บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในปัจจุบันมีพืชหลายชนิดที่ได้รับการยอมรับให้เป็นพืชพลังงานสำหรับผลิตเอทานอลเพื่อเป็นพลังงานทดแทนภายในประเทศ เช่น มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น สำหรับแก่นตะวันซึ่งเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตหนาวนั้นยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายมากนักในประเทศไทย แต่ในต่างประเทศพบว่าพืชชนิดนี้จัดเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญสำหรับใช้เป็นอาหาร คน สัตว์ เนื่องจากมีประโยชน์หลายอย่าง เช่น ลดระดับคอเรสเตอรอล ไม่เพิ่มน้ำตาลในเลือด ลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งลำไส้ เป็นต้น รวมทั้งเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเอทานอล (Cosgrove et al., 1991) ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาแนวทางในการย่อยสารอินูลินในหัวแก่นตะวันโดยใช้สารเคมีคือกรดซัลฟิวริก และเอนไซม์ โดยแก่นตะวันที่นำมาใช้ในการทดลองคือแก่นตะวันสายพันธุ์ KKUACC001 ซึ่งเป็นแก่นตะวันภายใต้โครงการวิจัยของ รองศาสตราจารย์ ดร. สนั่น จอกลอย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จากการนำหัวแก่นตะวันมาบีบสกัดนำหวานและนำไปศึกษาองค์ประกอบทางเคมี น้ำคั้นจากหัวแก่นตะวันมีค่า pH เฉลี่ยประมาณ 5.45 มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดประมาณ 285.56 กรัมต่อลิตร ในจำนวนนี้พบว่าเป็นน้ำตาลประเภทฟรุกโตอิโกแซคคาไรด์ที่อยู่ในรูปสารประกอบอินูลิน คิดเป็น 77.82 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในน้ำคั้นจากหัวแก่นตะวันยังมีแร่ธาตุต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อการหมักเอทานอล เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม สังกะสี ทองแดง เป็นต้น

จากการนำน้ำคั้นจากหัวแก่นตะวันที่ยังไม่ได้ปรับสภาพไปทดสอบหมักเอทานอลโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าผลผลิตเอทานอลที่ได้มีค่าต่ำประมาณ 25 กรัมต่อลิตรและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเหลืออยู่มาก คือประมาณ 114 กรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีสต์ *S. cerevisiae* ไม่สามารถใช้สารประกอบอินูลินแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญหรือผลิตเอทานอลได้โดยตรง ทั้งนี้เพราะยีสต์ไม่สามารถสร้างเอนไซม์อินูลินเนสออกมาย่อยอินูลินได้ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องย่อยสลายสารอินูลินเพื่อให้กลายเป็นน้ำตาลที่สามารถหมักได้ก่อน ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดสอบการย่อยสลายสารอินูลินโดยใช้สารเคมีคือกรดซัลฟูริก และเอนไซม์อินูลินเนส

จากผลการย่อยสลายอินูลินด้วยกรดซัลฟูริก โดยแปรผันระดับของอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ 60, 80 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่าอินูลินสามารถย่อยสลายได้มากขึ้น เมื่อระดับของอุณหภูมิในการย่อยเพิ่มสูงขึ้น ที่ระดับอุณหภูมิ 100 องศาสเซลเซียส สามารถย่อยสลายอินูลินได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 80 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อระดับอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณของสารประกอบฟินอลิคก็เพิ่มสูงตามไปด้วย เมื่อนำน้ำคั้นจากหัวแก่นตะวันที่ผ่านการย่อยอินูลินด้วยกรดไปทดสอบการหมักเอทานอล พบว่าปริมาณเอทานอล ผลได้และอัตราผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดเมื่อใช้น้ำคั้นจากหัวแก่นตะวันที่ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟูริคที่อุณหภูมิ 100 องศา

เซลเซียส รองลงมาคืออุณหภูมิ 80 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์อินูลินเนสนั้นพบว่าระดับอินูลินยังเหลือในปริมาณสูงและปริมาณน้ำตาลที่ย่อยได้อยู่ในระดับต่ำ มีค่าใกล้เคียงกับการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณเอทานอล ผลได้และอัตราผลผลิตเอทานอลต่ำ สาเหตุอาจเป็นเพราะปริมาณของเอนไซม์ที่เติมลงไปในวัตถุดิบมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายอินูลินได้อย่างสมบูรณ์ และอาจเป็นไปได้ว่าในวัตถุดิบมีสารบางอย่างที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินูลินเนสได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิค หรือ ฟูฟอราล เป็นต้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายอินูลินในวัตถุดิบ

ในการศึกษาถึงอิทธิพลของปริมาณน้ำตาลและปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นหัวแก่นตะวัน พบว่าปริมาณน้ำตาลและปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 250 กรัมต่อลิตร และ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 88.1 กรัมต่อลิตร ผลได้เท่ากับ 0.45 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ และอัตราผลผลิตเอทานอลสูงสุด 1.84 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง สำหรับผลการศึกษาถึงอิทธิพลของค่า pH เริ่มต้นต่อการผลิตเอทานอลจากแก่นตะวันนั้น พบว่าการปรับค่า pH เริ่มต้นเป็น 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ให้ผลผลิตเอทานอลไม่แตกต่างกันมากนัก โดยความเข้มข้นเอทานอลสูงสุดที่ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง อยู่ในช่วง 74.50 -76.42 กรัมต่อลิตร เนื่องจากองค์ประกอบเบื้องต้นในวัตถุดิบมีค่า pH อยู่ที่ประมาณ 5.0 - 6.0 จึงเป็นข้อดีสำหรับการหมักเอทานอลโดยไม่จำเป็นต้องมีการปรับค่า pH ในอาหารเพาะเลี้ยง

ในการศึกษาถึงอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิด คือไดแอมโมเนียมฟอสเฟต แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ที่ระดับความเข้มข้น 0.25-1.0% (w/v) ต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นหัวแก่นตะวัน พบว่าแอมโมเนียมไนเตรท และไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกว่าแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่นๆ ค่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% (w/v) คือ 108.08-108.34 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไปมีส่วนช่วยส่งเสริมให้การผลิตเอทานอลโดยใช้ *S. cerevisiae* เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนเสริม

เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากผลการศึกษาในระดับฟลาสก์ ไปทดสอบการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นหัวแก่นตะวันในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยปริมาตรน้ำหมักเท่ากับ 4.0 ลิตร ความเร็วรอบของใบกวน 100 รอบต่อนาที และทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการผลิตเอทานอลมีค่าสูงกว่าการผลิตในระดับฟลาสก์ ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดคือ 114.42 กรัมต่อลิตร ผลได้เอทานอลเท่ากับ 0.42 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ถูกใช้ และค่าอัตราผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 3.18 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการหมัก 36 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการหมักภายใต้ระบบถังหมักระยะเวลาที่ใช้ในการหมักเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดเร็วกว่าการหมักใน

ระดับฟลาสก์ อาจเป็นเพราะการกวนในระบบถังหมักช่วยกระจายเซลล์ยีสต์ทำให้สัมผัสกับอาหารได้อย่างทั่วถึง

จากการย่อยสารอินูลินในวัตถุดิบเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อินูลินเนสพบว่าปริมาณอินูลินที่เหลือในวัตถุดิบยังสูง ซึ่งคาดว่าปริมาณเอนไซม์ที่ใช้น้อยเกินไป ดังนั้นจึงได้ศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ย่อยอินูลินในการเตรียมวัตถุดิบก่อนนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแปรผันปริมาณเอนไซม์เป็น 3, 8, 12, 16, 20, 40 และ 60 หน่วยของเอนไซม์ จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ผลผลิตเอทานอลที่ได้จะเพิ่มขึ้น โดยที่ปริมาณเอนไซม์ 60 หน่วย ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 77.27 กรัมต่อลิตร ผลได้สูงสุดเท่ากับ 0.32 กรัมเอทานอลต่กรัมของน้ำตาลที่ถูกใช้และค่าอัตราผลผลิตเอทานอลเท่ากับ 1.10 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการหมัก 72 ชั่วโมง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยแก่นตะวันก็มีผลต่อการผลิตเอทานอล นอกจากการทดสอบโดยใช้เอนไซม์อย่างเดียวแล้ว ยังได้ทดสอบการย่อยสารอินูลินในหัวแก่นตะวันโดยใช้กรดซัลฟิวริกร่วมกับเอนไซม์อินูลินเนส ผลการทดลองพบว่าสภาวะการย่อยโดยใช้กรดร่วมกับเอนไซม์อินูลินเนสที่ความเข้มข้น 100 หน่วยต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ มีประสิทธิภาพในการย่อยสารอินูลินมากที่สุดและให้ปริมาณผลผลิตเอทานอลสูงที่สุดคือ 114.42 กรัมต่อลิตร หากเปรียบเทียบกับปริมาณเอทานอลจากอ้อยหรือข้าวฟ่างหวานจะพบว่าปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากหัวแก่นตะวันมีค่าสูงกว่า

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษานี้ใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งพบว่าไม่สามารถย่อยสลายอินูลินซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในวัตถุดิบได้โดยตรง จึงจำเป็นต้องมีการเตรียมวัตถุดิบโดยนำไปผ่านการย่อยก่อน ทำให้ขั้นตอนในการผลิตมีความยุ่งยาก รวมไปถึงการเพิ่มต้นทุนในการผลิต ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพื่อคัดเลือกหรือคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถใช้อินนูลินได้โดยตรงต่อไป

2. ในการศึกษานี้พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นหัวแก่นตะวันอยู่ที่ระดับ 250 กรัมต่อลิตร หากความเข้มข้นที่สูงกว่านี้จะทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ทำให้เกิดการสะสมของน้ำตาลที่ยีสต์ใช้ไม่หมด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงรูปแบบวิธีการหมักที่สามารถใช้น้ำตาลเริ่มต้นที่สูงขึ้น เช่น วิธีการหมักแบบกึ่งกะ หรือต่อเนื่อง เป็นต้น