ว.วิทย. มข. 45(4) 904-913 (2560) KKU Sci. J. 45(4) 904-913 (2017)

ผลของวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังที่มีต่อการผลิตน้ำตาล

Effect of Pretreatment Methods of Cassava Residue on Sugar Production

เขมนิจจารีย์ สาริพันธ์[1*] และ อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ[2]

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี จังหวัดลพบุรี 15000

[2]สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ 32000

[*]Corresponding Author, Email: fangkum.a@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังต่อการผลิตน้ำตาลที่ใช้สำหรับการหมัก วิธีที่ใช้ในการศึกษาการปรับสภาพ ได้แก่ การปรับสภาพด้วยกรด ด่าง เอนไซม์ กรดร่วมกับเอนไซม์และด่างร่วมกับเอนไซม์ ผลจากการศึกษาพบว่าการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์เป็นวิธีที่สามารถย่อยกากมันสำปะหลังและได้น้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 49.50 กรัมต่อลิตร วิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสก่อนทำการย่อยด้วยเอนไซม์ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสได้ 3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีการย่อยด้วยด่างเพียงอย่างเดียวนอกจากนั้นการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์เป็นเวลา 12 ชั่วโมงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังและได้น้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นเป็น 16.36 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีการย่อยด้วยด่างเพียงอย่างเดียว กากมันสำปะหลังมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งของวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลเพื่อการหมักเนื่องจากมีปริมาณมาก ราคาถูก และที่สำคัญสามารถนำมาย่อยสลายแล้วให้ปริมาณน้ำตาลสูง ดังนั้นกากมันสำปะหลังจึงเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาล

ABSTRACT

This research aims to study the effects of pretreatment methods of cassava residue on fermentable sugar production. The studied pretreatment methods included enzyme, acid, alkaline, acid and enzyme, alkaline and enzyme pretreatment methods. The results showed that alkaline and enzyme pretreatment method yielded the maximum fermentable sugar production

of 49.50 g/L. Pretreating cassava residue with 2% w/v NaOH for 24h at 50^0C improved enzymatic sacharification about 3-fold when compared to sample pretreated with alkaline. In addition, the reducing sugar increased in 16.3-fold from samples treated with alkaline when using alkaline couple enzyme pretreatment. Because its abundance, low cost and high sugar conversion, cassava residue is a suitable feedstock for sugar production.

คำสำคัญ: วิธีการปรับสภาพ กากมันสำปะหลัง การผลิตน้ำตาล

Keywords: Pretreatment method, Cassava residue, Sugar production

บทนำ

กากมันสำปะหลัง (Cassava residue) เป็นวัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) จากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่แต่ละปีมีปริมาณสูงถึงสองล้านตันหรือคิดเป็นร้อยละ 1.11 ของผลผลิตมันสำปะหลังที่เข้าสู่กระบวนการผลิต (สวลี และคณะ, 2555) และกากมันสำปะหลังเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามยังมีปริมาณกากมันสำปะหลังที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ซึ่งถูกกำจัดโดยกระบวนการเผาหรือฝังกลบทำให้ส่งผลกระทบกับสิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเป็นมลพิษทางดิน ทางน้ำ และทางอากาศ (รัชพล, 2558) วัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลสส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 40-60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 15-30 ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง (รัชพล, 2558; Lee และคณะ, 2008) เมื่อทำการย่อยลิกโนเซลลูโลสจะได้น้ำตาลประเภทต่างๆ เช่น ไซโลส กลูโคส และอะราบิโนสซึ่งน้ำตาลดังกล่าวสามารถเปลี่ยนให้เป็นสารที่มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นได้ เช่น เชื้อเพลิงชีวภาพ และยังใช้เป็นสารเริ่มต้นในการผลิตโอลิโกแซคคาร์ไรด์เพื่อเป็นสารเสริมในอาหารคนและสัตว์ (Howard และคณะ, 2003) ซึ่งเป็นทางเลือกในการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลสและเป็นการลดมลภาวะเป็นพิษที่อาจเกิดจากขั้นตอนการกำจัดของวัสดุเหลือทิ้ง อย่างไรก็ตามการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งประเภทลิกโนเซลลูโลสมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดนั้นจะต้องทำการปรับปรุงโครงสร้างหรือกำจัดองค์ประกอบลิกนิน ที่ขัดขวางการทำงานของกรดหรือเอนไซม์ในกระบวนการย่อยเพื่อผลิตน้ำตาลซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งและมีค่าใช้จ่ายสูง (Mosier และคณะ, 2005) ขั้นตอนดังกล่าว คือการปรับสภาพ (pretreatment) วิธีการปรับสภาพมีหลายวิธีได้แก่ วิธีทางกายภาพ เคมี และ ชีวภาพ การปรับสภาพโดยวิธีทางกายภาพ เช่นการใช้แรงกลเพื่อลดขนาดของวัสดุเหลือทิ้ง การปรับสภาพโดยวิธีทางเคมี เช่น การใช้กรดหรือด่าง และการปรับสภาพโดยวิธีทางชีวภาพ เช่น การใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์ เป็นต้น โดยกระบวนการและสภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งแต่ละวิธีจะส่งผลต่อโครงสร้างของวัสดุเหลือทิ้งแตกต่างกัน (รัชพล, 2558) เพราะฉะนั้นการเลือกใช้กระบวนการปรับสภาพและสภาวะที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากจะช่วยลดค่าใช้จ่ายและเพิ่มประสิทธิภาพในขั้นตอนการย่อย จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสเชิงพาณิชย์ พบว่า การปรับสภาพวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย และซังข้าวโพดด้วยด่างจะเพิ่มปริมาณองค์ประกอบของเซลลูโลสแต่เฮมิเซลลูโลสกับลิกนินจะมีปริมาณลดลง ในขณะที่การ

ใช้กรดปรับสภาพนั้นจะทำให้ปริมาณองค์ประกอบภายในเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยหรือแทบไม่มีการเปลี่ยนแปลงเลย (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2555) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของฟางข้าวบาร์เลย์เมื่อทำการปรับสภาพด้วยด่างความเข้มข้น 2% พบว่า เซลลูโลสมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด สามารถทำลายโครงสร้างส่วนเฮมิเซลลูโลสและลิกนินได้ดีช่วยเพิ่มผลได้ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงถึง86เปอร์เซ็นต์ (Haque และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าการผลิตโอลิโกแซคคาร์ไรด์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยสารละลายเอนไซม์สกัดหยาบ ได้แก่ กากกาแฟและกากมะพร้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับการใช้ความร้อนให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่ากากกาแฟและกากมะพร้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (สุดาทิพย์และคณะ, 2556) ดังนั้นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพและประโยชน์สูงสุดของการใช้กากมันสำปะหลังที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง จึงทำการศึกษาวิธีการและสภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งกากมันสำปะหลังให้เหมาะสมในการย่อยเพื่อผลิตน้ำตาลและนำไปใช้ในกระบวนการผลิตสารที่มีมูลค่าเพิ่มต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

การเตรียมกากมันสำปะหลัง

นำกากมันสำปะหลังที่เหลือจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งได้จากโรงงานอุตสาหกรรมมาลดความชื้นโดยการตากแดดก่อนนำไปลดขนาดด้วยการบดเพื่อให้มีขนาด 0.5 มิลลิเมตรจากนั้นชั่งกากมันสำปะหลัง 10 กรัม เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในกรณีที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งเป็นเอนไซม์ทางการค้า (Cellic C-Tec2) ให้ใช้สารละลายโซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 แทนการใช้น้ำกลั่น จากนั้นนำเข้าหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จึงนำไปใช้ในศึกษาวิธีการย่อยต่างๆ

การศึกษาวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง

ศึกษาวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังที่ผ่านการบดแล้วโดยแปรผันวิธีการในการปรับสภาพกากมันสำปะหลังเป็น 5 วิธี คือ

1. การปรับสภาพด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 15 FPU/กรัมกากมันสำปะหลัง ที่ความเป็นกรดด่าง 5.0

2. การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

3. การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

4. การปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์โดยแช่กากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 5.0 จึงเติมเอนไซม์เซลลูเลสให้ได้ความเข้มข้น 15 FPU/กรัมกากมันสำปะหลัง

5. การปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์โดยแช่กากมันสำปะหลังด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วทำการปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 5.0 จึงเติมเอนไซม์เซลลูเลสให้ได้ความเข้มข้น 15 FPU/กรัมกากมันสำปะหลัง

โดยทุกสภาวะในการปรับสภาพจะใช้อัตราส่วนกากมันสำปะหลังต่อน้ำเป็น 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง โดยมีการกวนผสมตลอดเวลา หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในไฮโดรไลเสทกากมันสำปะหลังโดยวิธี Modified Phenol Sulfuric Method (ดัดแปลงจาก Dobois

และคณะ, 1956) และ DNS method (Miller, 1959) วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โดยวิธี Filter Paper Unit Assay ของ Adney และ Baker (1996) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยและเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

ส่วนประกอบของกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีปริมาณ คาร์โบไฮเดรต เซลลูโลลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส เท่ากับ 44.55 31.78 และ16.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งคาร์โบไฮเดรตที่พบในกากมันสำปะหลังนี้อาจเป็นส่วนของแป้งที่ตกค้างในกากมันซึ่งสามารถถูกย่อยได้ด้วยกรดหรือด่าง ส่วนเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสสามารถถูกย่อยด้วยกรด ด่าง หรือเอนไซม์เมื่อส่วนประกอบดังกล่าวถูกย่อยจะทำให้ได้น้ำตาลที่สามารถนำมาใช้ในการหมักต่อไปได้ (Chairattana-manokorn et al.,, 2009; Dawson and Boopath, 2009; Fangkum and Reungsang, 2011; Zhang et al., 2011)

ผลของวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

กากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาศึกษาการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่

การปรับสภาพด้วยเอนไซม์ การปรับสภาพด้วยกรด การปรับสภาพด้วยด่าง การปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์ การปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์ ผลจากการศึกษาวิธีการปรับสภาพแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งพบว่าการปรับสภาพด้วยการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมงให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุดเท่ากับ 2.14-3.32 กรัมต่อลิตร การปรับสภาพด้วยการใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่เวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 14.66-17.44 กรัมต่อลิตร ส่วนการปรับสภาพด้วยเอนไซม์เซลลูเลสความเข้มข้น 15 FPU/กรัมสารตั้งต้น ที่ความเป็นกรดด่าง 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการปรับสภาพด้วยกรดและด่างประมาณ 1.7-9 เท่า ที่ 24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากที่สุดในการปรับสภาพด้วยเอนไซม์โดยใช้เวลาในการย่อยน้อยที่สุดเท่ากับ 30.05 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อทำการปรับสภาพด้วยการใช้กรดร่วมกับเอนไซม์ ผลการศึกษาพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการปรับสภาพด้วยกรดหรือเอนไซม์เพียงอย่างเดียว ในทำนองเดียวกัน การปรับสภาพด้วยการใช้ด่างร่วมกับเอนไซม์ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบการปรับสภาพด้วยด่างหรือเอนไซม์เพียงอย่างเดียว การปรับสภาพด้วยการใช้กรดร่วมกับเอนไซม์ที่เวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเวลาในการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์ที่เหมาะสมคือ 6 ชั่วโมง ส่วนการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดเท่ากับ 39.02 กรัมต่อลิตร ที่เวลาในการปรับสภาพ 12 ชั่วโมง จากผลการวิจัยดังกล่าวจะเห็นได้ว่ากากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนนำไปย่อยร่วมกับเอนไซม์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ทำให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ที่

เพิ่มขึ้นเป็น 2.2 และ 16.3 เท่า ที่เวลา 12 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่มีการปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เพิ่มขึ้นจากการย่อยเนื่องจากโครงสร้างและพันธะภายในโมเลกุลของกากมันสำปะหลังถูกทำลายด้วยกรดหรือด่าง เอนไซม์จึงเข้าไปทำงานได้ง่ายขึ้น ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Li และคณะ, 2012 (Li et al., 2012) ที่รายงานว่าการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยกรดอ่อนจะทำให้โครงสร้างที่แข็งแรงของลิกโนเซลลูโลสถูกแยกหรือแตกออก ซึ่งจะช่วยส่งเสริมให้เกิดรูพรุนและการย่อยด้วยเอนไซม์ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ส่วนการย่อยด้วยด่างจะช่วยในการกำจัดลิกนินซึ่งเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส (Hendriks and Zeeman, 2009) และยังช่วยให้ความเป็นผลึกของเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังลดลง (Marzieh et al., 2014) จึงส่งผลดีต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ทำให้เกิดประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 1 ผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ

Pretreatment methods	Reducing sugar (g/L)				
	6 h	12 h	24 h	36 h	48 h
Acid	14.66[a]	17.02[b]	17.30[b]	17.39[b]	17.44[b]
Alkaline	2.56[b]	2.40[b]	3.32[c]	2.02[a]	2.14[ab]
Enzyme	24.83[ab]	24.72[a]	30.05[b]	26.78[ab]	28.61[b]
Acid+Enzyme	33.40[a]	37.68[a]	38.46[a]	33.03[a]	34.52[a]
Alkaline+Enzyme	35.12[ab]	39.02[d]	36.78[c]	35.96[bc]	34.39[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษในระหว่างแถวที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันเมื่อทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลของการปรับสภาพกากมันสำปะหลังต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการต่างๆ ผลจากตารางแสดงให้เห็นว่า การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยการใช้ด่างทำให้มีผลปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (10.24-14.67 กรัมต่อลิตร) น้อยกว่าการปรับสภาพด้วยกรด (17.33-22.63 กรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับผลของน้ำตาลรีดิวซ์ในตารางที่ 1 การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยการใช้เอนไซม์ที่เวลา 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด คือ 37.93 40.65 41.97 35.71 และ 35.80 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเป็นปริมาณที่มากเกินพอสำหรับปริมาณสับสเตรทที่ทำให้เกิดภาวะอิ่มตัวระหว่างปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสับสเตรท (Permsriburasak et al., 2014) จึงทำให้การเพิ่มระยะเวลาในการย่อยไม่มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้เพิ่มขึ้นเมื่อทำการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยการใช้กรดร่วมกับเอนไซม์ และการปรับสภาพด้วยการใช้ด่างร่วมกับเอนไซม์ ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้เพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าที่เวลา 6-24 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์ (42.28-49.50 กรัมต่อลิตร) มากกว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้การปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์ (39.40-42.60 กรัมต่อลิตร) จากผลของวิธีการปรับสภาพกากมันสำปะหลังต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจะเห็นได้ว่าการใช้เอนไซม์ในการปรับ

สภาพจะให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากกว่าการปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างเนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสมีความจำเพาะเจาะจงในการตัดพันธะระหว่างโมเลกุลของเซลลูโลสได้ดี (Saritha และ Arora Lata, 2012) อย่างไรก็ตามหากมีกระบวนการปรับสภาพกากมันสำปะหลังเบื้องต้นก่อน เช่น การปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างจะทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดียิ่งขึ้น (Araque และคณะ, 2008; Saratale และ Oh, 2012; Sharma และคณะ, 2013; Verma และคณะ, 2011) วิธีการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด คือ 49.50 กรัมต่อลิตรซึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการปรับสภาพด้วยด่างเพียงอย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำตาลที่ได้จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยวิธีต่างๆกับงานวิจัยอื่น (ตารางที่ 3) จะเห็นได้ว่าการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์จะให้น้ำตาลปริมาณมากกว่าการปรับสภาพด้วยกรด ด่าง เอนไซม์ หรือกรดร่วมกับเอนไซม์ จากงานวิจัยของ Mclntosh และ Vancov (2010) ทำการปรับสภาพตอซังข้าวฟ่างด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์ cellulase β-glucosidaseและxylanase มีผลได้ของน้ำตาลเท่ากับ 79.88 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่างานวิจัยนี้ (49.50 กรัมต่อลิตร) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการปรับสภาพตอซังข้าวฟ่างด้วยด่างมากกว่า มีการใช้เอนไซม์ที่หลากหลายชนิดในการย่อยและสัดส่วนของวัตถุดิบต่อน้ำที่ใช้แตกต่างกัน จึงทำให้การย่อยมีประสิทธิภาพมากขึ้นและปริมาณน้ำตาลที่ได้สูง

ตารางที่ 2 ผลของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆ

Pretreatment methods	Total sugar (g/L)				
	6 h	12 h	24 h	36 h	48 h
Acid	17.33[a]	19.36[b]	21.30[bc]	19.77[b]	22.63[c]
Alkaline	10.24[a]	11.99[ab]	14.67[b]	13.84[b]	13.50[b]
Enzyme	37.93[a]	40.65[a]	41.97[a]	35.71[a]	35.80[a]
Acid+Enzyme	39.40[a]	42.52[a]	42.60[a]	45.09[a]	48.17[a]
Alkaline+Enzyme	42.28[a]	43.55[a]	49.50[b]	44.85[ab]	44.69[ab]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษในระหว่างแถวที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างกันเมื่อทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ร้อยละของการย่อยกากมันสำปะหลัง (% saccharification)

เมื่อพิจารณาค่าเปอร์เซ็นต์ในการย่อย (% saccharification) (ตารางที่ 4) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ

$$\% \text{ Saccharification} = \frac{\text{Reducing sugar} \times 0.9 \times 100}{\% \text{ carbohydrate}}$$

จะเห็นได้ว่าสภาวะที่มีการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับเอนไซม์เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและสภาวะที่มีการปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับเอนไซม์เป็นเวลา 12 ชั่วโมงมีค่าเปอร์เซ็นต์ในการย่อยสูงใกล้เคียงกัน คือ 77.70 และ 78.83 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามสภาวะในการปรับสภาพกากมันสำปะหลังที่ดีควรให้ค่าเปอร์เซ็นต์ในการย่อยสูงและใช้เวลาในการย่อยสั้น ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมการปรับสภาพกากมันสำปะหลังในงานวิจัยนี้คือสภาวะที่มีการปรับสภาพด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที แช่ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 60 นาที แล้วย่อยด้วย

เอนไซม์เซลลูเลสที่ pH 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยสภาวะดังกล่าวทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยกากมันสำปะหลังได้เพิ่มขึ้น โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการย่อยมากกว่าตัวอย่างที่มีการปรับสภาพด้วยด่างหรือเอนไซม์เพียงอย่างเดียวเท่ากับ 74 และ 28.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบผลของการปรับสภาพชีวมวลด้วยสภาวะต่างๆ

Pretreatment methods	Biomass	Conditions	Total sugar (g/L)	Reference
เอนไซม์	กากมันสำปะหลัง	α-Amylase (85°C, 3 h) + Glucoamylase (65°C, 20 h) + Cellulase (55°C, 24 h)	82.37	(ณัฐพงษ์ และ เศรษฐวัชร, 2558)
เอนไซม์	กากมันสำปะหลัง	15 FPU cellulase, 50°C, 6h	37.93	งานวิจัยนี้
กรด	ชานอ้อย	2% H_2SO_4, 122 °C, 24 min	24.60	(Canettierri et al., 2007)
กรด	กากมันสำปะหลัง	0.4 M H_2SO_4, 120 °C, 30 min	79.17	(ณัฐพงษ์ และ เศรษฐวัชร, 2558)
กรด	กากมันสำปะหลัง	1% H_2SO_4, 50 °C, 48 h	22.63	งานวิจัยนี้
ด่าง	ชานอ้อย	0.25% NaOH, 121 °C, 60 min	1.89	(Fangkum and Reungsang, 2011)
ด่าง	กากมันสำปะหลัง	2% NaOH, 50 °C, 24 h	14.67	งานวิจัยนี้
กรด+เอนไซม์	ตอซังข้าวฟ่าง	1% H_2SO_4, 121 °C, 90 min + cellulase, β-glucosidase, xylanase	56.00	(Aguilar et al., 2002)
	กากมันสำปะหลัง	0.4 M H_2SO_4, 121 °C, 15 min + Cellic C-Tec2 + Cellic H-Tec2	52.8	(พุทธพร และคณะ, 2559)
กรด+เอนไซม์	กากมันสำปะหลัง	1% H_2SO_4, 50 °C, 6 h + Cellic C-Tec2	39.40	งานวิจัยนี้
ด่าง+ เอนไซม์	ตอซังข้าวฟ่าง	2% NaOH, 60 °C, 90 min + cellulase, β-glucosidase, xylanase	79.88	(Mclntosh and Vancov, 2010)
ด่าง+ เอนไซม์	กากมันสำปะหลัง	2% NaOH, 50 °C, 24 h + Cellic C-Tec2	49.50	งานวิจัยนี้

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การย่อยกากมันสำปะหลังที่สภาวะต่างๆ

สภาวะย่อย	เปอร์เซ็นต์การย่อยเอนไซม์				
	6 h	12 h	24 h	36 h	48 h
Enzyme	50.16	49.93	60.71	54.09	57.80
Acid	29.62	34.38	34.95	35.13	35.23
Alkaline	5.17	4.85	6.70	4.08	4.32
Acid+Enzyme	67.48	76.12	77.70	66.73	69.74
Alkaline+Enzyme	70.95	78.83	74.30	72.65	69.48

สรุปผลการวิจัย

ผลของการปรับสภาพกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรด ด่าง และเอนไซม์ ทำให้มีการย่อยสลายกากมันสำปะหลังและได้น้ำตาลเกิดขึ้น นอกจากนั้นการใช้กรดหรือด่างก่อนทำการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยกากมันสำปะหลังและได้ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น วิธีการที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากมันสำปะหลังในงานวิจัยนี้ คือ การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยด่าง แล้วย่อยด้วยเอนไซม์ Cellic C-Tec 2 ใช้เวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ 12 ชั่วโมง จากสภาวะนี้ทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์ในการย่อยสูง เท่ากับ 39.02 43.55 กรัมต่อลิตร และ 78.83 % ตามลำดับ สภาวะดังกล่าวจึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเนื่องจากทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูง การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการย่อยชีวมวลชนิดอื่นๆ เพื่อให้ได้น้ำตาลที่นำไปใช้ในการหมักได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนสำหรับบุคลากรมหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร จากงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และขอขอบคุณบริษัททรัพย์ทิพย์ จำกัด โรงงานตั้งอยู่ที่อำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี ในความอนุเคราะห์กากมันสำปะหลังสำหรับการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2555). รายงานโครงการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสเชิงพาณิชย์. กรุงเทพ.

รัชพล พะวงศ์รัตน์. (2558). กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส. Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University. 2(1): 143-157.

ณัฐพงษ์ ดิฐกุลชัยมงคล, และเศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์. (2558). การศึกษาประสิทธิภาพและต้นทุนในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดและเอนไซม์เอนไซม์. รายงานการประชุมวิชาการและนำเสนอผลการวิจัย ระดับชาติและนานาชาติ กลุ่มระดับชาติ ด้านวิทยาศาสตร์. 1(6): 249-259.

พุทธพร แสงเพียน, ไท แสงเทียน, วรัญญา จันทร์สุข และอภิชา ชินศิริ. (2559). การย่อยกากมันปะหลังด้วยกรดเจือจางและเอนไซม์เพื่อการผลิตไบโอเอทานอล. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมครั้งที่ 5 วันที่ 13-15 พฤษภาคม 2559. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 1-7.

สวลี ดีประเสริฐ, ศุภชัย บุญนำมา, วิทยา บุตรทองมูล, บุปผา ชินเชิดวงศ์ และวีระ โลหะ. (2555). การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเป็นน้ำตาล. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 15(3): 40-46.

สุดาทิพย์ จันทร, กุลวดี พิศลยบุตร, รินรดา รัตนพรรณทอง และสุนีย์ นิธิสินประเสริฐ. (2556). การผลิตโอลิโกแซคคาร์ไรด์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยสารละลายเอนไซม์สกัดหยาบจาก *Pennicillium-oxalicum* KUB-SN2-1. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21(2): 100-112.

Adney, B. and Baker, J. (1996). Measurement of cellulase activities.*In*Laboratory Analytical Procedure. Colorado: National Renewable Energy Laboratory. pp. 1-8.

Aguilar, R., Ramirez, J.A., Garrote, G. and Vazquez, M. (2002). Kinetic study of the acid hydrolysis of sugarcane bagasse. Journal of food engineering 55: 309-318.

Araque, E., Parra, C., Freer, J., Contreras, D., Rodriguez, J., Mendonca, R.and Baeza, J. (2008). Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of *Pinus radiate* D. Don to ethanol. Enzyme and Microbial Technology 43: 214-219.

Canettieri, E.V., Rocha, G.J.M., Carvalho,Jr.J.A. and Silva,Jr.B.A. (2007). Optimization of acid hydrolysis from the hemicellulosic fraction of Eucalyptus grandis residue using response surface methodology. Bioresource Technology 98: 422-428.

Chairattanamanokorn, P., Penthamkeerati, P., Reungsang, A., Lo, Y.C., Lu, W.B. and Chang, J.S. (2009). Production of biohydrogen from hydrolyzed bagasse with thermally preheated sludge. International Journal of Hydrogen Energy 34: 7612-7617.

Dawson, L. and Boopath, R. (2009). Cellulosic ethanol production from sugarcane bagasse without enzymatic saccharification. Bioresources 3: 452-460.

Dobois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

Fangkum, A. and Reungsang, A. (2011). Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration. International Journal of Hydrogen Energy 36: 8687-8696.

Haque, M.A., Nath Barman, D., Kang, T.H., Kim, M.K., Kim, J., Kim, H. and Yun, H.D. (2012). Effect of dilute alkali on structural features and enzymatic hydrolysis of barley straw (*Hordeumvulgare*) at boiling temperature with low residence time. Journal of Microbiology and Biotechnology 22(12): 1681-1691.

Hendriks, A.andZeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology 100: 10-18.

Howard, R.L., Abotsi, E., Jansen van Rensburg, E.L. and Howard, S. (2003). Lignocellulose biotechnology: Issue of bioconversion and enzyme production. African Journal of Biotechnology 2: 602-619.

Lee, J.S., Parameswaran, B., Lee, J.P. and Park, S.C. (2008). Recent developments of key technology on cellulosic ethanol production. Journal of Scientific and Industrial Research 67: 865-873.

Li, X., Mupondwa, E., Panigrahi, S.and Tabil, L. (2012). A review of agricultural crop residue supply in Canada for cellulosic ethanol production. Renewable & sustainable Energy Review 16: 2954-2965.

Marzieh, B., Nilofar, A., Jamilah, M.J. and Kamaruzzaman, S. (2014). Comparison of

chemical pretreatment methods for cellulosic biomass. APCBEE Procedia 9: 170-174.

Mclntosh, S. and Vancov, T. (2010). Enhanced enzyme saccharification of *Sorghum bicolor* straw using dilute alkaline pretreatment. Bioresouce Technology 101: 6718-6727.

Miller, G. (1959). Use of dinitrisalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry 31: 426-429.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M. andLadish, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology 96: 673-686.

Permsriburasuk, C., Phitsuwan, P. and Ratanakhanok-chai, K. (2014). Comparison of glucose liberation from pure cellulose, native and deliginified rice straws by Trichoderma-based cellulase preparation. Agricultural Science Journal 45(2): 341-344.

Saratale, G.D. and Oh, S.E. (2012). Lignocellulosics to ethanol: the future of the chemical and energy industry. Afican Journal of Biotechnology. 11: 1002-1013.

Saritha, M. and Arora Lata, A. (2012). Biological pretreatment of lignocellulosic substrate for enhanced delignification and enzymatic digestibility. Industrail Journal of Micro-biology 52: 122-130.

Sharma, R., Palled, V., Sharma-Shivappa, R.R. and Osborne, J.(2013). Potential of potassium hydroxide pretreatment of switchgrass for fermentable sugar production. Apply Biochemical and Biotechnology 169: 761-772.

Verma, A., Kumar, S. and Jain, P.K. (2011). Key pretreatment technologies on cellulosic ethanol production. Journal of Science Research 55: 57-64.

Zhang, Q., He, J., Tian, M., Mao, Z., Tang, L., Zhang, J. and Zhang, H. (2011). Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium**.** Bioresource Technology 102: 8899–8906.

❑❑❑❑❑