การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* และเชื้อรา *Amylomyces rouxii*

Reducing sugar Production from Cassava Pulp by *Trichoderma viride* and *Amylomyces rouxii*

พลกฤษณ์ จิตร์โต,[1*] สมรัก ทองสูญ,[2] อนงค์นาถ แสนหอม[2]

Ponlakit Jitto,[1*] Somrak Thongsoon,[2] Anongnath Saenhom[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เปรียบเทียบความสามารถการย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อราแบบผสม กากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการรีดตะกอนถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังได้แก่ แป้ง, เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เท่ากับ 69.27, 3.7 และ 3.49 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัมตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าที่เวลา 96 ชั่วโมง การใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114, *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ เชื้อผสม สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงที่สุด เท่ากับ 10.64 , 16.61 และ 23.17 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม โดยที่ปริมาณแป้งลดลงเท่ากับ 37.73, 28.26, และ 25.58 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ ในขณะเดียวกันปริมาณเซลลูโลสลดลงเท่ากับ 2.08, 2.84 และ1.91 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ และปริมาณเฮมิเซลลูโลสมีปริมาณลดลงเท่ากับ 2.87, 3.03 และ2.76 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบพบว่า การใช้เชื้อราแบบรวม มีความสามารถในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุด แม้ว่าการย่อยทั้งสามรูปแบบมีความสามารถในการย่อยสลายกากมันสำปะหลังใกล้เคียงกัน เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 สร้างเอนไซม์ β-glucosidase, Xylanase และ β-xylosidase และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สร้างเอนไซม์ amyloglucosidase เมื่อมีการใช้เชื้อราแบบรวม จึงเกิดการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์จากเชื้อราทั้งสองชนิดและมีเอนไซม์หลายชนิดทำให้สามารถย่อยกากมันสำปะหลังและเกิดน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : การหมัก น้ำตาลรีดิวส์ กากมันสัมปหลัง เชื้อรา

Abstract

The objectives of this research were to compare the hydrolysis of cassava pulp for producing a reducing sugar by *Trichoderma viride* TISTR 3114, *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and mix culture. The Cassava pulp was collected at the end of process and dewatering by belt press. The characteristic of cassava pulp were starch, cellulose and hemicelluose as composition of 69.27, 3.7 and 3.49 g/100g of cassava pulp, respectively. The results were showed that reducing sugar concentration at 96 hours that was produce by *Trichoderma viride* TISTR 3114, *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and Mix Culture. Reducing sugar production

[1] อาจารย์, [2] นิสิตปริญญาตรี, หลักสูตรเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

[1] Lecturer, [2] student, Environmental Technology, Faculty of Environmental and Resource Studies, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand.

Corresponding author : Ponlakit Jitto, Environmental Technology, Faculty of Environmental and Resource Studies, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand

were 10.64, 16.61 and 23.17 g/100g of cassava pulp, respectively. The starch contents were decreased to 37.73, 28.26, and 25.58 g/100g of cassava pulp, respectively. While amounts of cellulose were decreased to 2.08, 2.84 and 1.91 g/100g of cassava pulp, respectively and the amount of hemicellulose decreased to 2.87, 3.03 and 2.76 g/100g of cassava pulp, respectively. The comparison results were indicated that mix culture produce reducing sugar more than other single strains, while amount of cassava pulp degradation were not different, because *Trichoderma viride* TISTR 3114 produce enzyme β-glucosidase, Xylanase and β-xylosidase while *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 produce enzyme amyloglucosidase, so the mix culture had severals type of enzyme to degradation a cassava pulp, so reducing sugar increase.

Keywords: Fermentation, Reducing Sugar, Cassava pulp, Funji

บทนำ

พลังงานมีความจำเป็นต่อมนุษย์ในอนาคต นับวันพลังงาน จากปิโตเลียมกำลังจะหมดไป จึงมีความจำเป็นที่ต้องค้นหาแหล่งพลังงานทดแทนที่สามารถผลิตขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพลังงานที่มีการหมุนเวียนวัฏจักรคาร์บอนผิวโลกเช่นเชื้อเพลิงชีวมวล เป็นต้น เอทานอลเป็นแหล่งพลังงานชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตจากกระบวนการหมักโดยมีน้ำตาลเป็นสารตั้งต้น น้ำตาลที่นำมาใช้อาจจะได้จากการน้ำตาลโดยตรงจากภาคเกษตร เช่นน้ำตาลอ้อย หรือของเหลือจากกระบวนการผลิต เช่น กากน้ำตาล หรือเป็นน้ำตาลที่ย่อยสลายจากคาร์โบไฮเดรต เช่นแป้ง เส้นใยหรือเซลลูโลสซึ่งมาจากพืช เช่น แป้งจากหัวมันสำปะหลัง ข้าวโพด และกากของเสียทางการเกษตร เช่น เปลือกและกากมันสำปะหลัง เป็นต้น[1]

ปัจจุบันประเทศไทยมีปริมาณการผลิตแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้หัวมันสำปะหลังสดประมาณ 10 ล้านตันต่อปีและมีกากมันสำปะหลังประมาณ 1 ล้านตันต่อปี[2] โดยหัวมันสำปะหลังสด 1 กิโลกรัมมีกากมันสำปะหลังประมาณ 0.05 - 0.07 กิโลกรัม ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกและกากมันสำปะหลังองค์ประกอบหลักเป็นแป้ง และเส้นใย[3] เมื่อทำการย่อยสลายด้วยกรด เอมไซม์หรือการหมักด้วยจุลินทรีย์เกิดผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลรีดิวซ์[4] มีความสำคัญเป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ และสามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้[5]

การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การย่อยด้วยกรด และการย่อยด้วยเอนไซม์ การย่อยด้วยเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับการย่อยด้วยกรดจะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่บริสุทธิ์ในปริมาณที่สูงและยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเพียงเล็กน้อย[6] ดังนั้นเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงสุด ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายกากมันสำปะหลัง ที่มีองค์ประกอบของแป้ง และเส้นใย การใช้เอนไซม์บริสุทธิ์เอนไซม์จะสามารถจำเพาะต่อสารที่อยู่ในวัตถุดิบได้มากขึ้น แต่เอนไซม์บริสุทธิ์มีขั้นตอนการผลิตที่ซับซ้อน และมีราคาแพง การหมักด้วยจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้น้ำตาลที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ใกล้เคียงกับเอนไซม์บริสุทธิ์ และยังสามารถลดต้นทุนและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเชื้อราจำพวก White rot fungi เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสเพื่อผลิตเป็นน้ำตาลได้ เช่น *Phanerochaete chrysosporium, Tremates sp., Cerporiopsis Subvermispora, Phebia radiate, Pycnoporous sp., Coriolopsis rigida, Garnoderma lucidum, Nematoloma frowardii, Cyathus stercoreus, Bjerkandera sp., Trichoderma viride* เป็นต้น[7]

เชื้อ *Trichoderma viride* ผลิตเอนไซม์ Carboxymethyl cellulase, β-glucosidase และ xylanase ที่จำเป็นในการย่อยสลายโครงสร้างของเส้นใย และเชื้ออะไมโลไมซิสที่สามารถผลิตเอนไซม์ Amyloglucosidase มีความสามารถย่อยสลายโครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลังให้น้ำตาลรีดิวซ์ ข้อจำกัดของจุลินทรีย์แต่ละชนิดผลิตเอมไซม์แตกต่างกันสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้ต่างชนิดกัน ถ้าใช้เชื้อจุลินทรีย์มากกว่า 1 ชนิดมีโอกาสย่อยสลายจะสามารถสร้าง

น้ำตาลรีดิวส์ได้ปริมาณมากขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อราไตรโชเดอร์มาและ เชื้ออราอะไมโลไมสิส รวมทั้งการใช้เชื้อราทั้งสองชนิดซึ่งสามารถผลิตเอมไซม์ต่างชนิดกันทำการใช้ร่วมกันย่อยสลายกากมันสำปะหลังเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์

วิธีทำการทดลอง

กากมันสำปะหลังได้รับการอนุเคราะห์จากโรงงานเปย่ตา ฮวย ชลเจริญ จำกัด อำเภอกุดรัง จังหวัดมหาสารคาม กากมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองนำมาจากของเหลือกระบวนการผลิตแป้งมันสัมปะหลังและผ่านการรีดน้ำนำมาเก็บรักษาที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในการทดลองหนึ่งตัวอย่างจะนำกากมันสำปะหลัง 6 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างกากมันสำปะหลังไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้องและนำไปใช้ในการทดลองในทันที

เชื้อราที่ใช้ในการย่อยมี 2 ชนิดคือ *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เชื้อราทั้งสองชนิดถูกนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) นำมาเพิ่มจำนวนด้วยวิธี Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 30-35 °C เป็นระยะเวลา 7 วัน ล้างสปอร์ด้วย Tween 80 ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และนำมาคำนวณหาจำนวนเชื้อรา *Trichoderma viride* ด้วย Haemacyto พบว่ามีจำนวน 5.12 x 10^9 สปอร์ต่อลิตร และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* จำนวน 4.38 x 10^9 สปอร์ต่อลิตร จากนั้นนำน้ำ Tween 80 ปรับจำนวนสปอร์ของเชื้อราทั้งสองชนิดให้มีจำนวนประมาณ 4.00 x 10^9 สปอร์ต่อลิตร

การศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 รูปแบบการทดลองคือ เชื้อเดียว 2 การทดองได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma viride* เชื้อรา *Amylomyces rouxii* และเชื้อผสมทั้ง 2 ชนิด อัตราส่วน 1:1(5:5 มิลลิตร) ในการทดลองทำน้ำชะสปอร์ทำการเติมลงขวดทดลอง 10 มิลลิตร นำมาเขย่าที่อุณหภูมิห้องเก็บตัวอย่างที่ 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 และ120 ชั่วโมง นำกากมันที่ผ่านการผ่านการย่อยมากรองแยกกากมันสำปะหลังด้วยกระดาษกรอง What man เบอร์ 4 นำน้ำผ่านกระดาษกรองทำการที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid[8] แป้ง วิธี Iodine Method[9] ส่วนกากมันสำปะหลังที่ได้จากการกรองนำมาวิเคราะห์หา Neutral Detergent Fiber วิเคราะห์หา Acid Detergent และวิเคราะห์หา Acid Detergent Lignin[9]

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma viride* และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* และรูปแบบการเลี้ยงของเชื้อราร่วมทั้งสองชนิดเพื่อการย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์

คุณสมบัติทางกายภาพของกากมันสำปะหลัง

จากผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของกากมันสำปะหลังก่อนทำการหมัก ประกอบด้วย ความชื้น 16.3 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 69.27 เปอร์เซ็นต์ เส้นใยทั้งหมด 7.19 เปอร์เซ็นต์, เซลลูโลส 3.7 เปอร์เซ็นต์, เฮมิเซลลูโลส 2.5 เปอร์เซ็นต์, ลิกนิน 1 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 0.04 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นองค์ประกอบต่างๆที่มีในกากมันสำปะหลังที่สามารถย่อยไปเป็นน้ำตาลได้ นอกจากจะมีส่วนที่เป็นแป้งแล้วยังมีส่วนที่เป็นเส้นใย ได้แก่ เซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในผนังเซลล์ของพืช เป็นสารประกอบโฮโมพอลิแซคคาไรด์ ไม่มีกิ่งก้าน ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ น้ำตาลกลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกส์ โดยจะจับกันที่ตำแหน่งพันธะ β-1,4[10] และ เฮมิเซลลูโลส มีลักษณะ Heteroglycan ที่ประกอบด้วย น้ำตาลหลายชนิดมาต่อกันได้แก่ ไซโลส กลูโคส แมนโนส และกาแลกโตส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด β-1,4[10] ซึ่งการย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสนั้นต้องอาศัยเอนไซม์เซลลูเลส โดยแบ่งกลุ่มเอนไซม์ได้เป็น 3 กลุ่มหลักคือ เอนโดกลูเคเนส (Endoglucanase) หรือ 1,4- β-D-glucan-glucanohydrolase ทำหน้าที่ตัดพันธะเบต้า 1,4 ภายในสายเซลลูโลสอย่างสุ่ม โดยจะย่อยในบริเวณอสัณฐาน ทำให้เกิดปลายอิสระ ผลผลิตที่ได้คือ โอลิโกแซคคาไรด์, เอกโซกลูแคเนส (Exoglucanase) หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส ได้ผลิตภัณฑ์หลักคือ เซลโลไบเอส

(กลูโคส เบต้า-1,4-กลูโคส), เบต้า-กลูแคเนส (β-glucanase) หรือเซลโลไบเอส (Cellubiase) และต้องมีเอมไซม์อีกประเภททำหน้าที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นที่เกิดจากการย่อยของเอนโดกลูแคเนส และเซลโลไบโอสที่เกิดจากเอกโซกลูแคเนสให้ได้กลูโคส ซึ่งสามารถนำไปสู่การทดลองโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114, และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 สามารถสร้างเอนไซม์ β-glucosidase, Xylanase และβ-xylosidase[11] ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้สามารถย่อย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ในกากมันสำปะหลังได้ โดยจะเป็นผลทำให้เปอร์เซ็นต์เส้นใยในกากมันสำปะหลังลดลงและสามารถเกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ ในขณะเดียวกันเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สร้างเอนไซม์ที่เรียกว่า Amyloglucosidase ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์[12] (Table 1)

Table 1 Properties of cassava pulp

Properties (%)	This work	สวลี และคณะ(2555)	สุนีย์ (2539)	Kunhi, et al. (1981)	Kosugi , et al. (2009)
Moisture	16.3	13.06%	12.21	-	-
Starch	69.27	72% w/w dry basis	66.22	61.80	60.6
NDF	7.19	-	-	12.3	29
Cellulose (ADF)	3.7	15.25 w/w dry basis	-	-	-
Hemicellulose	3.49	-	-	-	-
Lignin (ADL)	1	-	-	-	-
Etc.	0.04	-	-	-	-

ผลของการย่อยเส้นใยในกากมันสำปะหลัง

ผลการวัดองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังที่มีส่วนที่เป็นเส้นใยอยู่ 15 เปอร์เซ็นต์[13] ซึ่งเส้นใยในกากมันสำปะหลังมีทั้งส่วนที่เป็น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน ทั้งนี้หลังการหมักด้วยรูปแบบต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าในระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์เของเส้นใยในกากมันสำปะหลังมีปริมาณที่ลดลงตลอดในระยะเวลาที่หมักด้วย เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114, เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ เชื้อผสม โดยในการหมักแบบเชื้อผสม นั้นมีเปอร์เซ็นต์เส้นใยเหลืออยู่น้อยที่สุด ในการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยมีปริมาณ เส้นใยทั้งหมด(NDF), เซลลูโลส(ADF), ลิกนิน (ADL) และ เฮมิเซลลูโลส ก่อนทำการหมัก เท่ากับ 7.19, 3.7, 1 และ 3.49 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลัง ตามลำดับ แต่หลังจากการหมักเชื้อผสมที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณของ NDF, ADF, ADL, และ เฮมิเซลลูโลส เท่ากับ 5.32, 1.91, 0.60, 2.76 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลัง ตามลำดับ และปริมาณเถ้าเท่ากับ 0.02 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลัง (Table 2)

Table 2 Cassava pulp fermentation in 96 hour.

Properties (% by wet weight)	Cassava pulp g/100g	Fermentation at 96 hour.		
		Trichoderma viride TISTR 3114	*Amylomyces rouxii* TISTR 3182	Mix Culture
NDF	7.19	5.38	6.17	5.32
ADF	3.7	2.08	2.84	1.91
Hemicellulose	3.49	2.87	3.03	2.76
ADL (lignin)	1	0.71	0.85	0.60
Ashes	0.04	0.02	0.03	0.02

องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังนอกจากจะมีส่วนที่เป็นแป้งแล้วยังมีส่วนที่เป็นเส้นใยได้แก่ เซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในผนังเซลล์ของพืช เป็นสารประกอบโฮโมพอลิแซคคาไรด์ ไม่มีกิ่งก้าน ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ น้ำตาลกลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกส์ โดยจะจับกันที่ตำแหน่งพันธะ β-1,4[10] และ เฮมิเซลลูโลส มีลักษณะ Heteroglycan ที่ประกอบด้วย น้ำตาลหลายชนิดมาต่อกันได้แก่ ไซโลส กลูโคส แมนโนส และกาแลกโตส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด β-1,4 ซึ่งการย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสนั้นต้องอาศัยเอนไซม์เซลลูเลส โดยแบ่งกลุ่มเอนไซม์ได้เป็น 3 กลุ่มหลักคือ เอนโดกลูเคเนส (Endoglucanase) หรือ 1,4- β-D-glucan-glucanohydrolase ทำหน้าที่ตัดพันธะเบต้า 1,4 ภายในสายเซลลูโลสอย่างสุ่ม ทำให้เกิดปลายอิสระ

ผลผลิตที่ได้คือ โอลิโกแซคคาไรด์, เอกโซกลูแคเนส (Exoglucanase) หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส ทำหน้าที่ย่อยโดยการตัดโมเลกุลจากปลายทั้งสองด้าน โดยย่อยทีละ 2 หน่วยกลูโคส ในบริเวณที่เป็นผลึก ผลิตภัณฑ์หลักคือ เซลโลไบเอส (กลูโคส เบต้า-1,4-กลูโคส), เบต้า-กลูแคเนส (β-glucanase) หรือเซลโลไบเอส (Cellubiase) ทำหน้าที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นที่เกิดจากการย่อยของเอนโดกลูแคเนส และเซลโลไบโอสที่เกิดจากเอกโซกลูแคเนสให้ได้กลูโคส[7] ดังนั้นโครงสร้างของเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ทั้ง 3 กลุ่มนี้เพื่อใช้ในการย่อยสลาย โดยที่โครงสร้างเซลลูโลสมีส่วนที่เป็นระเบียบ (Crystalline Region) และส่วนที่ไม่มีระเบียบ (Amorphous Region) เอนไซม์ Endoglucanase จะเข้าไปย่อยสลายส่วนที่ไม่มีระเบียบ ทำให้เส้นใยเซลลูโลสขาดเป็นช่วงๆ เอนไซม์ Exoglucanase เข้าไปย่อยส่วนปลายของเส้นใยที่ขาดออกมา จากนั้นโมเลกุลของเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายให้เป็นโมเลกุลที่สั้นลงด้วยเอนไซม์ Exoglucanase และโมเลกุลที่สั้นลงนั้นถูกย่อยด้วยเอนไซม์ β-glucosidase ให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกลูโคส[2] ทั้งนี้ในการทดลองจึงศึกษาการนำเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เพื่อย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในกากมันสำปะหลัง

ผลของการวิเคราะห์เส้นใยในการย่อยกากมันสำปะหลัง พบว่า การใช้เชื้อราแบบเชื้อผสมมีเปอร์เซ็นต์เส้นใยที่เหลืออยู่น้อยที่สุด ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง เป็นเพราะเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 สามารถปล่อยเอนไซม์ β-glucosidase, Xylanase และ β-xylosidase[11] ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้สามารถย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ในกากมันสำปะหลังได้ โดยจะเป็นผลทำให้เปอร์เซ็นต์เส้นใยในกากมันสำปะหลังลดลง และสามารถเกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ ในขณะเดียวกันเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ปล่อยเอนไซม์ amyloglucosidase สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้เช่นกันแต่เปอร์เซ็นต์ที่เหลืออยู่มีน้อยกว่า ดังนั้นเมื่อทำการทดลองการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อราทั้งสองชนิดมีการทำงานร่วมกันจึงเป็นผลทำให้มีปริมาณเส้นใยในกากมันสำปะหลังน้อยเมื่อเทียบจากการทดลองที่ใช้ เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เพียงชนิดเดียว ดัง Figure 1 ถึง 3

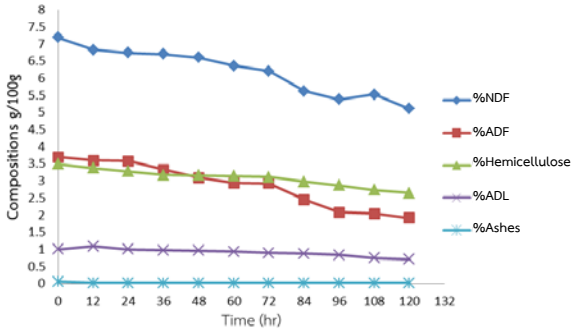

Figure 1 Chemical composition of cassava pulp fermentation by *Trichoderma viride* TISTR 3114.

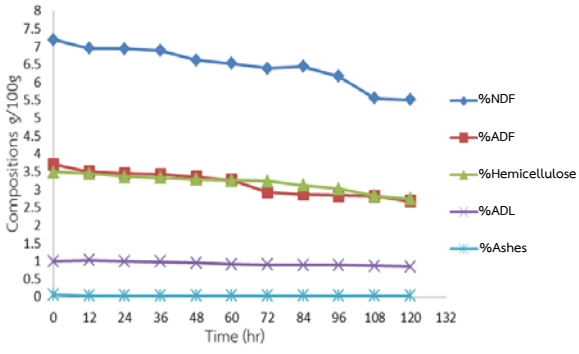

Figure 2 Chemical composition of cassava pulp fermentation by *Amylomyces rouxii* TISTR 3182.

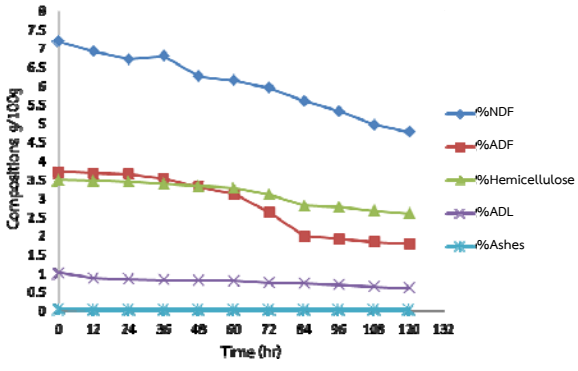

Figure 3 Chemical composition of cassava pulp fermentation by mix culture.

ผลการเปรียบเทียบการย่อยแป้งในกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบประเภทแป้ง โดยแป้งเป็นพอลิเมอร์ของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคส โดยในกากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งก่อนทำการทดลอง เท่ากับ 69.27 กรัมต่อ100 กรัมกากมันสำปะหลัง และหลังจากการทำการทดลองจะพบได้ว่าปริมาณแป้งที่เหลืออยู่จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อผสม ที่ใช้ในการทดลอง โดยใช้ระยะเวลาในการทดลอง คือ 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 และ 120 ชั่วโมง จากผลการวิเคราะห์แป้งตามวิธีไอโอดีน (Iodine Method)[9] ซึ่งการทดลองที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าการย่อยแป้งด้วยเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และเชื้อผสม มีปริมาณแป้งลดลงเท่ากับ 37.73, 28.26 และ 25.58 กรัมต่อ100 กรัมของกากมันสำปะหลังตามลำดับ (Table 3)

การย่อยกากมันสำปะหลังที่มีองค์ประกอบเป็นแป้งและเส้นใย 66.22 และ 15.26 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลังโดยน้ำหนักเปียก ตามลำดับ[13] ทั้งนี้การใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สามารถย่อยกากมันสำปะหลังให้เพื่อผลิตแป้งได้ในช่วง 12 ชั่วโมงแรกที่พบว่ามีปริมาณของแป้งเพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 สามารถสร้างเอนไซม์ β-glucosidase สามารถย่อยเซลลูโลส ได้ Disaccharide Cellobiose ผลิตเอนไซม์ Xylanase สามารถย่อย Xylan ในเฮมิเซลลูโลส ได้ Xylose และผลิตเอนไซม์ β-xylosidase สามารถย่อยเฮมิเซลลูโลส ได้ Xylose[11] ซึ่งเป็นผลทำให้มีปริมาณแป้งที่เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป ปริมาณของเส้นใยลดลงเป็นผลทำให้ปริมาณแป้งลดลงเช่นกัน และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สามารถสร้างเอนไซม์ Amyloglucosidase[14] ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ จึงเป็นผลทำให้ปริมาณแป้งลดลง (Figure 4) เนื่องจากเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 จะเป็นส่วนที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้วจะพบได้ว่า มีการย่อยกากมันสำปะหลังเกิดขึ้นจริง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์แป้งที่ลดลง ซึ่งในการทดลองโดยใช้เชื้อราแบบเชื้อผสมมีปริมาณของแป้งที่เหลืออยู่น้อยที่สุด เนื่องมีเอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันย่อยสลายกากมันสำปะหลังได้ดีกว่าการย่อยด้วยการใช้เชื้อราเพียงชนิดเดียว โดยมีความสัมพันธ์กับกับปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลการทดลองต่อไป

Table 3 Amount of Starch from cassava pulp.

Cultrue	Strach Before Fermentation (g/100g)	Strach After (96 hr.) Fermentation (g/100g)
Trichoderma viride TISTR 3114	69.27	37.73
Amylomyces rouxii TISTR 3182	69.27	28.26
Mix Culture	69.27	25.58

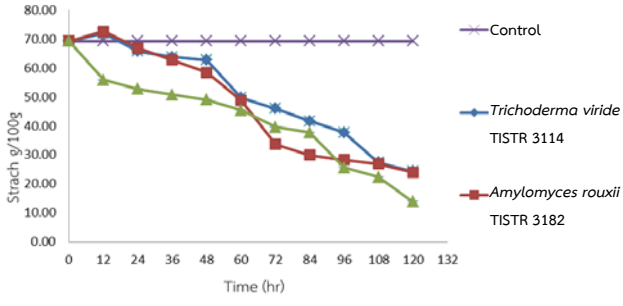

Figure 4 Amount of starch from cassava pulp digestion by *Trichoderma viride* TISTR 3114, *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and Mix Culture

ผลการเปรียบเทียบการย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

ผลการศึกษาการเปรียบเทียบการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ เชื้อผสม โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยทั้งหมด 120 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการทดลอง เท่ากับ 2.72 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลังจากผลการศึกษาพบว่า ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง การใช้เชื้อรา

Trichoderma viride TISTR 3114, เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ เชื้อผสม มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.64, 16.61 และ 23.17 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลัง ตามลำดับ (ดัง Figure 5) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าในการย่อยกากมันสำปะหลังโดยการใช้เชื้อราแบบเชื้อผสมสามารถย่อยให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 เนื่องจากองค์ประกอบของกากมันสำปะหลังเป็นคาร์โบไฮเดรต 66.22 เปอร์เซ็นต์ และเส้นใย 15.26 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งมีมากกว่าองค์ประกอบอื่นๆ[13] ซึ่งแป้งประกอบด้วยโพลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะมิโลส (Amylose) ซึ่งประกอบไปด้วยหน่วยของกลูโคส 500-2,000 มาเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ α-1,4 glycosidic linkage และ อะไมโลเพกติน (Amylopectin) พอลิเมอร์กิ่งหรือแตกแขนงของกลูโคส โดยแกนของอะไมโลเพกตินจะจับกันด้วยพันธะไลกโคซิดิกชนิดแอลฟา 1,4 (α-1,4) และส่วนที่มีการแตกแขนงเป็นพอลิเมอร์กลูโคสสายสั้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิดแอลฟา 1,6 (α-1,6) (กัลยา, 2546) โดยการย่อยแป้งนั้นจำเป็นต้องอาศัย เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำหน้าที่ตัดพันธะกลูโคซิดิกแอลฟา 1,4 ของอไมเลส หรืออะไมโลเพคตินแบบสุ่ม ผลผลิตที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์ คือ กลูโคส มอลโตส และ อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) โดยสามารถตัดทั้งพันธะแอลฟา (1,4) และแอลฟา (1,6)[15] นอกจากนี้ในกากมันสำปะหลังยังมีส่วนที่เป็นเส้นใย หรือเซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลส เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4-glucosidic linkage โดยมีน้ำหนักเท่ากับ 100-4,000 หน่วยกลูโคส มีการเรียงตัวกันเป็นมัดที่เรียกว่า fibril โดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อกัน[16] และในการย่อยสลายเซลลูโลสนี้อาศัยเอนไซม์เซลลูเลส หรือ 1,4- β-D-glucan-glucanohydrolase ทำหน้าที่ตัดพันธะเบต้า 1,4 ภายในสายเซลลูโลสอย่างสุ่ม ผลผลิตที่ได้คือ โอลิโกแซคคาไรด์ และเอกโซกลูแคเนส (Exoglucanase) หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส ทำหน้าที่ย่อยโดยการตัดโมเลกุลจากปลายทั้งสองด้าน โดยย่อยทีละ 2 หน่วยกลูโคส ในบริเวณที่เป็นผลึก ผลิตภัณฑ์หลักคือ เซลโลไบเอส ซึ่งสุดท้ายเอนไซม์เบต้า-กลูแคเนส (β-glucanase) หรือเซลโลไบเอส (Cellubiase) ทำหน้าที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นที่เกิดจากการย่อยของเอนโดกลูแคเนส และเซลโลไบโอสที่เกิดจากเอกโซกลูแคเนสให้ได้ กลูโคส[6]

ผลของการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ในการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114, เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และการเชื้อผสม ในการใช้เชื้อราแบบเชื้อผสมในการทดลองการย่อยกากมันสำปะหลังสามารถทำให้ได้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง เป็นเพราะทั้งเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 สามารถปล่อยเอนไซม์ β-glucosidase, Xylanase และ β-xylosidase[11] ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้สามารถย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ในกากมันสำปะหลังได้ โดยจะเป็นผลทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ ทั้งนี้ในขณะเดียวกันนั้นในกากมันสำปะหลังที่องค์ประกอบเป็นแป้งถึงร้อยละ 66.22 เปอร์เซ็นต์[13] โดยเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ปล่อยเอนไซม์ Amyloglucosidase[14] ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแล้วจะพบว่า มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้น นั้นแสดงให้เห็นว่าในการทำการทดลอง มีการย่อยกากมันสำปะหลังจริง ในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง เนื่องจากในระยะเวลานี้ลักษณะของเชื้อรายังเป็นสปอร์ ซึ่งจำเป็นต้องการสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต จึงมีการดูดซึมสารอาหาร โดยได้จากน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลัง แต่หลังจากนั้นจนถึงช่วง 96 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด เนื่องจากในช่วงนี้เชื้อราสามารถสร้างเอนไซม์ที่ช่วยย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ได้ จึงเป็นผลทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น แต่หลังจากระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลลดลง ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อรามีการเจริญเติมโตมากขึ้นในขณะที่ปริมาณแป้งและเส้นใยลดลงน้อยเป็นผลทำให้เชื้อราจึงจำเป็นที่ต้องการอาหารในการเจริญเติบโต จึงใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออยู่เพื่อบริโภค จึงเป็นผลทำให้น้ำตาลมีปริมาณลดลงเช่นกัน (Figure 5)

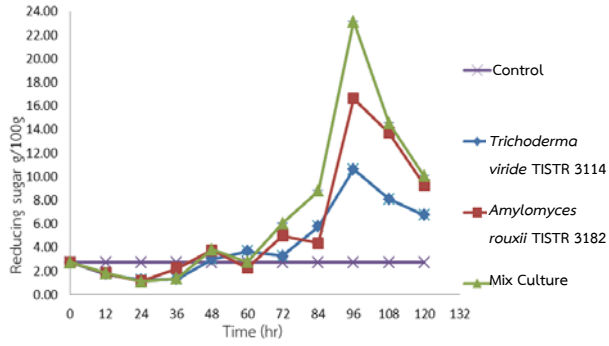

Figure 5 Amount of reducing sugar from cassava pulp digestion by *Trichoderma viride* TISTR 3114, *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 and Mix Culture

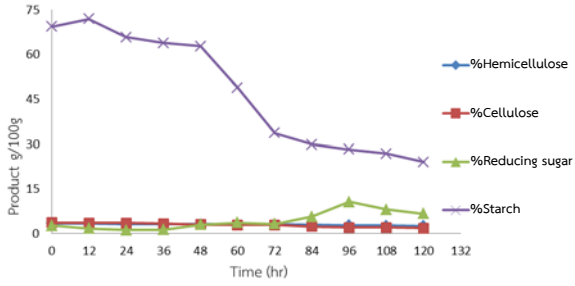

Figure 6 Amount of product from cassava pulp digestion by *Trichoderma viride* TISTR 3114

ผลการเปรียบเทียบปริมาณแป้ง, น้ำตาลรีดิวซ์ และเส้นใยในการย่อยกากมันสำปะหลัง

1) เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114

จากผลการศึกษาของการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์แป้งและน้ำตาลรีดิวซ์ รวมทั้งเส้นใยที่ได้หลังจากการหมักกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 พบว่าเปอร์เซ็นต์แป้งและน้ำตาลและเส้นใยที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กัน โดยตลอดระยะเวลาการทดลอง 120 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์ของแป้งและเส้นใยในกากมันสำปะหลังลดลง และในขณะเดียวกันนี้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์มีเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นโดยมปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 10.64 กรัมต่อ100 กรัมกากมันสำปะหลัง เนื่องจากแป้งถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจากเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 โดยเชื้อรา *Trichoderma viride* สามารถผลิตเอนไซม์ β-glucosidase สามารถย่อยเซลลูโลส ได้ Disaccharide Cellobiose ผลิตเอนไซม์ Xylanase สามารถย่อย Xylan ในเฮมิเซลลูโลส ได้ Xylose และผลิตเอนไซม์ β-xylosidase สามารถย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ Xylose[11] ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มสูงขึ้นและมีปริมาณแป้ง, เซลลูโลส, Hemicellusoe ลดลงเช่นกัน (Figure 6)

2) เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182

ในการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแป้งกับปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปแบบที่ 2 นี้ ที่ใช้เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ที่ใช้ในการย่อยกากมันสำปะหลัง โดยจะพบว่าเปอร์เซ็นต์ของแป้งในกากมันสำปะหลังลดลงตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และในขณะเดียวกันนี้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์มีเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณที่สูงสุดที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 16.61 กรัมต่อ 100 กรัมของกากมันสำปะหลัง (มีปริมาณที่มากกว่าเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114) และเมื่อมีระยะเวลาผ่านไปปริมาณ แป้ง, เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ลดลง จึงเป็นผลทำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเช่นกัน แต่ปริมาณของเซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ที่เหลืออยู่ยังมีปริมาณที่มากเมื่อเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 ซึ่งสร้างเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ได้ดีกว่า

เนื่องจากเกิดกระบวนการย่อย หรือไฮโดรไลซิส ที่เป็นกระบวนการเปลี่ยนพอลิแซคคาไรด์ (แป้ง) เป็นน้ำตาล โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยอย่างสมบูรณ์ คือ กลูโคส[17] และในการย่อยแป้งนี้เป็นการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ได้จากเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ที่มีคุณสมบัติในการปล่อยเอนไซม์ที่เรียกว่า Amyloglucosidase ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์[12] (Figure 7)

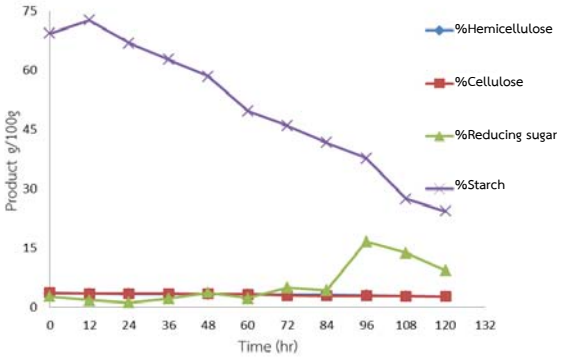

Figure 7 Amount of product from cassava pulp digestion by *Amylomyces rouxii* TISTR 3182.

3) เชื้อผสม

ผลขอการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์แป้ง, น้ำตาลรีดิวซ์ และเส้นใยในการย่อยกากมันสำปะหลังในการใช้เชื้อราแบบเชื้อผสม (เชื้อราทั้งสองชนิดคือ เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ Amylomyces rouxii TISTR 3182) พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเท่ากับ 23.17 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง และที่ระยะเวลาเดียวกันนี้ ปริมาณของแป้ง, เฮมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส เท่ากับ 25.58, 2.76 และ 1.91 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาหลังจาก 96 ชั่วโมงจะพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องจากที่มีเปอร์เซ็นต์ของแป้ง, Hemicelluose และCelluose ลดลงเช่นกัน โดยจะเห็นได้ว่าในการใช้เชื้อราแบบเชื้อผสมสามารถย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ได้เปอร์เซ็นต์ที่สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบจากการใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และ Amylomyces rouxii TISTR 3182

เนื่องจากเชื้อรารา *Trichoderma viride* TISTR 3114 ปล่อยเอนไซม์ β-glucosidase, Xylanase และ β-xylosidase[11] ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้สามารถย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ในกากมันสำปะหลังได้ โดยจะเป็นผลทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้[11] และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 สร้างเอนไซม์ที่เรียกว่า Amyloglucosidase ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์[11] ดังนั้นจึงทำให้เปอร์เซ็นต์แป้ง, เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ที่ลดลง เพราะเกิดกระบวนการย่อยสลายแป้ง, เซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ส่งผลให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (Figure 8)

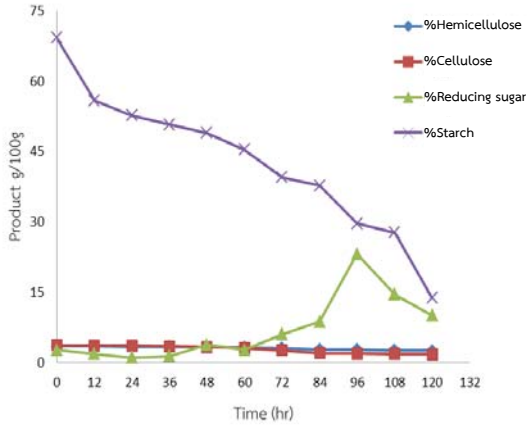

Figure 8 Amount of product from cassava pulp digestion by mix culture.

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และการใช้เชื้อราแบบเชื้อผสม เพื่อย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ในระยะเวลา 120 ชั่วโมง

จากการทดลองรูปแบบการย่อยกากมันสำปะหลังที่ดีที่สุดคือ เชื้อผสมโดยที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง จะมีปริมาณน้ำตาลสูงสุด เท่ากับ 23.17 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม ในขณะที่เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 มีปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 10.64 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม เชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 มีปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 16.61 กรัมต่อกากมันสำปะหลัง 100 กรัม การย่อยโดยเชื้อผสมดีที่สุดเนื่องจากมีเอมไซม์หลายชนิดสามารถย่อยเซลลูโรส เฮมิเซลลูโรส แป้ง ได้หลายรูปแบบนอกจากนี้ เอมไซม์ยังสามารถย่อยสลายผลิตภัณฑ์จากย่อยสลายกากมันสำปะหลังที่เอมไซม์จากเชื้อราชนิดเดียวไม่สามารถย่อยได้โดยได้เอมไซม์จากเชื้อราอีกชนิดมาย่อยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้เป็นน้ำตาลได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนงานวิจัยจากสาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ ปี 2558 ในเรื่อง "การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* TISTR 3114 และเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182"

เอกสารอ้างอิง

1. กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. เชื้อเพลิงเอทานอล (ออนไลน์). 9 ตุลาคม 2557; ได้จาก :URL:http://www.dede.go.th/main.php?filename=index.
2. Guangyong Zhu, Zuobing Xiao , Xian Zhu , Fengping Yi, Xueliang Wan. Clean Technologies and Environmental Policy. 2013; 15(1):55-61.
3. Chompunuch Virunanon. Cassava pulp enzymatic hydrolysis process as a preliminary step in bio-alcoholsproduction from waste starch resources. Cleaner Production. 2013. 39: 273-279.
4. Jiliang. Optimization of microwave-assisted FeCl3 pretreatment conditions of rice strawand utilization of *Trichoderma viride* and *Bacillus pumilus* for production of reducing sugars. Bioresource Technology. 2011. 102: 6966-6971.
5. Cunwen Wang. Hydrolysis of cellulose into reducing sugar via hot-compressed ethanol/water mixture. Biomass&Bioenergy. 2012. 42: 143-150.
6. Ye Sun, Jiayang Cheng. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology. 2002; 83:1–11.
7. Shiv Prasad, Anoop Singh and H.C. Joshi, 2007. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. Resources Conservation and Recycling. 50: 1-39.
8. Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry. 31: 426-429.
9. AOAC 1990. Official Methods of Analysis. 15thed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.
10. Shiv Prasad, Anoop Singh, and Niveta Jain. Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India. Energy & Fuels. 2007; 21(4):2415–2420.
11. Xinde Jiang. New isolate of Trichoderma viride strain for enhanced cellulolytic enzymecomplex production. Bioscience and Bioengineering. 2011. 2: 121-127.
12. N.T.P. Dung et al. Functionality of selected strains of molds and yeasts from Vietnamese rice wine starters. Food Microbiology . 2006. 23: 331–340.
13. สุนีย์ โชตินีรนาท. การผลิตน้ำตาลรีคิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการใช้เอนไซม์และอัลทราฟิลเทรชัน [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.; 2539.
14. Dung NTP, Rombouts FM, Nout MJR (2005) Development of defined mixed-culture fungal fermentation starter granulate for controlled production of rice wine. Innov Food Sci Em Technol 6: 429–441.
15. สิริวรรณ แก้วชิงดวง. การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการบำบัดขั้นต้น [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2554.
16. กัลยา อยู่นาน. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลจากเปลือกและกากมันสำปะหลัง [วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต]. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี; 2546.
17. คุณากร เชื้อสุวรรณ์. การคัดเลือกยีสต์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา; 2549.