำคัญ : กากมันสำปะหลัง / น้ำตาลกลูโคส / การย่อยด้วยเอนไซม์ / การย่อยด้วยกรด

Abstract

This research aims to studied efficiency of cassava plup hydrolysis at a concentration of 10% (W/V) by acid and enzyme for converting starch into glucose. The cassava plup were hydrolyzed by using 0 – 0.3 M Sulfuric acid at a temperature of 60, 100 and 120 OC and the cassava plup were hydrolyzed by enzyme using α- amylase, glucoamylase and cellulose. The results showed that the maximum concentration of glucose at 79.17 g/L. were achieved by using 0.4 M. Sulfuric acid at 120 OC for 30 min. Glucose from enzymatic hydrolysis using α- amylase, glucoamylase and cellulase was 82.37 g/L. that was higher than glucose from acid hydrolysis. However, The costs and power consumption of cassava plup hydrolysis using acid hydrolysis was lower than enzymatic hydrolysis to 16.46 and 56.4 time, respectively. The results from this study can be use as a guideline for glucose production from cassava plup hydrolysis.

Keywords : Cassava pulp / Glucose / Enzymatic hydrolysis / Acid hydrolysis

บทนำ

กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังโดยมีสัดส่วนปริมาณถึงร้อยละ 10 ของหัวมันสำปะหลังสดที่ถูกนำเข้าสู่กระบวนการผลิต ปัจจุบันในโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมีการจัดการกับกากมันสำปะหลังโดยนำมาตากให้แห้งแล้วขายให้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ในราคาที่ต่ำมาก และถ้าไม่มีการจัดการที่ดีอาจทำให้เกิดปัญหาในการจัดเก็บ เกิดกลิ่นเหม็น กลายเป็นมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้

ในขณะที่องค์ประกอบส่วนใหญ่ในกากมันสำปะหลังประกอบไปด้วยแป้งและเส้นใยอยู่ในปริมาณสูงถึงร้อยละ 50 – 70 และ 20 – 30 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (Euis et al., 2011, Siriporn et al., 2012, Pandey et al., 2000) ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับคุณภาพของหัวมันสำปะหลังและกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังในแต่ละโรงงาน ด้วยองค์ประกอบดังกล่าวนั้นสามารถถูกเปลี่ยนให้มาเป็นน้ำตาลได้ โดยอาศัยกระบวนการย่อยด้วยกรดหรือการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งจะมีขั้นตอนและกระบวนการย่อยที่แตกต่างกันเพื่อให้ได้น้ำตาลปริมาณสูงที่สุด น้ำตาลที่ได้นั้นส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสารให้ความหวาน ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้ (El-Sharkawy, 2004) ทำให้กากมันสำปะหลังได้รับความสนใจเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ นำมาเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้ง ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงต้นทุนที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วย เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งในการตัดสินใจเพื่อต่อยอดการผลิตที่มีขนาดใหญ่ขึ้นหรือมีการพัฒนากระบวนการผลิตต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส
2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์

ขอบเขตงานวิจัย

ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแห้งโดยกระบวนการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกและกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส ทำการทดลองในห้อง BS6202 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยใช้เครื่อง High pressure liquid chromatography (HPLC) ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการย่อย และศึกษาต้นทุนในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์

การทบทวนวรรณกรรม

แนวคิด หลักการ และทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1. กากมันสำปะหลัง (Cassava pulp)

   กากมันสำปะหลังเป็นเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณมาก ซึ่งในการผลิตแป้งมัน

สำปะหลังแต่ละครั้งทำให้ได้กากมันสำปะหลังสูงถึงร้อยละ 10 ของน้ำหนักหัวมันสำปะหลังสด (Sriroth et al., 2000) การลดปริมาณกากมันสำปะหลังสามารถทำได้โดยการนำไปตากแห้ง และจำหน่ายในราคาถูกเพื่อผสมใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ แต่ในการลดปริมาณกากมันสำปะหลังด้วยการตากแดดให้แห้งจะต้องใช้พื้นที่มาก ใช้เวลานานเพราะกากมันสำปะหลังที่ได้มีความชื้นสูงประมาณร้อยละ 60-75 (Rattanachomsri et al., 2009) ซึ่งอาจทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์จากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในธรรมชาติส่งกลิ่นเหม็นรบกวนชาวบ้านในชุมชนโดยรอบโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง โดยกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะต้องใช้หัวมันสำปะหลัง นำไปล้างให้สะอาดและสับหัวมันสำปะหลังเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อนำเข้าเครื่องโม่บดให้ละเอียด ซึ่งจะได้ของเหลวที่ประกอบด้วย แป้ง น้ำ และกากมันสำปะหลังปนกันอยู่ จากนั้นนำของเหลวดังกล่าวเข้าเครื่องสกัดกาก ที่จะทำหน้าที่แยกกากมันสำปะหลังออกจากน้ำแป้งโดยอาศัยแรงเหวี่ยง หลังจากนั้นนำแป้งที่ได้ไปเข้าเครื่องอบแห้งแล้วบรรจุถุงต่อไป ส่วนกากมันสำปะหลังที่ได้จากเครื่องสกัดกากถูกนำไปเข้าเครื่องอัดกากมันสำปะหลัง แล้วตากแห้งในลานตาก

2. องค์ประกอบของกากมันสำปะหลัง

องค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังนั้นประกอบด้วยแป้งประมาณร้อยละ 68 และเส้นใย (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ประมาณร้อยละ 27 โดยน้ำหนักแห้ง (Sriroth et al., 2000) โดยมีโปรตีน ไขมัน เถ้า ในปริมาณที่ต่ำ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลัง (Sriroth et al., 2000)

องค์ประกอบ	ร้อยละกากมันสำปะหลังแห้ง
แป้ง	68.89 ± 4.00
ความชื้น	-
เถ้า	1.70 ± 0.01
โปรตีน	1.55 ± 0.03
เส้นใย	27.75 ± 0.20
ไขมัน	0.12 ± 0.01

3. การย่อยหรือไฮโดรไลซิส (hydrolysis) กากมันสำปะหลัง

การย่อยหรือไฮโดรไลซิสเป็นกระบวนการเปลี่ยนโพลีแซคคาไรด์ (แป้งและเซลลูโลส) เป็นน้ำตาล โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยอย่างสมบูรณ์คือ กลูโคส (สิริวรรณ แก้วชิงดวง, 2554) สามารถทำได้ 2 วิธีหลัก ๆ คือ

3.1 การย่อยด้วยสารเคมี (chemical hydrolysis) แบ่งเป็น

1. การย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) อาจแบ่งได้เป็น 2 กระบวนการ คือ

1.) กระบวนการที่ใช้กรดแก่ เช่น กรดไฮโดรคลอริก (Hydrocloric acid) หรือ กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric acid) ผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่ข้อเสียคือ สารละลายที่ได้มีความเป็นกรดสูง ต้องปรับสภาพก่อนนำไปใช้ และเกิดการผุกร่อนของเครื่องมือจากการใช้กรดแก่

2.) กระบวนการที่ใช้กรดอ่อน เป็นการใช้กรดอ่อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 180 องศาเซลเซียส วิธีการนี้จะไม่สามารถนำกรดกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่จะถูกทำให้เป็นกลางด้วยปูนขาว หรือแคลเซียมคาร์บอเนต

2. การย่อยด้วยด่าง (alkaline hydrolysis) สารเคมีที่นิยมใช้ในการย่อย คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซม์ (Sodium Hydroxide) เจือจาง ซึ่งจะมีผลทำให้สายของโพลีแซคคาไรด์สั้นลง ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียส

3.2 การย่อยด้วยเอนไซม์ (enzymetic hydrolysis)

การย่อยด้วยเอนไซม์ เพื่อเปลี่ยนแป้งและเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยทั่วไปจะผลิตจากเชื้อราและแบคทีเรีย เอนไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สิ่งมีชีวิตสร้างขึ้นเพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาภายในเซลล์และมีความจำเพาะต่อสับสเตรท จึงทำให้มีผลข้างเคียงน้อย ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงและไม่ทำให้เกิดการผุกร่อนของเครื่องมือ เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยแป้งและเส้นใย เพื่อเปลี่ยนแป้งและเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลคือ เอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์เซลลูเลส

1. เอนไซม์อะไมเลส (amylase) (Domingues and Peralta, 1993)

อะไมเลสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยสลายโมเลกุลของแป้ง ไกลโคเจน และสารอนุพันธ์ของโพลีแซคคาไรด์เป็นหน่วยย่อยของน้ำตาล ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของ เดกซ์ตริน (dextrin) และกลูโคส

1.) แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) พบทั่วไปทั้งในสัตว์และพืช ตลอดทั้งจุลินทรีย์หลายชนิด เอนไซม์มีบทบาทสำคัญในการย่อยแป้งให้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ โดยมีความเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา-1,4 (α-1,4) ในลักษณะตัดภายในสายโพลิเมอร์อย่างอิสระได้ผลผลิตเป็นกลูแคน (glucan) และ alpha-limit dextrin ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย

2.) กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และ รา มีลักษณะสำคัญของปฏิกิริยาการย่อยแป้งคือ สามารถย่อยสลายแป้งได้ทั้ง 2 พันธะ คือ พันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา -1,4 (α-1,4) และพันธะไกลโคซิดิกชนิดแอลฟา -1,6 (α-1,6) ผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคส ในการย่อยแป้งให้ได้โมเลกุลของกลูโคสจะต้องใช้กลูโคอะไมเลสร่วมกับแอลฟาอะไมเลส

2. เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลส ทำหน้าที่ตัดพันธะไกลโคซิดิกในเซลลูโลส ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ผลิตได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ข้าวมอลต์ ข้าวบาร์เลย์ ใบยาสูบ ไส้เดือนดิน ปลวก หอยทาก แบคทีเรีย และรา เป็นต้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สิริวรรณ แก้วชิงดวง (2554) ศึกษาการสภาวะการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์และกรดที่เหมาะสม เพื่อผลิตเป็นเอทานอล พบว่าการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการย่อยด้วยกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) โดยทำการย่อยที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาทีจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และการย่อยด้วยเอนไซม์โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส ย่อยที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่งโมง และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 899.11 มิลลิกรัมต่อกรัมกากมันสำปะหลัง และเมื่อนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไปหมัก พบว่า น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์จะให้ปริมาณ เอทานอลที่สูงกว่าน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยด้วยกรด

สวลี ดีประเสริฐ และคณะ (2555) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเป็นน้ำตาล โดยนำกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร มาแปรรูปเป็นน้ำตาลด้วยการดำเนินงานแบบต่อเนื่องเป็น 2 ขั้นตอน คือขั้นแรกคือใช้เอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (CTec 2) 1 มิลลิลิตร ในการย่อยเวลา 6 ชั่วโมง ให้น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด 8.21, 15.77 กรัมต่อลิตร และขั้นตอนที่สองเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ใช้เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง ให้น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด 18.24, 73.56 กรัมต่อลิตร และหลังจากนั้นใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ใช้เวลาในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล 12 ชั่วโมงให้น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด 65.80 , 73.56 กรัมต่อลิตร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและสารเคมี

- กากมันสำปะหลังแห้ง (Cassava pulp) ที่ได้รับจากบริษัท ช.ไชยวัฒน์ อุตสาหกรรม จำกัด จังหวัดชลบุรี โดยนำมาปั่นให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 10 เมช
- เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) GC 358 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) GC 147 และเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) Biocelle Fuel จากบริษัท สยามวิคทอรี่ เคมิคอล จำกัด
- กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) (H_2SO_4) เข้มข้น 98 %

2. การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 120 องศาเซลเซียส และศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 และ 3.0 โมลาร์ วิธีการทดลองเริ่มจากการเตรียมตัวอย่างกากมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยชั่งกากมันสำปะหลัง 10.7 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นใส่กรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นแตกต่างกันให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำขวดรูปชมพู่ไปทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) และที่อุณหภูมิ 100 และ 120 องศาเซลเซียสในหม้อหม้อนึ่งความดันไอสูง (Autoclave) เป็นเวลา 30 นาที ทุกพารามิเตอร์จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย ทำการเก็บตัวอย่างโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้มาปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็นกลางก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

3. การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

เตรียมตัวอย่างกากมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยชั่งกากมันสำปะหลัง 10.7 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วใส่น้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะมีขั้นตอนในการย่อยด้วยเอนไซม์ดังนี้

1. เอนไซม์เซลลูเลส (Biocelle Fuel) ความเข้มข้น 0.05 มิลลิลิตรต่อกรัมเซลลูโลส ที่สภาวะความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.8 แช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (GC 358) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.5 แช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3. เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (GC 147) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.5 แช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

ในการทดลองจะแบ่งเป็น 8 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลอง	กระบวนการ
1. Ce	ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส
2. Ce, A	ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และ แอลฟาอะไมเลส
3. Ce, A, G	ย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส
4. A	ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส
5. G	ย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส
6. A, G	ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส
7. A, G, Ce	ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และ เซลลูเลส
8. A, G + Ce	ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเก็บส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส ต่อจากนั้นนำกากมันสำปะหลังที่เหลือมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ในการทดลองปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ ทำการกวนผสมทุกๆ 1 ชั่วโมง โดยทุกชุดการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย แล้วเก็บตัวอย่างนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยเครื่อง High pressure liquid chromatography (HPLC) รุ่น Smartline ยี่ห้อ KNAUER ประเทศเยอรมันนี , RI Detector , Column : Eurokat H , Length x ID : 300 x8 mm. Mobile Phase : 0.01 N Sulfuric Acid Flow : 0.6 ml/min Temperature : 60 oC โดยเก็บตัวอย่างที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังมาปั่นเหวี่ยงที่ 9000 รอบต่อนาที แล้วนำส่วนใสมากรองผ่าน filter Membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวดวัดตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์

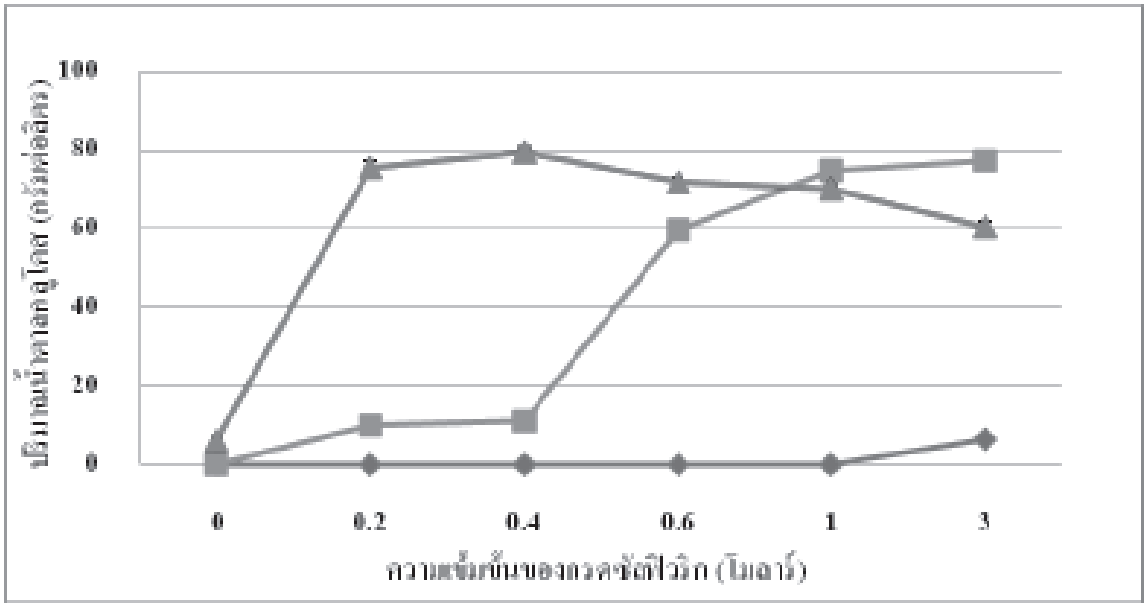
ผลการวิจัย

1. การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก

จากการทดลองย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยทดลองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 100 และ 120 องศาเซลเซียสในหม้อนึ่งความดันไอสูง เป็นเวลา 30 นาที และใช้กรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0 - 3.0 โมลาร์ พบว่าสามารถย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้ โดยการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนั้น สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ในปริมาณที่ต่ำ เนื่องจากการย่อยใช้อุณหภูมิที่ต่ำ ทำให้มีความร้อนไม่เพียงพอในการช่วยย่อยกากมันสำปะหลังร่วมกับกรด ในขณะที่การย่อยกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.4 โมลาร์ สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงที่สุดคือ 79.17 กรัมต่อลิตร (ดังภาพที่ 1) เมื่อใช้กรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.4 โมลาร์ ในการย่อยพบว่าทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลง และสารละลายที่ได้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เนื่องจากเกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการเช่นเดียวกับรายงานของ ธีรภัทรและคณะ (2549) ที่พบว่าสีน้ำตาลเข้มที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลมาจากการย่อยด้วยกรดที่มีความเข้มข้นสูง ทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีอื่น ๆ ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์เช่น เฟอฟิวรัล (furfural)

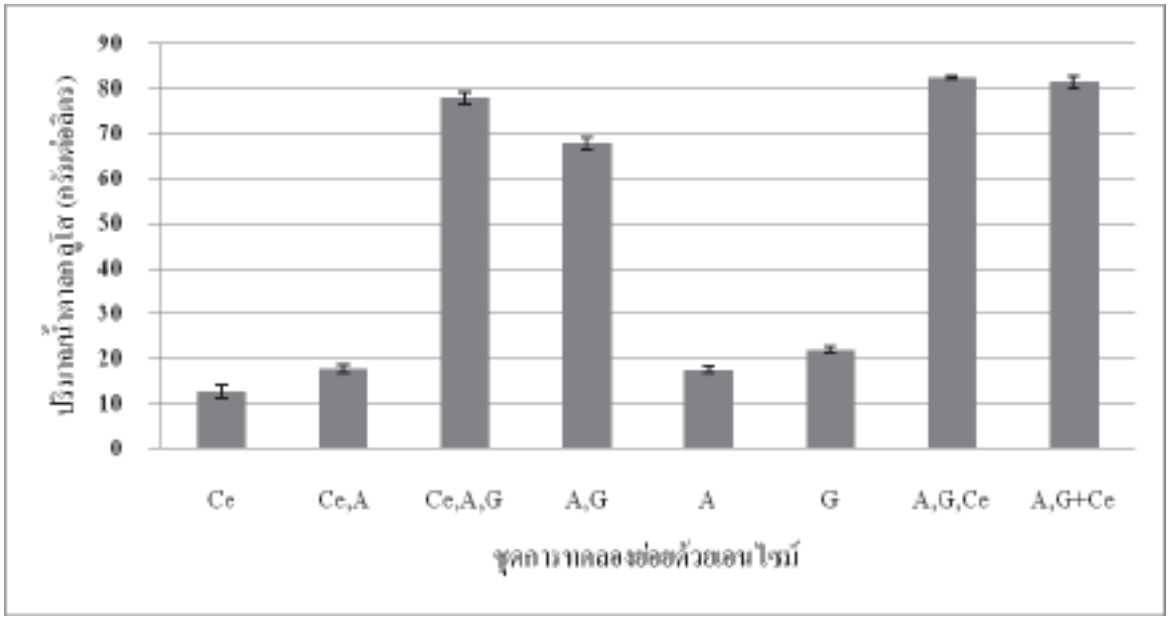
2. การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

จากการทดลองย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้เอนไซม์ที่แตกต่างกันคือ เอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส พบว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพียงชนิดเดียวในการย่อยกากมันสำปะหลังสามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ในปริมาณที่ต่ำ ซึ่งได้ผลเหมือนกันกับการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส หรือกลูโคอะไมเลสเพียงชนิดเดียวในการย่อย เมื่อใช้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดในการย่อยกากมันสำปะหลังพบว่า สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ปริมาณสูงโดยการย่อยกากมัน



ภาพที่ 1 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในสภาวะอุณหภูมิ (60 OC), (100 OC) และ (120 OC)

สำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส ตามลำดับ สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ปริมาณสูงที่สุดคือ 82.37 กรัมต่อลิตร (ดังภาพที่ 2) ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลสที่ย่อยเม็ดแป้งที่เกาะอยู่บริเวณนอกเส้นใยของกากมันสำปะหลังให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสส่วนหนึ่ง และการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสได้ย่อยเส้นใยเซลลูโลส ทำให้เม็ดแป้งที่อยู่ด้านในเส้นใยหลุดออก เป็นผลให้แป้งถูกเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยกลายเป็นน้ำตาลได้อีก



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน (Ce : เซลลูเลส, A : แอลฟาอะไมเลส, G : กลูโคอะไมเลส)

3. การศึกษาเปรียบเทียบต้นทุนในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์

จากการทดลองย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (10 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร) ที่ทดลองในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร พบว่า การใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ในการย่อยกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุด (79.17 กรัมต่อลิตร) ในขณะที่การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส ตามลำดับ สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุด (82.37 กรัมต่อลิตร)

เมื่อได้สภาวะการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์ที่สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้สูงที่สุดแล้วจึงนำมาศึกษาต้นทุนที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อย โดยแบ่งเป็นต้นทุนจาก 1. ค่าสารเคมีหรือเอนไซม์ 2. ความสิ้นเปลืองพลังงาน ผลการวิเคราะห์พบว่าการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดมีต้นทุนค่าสารเคมี 0.444 บาท และมีความสิ้นเปลืองพลังงาน 1.5 กิโลวัตต์-ชั่วโมง (แสดงในตารางที่ 2) ซึ่งมีต้นทุนที่ต่ำกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ถึง 16.46 และ 56.4 เท่า ในขณะที่การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์มีต้นทุนการผลิตที่สูง เนื่องมาจากเอนไซม์เซลลูเลสมีราคาแพง และกระบวนการย่อยใช้เวลายาวนาน ทำให้เกิดความสิ้นเปลืองพลังงานที่สูง

ตารางที่ 2 ต้นทุนในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลัง

การย่อยกากมันสำปะหลัง (10 %w/v) ด้วยกรด	**ต้นทุน**
- กรดซัลฟิวริก[1]	0.444 บาท
- ความสิ้นเปลืองพลังงาน[2] (เวลา 30 นาที)	1.5 กิโลวัตต์-ชั่วโมง
การย่อยกากมันสำปะหลัง (10 %w/v) ด้วยเอนไซม์	
- เอนไซม์ (เซลลูเลส, แอลฟาอะไมเลส, กลูโคอะไมเลส)[3]	7.310 บาท
- ความสิ้นเปลืองพลังงาน[4] (เวลา 47 ชั่วโมง)	84.6 กิโลวัตต์-ชั่วโมง

หมายเหตุ : (1) กรดซัลฟิวริก 0.4 โมลาร์ (กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 18 M ราคา 200 บาท/ลิตร)

(2) หม้อนึ่งความดันไอสูง (Auto clave) Model : WACS-1060 Korea, 230 V., 3000 W.

(3) เซลลูเลส Biocelle Fuel ราคา 4,870 บาท/ 50 ml., แอลฟาอะไมเลส GC358 ราคา 195 บาทต่อกิโลกรัม, กลูโคอะไมเลส GC147 ราคา 190 บาทต่อกิโลกรัม

(4) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) Memmert WNB14 Germany, 230 V., 1800 W.

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรด พบว่าการใช้อุณหภูมิสูงที่ 120 องศาเซลเซียส สามารถย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลได้มากกว่าการย่อยโดยใช้อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากการใช้อุณหภูมิที่สูงทำให้องค์ประกอบที่ซับซ้อนในกากมันสำปะหลังจำพวกเยื่อใยแตกออก ทำให้เม็ดแป้งหลุดออกได้ง่ายขึ้น ส่งผลให้ได้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้นด้วย ในขณะที่การใช้กรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นสูงจะเกิด

ปฏิกิริยาที่รุนแรง ทำให้กากมันสำปะหลังเสียสภาพและเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการมากกว่าการย่อยโดยใช้กรดที่เข้มข้นน้อยกว่า ซึ่งพบว่าการใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่สามารถย่อยกากมันสำปะหลังได้เป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเท่ากับ 79.17 กรัมต่อลิตร ส่วนการศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์พบว่า การย่อยโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส ตามลำดับ ในการย่อยส่งผลให้สามารถย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุดเท่ากับ 82.37 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการย่อยด้วยกรด ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสค่อนข้างบริสุทธิ์เนื่องจากความจำเพาะของเอนไซม์ที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคส มีปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง แต่ใช้เวลายาวนานในกระบวนการย่อย เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยด้านต้นทุนและความสิ้นเปลืองพลังงานของกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์แล้วพบว่าการใช้กรดย่อยกากมันสำปะหลังมีต้นทุนและความสิ้นเปลืองพลังงานที่ต่ำกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์

ทั้งนี้ผลการศึกษาที่ได้จะใช้เป็นแนวทางในการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการในการย่อยกากมันสำปะหลังที่เหมาะสมเพื่อนำน้ำตาลกลูโคสที่ได้ไปใช้งานต่อไป อาจต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านอื่น ๆ ประกอบด้วย เช่น จุดประสงค์ของการนำน้ำตาลที่ได้ไปใช้ เครื่องมือเครื่องจักรในการทำงาน ผลกระทบที่มีต่อสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ขณะที่งานวิจัยในครั้งนี้ใช้กากมันสำปะหลังแห้งเพียงอย่างเดียว ควรศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังสดด้วยและงานวิจัยต่อไปควรมีการศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์โดยให้ใช้เวลาที่สั้นลงเพื่อเป็นการปรับลดค่าพลังงานซึ่งจัดเป็นต้นทุนสำคัญในกระบวนการย่อย

เอกสารอ้างอิง

สวลี ดีประเสริฐ, ศุภชัย บุญนำมา, วิทยา บุตรทองมูล, บุปผา ชินเชิดวงศ์ และวีระ โลหะ. (2555). **การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเป็นน้ำตาล.** วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 15(3), 39-46.

สิริวรรณ แก้วชิงดวง. (2554). **การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการบำบัดขั้นต้น.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. (2551). **เอนไซม์ดัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Chotineeranat, S., Pradistsuwana, C., Siritheerasas, P., Tantratian, S. (2004). **Reducing sugar production from cassava pulp using enzymes and ultrafiltration I: enzymatic hydrolyzation.** The Journal of Scientific Research Chulalongkorn University. 29(2), 119-128.

Domingues, C. M., Peralta, R. M. (1993). **Production of amylase by soil fungi and partial biochemical characterization of amylase of selected strain (Aspergillus fumigates Fresennius).** Canadain Journal of Microbiology. 39, 681-685.

El-Sharkawy, M. A., (2004). **Cassava biology and physiology.** Plant Mol. Biol. 56, 481–501.

Euis, H., Jun, i. A., Djumali, M., Titi, C. S., Ono, S., Bambang, P. (2011). **Hydrolysis of carbohydrates in cassava pulp and tapioca flour under microwave.** Indo. J. Chem. 11, 238–245.

Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Soccol, V. T., Vanderberghe, L. P. S., Mohan, R. (2000). **Biotechnological potential of agro-industrial residue.** II: cassava bagasse. Bioresour. Technol. 74, 81–87.

Rattanachomsri, U., Tanapongpipat, S., Eurwilaichitr, L., Champreda, V. (2009). **Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multienzyme activity and ethanol fermentation by Candida tropicalis.** Journal of Bioscience and Bioengineering. 170(5), 488-493.

Siriporn, C., Yuka, M., Wonnop, V., Kota, O., Gaku, S., Seung, H. L., Kazuhiko, I. (2012). **Application of thermophilic enzymes and water jet system to cassava pulp.** Bioresource Technology. 126, 87-91.

Sriroth, K., Chollakup, R., Chotineeranat, S., Piyachomkwan, K., & Christopher, G.O. (2000). **Processing of cassava waste for improved biomass utilization.** Bioresource Technology. 71, 63-69.