การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรดและด่างเจือจางในกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการหมักแบบรวมการย่อยในขั้นตอนเดียว

Ethanol Production from Cassava Pulp Using Diluted Acid and Alkaline Solution Pretreatment and Fermented by Using Simultaneous Saccharification and Fermentation

กำไล เลาหพัฒนาเลิศ[1*] กฤติธี แจ่มจำรูญ[2] และ ลักขณา โกบปุเลา[2]

[1]อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยรังสิต ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000*

[2]นักศึกษาปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต

ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

[1]Lecturer in Biotechnology Faculty, Rangsit University, Phahonyothin Rd., Lak-hok, Patumtanee, Thailand 12000*

*1*Under-Graduate student in Science (Biotechnology) of Biotechnology Faculty, Rangsit University, Phahonyothin Rd., Lak-hok, Patumtanee, Thailand 12000*

E mail: Kamlai.l@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษากระบวนการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดและด่างเจือจางต่อผลได้น้ำตาลรีดิวซ์และความสามารถในการลดความหนืดลง โดยการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริก ไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แปรผันความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 0.5 และ 1.0 %(w/w) ที่อุณหภูมิ 90°C พร้อมการกวน พบว่ากรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 % (w/w) สามารถลดความหนืดระหว่างการปรับสภาพลงอย่างเห็นได้ชัดเจน และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 0.23 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง ที่เวลา 180 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักแบบรวมการย่อยและการหมักในขั้นตอนเดียว ด้วยการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.01 % (w/w) และเชื้อยีสต์ผงสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* 1.0 % (w/w) และปรับค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.5 บ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 90.9 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลังที่เวลา 180 นาที จากนั้นตรวจวัดปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดด้วยรีแฟรกโตมิเตอร์ พบว่ามีปริมาณลดลงแปรผันตรงกับเวลาที่ใช้หมักโดยค่าคงที่ที่เท่ากับ 2 °brix และได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 5.35% (v/v) ที่เวลา 36 ชั่วโมงเป็นต้นไป จะเห็นว่ากากมันสำปะหลังสดเป็นวัตถุดิบทางชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการผลิตเอทานอล ซึ่งเมื่อผ่านการปรับสภาพก่อนนำไปเข้ากระบวนการหมักแบบ SSF พบว่ามีประสิทธิภาพการหมักเท่ากับ 90.62 %

***คำสำคัญ** : กากมันสำปะหลัง, กระบวนการปรับสภาพ, การปรับสภาพด้วยกรดเจือจาง, เอทานอล*

Abstract

The aimed of this study was to investigate the cassava pulp pretreatment by using different chemical reagent, i.e. diluted acid and alkaline solution for enhancing reducing sugar content and decreasing its viscosity. Cassava pulp was pretreated with 0.1, 0.5 and 1.0 %(w/w) of sulfuric acid, hydrochloric acid and sodium hydroxide, respectively, at 90ºC with vigorous stirring. The result shows that 0.1 % (w/w) sulfuric acid was the most suitable chemical solution suggesting viscosity reduction while produced reducing sugar with 0.23 g/100 g substrate at 180 minute. Then pretreated cassava pulp was subjected to ethanol production by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) process. The hydrolysate was adjusted to pH 4.5 and 0.01 % (w/w) glucoamylase with addition of 1.0 % (w/w) dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The highest amount of reducing sugar was 90.90 g/100 g substrate after 180 minute of hydrolysis. Total soluble solid (TSS) was reduced continually from the initial fermentation reaction to the minimum of 2 ºbrix and the highest ethanol content received from SSF production was 5.35 % (v/v) after 36 hours of fermentation. This suggests that fresh cassava pulp is a potential bio-resource for bioethanol production, and pretreatment technique combined with SSF methodology can promote high efficiency ethanol production at 90.62%.

Keywords *: Cassava pulp, Pretreatment, Diluted acid pretreatment, Ethanol, SSF*

1. บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังเผชิญปัญหาวิกฤติด้านพลังงาน จากข้อมูลสถิติการใช้พลังงานเปิดเผยว่าในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยมีการใช้พลังงานมากถึง 63 ล้านตัน (เทียบกับน้ำมันดิบ) โดยเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2557 ร้อยละ 3.4 (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2558) ในขณะที่ปี 2556 ประเทศไทยต้องนำเข้าพลังงาน 71 ล้านตันคิดเป็นมูลค่าถึง 1.42 ล้านล้านบาท (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2558) และเป็นที่คาดการณ์ว่าหากสถานการณ์การใช้พลังงานยังคงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเช่นนี้ พลังงานฟอสซิลของประเทศจะหมดลงในอนาคตอันใกล้ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้รัฐบาลจัดทำแผนยุทธศาสตร์ความมั่นคงด้านพลังงาน ซึ่งหนึ่งในนโยบายนั้นคือการส่งเสริมการใช้พลังงานทดแทน เช่น การยกเลิกการจำหน่ายเบนซิน 91 และผลักดันการใช้แก๊สโซฮอลล์ E10 และ E20 อันส่งผลให้อัตราการใช้เอทานอลในประเทศเฉลี่ยเพิ่มขึ้นถึง 2.5 ล้านลิตรต่อวัน และรัฐบาลได้ตั้งเป้าหมายเพิ่มอัตราการใช้เอทานอลทดแทนน้ำมันเบนซินเป็น 3 ล้านลิตรต่อวันในปี 2558 และ 9 ล้านลิตรต่อวันในปี 2564 (ศูนย์พยากรณ์และสารสนเทศ, 2556)

การผลิตเอทานอลในประเทศทั้งหมดได้จากการกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ด้วยจุลินทรีย์ที่เรียกว่ากระบวนการหมัก (Fermentation) โดยใช้ กากน้ำตาล และมันสำปะหลังทั้งในรูปของหัวมันสดหรือมันเส้น เป็นแหล่งวัตถุดิบ อย่างไรก็ตามหากภาครัฐยังคงใช้นโยบายในการผลักดันการใช้ไบโอเอทานอลอย่างต่อเนื่องเช่นนี้อาจทำให้วัตถุดิบเหล่านี้ไม่เพียงพอที่จะรองรับ

อุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานในอนาคตได้ นอกจากนี้วัตถุดิบดังกล่าวยังถูกใช้ในการผลิตอาหารทั้งของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาความมั่นคงทางอาหารเป็นลูกโซ่ตามมา ดังนั้นการนำวัตถุดิบที่ไม่ใช่อาหารเช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (Agricultural waste) หรือวัสดุชีวมวล (Biomass) มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอลจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ ด้วยเหตุผลในการลดต้นทุนการผลิต และความยั่งยืนด้านอาหารและพลังงานของชาติ

กากมันสำปะหลังเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังที่มีปริมาณมากโดยคิดเป็น 10-15% ของน้ำหนักหัวมันสำปะหลังสด (ธนภูมิ มณีบุญ และคณะ, 2552) หรือประมาณ 1.5 ล้านตันต่อวัน (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2546) ซึ่งในปัจจุบันกากมันสำปะหลังยังคงเป็นปัญหาในการกำจัดทิ้ง ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเน่าเสียได้ง่าย และส่งกลิ่นเหม็น กากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบหลักเป็นแป้ง (starch) และเซลลูโลส (Cellulose) ในปริมาณ 50-60 % และ 15-20 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่มีหน่วยย่อยในโครงสร้างเป็นน้ำตาลน้ำตาลกลูโคส (Glucose) จึงกล่าวได้ว่ากากมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนราคาถูกที่มีปริมาณมากในประเทศ แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่มีความหนืดสูงทำให้เกิดอุปสรรคในการกวนผสม นอกจากนี้เม็ดแป้งในกากมันยังถูกห่อหุ้มด้วยโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสที่แข็งแรงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำ เกิดเป็นข้อจำกัดในการนำกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอลเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตามข้อจำกัดดังกล่าวสามารถจัดการได้ด้วยกระบวนการปรับสภาพ (Pretreatment) ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งที่นิยมใช้ในการทำลายโครงสร้างผลึกของลิกโนเซลลูโลสให้เป็นรูพรุน ส่งผลให้วัตถุดิบอ่อนนุ่มลง และทำให้กระบวนการย่อยย่อยจะดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มปริมาณผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์ และทำให้การหมักเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงขึ้นตามไปด้วย จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การปรับสภาพวัตถุดิบที่นิยมใช้กันส่วนใหญ่ได้แก่วิธีการปรับสภาพทางเคมี คือการใช้กรดซัลฟูริกในการปรับสภาพเนื่องจากมีราคาถูกและสามารถทำได้ง่าย โดยมีงานวิจัยที่มุ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปรับสภาพ เช่น ชนิดและความเข้มข้นของกรด ระยะเวลาในการปรับสภาพ และอุณหภูมิ พบว่าได้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น และประสิทธิภาพของการหมักเอทานอลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ (จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และฉัตติยา จันทวงษา, 2554; ธีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ, 2549; สิทธิศักดิ์ อุปริวงศ์ และคณะ, 2549; สุนีย์ โชตินีรนาท และคณะ, 2547; Harun และ Danquah, 2011 และ Sindhu และคณะ, 2011)

อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นการทดลองการผลิตเอทานอลด้วยกากมันสำปะหลังแห้ง ซึ่งต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการทำแห้ง และใช้กากมันที่ความเข้มข้นต่ำ ทำให้ได้เอทานอลต่ำและไม่คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ งานวิจัยนี้จึงมุ่งพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลโดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังสดความเข้มข้นสูง (High gravity technique) ร่วมกับการผลิตเอทานอลโดยใช้เทคนิคการรวมการย่อยและการหมักในขั้นตอนเดียว (Simultaneous Saccharification and Fermentation) โดยคาดว่าจะเป็นต้นแบบกระบวนการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังที่จะช่วยในการประหยัดต้นทุนลดระยะเวลาและพลังงานที่ใช้ในการผลิตลงรวมถึงการอบแห้งวัตถุดิบ และเพิ่มผลได้ของเอทานอล เป็น

การสร้างศักยภาพในการนำกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตเอทานอลต่อไป

2. วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก ไฮโดรคลอริก และด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางต่อความสามารถในการลดความหนืดและผลได้น้ำตาลรีดิวซ์

2. ศึกษาผลได้เอทานอลโดยใช้กระบวนการหมักแบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบและเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 กากมันสำปะหลัง ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงาน ชอไชยวัฒน์ อุตสาหกรรม จำกัด ตำบลห้วยใหญ่ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี

3.1.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) จากบริษัท Novo Nordisk Co.,Ltd. Bagsvaerd, ประเทศเดนมาร์ค

3.1.3 ยีสต์ผงทางการค้ายี่ห้อ Thermosacc จากบริษัท Novozymes, Novo Nordisk Co.,Ltd., ประเทศเดนมาร์ค

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังสดได้รับการอนุเคราะห์จากบริษัท ชอไชยวัฒน์ อุตสาหกรรม จำกัด จังหวัดชลบุรี ในรูปแบบกากมันสำปะหลังแช่แข็งโดยก่อนนำมาทำการทดลองจะต้องละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) จนละลายหมดทั้งถุง

3.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง เมื่อทำการละลายน้ำแข็งกากมันสำปะหลังจนหมด แล้วจึงนำกากมันสำปะหลังไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า แล้วนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 ไมโครเมตร นำกากมันสำปะหลังแห้งบดละเอียดที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น เส้นใย โปรตีน ไขมัน เถ้า (AOAC, 1995) และแป้ง (AACC, 1972)

3.3 ศึกษาผลของกระบวนการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริก ไฮโดรคลอริก และด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางที่ความเข้มข้นต่างกัน ต่อผลได้น้ำตาลรีดิวซ์และความสามารถในการลดความหนืด

3.3.1 การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง

นำกากมันสำปะหลังสดชั่งให้ได้น้ำหนักเป็น 500 กรัมและเจือจางกากมันสำปะหลังสดด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 10 % (w/w) จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกที่แปรผันความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.5 และ 1.0 % (w/w) ปิดฝาถังปฏิกรณ์ให้เป็นระบบปิด แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 90 °C พร้อมกับการกวนที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที และทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมสังเกตความเปลี่ยนแปลงความหนืดระหว่างการปรับสภาพโดยพิจารณาจากความสามารถในการกวนได้เป็นหลัก เก็บตัวอย่างและบันทึกความเปลี่ยนแปลงที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที นำตัวอย่างที่เก็บมาปรับค่ากรดด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอลให้เป็นกลาง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำของเหลวไปปั่น

เหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952)

3.3.2 การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง

นำกากมันสำปะหลังสดชั่งให้ได้น้ำหนักเป็น 500 กรัมและเจือจางกากมันสำปะหลังสดด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 10 % (w/w) จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกที่แปรผันความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.5 และ 1.0 % (w/w) ปิดฝาถังปฏิกรณ์ให้เป็นระบบปิด แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 90°C พร้อมกับการกวนที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที และทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตรพร้อมสังเกตความเปลี่ยนแปลงความหนืดระหว่างการปรับสภาพ เก็บตัวอย่างและบันทึกความเปลี่ยนแปลงที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที นำตัวอย่างที่เก็บมาปรับค่ากรดด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอลให้เป็นกลาง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำของเหลวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952)

3.3.3 การปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

นำกากมันสำปะหลังสดชั่งให้ได้น้ำหนักเป็น 500 กรัมและเจือจางกากมันสำปะหลังสดด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 10 % (w/w) จากนั้นชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แปรผันความเข้มข้นเป็น 0.1, 0.5 และ 1.0 % (w/w) ปิดฝาถังปฏิกรณ์ให้เป็นระบบปิด แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 90 °C พร้อมกับการกวนที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที และทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร พร้อมสังเกตความเปลี่ยนแปลงความหนืดระหว่างการปรับสภาพ โดยเก็บตัวอย่างและบันทึกความเปลี่ยนแปลงที่เวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที นำตัวอย่างที่เก็บมาปรับค่ากรดด่างด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก1 นอร์มอลให้เป็นกลาง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำของเหลวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952)

3.4 ศึกษาผลได้ของเอทานอลที่ผลิตจากกากมันสำปะหลังโดยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)

นำตัวอย่างกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ทำการศึกษาตามหัวข้อที่ 3.3 มาลดอุณหภูมิลงเหลือ 60 °C นำไปปรับค่ากรดด่างเป็น 4.5 แล้วจึงเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.01 % (w/w) ทำการลดอุณหภูมิลงอีกครั้งจนเหลือ 30°C จึงเติมยีสต์ผงสายพันธุ์ Saccharomyces cerevisiae 1.0 % (w/w) และหมักบ่มที่อุณหภูมิห้องโดยไม่มีการกวนซึ่งระหว่างการลดอุณหภูมิลงทำการเก็บตัวอย่างชุดแรกปริมาตร 5 มิลลิลิตรเป็นระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที และหลังจากเติมเชื้อยีสต์เริ่มทำการเก็บตัวอย่างชุดที่สองปริมาตร 5 มิลลิลิตรเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นโดยเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เก็บทั้งสองชุดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ8000 รอบต่อนาที นำส่วนใสไปวิเคราะห์โดยตัวอย่างชุดแรกนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952) และตัวอย่างชุดที่สองนำไป

วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Gas Chromatography

4. ผลและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

นำกากมันสำปะหลังสดมาผ่านการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ แป้ง เส้นใย ไขมัน เถ้า และโปรตีน ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

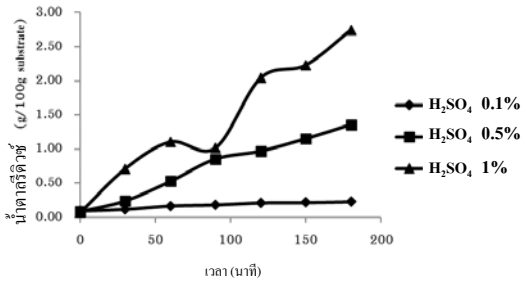
องค์ประกอบ	% (น้ำหนักแห้ง)
แป้ง (วิธีทางเอนไซม์)	56.18±1.75
ใยอาหารหยาบ	15.39±0.37
ไขมัน	5.07±0.37
เถ้า	2.00±0.07
โปรตีน	1.81

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง ดังตารางที่ 1 พบว่าองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังคือ แป้ง ที่มีปริมาณ 56.18 % ของน้ำหนักแห้งเมื่อนำผลที่ได้เปรียบเทียบกับการวิจัยของ Rattanachomsri et. al. (2009) ที่วิเคราะห์องค์ประกอบกากมันสำปะหลังได้ปริมาณของแป้งเท่ากับ 60.10 %ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณมากกว่าอยู่เล็กน้อย เนื่องมาจากสถานที่เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลังแตกต่างกัน และการเก็บรักษากากมันสำปะหลังระหว่างการวิจัยที่แตกต่างกัน

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังนอกจากองค์ประกอบหลัก คือ แป้ง แล้วยังมีองค์ประกอบรองที่เป็นสารจำพวก เส้นใย ที่มีปริมาณ 15.39 %ของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณของไขมัน เถ้า และโปรตีน เท่ากับ 5.07 2.00 และ 1.81 % ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังที่วิเคราะห์ได้หากนำกากมันสำปะหลังผ่านกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการย่อยแล้ว จะทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูง ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อยีสต์เพื่อใช้ในกระบวนการหมักเอทานอลต่อไป

4.2 ผลของการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก ไฮโดร-คลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์

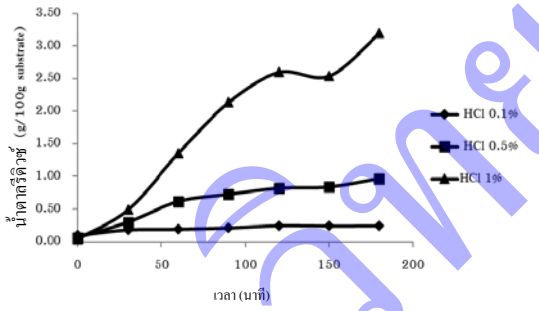
ขั้นตอนการปรับสภาพกากมันสำปะหลังจะใช้วิธีการปรับสภาพทางเคมี ด้วยกรดและด่างเจือจางร่วมกับให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C และการกวนที่ความเร็วรอบเท่ากับ 60 รอบต่อนาที โดยทำการแปรผันความเข้มข้นของกรดและด่าง 3 ความเข้มข้น คือ 0.1 0.5 และ 1.0 % (w/w) และทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0-180 นาที นำมาวิเคราะห์หาปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Somogyi-Nelson ดังแสดงรูปที่ 1, 2 และ 3



รูปที่ 1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก

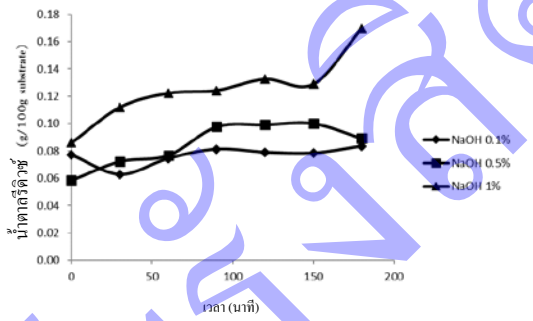
จากผลการทดลองการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นแปรผันตามความเข้นของกรดซัลฟูริกและระยะที่ใช้ในการปรับสภาพ โดยความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและระยะเวลาการปรับสภาพเพิ่มขึ้นปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มตามไปด้วย ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

ที่ได้จากกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 % (w/w) โดยใช้ระยะเวลาการปรับสภาพที่เวลา 180 นาที โดยได้น้ำรีดิวซ์เท่ากับ 0.23 1.36 และ 2.74 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง แต่เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกทั้ง 3 ความเข้มข้นแล้ว จะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาการปรับสภาพเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงสังเกตผลของการใช้กรดที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพ (ความหนืด) ของกากมันสำปะหลังระหว่างการปรับสภาพ พบว่าความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ 0.1 0.5 และ 1.0 % (w/w) สามารถช่วยลดความหนืดอย่างเห็นได้อย่างชัดเจนที่เวลา 120 90 และ 30 นาที ตามลำดับ โดยใช้การสังเกตความสามารถของการกวนโดยใบกวน ซึ่งที่ระยะเวลา 0 นาที ไม่สามารถกวนได้เนื่องจากตัวอย่างมีความหนืดสูง



รูปที่ 2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก

ผลการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 % (w/w) พบว่ามีความคล้ายคลึงกันกับผลการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟูริกเจือจาง คือ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์แปรผันตามความเข้มข้นกรดและระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง กล่าวคือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดและระยะเวลาในการปรับสภาพเพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้สูงสุดจากการใช้กรดไฮโดรคลอริกเจือจางความเข้มข้น 0.1 0.5 และ 1.0 % (w/w) อยู่ที่เวลา 180 นาที ได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.24 0.96 และ 3.19 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง (รูปที่ 2)



รูปที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนัก

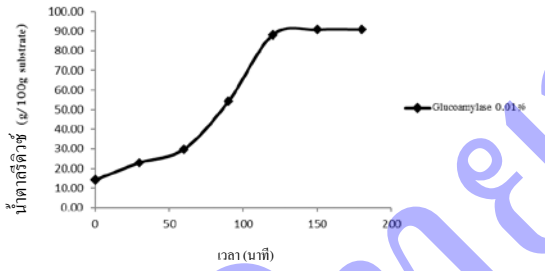
จากรูปที่ 3 พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางในการปรับสภาพกากมันสำปะหลังทั้ง 3 ความเข้มข้นมีไม่แตกต่างกันมากอีกทั้งในระหว่างการปรับสภาพกากมันสำปะหลัง เกิดการบวมของกากมันสำปะหลังขึ้นภายในถังปฏิกรณ์ทำให้ความหนืดเพิ่มมากขึ้นจนไม่สามารถทำการกวนผสมได้ดี เนื่องจากกลไกของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบจำพวกแป้งหรือเซลลูโลสไม่ได้เป็นการทำลายโครงสร้าง แต่เข้าไปทำให้โครงสร้างอ่อนนุ่มและบวมขึ้นเท่านั้น จึงทำให้ไม่สามารถที่จะสกัดแป้งออกจากโครงสร้างกากมันสำปะหลังได้ดีเมื่อเทียบกับการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรด (ธีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ, 2549)

จากการทดลองการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยวิธีทางเคมีสามารถสรุปได้ว่าการใช้กรดไฮโดรคลอริกเจือจางในการปรับสภาพมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้กรดซัลฟูริก แต่เนื่องจากกรดไฮโดรคลอริกเป็นกรดที่มีความเสถียรต่ำและมีราคาสูงกว่ากรดซัลฟูริก (Sindhu และคณะ,

2011) และการใช้กรดความเข้มข้นสูงนั้นอาจจะทำให้เกิดสารพิษจำพวกสารฟูเฟอร์รัล ซึ่งจะส่งผลยับยั้งการเจริญของยีสต์และกระบวนการหมักได้ (ธีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ, 2549) อีกทั้งยังทำให้เกิดสารพิษตกค้างในกากของเสีย ซึ่งอาจจะปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้นนักวิจัยจึงเลือกใช้กรดซัลฟูริกเจือจางที่ความเข้มข้น 0.1 % (w/w) ที่เวลา 120 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการปรับสภาพ

4.3 ผลของการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

นำกากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยสภาวะที่เหมาะสม มาทำการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ความเข้มข้น 0.01 % (w/w) ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4

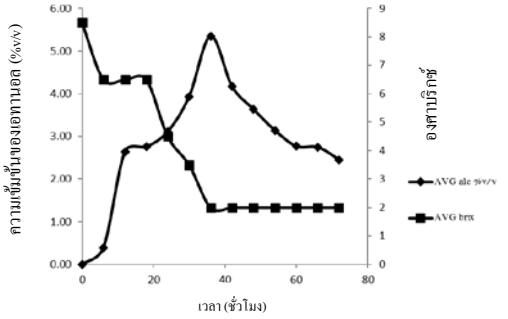


รูปที่ 4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยกากมันสำปะหลังที่ถูกปรับสภาพแล้วด้วยกลูโคอะไมเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.01 โดยน้ำหนัก

จากผลการทดลองดังรูปที่ 4 พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 0.01 % (w/w) เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณของน้ำรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างเป็นลำดับในช่วงเวลา 0-120 นาที จากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มมีค่าคงที่เท่ากับ 90.9 กรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม ในช่วงเวลา 120-180 นาที โดยปกติแล้วการย่อยวัตถุดิบตั้งต้นจำพวกแป้งหรือเซลลูโลซิกจำเป็นจะต้องผ่านการย่อย 2 ขั้นตอน คือ การย่อยครั้งแรก (Liquefaction) ด้วยเอนไซม์แอลฟ่าอะไมเลส (α-amylase) และการย่อยครั้งสุดท้าย (Saccharification) ด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส แต่จากการศึกษางานวิจัยของ สุนีย์ โชตินีรนาท (2547) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบผลการย่อยกากมันสำปะหลังระหว่างผ่านขั้นตอนการย่อยทั้ง 2 ขั้นตอน และการย่อยครั้งสุดท้ายเพียงขั้นตอนเดียว ได้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกันมากนัก ทำให้สามารถลดระยะเวลาในการ Liquefaction ลงได้ 2 ชั่วโมง เป็นการประหยัดพลังงานและลดต้นทุนในการผลิตได้

4.4 การหมักเอทานอลด้วยวิธีการรวมขั้นตอนการย่อยและหมักในขั้นตอนเดียว (Simultaneous Saccharification and Fermentation: SSF)

Hydrolysate ที่ได้กระบวนการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกเจือจางความเข้มข้น 0.1 % (w/w) ถูกนำไปลดอุณหภูมิลงเหลือ 60 °C และปรับค่ากรดด่างเป็น 4.5 แล้วจึงเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.01 % (w/w) หลังจากนั้นนำไปลดอุณหภูมิลงอีกครั้งจนเหลือ 30 °C แล้วจึงเติมเชื้อยีสต์ผง (*Saccharomyces cerevisiae*) 1.0 % (w/w) ผลของปริมาณเอทานอลและของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด แสดงดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) และปริมาณเอทานอลจากการหมักกากมันสำปะหลัง

จากผลการทดลองการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังด้วยวิธี Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) โดยไม่ผ่านขั้นตอนการย่อยครั้งแรก (Liquefaction) ด้วยเชื้อยีสต์ผงสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นระยะเวลา

ทั้งหมด 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์ปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมด และปริมาณเอทานอลทุก 6 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดลดลงแปรผันตามระยะเวลาที่ใช้หมักบ่ม โดยปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 8.5 °brix และมีการคงที่ของปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดอยู่ 2 ช่วงคือช่วงแรกชั่วโมงที่ 6-18 ชั่วโมง เท่ากับ 6.5 °brix และเริ่มคงที่อีกครั้งที่ช่วงเวลา 36-72 ชั่วโมงคือเท่ากับ 2°brix นั้นเป็นเพราะการคงที่ในครั้งแรกเกิดจากเอนไซม์กลูโคอะไมเลสยังคงทำงานและย่อยแป้งที่อยู่ในกากมันสำปะหลัง แต่ในขณะเดียวกันยีสต์ก็ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นเพื่อผลิตเอทานอล ทำให้เกิดการคงที่ของปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดในช่วงแรก เมื่อยีสต์ใช้น้ำตาลที่มีอยู่ต่อไปและปริมาณแป้งในกากมันสำปะหลังลดลงจนเอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ จึงทำให้ปริมาณของแข็งละลายได้ทั้งหมดคงที่ในช่วงที่สองซึ่งก็สอดคล้องกับร้อยละเอทานอลที่ได้โดยในช่วงระยะเวลาของการหมักตั้งแต่ 0-36 ชั่วโมงแรกปริมาณของเอทานอลมีอัตราเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักบ่ม โดยมีปริมาณร้อยละเอทานอลสูงสุดที่ 5.35 % (v/v) ที่เวลา 36 ชั่วโมง ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพในการหมักเท่ากับ 90.62% เมื่อเทียบกับทฤษฎี ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับ Rattanachomsri และคณะ (2009) ซึ่งได้ทำงานการผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังด้วยวิธี SSF โดยใช้เอนไซม์ผสมในการย่อย และยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* BBCC7755 ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณร้อยละเอทานอลที่ได้เท่ากับ 14.3 กรัมต่อลิตร จากกากมันสำปะหลังสด 5 % (w/v) โดยใช้เอนไซม์ผสมในการย่อยทำให้การย่อยมีประสิทธิภาพมากขึ้น อีกทั้งเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* BBCC7755 ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาล C5 เช่นน้ำตาลไซโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังได้อีกด้วย และมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลคิดเป็น 93.7% ในขณะที่ Akihito และคณะ (2008) ได้ทำการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังสดโดยใช้ยีสต์ Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no. 7 (strain K7) ที่สามารถสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจาก *Rhizopus oryzae* พบว่ามีประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลเท่ากับ 91% และ 80% เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 5% และ 10% ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่างานวิจัยนี้

5. บทสรุป

กระบวนการปรับสภาพกากมันสำปะหลังด้วยกรด สามารถลดความหนืดของกากมันสำปะหลัง ทำให้เพิ่มความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังได้ และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของขั้นตอนการย่อย โดยพบว่าที่การหมักโดยการใช้กากมันสำปะหลังความเข้มข้น 10 % มีประสิทธิภาพในการหมักเอทานอล 90.62 % แสดงให้เห็นว่าการหมักเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยใช้วิธีการปรับสภาพร่วมกับการหมักแบบรวมการย่อยในขั้นตอนเดียว ให้ประสิทธิภาพในการหมักสูง และลดระยะเวลาในการผลิตเอทานอลจากวิธีดั้งเดิมคือ 88 ชั่วโมง เหลือเพียง 38 ชั่วโมง

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท ชอไชยวัฒน์ อุตสาหกรรม จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์กากมันสำปะหลัง เพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบในการนำมาทดลอง และขอขอบคุณ สถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต ผู้สนับสนุนเงินทุนวิจัยสำหรับโครงการวิจัยนี้

7. เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2555) สถานการณ์พลังงาน. ศูนย์สารสนเทศข้อมูลพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน

จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และ ณัตติยา จันทวงษา. (2554). การศึกษาการผลิตไบโอเอธานอลจากเปลือกทุเรียนโดยเชื้อยีสต์เดี่ยวและเชื้อยีสต์ผสม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ, 242-249.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร, เลิศลักษณ์ แก้ววิมล และละเอียด แซ่โง้ว. (2549). การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สิทธิศักดิ์ อุปริวงศ์, ปิยะเมธ ทองละมุน และสำรวย นางทะราช. (2549). พลังงานเชื้อเพลิงแอลกอฮอล์แข็งจากมันสำปะหลัง. วารสารวิจัยพลังงาน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3: 110-118.

สุนีย์ โชตินีรนาท, ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ, โปรดปราน สิริธีระศาสน์ และสุเมธ ตันตระเธียร (2547). การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการใช้เอนไซม์และอัลทราฟิวเทรชัน I : การย่อยด้วยเอนไซม์. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์พยากรณ์และสารสนเทศ. (2556). สถานการณ์พลังงานไทย 2556. สำนักงานและแผนนโยบายพลังงาน, กระทรวงพลังงาน

Akihiko K. , Mitsuyoshi U. , Yoshinori M. , Vaithanomsatd P. , Thanapased W. , Takamitsu A. , Yutaka M. (2008) . Production of ethanol from cassava pulp via fermentation with a surface-engineered yeast strain displaying glucoamylase. Renewable energy. 34: 1354-1358.

American Associasion of Cereal Chemists (AACC). (1972). Approved Methods of the AACC. Method 76-11. The Association : St.Paul, MN.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) . (1995) . Official Method of Analysis. 15th edition The Association of Official Agricultural Chemists. Verginia.

Harun, R. and Danquah, M.K. (2011). Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production. Process Biochem. 46 : 304–309.

Rattanachomsri U., Tanapongpipat S., Eurwilaichitr L., Champreda V. (2009). Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by Candida tropicalis. J. Biosci. Bioeng. 107: 488-493

Sindhu R, Kuttiraja M, Binod P, Janu KU, Sukumaran RK, Pandey A. (2011). Dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification of sugarcane tops for bioethanol production. Bioresour Technol 102(23):10915-10921

Somogyi, M. (1952). Note on sugar determination." Journal of Biological Chemistry: 19-25.