

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ประจำปีงบประมาณ 2552

1. **ชื่อโครงการ** การใช้ประโยชน์จากเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิต
แป้งมันสำปะหลังเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล
Utilization of Cassava Peels and Pulps from Tapioca Processing for Ethanol
Production
2. **หน่วยงานที่รับผิดชอบงานวิจัย** สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
วิทยาเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
3. **ผู้วิจัย**
 - 3.1 หัวหน้าโครงการ ดร. เบญจพร สุวรักษ์
ตำแหน่ง นักวิจัย
สถานที่ทำงาน ศูนย์ความเป็นเลิศเฉพาะทางด้านการจัดการและใช้ประโยชน์
จากของเสียอุตสาหกรรมเกษตร
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
ถนนชายทะเลบางขุนเทียน ท่าข้าม บางขุนเทียน
กรุงเทพฯ 10150

โทรศัพท์ 02-4707526
โทรสาร 02-4523455
 - 3.2 ผู้ร่วมวิจัย ดร. วรินทร์ สงคศิริ
ศูนย์ความเป็นเลิศเฉพาะทางด้านการจัดการและใช้ประโยชน์จากของเสีย
อุตสาหกรรมเกษตร
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
ถนนชายทะเลบางขุนเทียน ท่าข้าม บางขุนเทียน
กรุงเทพฯ 10150

โทรศัพท์ 02-4707469
โทรสาร 02-4523455

3.3 ผู้ร่วมวิจัย

รศ. ดร. ภาวิณี ชัยประเสริฐ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ถนนชายทะเลบางขุนเทียน ท่าข้าม บางขุนเทียน

กรุงเทพฯ 10150

โทรศัพท์

02-4707525

โทรสาร

02-4523455

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2551 ตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือน กันยายน พ.ศ. 2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์ของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เป็นกากของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง เพื่อนำมาผลิตเอทานอลที่เป็นพลังงานทดแทน ในการศึกษานี้ได้ผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังร้อยละ 10 (w/v) ที่อัตราส่วนผสมเปลือกต่อกากมันสำปะหลัง 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยวิธีทางชีวภาพในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ และกระบวนการหมักด้วยยีสต์ อัตราส่วนผสมนี้มีปริมาณเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 16.56 ± 0.82 , 19.63 ± 1.10 , 22.65 ± 1.95 และ 25.75 ± 2.92 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 60.39 ± 6.44 , 54.78 ± 4.21 , 50.57 ± 4.21 และ 44.9 ± 2.43 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

สภาวะที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ในการศึกษานี้ คือ ไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 30 ยูนิต ที่ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 เวลา 6 ชั่วโมง สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ในปริมาณ 0.226 ± 0.002 , 0.298 ± 0.004 , 0.325 ± 0.007 และ 0.393 ± 0.002 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อไฮโดรไลซิสแป้งต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ที่ 90 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 เวลา 2 ชั่วโมงได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณ 0.09 ± 0.009 , 0.08 ± 0.007 , 0.11 ± 0.008 และ 0.15 ± 0.002 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขั้นตอนสุดท้ายใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 6 ยูนิต ที่ 60 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 เวลา 24 ชั่วโมง สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ในปริมาณ 2.81 ± 0.08 , 3.08 ± 0.03 , 2.89 ± 0.01 และ 3.16 ± 0.02 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการย่อยสลายในรูปปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปมีค่าประมาณร้อยละ 91.01 ± 0.98 , 93.12 ± 1.25 , 92.57 ± 0.96 และ 93.24 ± 1.75 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปมีค่าประมาณร้อยละ 95.18 ± 1.07 , 92.45 ± 0.72 , 92.37 ± 0.59 และ 91.25 ± 0.44 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดในอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ทั้งหมดคือ 3.13 ± 0.08 , 3.46 ± 0.04 , 3.33 ± 0.01 และ 3.70 ± 0.02 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการทดสอบการผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง พบว่า มีปริมาณเอทานอล 1.55 ± 0.03 , 1.72 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 และ 1.86 ± 0.03 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ หรือที่ความเข้มข้นของเอทานอล 15.48 ± 0.29 , 17.29 ± 0.20 , 16.73 ± 0.25 และ 18.64 ± 0.38 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก มีต้นทุนจากวัตถุดิบเอนไซม์ สารเคมี พลังงานและค่าแรงในการผลิตเอทานอลคือ 13.11, 12.95, 12.82 และ 12.70 บาทต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้น การนำเปลือกมันสำปะหลังผสมลงไปในการหมักมันสำปะหลังเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอทานอล และการนำเปลือกและกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลที่เป็นพลังงานทดแทน จึงเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าและเกิดประโยชน์สูงสุด

คำสำคัญ : เปลือกมันสำปะหลัง / กากมันสำปะหลัง / เอนไซม์ / เอทานอล / ไฮโดรไลซิส / ยีสต์

Abstract

This research was aimed to apply cassava peels and pulps from tapioca processing for ethanol production as alternative energy. The study was carried out to determine the potential of ethanol production from the mixture of peels and pulps at various ratios. The ratios of peels and pulps mixture were 0:1, 1:5, 1:2 and 1:1 containing cellulose of 16.56 ± 0.82 , 19.63 ± 1.10 , 22.65 ± 1.95 and 25.75 ± 2.92 % dry weight and starch of 60.39 ± 6.44 , 54.78 ± 4.21 , 50.57 ± 4.21 and 44.9 ± 2.43 % dry weight, respectively. At 10% (w/v) of various mixtures were enzymatic hydrolysis and then fermented by yeast for ethanol production.

Three steps of enzymatic hydrolysis of cellulose and starch in cassava peels and pulps were used in this study. Four ratios of peels and pulps mixture at 0:1, 1:5, 1:2 and 1:1 were carried out. Firstly 30 units of cellulase was used to hydrolyze cellulose in these mixtures at 50 °C and pH 5.0 for 6 hrs and obtained reducing sugars at concentration of 0.226 ± 0.002 , 0.298 ± 0.004 , 0.325 ± 0.007 and 0.393 ± 0.002 g/g dry weight, respectively. Secondary, 9 units of α - amylase was used to hydrolyze starch at 90 °C and pH 6.0 for 2 hrs, reducing sugar was found at concentration of 0.09 ± 0.009 , 0.08 ± 0.007 , 0.11 ± 0.008 and 0.15 ± 0.002 g/g dry weight, respectively. Finally, 6 units of amyloglucosidase was hydrolyzed the remain starch at 60 °C and pH 4 for 24 hrs, reducing sugar produced at this step were 2.81 ± 0.08 , 3.08 ± 0.03 , 2.89 ± 0.01 and 3.16 ± 0.02 g/g dry weight, respectively. In this study, it was found that cellulose was hydrolyzed at 91.01 ± 0.98 , 93.12 ± 1.25 , 92.57 ± 0.96 and 93.24 ± 1.75 % dry weight, respectively, while starch hydrolyzed were 95.18 ± 1.07 , 92.45 ± 0.72 , 92.37 ± 0.59 and 91.25 ± 0.44 % dry weight, respectively. The total amount of reducing sugar from 3 steps of hydrolysis were 3.13 ± 0.08 , 3.46 ± 0.04 , 3.33 ± 0.01 and 3.70 ± 0.02 g/g dry weight, respectively. Then, the obtained reducing sugar from 3 steps of cellulose and starch hydrolysis from mixture of peels and pulps at 0:1, 1:5, 1:2 and 1:1 were fermented for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 at 30 °C for 48 hrs. The produced ethanol were 1.55 ± 0.03 , 1.72 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 and 1.86 ± 0.03 g/g dry weight, or ethanol production at 15.48 ± 0.29 , 17.29 ± 0.20 , 16.73 ± 0.25 and 18.64 ± 0.38 g/l, respectively. The operating cost for ethanol production from the mixture of peels and pulps at 0:1, 1:5, 1:2 and 1:1 were 13.11, 12.95, 12.82 and 12.70 baht per liter, respectively. Thus, the utilization and treatment of agricultural residues waste such as cassava peels and pulps for ethanol production as alternative energy is one choice for waste management in both terms of conservation and environment protection.

Keywords : Cassava Peels/ Cassava Pulps/ Enzyme/ Ethanol/ Hydrolysis/ Yeast

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อภาษาไทย	4
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	5
สารบัญ	6
รายการตาราง	7
รายการรูปประกอบ	9
1. บทนำ	10
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	10
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
1.3 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	11
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานหรือกรอบแนวความคิดของงานวิจัย	11
1.5 วัตถุประสงค์ของโครงการ	17
1.6 ขอบเขตของการวิจัย	17
1.7 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ	18
2. วิธีดำเนินงานวิจัย	18
2.1 วัตถุดิบและเอนไซม์	18
2.2 การศึกษาหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งและเซลลูโลส	19
2.3 การศึกษาไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์	20
2.4 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส	21
2.5 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากเปลือกและกากมันสำปะหลัง	21
2.6 การศึกษาต้นทุนค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากเปลือกและกากมันสำปะหลัง	21
2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ	22
3. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์	22
3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง	22
3.2 ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง	23
3.3 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์	30
3.4 ผลการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ	40
3.5 ต้นทุนค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ	43
4. สรุป	46
5. เอกสารอ้างอิง	48

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง	12
2 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัสดุทางการเกษตร	13
3 อัตราส่วนของเปลือกมันสำปะหลังต่อกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษา	18
4 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง	22
5 องค์ประกอบทางเคมีของอัตราส่วนการผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลัง	23
6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณต่าง ๆ	24
7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณต่าง ๆ	25
8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโค ซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ	27
9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและ กากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร่วมกับอะไมโลกลูโค ซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ	28
10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโค ซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ	29
11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและ กากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร่วมกับอะไมโลกลูโค ซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ	29
12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในส่วน ผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ภายในเวลา 6 ชั่วโมง	32
13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและ อะไมโลกลูโคซิเดส ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ	35
14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและ กากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส	35
15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแบ่งในส่วนผสมของเปลือก และกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด	39
16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแบ่งในส่วนผสม ของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์	39
17 ผลการหมักเอทานอลในส่วนผสมเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่ 48 ชั่วโมง	42

18	ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ก่อนการหมักเอทานอลและเอทานอลที่ผลิตได้	42
19	ราคาของวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง ที่อัตราส่วนต่าง ๆ	43
20	การประมาณค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะ หลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่กำลังผลิตเอทานอล 1 ลิตร	44
21	ปริมาณเอทานอลร้อยละ 99.5 ที่ผลิตได้จากวัตถุดิบต่างชนิดที่มีปริมาณน้ำหนัก 1 ตัน	45
22	ต้นทุนการผลิตเอทานอลต่อลิตรในวัตถุดิบประเภทต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 99.5	46

รายการรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
1 การเปลี่ยนแปลงของลิแกนด์ในเซลล์เป็นเอทานอล	13
2 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตรต่างๆ	15
3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งและเซลล์	16
4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อไฮโดรไลซิสที่ 6 และ 8 ชั่วโมง	26
5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสที่มีความเข้มข้นต่างกัน	30
6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ	32
7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และตามด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ	34
8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ	37
9 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ	41

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ประเทศไทยจัดว่าเป็นแหล่งหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตเอทานอล ซึ่งมีวัตถุดิบทั้งประเภทน้ำตาลและแป้ง เช่น มันสำปะหลัง อ้อย ข้าวโพด เป็นต้น ทั้งนี้ จากสภาวะปัจจุบันประเทศไทยต้องประสบปัญหาเกี่ยวกับความเสียเปรียบด้านพลังงาน เนื่องจากการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อการขนส่งในปริมาณสูง และปัญหาเรื่องน้ำมันในตลาดโลกมีราคาแพงและประเทศไทยต้องเสียเงินตราต่างประเทศในการนำเข้าน้ำมัน ประกอบกับอัตราการใช้น้ำมันของประเทศไทย โดยเฉพาะน้ำมันดีเซลมีอัตราเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว กล่าวคือ ความต้องการน้ำมันดีเซลเป็นปริมาณ 9,928 ล้านลิตร ในปี พ.ศ.2533 และเพิ่มเป็น 18,273 ล้านลิตร ในปี พ.ศ. 2547 หรือเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเฉลี่ยร้อยละ 4.5 ต่อปี (<http://www.energy.go.th>) การที่ราคาน้ำมันดิบในตลาดโลกเพิ่มสูงขึ้นตลอดเวลาส่งผลให้ประเทศไทยต้องเผชิญกับความเสียเปรียบทางด้านเศรษฐกิจอีกด้วย การพิจารณาหาแหล่งพลังงานใหม่ๆ เพื่อใช้ทดแทนน้ำมันจึงเป็นสิ่งที่สำคัญและได้รับการผลักดันจากหลายๆ ฝ่ายอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทนจากวัตถุดิบทางการเกษตรที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและสามารถผลิตได้เองภายในประเทศ สำหรับแหล่งพลังงานทดแทนที่สำคัญแหล่งหนึ่งคือ พลังงานชีวมวล ซึ่งหมายถึงพลังงานที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ รวมถึงผลพลอยได้และของเสียที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิต จุดเด่นของพลังชีวมวลคือ สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก และช่วยลดการเกิดมลภาวะของสิ่งแวดล้อม พลังงานชีวมวลที่สำคัญที่สามารถนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงเครื่องยนต์มีอยู่ 2 ประเภทหลักคือ เอทานอล และไบโอดีเซล ซึ่งวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่สามารถนำมาใช้มาเป็นพลังงานทดแทนได้ เช่น อ้อย น้ำตาล กากน้ำตาล ข้าวโพด มันสำปะหลัง เป็นต้น ซึ่งวัสดุเหล่านี้มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนมาก ได้แก่ แป้งและเซลลูโลส ซึ่งสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ให้เป็นน้ำตาล แล้วตามด้วยกระบวนการหมักให้เป็นเอทานอลได้ซึ่งใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ นอกจากนี้วัสดุที่เหลือใช้ทางการเกษตรแล้ว ยังมีของเสียที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมที่ออกมาจากการกระบวนการผลิตที่สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ในด้านของพลังงานได้เช่นกัน เช่น กากน้ำตาล กากมันสำปะหลัง เป็นต้น

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศชนิดหนึ่ง ซึ่งผลผลิตหัวมันสำปะหลังมีปริมาณเฉลี่ย 18 ล้านตันต่อปี ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งรูปแบบของอาหารคน และอาหารสัตว์ นอกจากนี้ยังนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง ซึ่งโดยส่วนมากจะนำไปผลิตในอุตสาหกรรมมันเส้น มันอัดเม็ด ซึ่งใช้เป็นอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เป็นอุตสาหกรรมโดยหลัก ซึ่งกำลังการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณเฉลี่ย 2.5 ถึง 3 ล้านตันต่อปี (กล้าณรงค์, 2549) จากกระบวนการผลิตแป้งมันส่งผลให้เกิดของเสีย คือ เปลือกและกากมันสำปะหลัง ซึ่งจะพบในปริมาณ 2 แสนตันต่อปี และ 1.5 ล้านตันต่อปี ตามลำดับ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2546) ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรที่มีปริมาณสูง และโดยคุณสมบัติของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่สูง จึงน่าจะเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มขึ้น เช่น การใช้เป็นอาหารสัตว์ การเพาะปลูกเห็ด ปู๋ย นอกจากนี้จะใช้ประโยชน์ได้มากมายดังกล่าวแล้ว ยังมีการศึกษาเพื่อใช้ประโยชน์ในรูปแบบของพลังงานทดแทน นั่นก็คือ เอทานอล โดยกระทรวงอุตสาหกรรมคาดความต้องการใช้เอทานอลในประเทศไทยว่ามีปริมาณ 1 ล้านลิตรต่อวัน หรือ 330 ล้านลิตรต่อปี ซึ่งในการวิจัยนี้จึงได้ศึกษาถึงศักยภาพของการนำเปลือกและกากมันสำปะหลังมาผลิตเอทานอล โดยผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสและ การผลิตเอทานอล เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดพลังงานทดแทน ลดผลกระทบสิ่งแวดล้อมจากวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรม ช่วยลดปัญหาการขาดแคลนด้านพลังงาน และยังเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิต อีกทั้งจะทำให้ประเทศไทยสามารถผลิตเชื้อเพลิงพลังงานได้เอง นอกจากนี้เป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่กากมันสำปะหลัง ที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม

การศึกษานี้จึงมุ่งที่จะพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสและแป้งเป็นหลัก โดยจะศึกษาถึงในส่วนการนำเปลือกมันสำปะหลังเมื่อผสมในกาก

มันสำปะหลัง โดยใช้วิธีการย่อยสลายในขั้นตอนไฮโดรไลซิสให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ และตามด้วยกระบวนการผลิตเอทานอลด้วย *Saccharomyces cerevisiae* รวมถึงศึกษาค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอล

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.2.1 เพื่อสามารถใช้เป็นแนวทางในการบำบัดและใช้ประโยชน์จากของเสียที่เกิดจากภาคอุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลัง หรืออุตสาหกรรมที่มีของเสียที่มีแป้งและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ

1.2.2 เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำเปลือกและกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นพลังงานทดแทน และสามารถเพิ่มศักยภาพของพลังงาน

1.2.3 สามารถลดพลังงานในการนำมาใช้เพื่อขจัดมลภาวะที่เกิดจากเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เหลือใช้จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

1.2.3 สามารถลดต้นทุนการผลิตพลังงานทดแทน เนื่องจากเปลือกและกากมันสำปะหลังมีราคาถูก

1.3 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

โรงงานผลิตเอทานอล

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานหรือกรอบแนวความคิดของงานวิจัย

กรอบแนวความคิด: ในกากและเปลือกมันสำปะหลังยังมีเม็ดแป้งกักเก็บอยู่ในเส้นใย ถ้านำแป้งออกมาได้โดยใช้เอนไซม์สามารถใช้แป้งที่แยกได้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลที่เป็นพลังงานหมุนเวียนได้

ทฤษฎี

1.4.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสไลต์แห้ง เป็นกระบวนการผลิตแบบใหม่ และเป็นกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่โรงงานโดยทั่วไปใช้กันอยู่ในปัจจุบัน มีขั้นตอนการผลิตดังนี้ โดยจะเริ่มต้นด้วยการเตรียมวัตถุดิบ ซึ่งหัวมันสำปะหลังจะถูกล้างเสียผ่านระบบสายพานไปสู่เครื่องร่อนดินทรายเพื่อทำการแยก และยังมีเศษเปลือกหรือรากไม้ที่ปนมาออกจากหัวมันสำปะหลัง จากนั้นหัวมันจะถูกล้างโดยผ่านเครื่องล้างหัวมัน และจะถูกล้างเสียด้วยสายพานเพื่อที่จะป้อนเข้าสู่เครื่องสับหัวมัน หัวมันที่ขนาดเล็กจะผ่านท่อลงสู่เครื่องโม้ โดยจะมีลักษณะเป็นลูกกลิ้งที่มีใบมีดขนาดเล็กจำนวนมาก ในระหว่างไม่จะมีการเติมน้ำเพื่อให้การโม้ทำได้สะดวกขึ้น โดยส่วนมากน้ำที่ใช้เป็นน้ำหมุนเวียนเพื่อเป็นการประหยัดน้ำและช่วยลดการสูญเสียแป้งไปกับน้ำทิ้ง ของเหลวขึ้นจากเครื่องโม้จะถูกปั๊มเข้าสู่เครื่องดีแคนเตอร์เพื่อแยกน้ำทิ้งที่มีโปรตีนและไขมันออกจากเนื้อแป้ง โดยอาศัยหลักของแรงหนีศูนย์กลาง ส่วนแป้ง เส้นใย และกากจะถูกเหวี่ยงแยกออกเป็นน้ำแป้งความเข้มข้นสูง ซึ่งบางโรงงานอาจไม่ใช้เครื่องนี้ ดังนั้นน้ำแป้งที่ได้จากเครื่องโม้จะเข้าหน่วยสกัดแป้งเลย น้ำแป้งจากเครื่องดีแคนเตอร์(หรือเครื่องโม้สำหรับโรงงานที่ไม่ใช้เครื่องดีแคนเตอร์) จะถูกปั๊มเข้าสู่เครื่องสกัดแป้งเพื่อแยกน้ำแป้งออกจากกากและเส้นใย โดยน้ำแป้งจะผ่านเข้าสู่ชุดสกัดหยากก่อนเพื่อแยกกากหยากออก แล้วจึงเข้าสู่ชุดสกัดละเอียด โดยอาศัยแรงเหวี่ยงในการสกัดทำให้กากและเส้นใยติดอยู่บนแผ่นกรอง จากนั้นจะถูกใบมีดของเครื่องปาดเข้าสู่เครื่องอัดกากมันเพื่อรีดน้ำออก สำหรับน้ำแป้งที่มีขนาดเล็กกว่าเส้นใยและกาก จะผ่านแผ่นกรองไปรวมกันด้านล่างเพื่อที่จะทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยผ้ากรองที่มีขนาดเล็กของเครื่องสกัดละเอียดที่มีเป็นชุด ๆ จากนั้นน้ำแป้งจะถูกทำให้บริสุทธิ์และเข้มข้นขึ้นโดยเครื่องแยกแป้ง สารคอลลอยด์จะถูกแยกออกจากน้ำแป้ง ในขณะเดียวกันจะใช้น้ำสะอาดป้อนเข้าไปแทนสิ่งเจือปนในน้ำแป้ง สิ่งเจือปนในน้ำแป้งจะถูกแยกเหวี่ยงและไหลขึ้นด้านบนของเครื่อง น้ำแป้งที่เข้มข้นกว่าจะไหลออกด้านล่าง ในโรงงานมักใช้เครื่องแยกแป้ง 2 ชุด เพื่อให้ได้น้ำแป้งที่มีความเข้มข้นสูง ส่วนน้ำทิ้งที่ได้จากเครื่องจะถูกหมุนเวียนนำไปใช้ประโยชน์ใหม่ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละโรงงาน น้ำแป้งจะถูกลดความชื้นด้วยเครื่องสไลต์แห้งซึ่งเป็นเครื่องเหวี่ยงแยกน้ำออกจากน้ำแป้งเข้มข้น ได้เป็นน้ำแป้งหมาดที่มีความชื้น ประมาณ

35-40 เปอร์เซนต์ จากนั้นแบ่งหมาดจะถูกเป่าด้วยลมร้อนอุณหภูมิ 180-200 องศาเซลเซียส ในหน่วยอบแห้ง แล้วตกลงเข้าสู่ไซโคลนร้อน ทำให้แป้งมีความชื้นลดลงตามต้องการ แล้วถูกดูดเข้าสู่เครื่องไซโคลนเย็นอีกชุดหนึ่ง แล้วผ่านเข้าเครื่องร่อนแป้งได้เป็นแป้งละเอียดเพื่อนำไปบรรจุถุงต่อไปโดยผลจากระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่อง จากมันสำปะหลังจากโรงงาน จะกลายเป็นวัสดุที่เหลือใช้ในปริมาณมาก ซึ่งมีอยู่ประมาณ 1.5 ล้านตันต่อปี ทั่วประเทศ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ , 2546) หากไม่มีการนำกากมันสำปะหลังที่เหลือไปใช้ประโยชน์ จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น มลพิษทางอากาศจากกลิ่นไม่พึงประสงค์ เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลัง จึงเป็นที่น่าสนใจโดยการนำกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ โดยผ่านกระบวนการย่อยสลายทางเอนไซม์หรือทางเคมี ให้ได้เป็นชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าเพิ่มขึ้น

1.4.2 วัสดุเหลือจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

1.4.2.1 เปลือกมันสำปะหลัง

เปลือกมันสำปะหลังเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง จากขั้นตอนการล้าง และปอกเปลือกหัวมันสำปะหลัง ก่อนที่จะสับเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อนำไปเข้าเครื่องโม่บดให้ละเอียดเปลือกมันสำปะหลังมีปริมาณเยื่อใยที่สูงสามารถแสดงได้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง

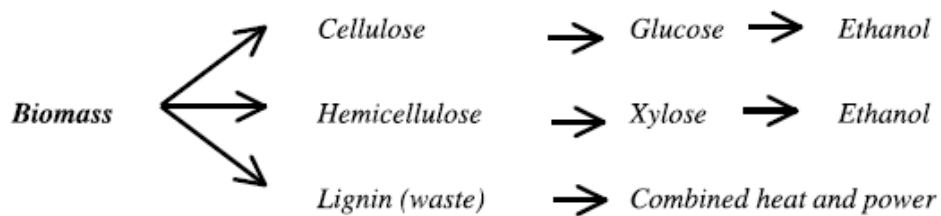
Parameter	เปลือกมันสำปะหลัง (Areghore, 2000)	กากมันสำปะหลัง (Agu et al., 1997)
ไขมัน (%)	0.19	1.00
โปรตีน (%)	3.34	2.30
คาร์โบไฮเดรต (%)	15.14	58.02
เถ้า (%)	3.34	1.50
เส้นใย (%)	11.98	13.53
เซลลูโลส (%)	38.68	14.35
ความชื้น (%)	53.48	71.70

1.4.2.2 กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแป้งมันสำปะหลัง และจัดได้ว่าเป็นวัสดุเหลือใช้ ที่เป็นของแข็งที่มีปริมาณมากที่สุดจากระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง โดยลักษณะทั่วไปของกากมันสำปะหลังมีลักษณะที่ละเอียด สีขาว และมีความชื้นสูงประมาณ 75 เปอร์เซนต์ ซึ่งจะพบปริมาณกากมันสำปะหลังเฉลี่ย 308.64 ตัน/วัน โดยจะมีปริมาณหัวมันสำปะหลังสดที่ป้อนเข้าสู่โรงงานในปริมาณเฉลี่ย 1,171.2 ตัน/วัน องค์ประกอบทางเคมีได้แสดงดังตารางที่ 1 โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังเป็นพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และแร่ธาตุในปริมาณที่ต่ำ

1.4.3 กระบวนการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

โดยส่วนมากวัตถุดิบที่เหลือใช้ทางการเกษตรจะมีองค์ประกอบพวกลิกโนเซลลูโลส จะประกอบด้วย ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังพืช เช่น ฟางข้าว อ้อย มันสำปะหลัง เป็น ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบแต่ละประเภท ดังตารางที่ 2 ลิกโนเซลลูโลสมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงหรือการย่อยสลายจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงเป็นเอทานอลได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของลิกโนเซลลูโลสเป็นเอทานอล (Murphy และ McCarthy, 2004)

ตารางที่ 2 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในวัสดุทางการเกษตร

ชนิดของวัสดุเศษเหลือ	ส่วนประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
เศษไม้เหลือทิ้ง	45-56	10-25	18-30
ฟางข้าว	32.1	24	12.5
ฟางข้าวสาลี	30.5	28.4	18.0
ชานอ้อย	33.4	30.0	18.9
ซังข้าวโพด	45	35	15
ต้นมันสำปะหลัง	32.2	13.85	26.96

1.4.3.1 การเตรียมลิกโนเซลลูโลส (Pretreatment)

การเตรียมลิกโนเซลลูโลสเป็นที่รู้จักกันมานานแล้ว จุดประสงค์ของการเตรียม เพื่อแยกลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ลดการเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มการเป็นรูปพรุนของวัตถุดิบ สำหรับสิ่งที่ต้องการในการเตรียมลิกโนเซลลูโลสคือ เพิ่มปริมาณการผลิตน้ำตาล ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต หลีกเลี่ยงการเกิดตัวยับยั้ง ในขั้นตอนการ hydrolysis และการหมัก และลดต้นทุนในการผลิต สำหรับการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลส เนื่องจากสารพวกลิกโนเซลลูโลสเป็นสารที่มีความแข็งแรงต่อการย่อยสลาย จึงต้องมีการเตรียมเพื่อทำให้อ่อนนุ่ม ให้เอนไซม์เข้าถึงและทำปฏิกิริยาได้ดี ในการเตรียมลิกโนเซลลูโลสอาจจะทำโดยใช้วิธีทางกายภาพ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ

สำหรับขั้นตอนในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบในกลุ่มลิกโนเซลลูโลสจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักๆ คือ การปรับสภาพวัตถุดิบก่อนการย่อย (Pretreatment) เป็นการทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของลิกโนเซลลูโลสเพื่อให้เอนไซม์กรดสามารถเข้าถึงและย่อยได้ง่ายขึ้น และเป็นการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนที่จะเข้าสู่ขั้นตอนการย่อยโดยจะทำให้วัตถุดิบมีพื้นที่ผิวมากขึ้น ปริมาณลิกนินลดลง (Ramos, 2003) จะแบ่งได้ดังนี้

ก) **วิธีทางชีววิทยา (Biological pretreatment)** วิธีนี้จะลดปริมาณของลิกนินไปบางส่วน โดยใช้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายลิกนินได้ (lignin degrading microorganism) เช่น เชื้อรา และแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามวิธีใช้เวลาในการย่อยสลายลิกนินนาน

ข) **วิธีทางเคมี (Chemical pretreatment)** วิธีนี้จะละลายส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เพื่อแยกส่วนที่เป็นเซลลูโลสเพื่อเตรียมสู่ขั้นตอน acid hydrolysis หรือ enzymatic hydrolysis สารเคมีที่นิยมใช้มีดังนี้ คือ sodium hydroxide, sulfur hydroxide, aqueous ammonia, calcium hydroxide, calcium carbonate, phosphoric acid, alkaline hydrogen peroxide, salt, acetic acid, formic acid, *n*-butylamine และ alcohol (methanol, ethanol หรือ butanol)

ค) **วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)** เป็นการช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลาย lignocellulosic materials ตัวอย่างเช่น milling และ microwave irradiation อย่างไรก็ตามข้อเสียหลักของวิธีนี้ก็คือ ต้องการพลังงานสูง Milling เป็นวิธีที่ใช้ลดขนาดของตัวอย่าง เพื่อใช้เพิ่มพื้นที่ผิวและลดส่วนที่เป็น cellulose crystalline และ degree of polymerization โดยเครื่องมือที่ใช้ในการ mill มีหลายแบบ คือ ball mills, hammer mills และ two-roll mills

ง) **วิธีปรับสภาพโดยใช้ไอน้ำร่วมกับความร้อน (Steam pretreatment)** วิธีนี้เป็นการรวมกันระหว่าง Physical และ Chemical pretreatment เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงร่วมความดัน การปรับสภาพโดยใช้ไอน้ำเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในวัตถุดิบด้วยเอนไซม์เข้าไปทำปฏิกิริยาย่อยสลายที่เป็นเซลลูโลส และละลายส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส ไปในน้ำ (Shevchenko, 2000) โดยทำลายพันธะ glycosidic linkage แล้วปล่อยเฮมิเซลลูโลสไปในสารละลายโดยไม่ส่งผลต่อส่วนเซลลูโลส ซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อย (Wu และคณะ, 1999) การปรับสภาพสามารถใช้ในการประเมินค่าการละลายเฮมิเซลลูโลส และความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลส ซึ่งการปรับสภาพจะไม่เปลี่ยนแปลงทั้งองค์ประกอบทางเคมี และคุณสมบัติทางกายภาพของวัตถุดิบ แต่จะช่วยให้อัตราการย่อยมีเพิ่มมากขึ้น (Negro และคณะ, 2003)

1.4.4 กระบวนการย่อยแป้งและเซลลูโลส ไปเป็นน้ำตาล (Hydrolysis)

1.4.4.1 **การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์** เอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะการทำงานในการย่อยแป้ง (กล้านรงค์ ศรีวรรต และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543)

ก) เอนไซม์ย่อยภายนอก (exo-enzyme)

กลูโคซิเดส (glucoamylase) หรือ เรียกว่าอะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถพบได้ในเชื้อราบางชนิด เช่น *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus spp.* เอนไซม์นี้จัดเป็นแอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ชนิดหนึ่งที่ย่อยจากด้านปลายโมเลกุล (exo-hydrolase) ทั้งพันธะแอลฟา (1,4) และแอลฟา (1,6) โดยจะตัดพันธะแอลฟา (1,4) ได้เร็วกว่าแอลฟา (1,6) เอนไซม์นี้ไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่วนเอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β -amylase) ย่อยจากด้านปลายโมเลกุล (exo-hydrolase) ครึ่งละ 2 โมเลกุลกลูโคส ทำให้ได้น้ำตาลมอลโตสเป็นผลผลิต ส่งผลต่อพันธะแอลฟา (1,4) และเมื่อย่อยมาถึงพันธะแอลฟา (1,6) กิจกรรมของเอนไซม์จะหยุดลง เอนไซม์จะหยุดลง เอนไซม์นี้ต้องการแคลเซียมไอออน (Ca^{++}) เป็นโคแฟกเตอร์

ข) เอนไซม์ย่อยภายใน (endo-enzyme)

แอลฟาอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยจากภายในโมเลกุล (endo-hydrolase) ที่พันธะแอลฟา (1,4) แต่ไม่สามารถย่อยพันธะแอลฟา (1,6) ผลผลิตที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้เป็นสารผสมของโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เอนไซม์นี้ต้องการแคลเซียมไอออน (Ca^{++}) เป็นโคแฟกเตอร์พบเอนไซม์ชนิดนี้ใน *Aspergillus oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus amyloliquefaciens* เป็นต้น

ค) เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (debranching enzyme)

พูลูลาเนส (pullulanase) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะแอลฟา (1,6) บริเวณกิ่ง เป็นเอนไซม์ที่ย่อยจากปลายโมเลกุล สามารถย่อยจนได้สายกลูโคสที่มีความยาว 2 - 3 หน่วย แต่ไม่สามารถย่อยจนได้กลูโคส 1 หน่วย ส่วนไอโซอะไมเลส (isoamylase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยจุดที่เป็นกิ่งของอะไมโลส และอะไมโลเพคตินได้ดี ไม่ต้องการโคแฟกเตอร์

1.4.4.2 การย่อยเซลลูโลสในพืชด้วยเอนไซม์

เซลลูโลสจะมีโครงสร้างที่เป็น กลูโคส ต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-Glucosidic linkage เพราะฉะนั้นในการย่อยสลายเซลลูโลส จึงต้องให้เอนไซม์กลุ่มเซลลูเลส ซึ่งจะประกอบด้วยเอนไซม์เชิงซ้อน 3 ส่วนดังนี้

ก. Endoglucanase (1, 4- β -D-glucan-4-glucanohydrolase; EC 3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อย β -1,4-glycosidic linkage โดยจะตัดแบบสุ่มภายในสายจะได้ Cello-oligosaccharide, Glucose, Cellobiose

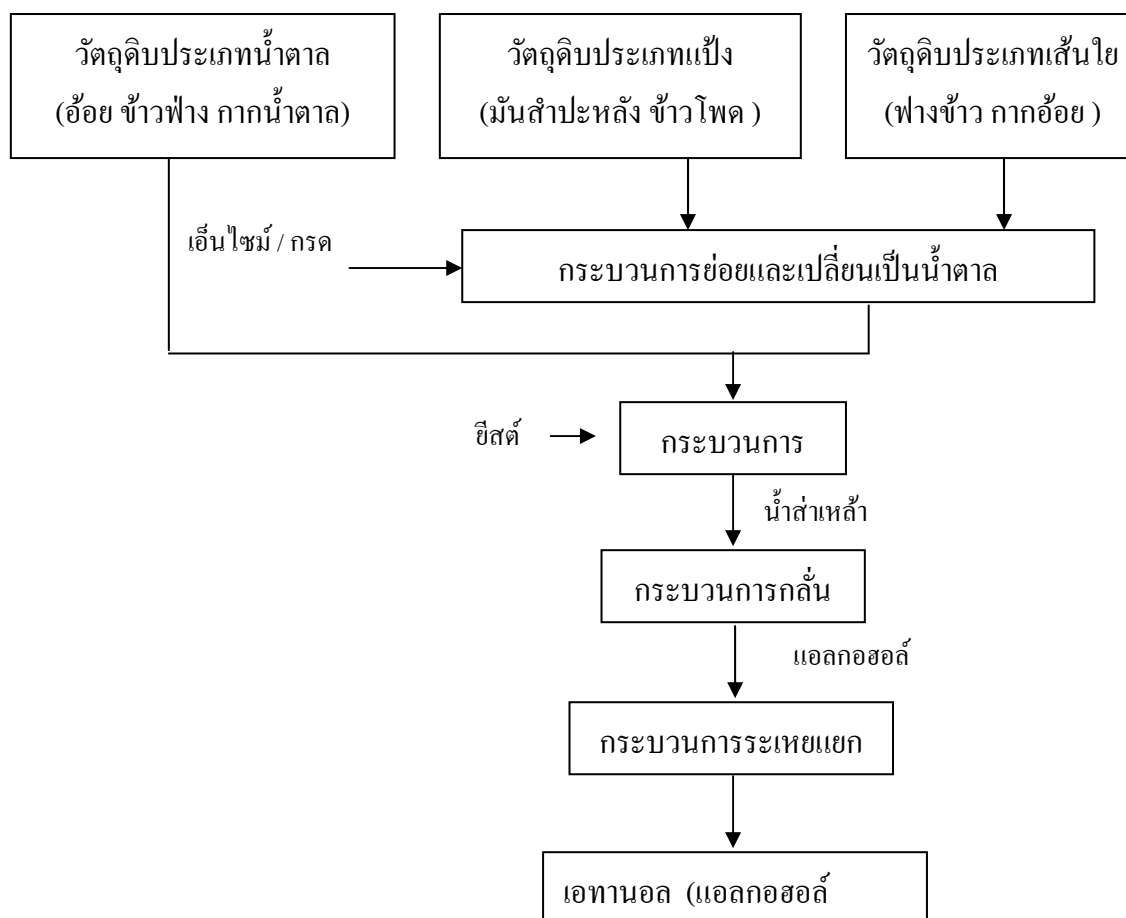
ข. Exoglucanase (1, 4- β -D-glucan cellobiohydrolase; EC 3.2.1.91) ทำหน้าที่ร่วมกับ Endoglucanase ในการย่อยเซลลูโลสจากปลายด้าน non-reducing ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายส่วนใหญ่คือ Cellobiose

ค. β -Glucosidase (β -D-glucohydrolase; EC 3.2.1.21) ทำหน้าที่ย่อย Cellobiose และ Cello-oligosaccharide ได้เป็นกลูโคส

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์พวกไกลโคโปรตีนที่มีอัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อโปรตีนเท่ากับ 1: 1 ละลายน้ำได้ โดยทั่วไปเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานคือ 50 องศาเซลเซียส แต่อาจจะต่ำหรือสูงกว่า 50 องศาเซลเซียสขึ้นกับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่นำมาผลิต (เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534)

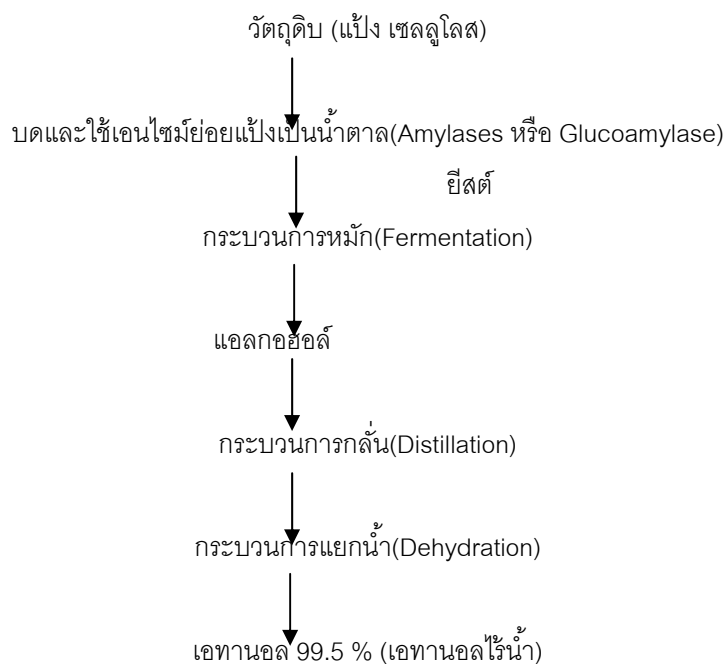
1.4.5 การผลิตเอทานอล

เอทานอลผลิตได้จากวัตถุดิบหลายชนิดแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือวัตถุดิบประเภทเซลลูโลส วัตถุดิบประเภทแป้ง และวัตถุดิบประเภทน้ำตาล โดยที่วัตถุดิบประเภทน้ำตาลสามารถที่จะหมักเป็นเอทานอลได้เลย ส่วนวัตถุดิบประเภทแป้งและเซลลูโลส จะต้องย่อยเพื่อให้เป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงหมักเป็นเอทานอลได้ วัตถุดิบประเภทเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบที่สามารถหาได้ง่ายมีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ โดยส่วนมากจะเป็นผลพลอยได้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมอย่าง เช่น ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด เส้นใยปาล์ม ซึ่งวัตถุดิบประเภทนี้ประกอบด้วย 4 ส่วนที่สำคัญคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารอื่นๆ การผลิตเอทานอลโดยทั่วไปที่นิยมใช้มีกระบวนการดังรูปที่ 2 และ รูปที่ 3



รูปที่ 2 การผลิตเอทานอลโดยกระบวนการหมักจากวัตถุดิบทางการเกษตรต่างๆ

(กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน , 2549)



รูปที่ 3 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทแป้งและเซลลูโลส
(กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน , 2549)

Murphy และ McCarthy (2005) ได้รายงานการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นเอทานอล จากน้ำตาลแต่ละประเภทว่า น้ำตาลแต่ละประเภทเมื่อนำมาหมักเป็นเอทานอลจะได้ปริมาณเอทานอล และผลผลิตอื่นๆที่แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น กลูโคส 1 โมเลกุล เมื่อนำมาหมักเป็นเอทานอล จะได้เอทานอล 2โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล

การผลิตเอทานอลโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* กระบวนการหมักเอทานอลโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์เกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ยีสต์จะทำการหมักเอทานอลโดยเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอลโดยผ่านวิถี Glycolysis หรือวิถี Embden-Meyerhof-Parnas เทพปัญญา (2544) รายงานว่าในกระบวนการหมักจริง น้ำตาล 95 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนเป็นเอทานอล ส่วนที่เหลือ ยีสต์จะใช้สำหรับการบำรุงรักษาเซลล์ และปฏิกิริยาจากการหมัก จะได้ผลิตภัณฑ์ดังนี้ เอทานอล 48.4 เปอร์เซ็นต์ และคาร์บอนไดออกไซด์ 46.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังได้ผลพลอยได้อื่นๆ คือ อะซีทัลดีไฮด์ 0-0.03 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ กลีเซอรอล 2.5-3.6 เปอร์เซ็นต์ กรดแลกติก 0-0.2 เปอร์เซ็นต์ กรดซัคซินิก 0.5-0.77 เปอร์เซ็นต์ fusel oil 0.25-0.5 เปอร์เซ็นต์ และเฟอฟูรัลเล็กน้อย

โดยกระบวนการหมักเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีอากาศ การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นเอทานอลเกิดขึ้นหลายวิธีทาง (pathway) ซึ่งขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในกระบวนการหมัก ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการหมักมักจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ในสกุล *Saccharomyces* sp. และยีสต์สกุลอื่นๆ ซึ่งเอทานอลจะถูกสร้างขึ้นโดยอาศัย Glycolysis หรือ Embden-Meyerhof-Panmas Pathway

1.4.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการผลิตเอทานอลจากชีวมวล

ประศาสตร์ พุตระกูล (2540) ทดลองหมักแอลกอฮอล์จากมันเส้นโดยใช้ระบบต่อเนื่อง พบว่า เมื่อย่อยมันเส้นร้อยละ 35 ด้วยเอนไซม์แอฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ได้น้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 23.89 และนำมาหมักด้วยยีสต์

Saccharomyces cerevisiae M 30 ในถังหมักทรงสูงขนาด 100 ลิตร ใช้ระบบหมุนเวียนเซลล์กลับ อัตราการเจือจาง 0.20 ต่อชั่วโมง หมักแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 4.29 คิดเป็นอัตราการผลิต 8.58 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

กัลยา อญฺณาน (2546) ได้ทำการผลิตเอทานอลจากสารละลายกากมันสำปะหลังร้อยละ 1.50 โดยน้ำหนัก ที่ผ่านการย่อยที่ได้จากการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก 0.1 โมลาร์ อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และสารละลายที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์แอฟลาอะไมเลส 0.17 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 0.33 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 จากนั้นนำไปหมักบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 159 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตเอทานอลจากสารละลายกากมันสำปะหลังที่ได้จากการย่อยที่ได้จากการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก 0.1 โมลาร์ และสารละลายที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์แอฟลาอะไมเลสกับเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 0.33 ยูนิต ที่ค่า คือ 0.62 ± 0.01 และ 0.13 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Srinorakutara และคณะ (2004) ได้ผลิตเอทานอลจากของเสียของโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งในขั้นตอนแรกทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ได้ปริมาณน้ำตาล 122.4 กรัมต่อลิตร ต่อจากนั้นหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ของความเข้มข้นเชื้อ 1×10^7 CFU/mL ใช้อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าผลิตเอทานอลได้มากที่สุดร้อยละ 3.84 โดยน้ำหนัก ในเวลา 36 ชั่วโมง แต่มีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ 24 ชั่วโมง ได้เอทานอลร้อยละ 3.62 โดยน้ำหนัก

มุกดา คูหิรัญ และคณะ (2546) ได้มีมีแนวทางในการพัฒนาการใช้เซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมทางการเกษตรเพื่อการผลิตเอทานอล โดยได้แบ่งชนิดของวัตถุดิบออกเป็น 3 ประเภท ประเภทที่หนึ่ง คือ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ ข้าวโพด (ต้น แปลือกและซัง) และยอดอ้อย ประเภทที่สอง คือ วัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทางการเกษตร เช่น กากอ้อย เศษเยื่อกระดาษและเศษป่าน ส่วนในประเภทสุดท้าย คือ วัสดุเหลือทิ้งประเภทขยะ เช่น เศษกระดาษและเศษไม้ โดยพิจารณาจากองค์ประกอบแล้ว พบว่า ส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพด ยอดอ้อยและเศษเยื่อกระดาษจากโรงงานเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพสูงในการนำไปผลิตเอทานอล โดยให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 99.5 สูงถึง 1.37×10^9 , 9.60×10^8 และ 5.98×10^7 ลิตรต่อปี ตามลำดับ ซึ่งจะทำให้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมทางการเกษตรสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยการเปลี่ยนแปลงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเพิ่มขึ้น และลดการนำเข้าพลังงานเชื้อเพลิงจากต่างประเทศ

1.5 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลจากเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสและแป้งสูง โดยพิจารณาถึงปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้ง อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังต่อผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่ได้ จนถึงการผลิตเอทานอล และค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอล

1.6 ขอบเขตของการวิจัย

1.6.1 นำเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ได้โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณแป้งและเซลลูโลส รวมถึงความชื้น

1.6.2 ศึกษาอัตราส่วนปริมาณการผสมระหว่างเปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เหมาะสมด้วยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ และการศึกษาการทำงานร่วมของเอนไซม์ในการย่อยเปลือกและกากมันสำปะหลัง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ปริมาณน้ำกลูโคส และชนิดของน้ำตาลหลังจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

1.6.3 นำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ในอัตราส่วนการผสมระหว่างเปลือกมันสำปะหลังกับกากมันสำปะหลังที่เหมาะสมที่สุดหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อผลิตเอทานอล ทำการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการหมัก และปริมาณเอทานอลด้วย

1.6.4 ศึกษาค่าใช้จ่ายจากการนำเปลือกและกากมันสำปะหลังผลิตเป็นเอทานอล

1.7 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ

กิจกรรม	เดือนที่ 1-3	4-6	7-9	10-12
1. เตรียมอุปกรณ์	—			
2. ศึกษาการเตรียมเปลือกและกากมันสำปะหลัง	—			
3. ศึกษาการไฮโดรไลซิสแป้งและเซลลูโลสในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์		—		
4. ศึกษาการกระบวนการหมักเอทานอลด้วย <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		—	—	—
5. ศึกษาค่าใช้จ่าย				—
6. จัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์				—

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

2.1 วัตถุดิบและเอนไซม์

2.1.1 วัตถุดิบ

เปลือกและกากมันสำปะหลังที่ในการทดลองได้มาจากโรงงานชลเจริญ 213 ถนนบ้านบึง-หนองซาก อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี โดยที่นำเปลือกและกากมันสำปะหลังสด มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเป็นการเก็บรักษาเปลือกและกากมันสำปะหลังสำหรับไว้ใช้ในการทดลองต่อไป เปลือกและกากมันสำปะหลังที่อบแห้งแล้วนำมาบดให้มีขนาด 25 ไมครอน ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

ก) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง

วิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง และเปลือกมันสำปะหลังผสมในกากมันสำปะหลัง ดังต่อไปนี้ ความชื้น แป้ง และเซลลูโลส ตามวิธี AOAC (1990)

ข) การเตรียมเปลือกและกากมันสำปะหลังก่อนย่อยด้วยเอนไซม์

ศึกษาวิธีการย่อยเปลือกมันสำปะหลังเมื่อผสมในกากมันสำปะหลังในอัตราความเข้มข้นของตัวอย่างที่แตกต่างกัน แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อัตราส่วนของเปลือกมันสำปะหลังต่อกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษา

อัตราส่วนที่ใช้ผสม (เปลือกมันสำปะหลัง : กากมันสำปะหลัง)	น้ำหนัก (กรัม น้ำหนักแห้ง)
0:1	0 :10
1:1	5 :5
1:2	3.3 : 6.7
1:5	1.67 : 8.33

2.1.2 เอนไซม์

2.1.2.1 เอนไซม์เซลลูเลส ; Cellulase, E.C. 3.2.1.4 (Sigma-Aldrich, Inc, USA) ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus niger* ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 1.44 ยูนิตต่อมิลลิกรัม (กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 1 ยูนิต ทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล จากเซลลูโลสที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส)

2.1.2.2 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสทนความร้อน ; α -amylase, E.C. 3.2.1.1 (Sigma-Aldrich, Inc, USA) ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus niger* ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 31.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัม (กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 1 ยูนิต ทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 และสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส)

2.1.2.3 เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ; Amyloglucosidase, E.C. 3.2.1.3 (Sigma-Aldrich, Inc, USA) ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus niger* ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 31.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัม (กิจกรรมของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 1 ยูนิต ทำให้เกิดน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล จาก soluble starch ที่ pH 6.0 สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส)

2.2 การศึกษาหาปริมาณเอนไซม์เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้ง

2.2.1 การศึกษาหาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส

ก) นำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ร้อยละ 10 w/v ซึ่งใช้เป็นตัวแทนทุกอัตราส่วนในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในตารางที่ 3.1 ซึ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 แทนอัตราส่วนที่มีปริมาณของแป้งสูง และส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 แทนอัตราส่วนที่มีปริมาณของเซลลูโลสสูง นำตัวอย่างไปบรรจุลงในฟลาสขนาด 250 มิลลิตร ทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่มีปริมาณเอนไซม์ 5 , 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 unit ที่ค่าความเป็นกรด ต่าง 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ข) บั่นแยกส่วนใสและกากที่ได้การไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ค) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method (1959) หลอดแบบลงค์ (blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายน้ำตาล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ง) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้

2.2.2 การศึกษาหาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้ง

ก) นำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ร้อยละ 10 w/v ซึ่งใช้เป็นตัวแทนทุกอัตราส่วนในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในตารางที่ 3.1 โดยนำตัวอย่างบรรจุลงในฟลาสขนาด 250 มิลลิตร เติมน้ำกลั่นคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มีปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ คือ 3, 6, 9, 12 และ 15 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรด ต่าง 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่มีปริมาณเอนไซม์ต่าง ๆ คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 โดยปรับค่าความเป็นกรดต่างด้วยสารละลายกรดซัลฟริก 1.0 โมลาร์ นำไปไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง

ข) บั่นแยกส่วนใสและกากที่ได้การไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

- ค) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method (1959) หลอดแบลนด์ (blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายน้ำตาล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- ง) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้

2.3 การศึกษาการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ ด้วยเอนไซม์

2.3.1 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

ก) นำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตรา 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 ในปริมาณร้อยละ 10 (w/v) บรรจุในฟลาสขนาด 250 มิลลิตร ทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ ด้วยปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมตามหัวข้อ 3.7.1 คือปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 30 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ข) ปั่นแยกส่วนใสและกากที่ได้การไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ค) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method (1959) หลอดแบลนด์ (blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายน้ำตาล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ง) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้

จ) นำส่วนกากของเปลือกและกากมันสำปะหลังไปวิเคราะห์หาปริมาณแป้งและเซลลูโลส หลังจากผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเอนไซม์ตามวิธี AOAC (1990) และคำนวณหาปริมาณเซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในระหว่างการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

2.3.2 การไฮโดรไลซิสแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

ก) นำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตรา 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 ในปริมาณร้อยละ 10 (w/v) บรรจุในฟลาสขนาด 250 มิลลิตร เติมแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร ปริมาณ 5 มิลลิตร ทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ ด้วยปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมตามหัวข้อ 2.6 คือปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคอะไมเลส 6 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง pH 4.0 โดยปรับค่าความเป็นกรดต่าง ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 1.0 โมลาร์ นำไปไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ข) ปั่นแยกส่วนใสและกากที่ได้การไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ค) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method (1959) หลอดแบลนด์ (blank) ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายน้ำตาล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ง) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้

จ) นำส่วนกากของเปลือกและกากมันสำปะหลังไปวิเคราะห์หาปริมาณแป้งและเซลลูโลส หลังจากผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเอนไซม์ตามวิธี AOAC (1990) และคำนวณหาปริมาณเซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในระหว่างการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

2.4 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส

ก) นำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตรา 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 ในปริมาณร้อยละ 10 (w/v) บรรจุในฟลาสขนาด 250 มิลลิตร ทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมตามหัวข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 คือปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 30 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 โดยปรับค่าความเป็นกรดต่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสุดท้ายนำสารละลายเปลือกและกากมันสำปะหลัง ทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 6 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 ปรับค่าความเป็นกรดต่าง ด้วยสารละลายกรดซัลฟริก 1.0 โมลาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง

ข) บั่นแยกส่วนใสและกากที่ได้การไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ออกโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ค) นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS method (1959) หลอดแบบลงค์ (blank) ใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายน้ำตาล ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ง) คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้

จ) นำส่วนกากของเปลือกและกากมันสำปะหลังไปวิเคราะห์หาปริมาณแป้งและเซลลูโลส หลังจากผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเอนไซม์ตามวิธี AOAC (1990) และคำนวณหาปริมาณเซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในระหว่างการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

2.5 การหมักเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากเปลือกและกากมันสำปะหลัง

2.5.1 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อเริ่มต้น

การเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 โดยนำเชื้อยีสต์จาก stock culture 1 หลูป นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายกลัเชื้อของยีสต์จากอาหารแข็ง 2-3 หลูป ลงในฟลาสที่มีอาหารเหลว YM broth จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.5.2 ขั้นตอนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล

นำสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนผสมเปลือกต่อกากมันสำปะหลังที่ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ที่ได้จากข้อ 2.8 ปรับค่าความเป็นกรดต่าง 4.5 ด้วยไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ และเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลงในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 ลงในอาหารเหลวย้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง โดยเก็บตัวอย่างทุก 24 ชม. เป็นเวลา 5 วัน โดยตรวจวัดค่าเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณเอทานอล

2.6 การศึกษาต้นทุนค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากเปลือกและกากมันสำปะหลัง

การนำปริมาณเอทานอลที่ได้จากการทดลองในข้อหัวข้อ 2.9 มาคิดค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอล เพื่อใช้เป็นแนวทางต้นทุนการผลิตในการศึกษาการผลิตเอทานอลต่อวัสดุเหลือใช้ประเภทอื่น ๆ

2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomize Design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลอง (Multiple comparison) ด้วยวิธี Duncan T- test ที่ $P < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS

3. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

3.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง

ลักษณะโดยทั่วไปของเปลือกมันสำปะหลังมีสีน้ำตาล ส่วนกากมันสำปะหลังมีสีขาวเหลืองและมีความละเอียด โดยทั้งเปลือกและกากมันสำปะหลังสามารถจัดเก็บและรักษาได้ง่ายเมื่อทำให้แห้ง จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง พบว่า ในเปลือกและกากมันสำปะหลังมีปริมาณความชื้นอยู่สูงในปริมาณร้อยละ 80 มีปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 28.9 ± 6.44 และ 60.39 ± 6.44 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีปริมาณเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 35.01 ± 5.99 และ 16.56 ± 0.82 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งค่าที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับการศึกษาของกัลยา อยู่ยวน(2546) โดยที่เปลือกและกากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 33.56 ± 2.23 และ 58.02 ± 3.20 โดยน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 35.86 ± 0.92 และ 14.35 ± 2.26 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เปลือกและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษานี้ยังมีปริมาณแป้งและเซลลูโลสเหลืออยู่ในปริมาณมากซึ่งเหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ โดยการนำแป้งและเซลลูโลสที่เหลือค้างอยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังซึ่งเป็นแหล่งของน้ำตาลเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลโดยใช้เอนไซม์ ที่สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในปัจจุบันและในสถานการณ์วิกฤตการณ์พลังงานของโลก

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกและกากมันสำปะหลัง

วัตถุดิบ	องค์ประกอบ (% น้ำหนักแห้ง)		ความชื้น (%)
	แป้ง	เซลลูโลส	
กากมันสำปะหลัง	60.39 ± 6.44	16.56 ± 0.82	78.19 ± 0.25
เปลือกมันสำปะหลัง	28.09 ± 6.44	35.01 ± 5.99	80.85 ± 0.22

ทั้งนี้เนื่องจากเปลือกและกากมันสำปะหลังเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมการเกษตรที่มีปริมาณสูง อีกทั้งยังมีองค์ประกอบและปริมาณของแป้งและเซลลูโลส ที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญที่แตกต่างกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาด้วยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทั้ง 2 ประเภท คือ เปลือกและกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์เพื่อผลิตเอทานอล โดยศึกษาถึงอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังต่อผลผลิตของน้ำตาลและเอทานอลที่ได้ ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส อะไมโลกลูโคซิเดส และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 ตามลำดับ อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษาได้แสดงในตารางที่ 5 โดยที่อัตราส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนักมีปริมาณแป้งเริ่มต้นร้อยละ 60.39 ± 6.44 , 54.78 ± 4.21 , 50.57 ± 4.21 และ 44.9 ± 2.43 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีปริมาณเซลลูโลสร่วมอยู่ด้วยร้อยละ 16.56 ± 0.82 , 19.63 ± 1.10 , 22.65 ± 1.95 และ 25.75 ± 2.92 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เพื่อนำอัตราส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังดังกล่าวไปศึกษาในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โดยการที่ใช้เอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสเป็นวิธีทางชีวภาพที่จะสามารถใช้เอนไซม์เข้าไปไฮโดรไล

ที่สองค์ประกอบที่เป็นเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในทั้ง 4 อัตราส่วนให้เกิดประสิทธิผล เพื่อผลิตน้ำตาลที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลต่อไป

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของอัตราส่วนการผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลัง

อัตราส่วนการผสม (โดยน้ำหนัก) (เปลือกมันสำปะหลัง : กากมันสำปะหลัง)	องค์ประกอบ (%น้ำหนักแห้ง)		ความชื้น (%)
	แป้ง	เซลลูโลส	
0 : 1	60.39 ± 6.44	16.56 ± 0.82	78.19 ± 0.25
1 : 5	54.78 ± 4.21	19.63 ± 1.10	80.55 ± 0.17
1 : 2	50.57 ± 4.21	22.65 ± 1.95	80.28 ± 0.28
1 : 1	44.95 ± 2.43	25.75 ± 2.92	79.25 ± 0.23

3.2 ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง

การหาปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในการศึกษาเบื้องต้นได้ใช้อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ใช้เป็นตัวแทนในการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไปที่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังต่างๆ ในการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งเพื่อเป็นน้ำตาลในการเลือกส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 เพื่อใช้เป็นตัวแทนในอัตราส่วนผสมอื่นๆ โดยที่ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 แสดงถึงปริมาณแป้งที่อยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่มีปริมาณสูงที่สุด และมีปริมาณเซลลูโลสต่ำ เมื่อเทียบกับส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:5, 1:2 และ 1:1 ในขณะที่ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 แสดงถึงปริมาณแป้งที่อยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่มีค่าน้อยที่สุด แต่มีปริมาณเซลลูโลสสูง เมื่อเทียบกับส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:5, 1:2 และ 1:1 (ตารางที่ 5) เพื่อแสดงให้เห็นถึงการทำงานของเอนไซม์ที่เหมาะสม

เอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในเปลือกและกากมันสำปะหลังคือ เอนไซม์เซลลูเลส โดยที่เซลลูเลสจัดว่าเป็นโพลีเมอร์ที่มีการต่อกันเป็นเส้นตรงของกลูโคส 8,000-12,000 ยูนิต ต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic linkage ดังนั้นหน้าที่ของเซลลูเลสคือเข้าไปตัดพันธะ β -1,4-glycosidic linkage ส่งผลให้เกิดผลผลิตของน้ำตาล ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมการไฮโดรไลซิสที่ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4.5 ถึง 6 (เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) เอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสแป้ง เอนไซม์ตัวแรกที่ใช้ คือ แอลฟาอะไมเลสโดยจะเข้าไปตัดพันธะ α -1, 4 glycosidic linkage แต่ไม่สามารถเข้าไปไฮโดรไลซิสพันธะ α -1, 6 glycosidic linkages ผลผลิตที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ คือ โอลิโกแซ็กคาไรด์ และตามด้วยเอนไซม์ตัวที่สอง คือ เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่สามารถเข้าไปไฮโดรไลซิสพันธะที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสแอลฟาอะไมเลส โดยสามารถตัดทั้งพันธะ α -1, 4 glycosidic linkage และ พันธะ α -1, 6 glycosidic linkages เพื่อไฮโดรไลซิสแป้งจนได้เป็นกลูโคสที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในไฮโดรไลซิสแป้ง จะใช้อุณหภูมิประมาณ 95-100 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด ต่างที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 6.0 และใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสสั้น (Slott และคณะ, 1974) ส่วนการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส เพื่อไฮโดรไลซิสให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4.0 ถึง 5.0 (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2543) ซึ่งการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อเซลลูโลสและแป้งที่มีอยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังนั้น จะช่วยให้ใช้เอนไซม์อย่างมีประสิทธิภาพและก่อให้เกิดผลผลิตของน้ำตาลที่สูง

3.2.1 ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส

3.2.1.1 ที่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง 0:1

การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในองค์ประกอบของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนผสมเปลือกต่อกากมันสำปะหลังที่ 0:1 ที่ใช้กากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว โดยมีปริมาณเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบร้อยละ 17 เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในช่วง 5-40 ยูนิต โดยทำการไฮโดรไลซิสที่ความเป็นกรดต่าง 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลการศึกษา พบว่า เมื่อทำการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นน้อยที่ 5, 10, 15, 20 และ 25 ยูนิต พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 0.28 ± 0.09 , 0.91 ± 0.08 , 1.03 ± 0.06 , 1.38 ± 0.05 และ 1.73 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสสูงขึ้นเป็น 30, 35 และ 40 ยูนิต พบว่าการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่ 30 ยูนิต ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น และเริ่มคงที่โดยเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสเป็น 35 และ 40 ยูนิต ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 3.27 ± 0.05 , 3.23 ± 0.03 และ 3.21 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดจากการหาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 พบว่า การใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ 30 ยูนิต จะทำให้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 มีปริมาณน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดมีค่าที่สูงเช่นเดียวกัน โดยผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่ได้ทั้งหมด คือ 0.326 ± 0.004 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิต)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)
5	$0.28^a \pm 0.09$	$0.027^a \pm 0.009$
10	$0.91^b \pm 0.08$	$0.090^b \pm 0.008$
15	$1.03^c \pm 0.06$	$0.102^c \pm 0.005$
20	$1.38^d \pm 0.05$	$0.137^d \pm 0.005$
25	$1.78^e \pm 0.05$	$0.172^e \pm 0.004$
30	$3.27^f \pm 0.05$	$0.326^f \pm 0.004$
35	$3.23^f \pm 0.03$	$0.322^f \pm 0.003$
40	$3.21^f \pm 0.04$	$0.320^f \pm 0.004$

a, b,..., f แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

3.2.1.2 ที่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง 1:1

ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนที่ 1:1 ที่มีองค์ประกอบเซลลูโลสร้อยละ 26 โดยนำมาหาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสโดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสอยู่ในช่วง 20 -40 ยูนิต ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 7 จากการศึกษาพบว่า เอนไซม์เซลลูเลสที่ 20 และ 25 ยูนิต ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 1.62 ± 0.06 และ 2.80 ± 0.55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลส

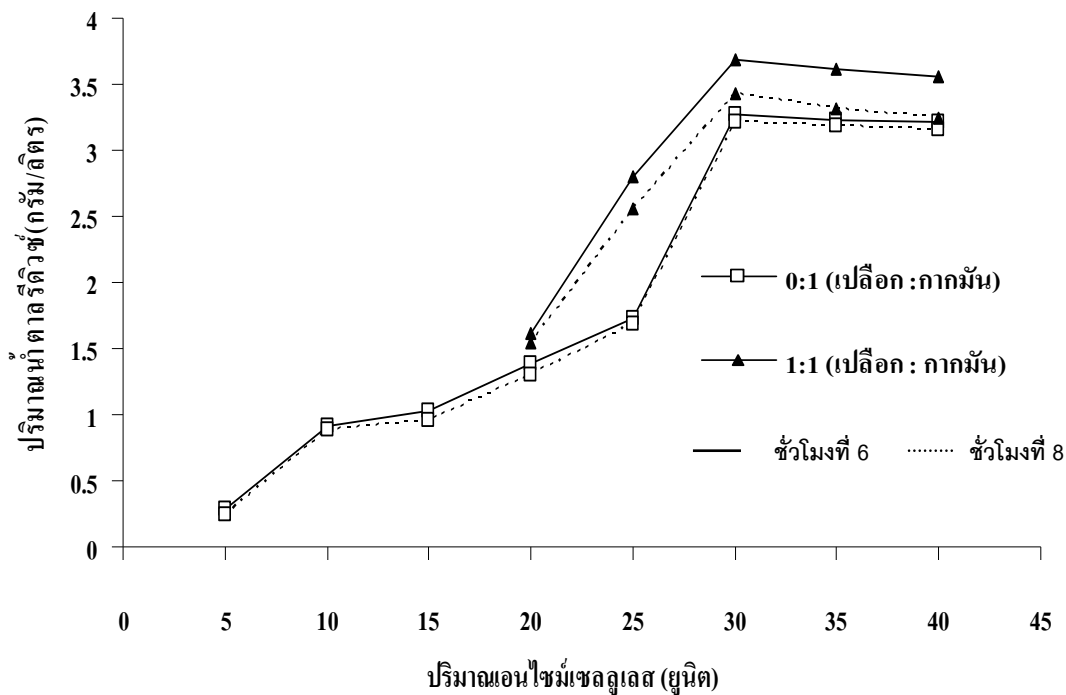
ที่เพิ่มขึ้น โดยในปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่ 30 ยูนิต ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น และเริ่มคงที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสเป็น 35 และ 40 ยูนิต ซึ่งค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 3.69 ± 0.04 , 3.62 ± 0.06 และ 3.56 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดจากการหาปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 พบว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ 30 ยูนิต จะทำให้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดมีค่าสูงดังแสดงในตารางที่ 7 โดยผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่ได้ทั้งหมด คือ 0.367 ± 0.004 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิต)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)
20	$1.62^a \pm 0.06$	$0.161^a \pm 0.006$
25	$2.80^b \pm 0.55$	$0.278^b \pm 0.055$
30	$3.69^c \pm 0.04$	$0.367^c \pm 0.004$
35	$3.62^c \pm 0.06$	$0.361^c \pm 0.006$
40	$3.56^c \pm 0.04$	$0.354^c \pm 0.003$

a, b และ c แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

เมื่อทำการไฮโดรไลซิสต่อไปในช่วงเวลาที่ 8 ของการไฮโดรไลซิสในทั้ง 2 อัตราส่วน คือ 0:1 และ 1:1 พบว่าค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไม่มีการเพิ่มขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกับการไฮโดรไลซิสในช่วงเวลาที่ 6 ดังรูปที่ 4 ทั้งนี้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วน 1:1 ที่มีองค์ประกอบเซลลูโลสร้อยละ 26 ได้ปริมาณน้ำตาลจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสสูงกว่าอัตราส่วนผสมที่ 0:1 ที่มีองค์ประกอบเซลลูโลสร้อยละ 17 เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้มีองค์ประกอบของเซลลูโลสในปริมาณมากกว่าทำให้ได้น้ำตาลสูงขึ้น ดังนั้นปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสม คือ 30 ยูนิต ที่จะนำไปใช้ในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 ภายในเวลา 6 ชั่วโมง ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 ใช้อุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสที่ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสจะทำหน้าที่ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ให้เกิดผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่เหมาะสมแก่การนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป



รูปที่ 4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อไฮโดรไลซิสที่ 6 และ 8 ชั่วโมง

3.2.2 ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้ง

3.2.2.1 ที่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง 0:1

การไฮโดรไลซิสแป้งที่เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 60 น้ำหนักแห้ง ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนผสมของเปลือกต่อกากมันสำปะหลังที่ 0:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ปริมาณต่าง ๆ กัน โดยที่ไม่มีการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสก่อน ซึ่งปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ใช้ศึกษาอยู่ในช่วง 3-15 ยูนิต โดยควบคุม ค่าความเป็นกรด ต่างที่ 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ในการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังอย่างเดียวยังมีความเข้มข้นร้อยละ 10 เมื่อเพิ่มปริมาณหรือความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก 3 ยูนิต ไปจนถึง 9 ยูนิต ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 8) ความสามารถของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิตสามารถไฮโดรไลซิสแป้งและได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ไม่แตกต่างกันกับการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 12 ยูนิต อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 0.25 ± 0.03 และ 0.24 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจนถึง 15 ยูนิต พบว่าจะทำให้ค่าปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าไม่สูงขึ้น คือ 0.2 ± 0.02 กรัมต่อลิตร การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าลดลงทั้งนี้เพราะการใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มีความเข้มข้นของยูนิตที่สูงขึ้น จะมีผลต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ทำให้ลักษณะที่ได้ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 มีลักษณะขุ่นหนืดหลังจากผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในระดับความแตกต่างกันที่ความเข้มข้นของยูนิตเอนไซม์ที่ใช้ และเมื่อทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ทำหน้าในการไฮโดรไลซิสแป้งให้ได้โมเลกุลที่เล็กลงจนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว นั่นคือ น้ำตาลกลูโคสเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป ความหนืดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และมีการใช้ความเข้มข้นที่สูงของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสไปไฮโดรไลซิสต่อในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ส่งผลให้ความหนืดเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ย่อยแป้ง โดยไม่ให้เอนไซม์เข้าไปจับตัวกับสับสเตรทที่อยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลัง จึงทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ชลดา ชื่อสัตย์, 2546) จึงทำให้เมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 12 - 15 ยูนิต มีค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง อีกทั้งการใช้ปริมาณเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสแป้งที่มากเกินไป ทำให้น้ำตาล

กลูโคสที่เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสแป้ง เข้าไปจับกับเอนไซม์และทำให้โครงรูปของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงจนไม่สามารถจับกับสับสเตรทได้ ดังนั้นประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์จึงลดลงไปด้วย (พัชรา วีระกะลัส, 2543)

หลังจากนั้นนำน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่างๆ โดยปริมาณเอนไซม์ใช้ศึกษาอยู่ในช่วง 2-10 ยูนิต โดยควบคุมค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลผลิตน้ำตาลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสจาก 2 ยูนิต ไปจนถึง 6 ยูนิต ความสามารถของเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสแป้งเป็นน้ำตาลได้เพิ่มขึ้น เมื่อไฮโดรไลซิสแป้งด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่มีความเข้มข้น 6 ยูนิต ได้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 12.33 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ซึ่งในช่วงแรกส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังถูกไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มีความเข้มข้น 9 ยูนิต ต่อก่อนและตามด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิตได้ผลผลิตน้ำตาลสูงสุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้งสองชนิดสูงขึ้น ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าลดลง และมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงในช่วงการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่มีความเข้มข้น 8 -10 ยูนิตเป็นเพราะลักษณะที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีลักษณะที่เหนียวข้นและยากต่อการที่เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสเข้าไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ได้เท่าที่ควร ส่งผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าที่ลดลงไป และเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดจากการหาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 พบว่า การใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิต และทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิต จะทำให้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 มีปริมาณน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดมีค่าที่สูง และมีค่าที่แตกต่างกับความเข้มข้นในปริมาณเอนไซม์ที่ยูนิตอื่นแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 9 โดยผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมด คือ 1.257 ± 0.007 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์ (ยูนิต)		ปริมาณน้ำตาลที่ได้ (กรัม/ลิตร) จาก	
แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส	แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส
3	2	$0.10^a \pm 0.03$	$2.05^a \pm 0.15$
6	4	$0.12^a \pm 0.02$	$7.64^b \pm 0.11$
9	6	$0.25^b \pm 0.03$	$12.33^c \pm 0.08$
12	8	$0.24^{bc} \pm 0.02$	$8.55^d \pm 0.27$
15	10	$0.20^c \pm 0.02$	$6.85^e \pm 0.33$

a, b,..., e แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร่วมกับอะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์ (ยูนิต)		ปริมาณน้ำตาลที่ได้ทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)
แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส		
3	2	$2.15^a \pm 0.14$	$0.200^a \pm 0.014$
6	4	$7.76^b \pm 0.12$	$0.775^b \pm 0.012$
9	6	$12.58^c \pm 0.08$	$1.257^c \pm 0.007$
12	8	$8.79^d \pm 0.33$	$0.877^d \pm 0.026$
15	10	$7.05^e \pm 0.37$	$0.704^e \pm 0.033$

a, b,..., e แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

3.2.2.2 ที่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง 1:1

การนำส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ที่มีปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 45 น้ำหนักแห้ง เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสแป้ง โดยใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ปริมาณต่าง ๆ กัน โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ศึกษาอยู่ในช่วง 6-15 ยูนิต และอะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่างๆ ที่ให้อยู่ในช่วง 4-10 ยูนิต และการควบคุมค่าความเป็นกรด ต่าง อุณหภูมิ และเวลาในการไฮโดรไลซิสเช่นเดียวกันกับส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ผลการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 6 , 9, 12 และ 15 ยูนิต แสดงในตารางที่ 10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 0.39 ± 0.08 , 0.40 ± 0.06 , 0.35 ± 0.07 และ 0.30 ± 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และหลังจากนั้นนำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 10 พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิต และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิต ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่สูง คือ 11.45 ± 0.36 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ที่มีปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงขึ้น ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีค่าลดลง และมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดจากการหาปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 พบว่า การใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิต และทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิต จะทำให้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดมีค่าสูง และมีค่าที่แตกต่างกับความเข้มข้นในปริมาณเอนไซม์ที่ยูนิตอื่นแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 11 โดยผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมด คือ 1.048 ± 0.004 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์ (ยูนิต)		ปริมาณน้ำตาลที่ได้ (กรัม/ลิตร) จาก	
แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส	แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส
6	4	0.39 ± 0.08 ^{ns}	8.16 ^{ab} ± 0.08
9	6	0.40 ± 0.06 ^{ns}	11.45 ^c ± 0.36
12	8	0.35 ± 0.07 ^{ns}	8.37 ^b ± 0.14
15	10	0.30 ± 0.16 ^{ns}	7.85 ^a ± 0.19

ns แสดงความไม่แตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

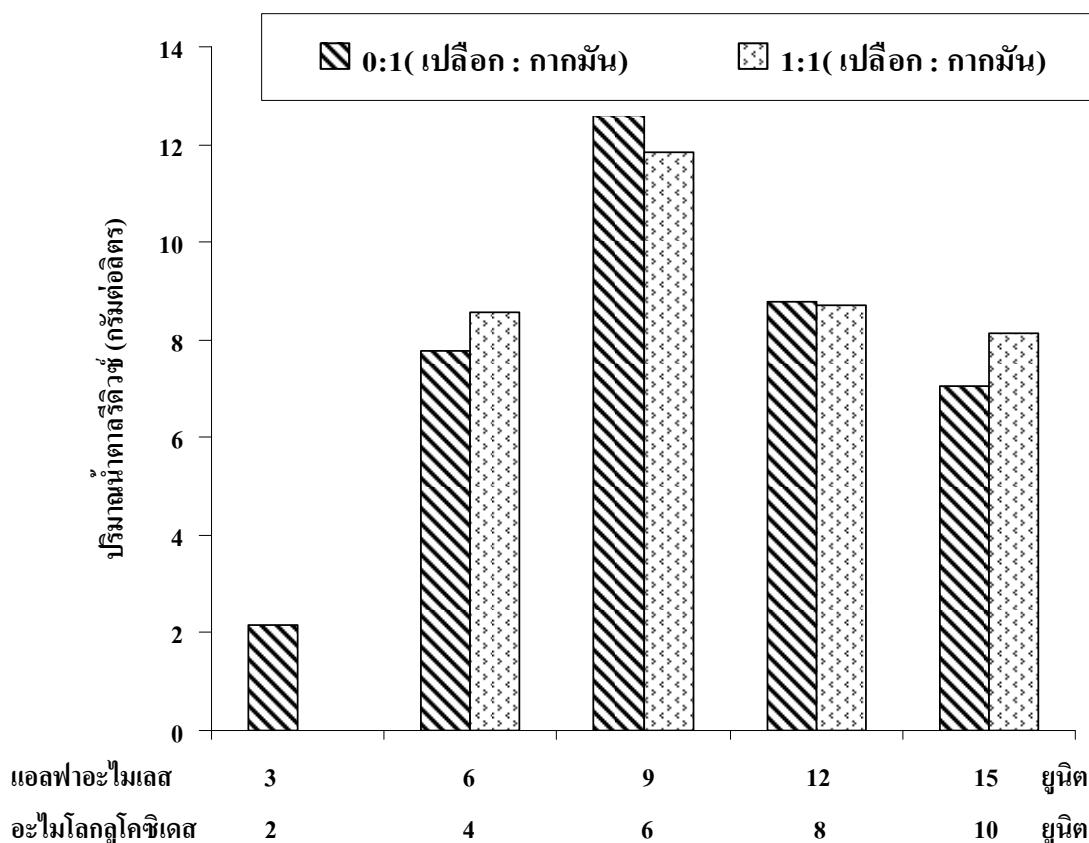
a, b และ c แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

ตารางที่ 11 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร่วมกับอะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณต่าง ๆ

เอนไซม์ (ยูนิต)		ปริมาณน้ำตาลที่ได้ทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)
แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส		
6	4	8.56 ^{ab} ± 0.04	0.836 ^a ± 0.006
9	6	11.85 ^c ± 0.39	1.048 ^c ± 0.004
12	8	8.72 ^b ± 0.33	0.838 ^b ± 0.001
15	10	8.15 ^a ± 0.37	0.729 ^a ± 0.010

a, b และ c แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียว

การนำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 มาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด เพื่อหาปริมาณยูนิตของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสแป้งที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง จากรูปที่ 5 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิต และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิต มีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงเมื่อเทียบกับผลผลิตกับวัตถุดิบตั้งต้นทั้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1ไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์สูงขึ้น ไม่ส่งผลให้การไฮโดรไลซิสแป้งให้เป็นน้ำตาลได้สูงขึ้นเนื่องจากลักษณะความข้นหนืด เพราะในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 มีปริมาณแป้งที่มากและความหนืดอาจจะเป็นตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์จากที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นในปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 9 ยูนิต และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ 6 ยูนิต เป็นปริมาณเอนไซม์เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 โดยเอนไซม์จะใช้แป้งที่มีอยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังเพื่อเปลี่ยนให้เกิดผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่สูงเหมาะสมแก่นำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล



รูปที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับอัตราส่วน 0:1 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสที่มีความเข้มข้นต่างกัน

3.3 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับอัตราส่วนต่างๆด้วยเอนไซม์

เปลือกและกากมันสำหรับเป็นของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำหรับ ซึ่งปริมาณแป้งและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่ยังคงเหลือในปริมาณสูง เมื่อมีการนำเปลือกและกากมันสำหรับผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมทำให้มีปริมาณของเซลลูโลสเพิ่มขึ้น เหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ในด้านพลังงานทดแทน ดังนั้นการใช้เอนไซม์ในปริมาณที่เหมาะสมแก่การไฮโดรไลซิสจะช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่มากพอ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลต่อไปในงานวิจัยได้มีการศึกษาการนำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่อัตราส่วน 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 (น้ำหนักแห้ง) โดยแต่ละอัตราส่วนพิจารณาถึงองค์ประกอบของเซลลูโลสและแป้งเป็นหลัก โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสของการศึกษาครั้งนี้ คือ เอนไซม์เซลลูเลส 30 หน่วย แอลฟาอะไมเลส 6 หน่วย และอะไมโลกลูโคซิเดส 9 หน่วย ผลจากการศึกษาในหัวข้อที่ 3.2 ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 สามารถทำหน้าที่ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งที่คงเหลืออยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับ และการไฮโดรไลซิสได้คำนึงถึงอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดต่าง และเวลา ที่เหมาะสมกับเอนไซม์แต่ละชนิดที่ใช้ เพื่อจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่สูง เหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์

3.3.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับอัตราส่วนต่าง ๆ

เปลือกและกากมันสำหรับนอกจากมีองค์ประกอบของแป้งที่เหลืออยู่สูงหลังจากผ่านกระบวนการผลิตแป้งมันสำหรับแล้ว ยังมีอีกหนึ่งองค์ประกอบที่น่าสนใจและนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ นั่นคือ เซลลูโลส โดยพบอยู่ในเปลือกมันสำหรับที่มีปริมาณสูงกว่าที่พบในกากมันสำหรับ ทั้งนี้เพราะเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืชที่ให้ความแข็งแรง โดยที่เซลลูโลสมีลักษณะเป็นโพลีเมอร์สายตรง ไม่มีกิ่งก้านสาขา ที่เชื่อมต่อดัวยพันธะ β -1,4-glycosidic linkage มา

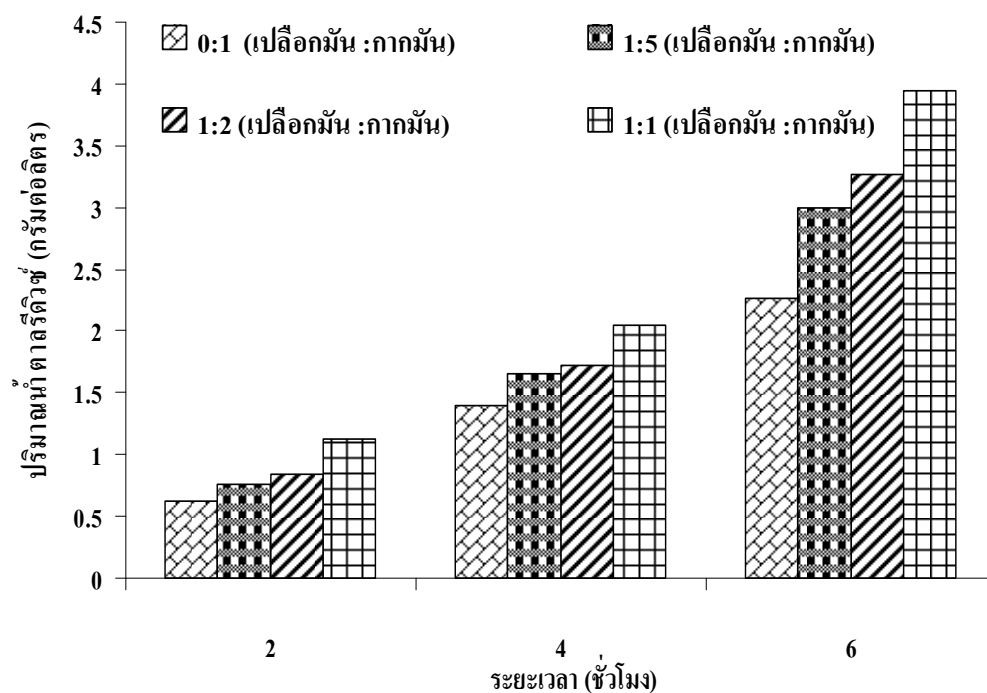
เชื่อมต่อกัน หรือที่เรียกว่าเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันเป็นสายยาว (Beldman และคณะ, 1984) ดังนั้นในการนำเซลลูโลสมาใช้ให้เกิดประโยชน์ จำเป็นต้องหาวิธีที่เหมาะสมโดยเลือกใช้การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อได้ผลผลิตน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นและแหล่งพลังงานทดแทนสำหรับผลิตเอทานอล ดังนั้นในงานวิจัยนี้ได้ใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมจากผลการศึกษาในหัวข้อ 3.2.1 ต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ของน้ำหนักแห้ง ด้วยปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ 30 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 5 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำการไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่เป็นสารตั้งต้นเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์

จากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ตามลำดับ ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส และแต่ละอัตราส่วนจะมีปริมาณแป้งและเซลลูโลสในปริมาณที่ต่างกัน พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนที่ 1:1 จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณที่สูงและสูงกว่าส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนที่ 1:2, 1:5, และ 0:1 แสดงในรูปที่ 6 โดยค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้คือ 3.94 ± 0.03 , 3.26 ± 0.07 , 3.00 ± 0.04 และ 2.27 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในแต่ละอัตราส่วนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 อัตราการผลิตน้ำตาลจากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ เมื่อทำการเก็บตัวอย่างที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลที่ได้จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 มีอัตราการผลิตที่ 0.0377 ± 0.0003 , 0.0497 ± 0.0005 , 0.0541 ± 0.0011 และ 0.0654 ± 0.0004 กรัมต่อลิตร.ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเซลลูโลสในแต่ละอัตราส่วนผสม และค่าอัตราการผลิตน้ำตาลที่ได้ในแต่ละอัตราส่วนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อวิเคราะห์ถึงการใช้ปริมาณเซลลูโลสที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 แสดงได้ในตารางที่ 12 พบว่า ปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปมีอยู่ร้อยละ 91.01 ± 0.98 , 93.12 ± 1.25 , 92.57 ± 0.96 และ 93.24 ± 1.75 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปริมาณแป้งได้มีการถูกใช้ไปบ้างเพียงเล็กน้อยในสภาวะการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเซลลูเลส โดยปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 อยู่ร้อยละ 1.03 ± 0.11 , 0.92 ± 0.07 , 1.12 ± 0.21 และ 0.88 ± 0.19 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยที่แต่ละอัตราส่วนของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีปริมาณเซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการที่ปริมาณแป้งที่ถูกใช้ได้บางส่วน (partial hydrolysis) ในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง อาจเป็นเพราะในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ 50 องศาเซลเซียส และสภาวะความเป็นกรดต่างที่ 5.0 ที่มีความเป็นกรดอ่อนสามารถไฮโดรไลซิสแป้งได้เพียงบางส่วน และเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสส่วนของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ผลผลิตน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีปริมาณ 0.226 ± 0.002 , 0.298 ± 0.004 , 0.325 ± 0.007 และ 0.393 ± 0.002 กรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในแต่ละอัตราส่วนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อนำปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าผลผลิตของน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 1.51 ± 0.11 , 1.68 ± 0.07 , 1.68 ± 0.07 และ 1.63 ± 0.04 กรัมต่อกรัมเซลลูโลสที่ถูกใช้ ตามลำดับ โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของธีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ (2549) ได้มีการศึกษาการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 8, 10 และ 12 ของน้ำหนักแห้ง และทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด ต่าง 4.8 พบว่ามีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 1.30,

2.10 และ 2.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนในงานวิจัยของกัลยา อยู่ยวน (2546) นำเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ร้อยละ 0.15 ทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 3.78 และ 1.89 ยูนิต ตามลำดับ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นมีปริมาณร้อยละ 38.45 และ 20.78 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

จากผลการศึกษาในตารางที่ 12 พบว่า ค่าปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสยังมีปริมาณที่น้อยไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล และการใช้เอนไซม์เซลลูเลสในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ นั้น ถือได้ว่าเป็นการเตรียมตัวอย่าง (pre-treatment) ก่อนการนำไปใช้ และในวัตถุดิบที่ใช้ยังคงมีปริมาณแป้งเป็นองค์ประกอบหลักด้วย ดังนั้นหลักการสำคัญคือการนำปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์ในกลุ่มย่อยแป้ง นั่นคือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ทั้งนี้การใช้เอนไซม์เซลลูเลสในการไฮโดรไลซิสเพื่อต้องช่วยในเรื่องการเพิ่มผลผลิตของน้ำตาลที่เกิดขึ้น รวมไปถึงจะช่วยลดความข้นหนืดของวัตถุดิบเมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสในการไฮโดรไลซิสในแป้งของส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ อีกด้วย



รูปที่ 6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในส่วนผสมระหว่างเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ

ตารางที่ 12 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ ภายในเวลา 6 ชั่วโมง

อัตราส่วน เปลือกมัน : กากมัน	การใช้วัตถุดิบ (%)		ผลผลิตของน้ำตาลที่ได้	
	เซลลูโลส ^{ns}	แป้ง ^{ns}	กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง	กรัม/กรัมเซลลูโลสที่ถูกใช้ไป
0 : 1	91.01 ± 0.98	1.03 ± 0.11	0.226 ^a ± 0.002	1.51 ± 0.11 ^{ns}
1 : 5	93.12 ± 1.25	0.92 ± 0.07	0.298 ^b ± 0.004	1.68 ± 0.07 ^{ns}
1 : 2	92.57 ± 0.96	1.12 ± 0.21	0.325 ^c ± 0.007	1.54 ± 0.03 ^{ns}
1 : 1	93.24 ± 1.75	0.88 ± 0.19	0.393 ^d ± 0.002	1.63 ± 0.04 ^{ns}

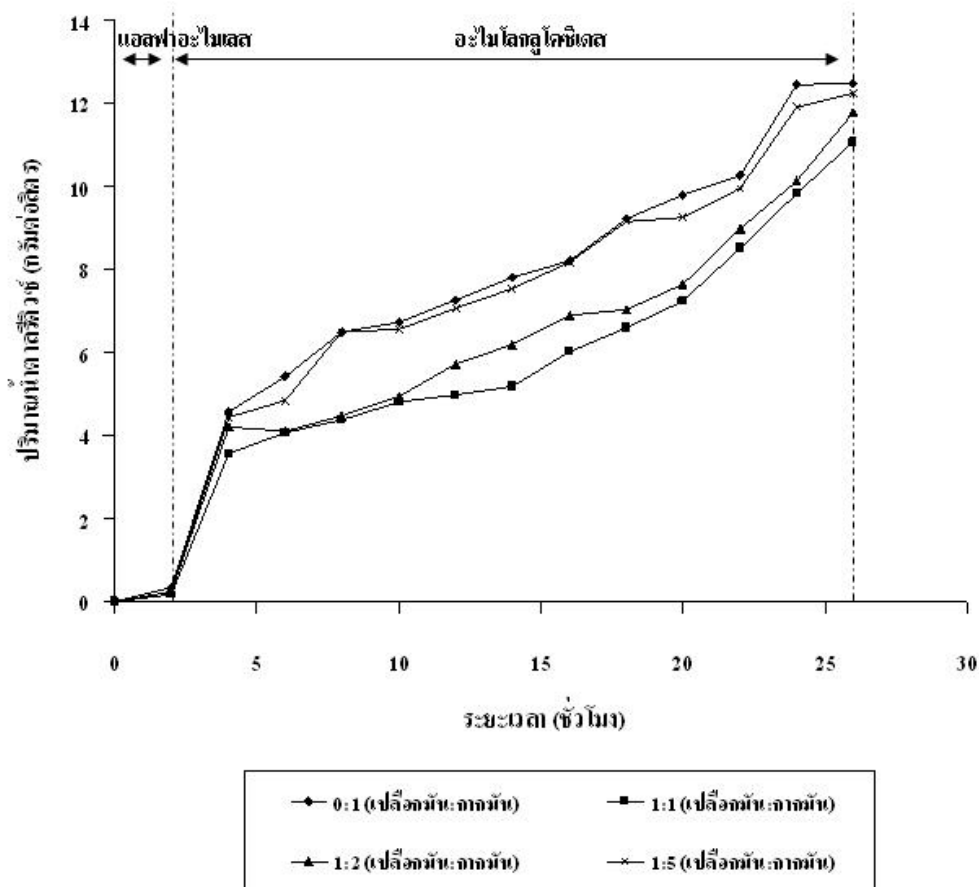
ns แสดงความไม่แตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

a, b, ..., d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

3.3.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ

การไฮโดรไลซิสแป้งที่มีอยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้เพื่อจะศึกษาการทำงานการไฮโดรไลซิสแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตภักชีน้ำตาลที่เกิดขึ้น โดยจะทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด นั่นคือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ซึ่งไม่ได้ทำการไฮโดรไลซิสต่อจากเอนไซม์เซลลูเลส ทั้งนี้แบ่งจัดเป็นสารประกอบประเภทโพลีแซคคาไรด์ ที่พบในพืช ดังนั้นกระบวนการในการย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล จำเป็นต้องอาศัยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส โดยจะมีขั้นตอนการย่อยอยู่ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นการไฮโดรไลซิสครั้งแรก เรียกว่าขั้นนี้ว่า liquefaction ซึ่งในขั้นตอนหรือจะใช้เอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (alpha-amylase) ไฮโดรไลซิสแป้งที่อุณหภูมิประมาณ 90-100 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสสั้น ทำให้ได้โมเลกุลของแป้งมีขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลง และในขั้นตอนที่สองเป็นการไฮโดรไลซิสครั้งสุดท้าย Saccharification ได้สารละลายน้ำตาลจากการไฮโดรไลซิสแป้ง ขั้นตอนนี้ใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส เข้าไปไฮโดรไลซิสให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสามารถทำงานได้ดีที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2543) เมื่อสิ้นสุดการย่อยจะให้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรม ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลัง

จากงานวิจัยนี้ได้มีการศึกษาหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด (ผลการศึกษาในหัวข้อ 3.2.2) คือ แอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 6 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และตามด้วยอะไมโลกลูโคซิเดส 6 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 4 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล ผลการผลิตน้ำตาลจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โดยเอนไซม์ในแต่ละตัวมีหน้าที่ในการทำงานที่แตกต่างกันและสุดท้ายเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลเกิดขึ้นพบว่า ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ทั้งหมดจากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตรา 0:1, 1:1, 1:2 และ 1:5 ด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด คือ 12.48 ± 0.06 , 12.26 ± 0.06 , 11.79 ± 0.03 และ 11.08 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 7) และปริมาณค่าของน้ำตาลเริ่มเข้าสู่สภาวะที่คงที่ เนื่องจากสารตั้งต้นที่มีอยู่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังถูกใช้ไปและทำให้มีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่จะผลิตได้เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และเมื่อปริมาณของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ถูกใช้ลดลงจนถึงระดับที่ไม่สามารถผลิตน้ำตาลอีกต่อไป ความเข้มข้นของน้ำตาลจะเข้าสู่สภาวะที่คงที่ (สุภาวดี ดีสโร, 2543) ดังนั้น ในการทดลองนี้ได้ใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่เวลา 24 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าตั้งแต่ชั่วโมงที่ 20 ถึงชั่วโมงที่ 24 ในการไฮโดรไลซิสปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นเริ่มคงที่ โดยแสดงในรูปที่



รูปที่ 7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และตามด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ ผลผลิตของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 แสดงผลดังตารางที่ 13 โดยผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแอลฟาอะไมเลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีค่าเท่ากับ 0.032 ± 0.003 , 0.025 ± 0.003 , 0.022 ± 0.002 และ 0.016 ± 0.001 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:5 และ 1:2 เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบแบ่งที่มีอยู่ มีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 5) และผลผลิตน้ำตาลที่ได้จึงมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากนั้นนำไปไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส พบว่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าเท่ากับ 1.209 ± 0.006 , 1.195 ± 0.007 , 1.155 ± 0.001 และ 1.092 ± 0.006 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:5 ค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เช่นเดียวกัน อาจเป็นเพราะในอัตราส่วนทั้ง 2 มีองค์ประกอบของแบ่งที่ใกล้เคียงกัน โดยค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด เทียบจากผลผลิตของวัตถุดิบทั้งต้น แต่เมื่อนำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ทั้งหมดจากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงผลในตารางที่ 14 พบว่าผลผลิตน้ำตาลที่ผลิตได้ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 1.27 ± 0.009 , 1.224 ± 0.001 , 1.175 ± 0.003 และ 1.106 ± 0.008 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยในแต่ละอัตราส่วนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จะเห็นได้ว่าผลผลิตที่เกิดขึ้นในอัตราส่วนที่ 0:1 มีการเกิดของผลผลิตน้ำตาลที่สูงกว่าในอัตราส่วนอื่น ๆ ทั้งนี้เพราะในอัตราส่วนที่

0:1 ที่มีปริมาณแป้งเป็นองค์ประกอบที่สูง และเมื่อมีการผสมเปลือกมันสำปะหลังลงไปก็จะทำให้องค์ประกอบของแป้งลดลงไป ตามปริมาณเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่ 1:5, 1:2 และ 1:1 แสดงได้ดังตารางที่ 5 ส่งผลให้ผลผลิต น้ำตาลที่เกิดขึ้นในอัตราส่วนดังกล่าวจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์มีค่าน้อยกว่าอัตราส่วนที่ 0:1 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ ชลดดา ชื่อสัตย์ (2546) โดยทำการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังที่ร้อยละ 10 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด ต่าง 5.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด ต่าง 4.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น 31.6 กรัมต่อลิตร น้ำหนักแห้ง ส่วนในงานวิจัยของกัลยา อ่อนนุช (2548) โดยทำการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังที่ร้อยละ 0.15 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.17 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดต่าง 6 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์ กลูโคอะไมเลส 0.33 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด ต่าง 4.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาล รีดิวซ์ที่เกิดขึ้นร้อยละ 52.85 โดยน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส ใน ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนผสม เปลือกมัน : กากมัน	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) จาก	
	แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส
0 : 1	0.032 ^a ± 0.003	1.209 ^a ± 0.006
1 : 5	0.025 ^b ± 0.003	1.195 ^a ± 0.007
1 : 2	0.022 ^b ± 0.002	1.155 ^b ± 0.001
1 : 1	0.016 ^c ± 0.001	1.092 ^c ± 0.006

a, b และ c แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

ตารางที่ 14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส

อัตราส่วน เปลือกมัน : กากมัน	การใช้วัตถุดิบ (%)		ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมด	
	แป้ง	เซลลูโลส	กรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง	กรัม/กรัม แป้งที่ถูกใช้
0 : 1	91.53 ^a ± 1.19	1.66 ^{ns} ± 0.07	1.247 ^a ± 0.009	2.26 ^a ± 0.22
1 : 5	81.48 ^b ± 1.48	1.54 ^{ns} ± 0.22	1.224 ^b ± 0.001	2.76 ^b ± 0.17
1 : 2	81.78 ^b ± 2.04	1.32 ^{ns} ± 0.59	1.175 ^c ± 0.003	2.87 ^b ± 0.32
1 : 1	89.71 ^a ± 1.15	1.95 ^{ns} ± 0.63	1.106 ^d ± 0.008	2.76 ^b ± 0.26

ns แสดงความไม่แตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

a, b,..., d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

เมื่อวิเคราะห์ถึงการใช้ปริมาณแป้งที่เริ่มต้นที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลของส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 แสดงผลในตารางที่ 14 พบว่า ในปริมาณที่ถูกใช้โดยเฉพาะในอัตราส่วนผสม ของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 มีปริมาณที่ถูกใช้ไปสูงกว่าอัตราส่วน 1:5, 1:1 และ 1:2 โดยถูกใช้ไปร้อยละ

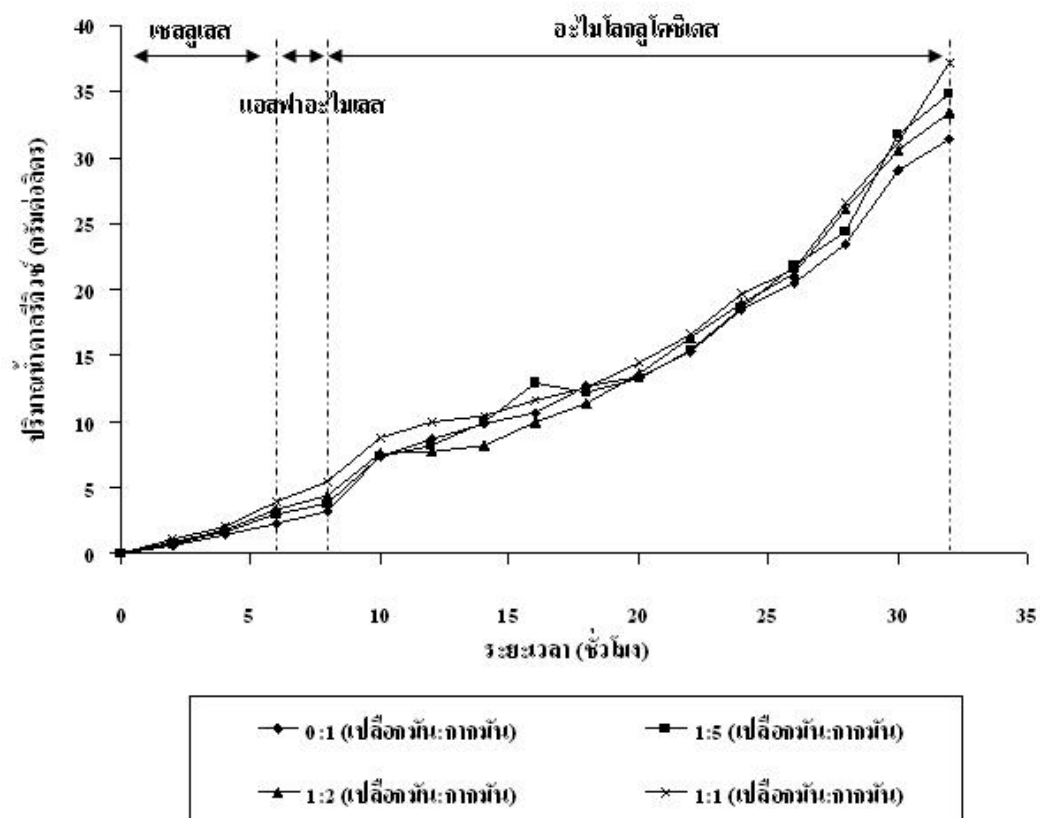
91.53 $\pm$ 1.19, 81.48 $\pm$ 1.48, 89.71 $\pm$ 1.15 และ 81.78 $\pm$ 2.04 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่าปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนที่ 1:5 1:2 และ 1:1 ซึ่งในทั้ง 3 อัตราส่วนนี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนอัตราส่วนส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1 ปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสมีค่าที่แตกต่างกับอัตราส่วนผสมอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ลักษณะที่เกิดขึ้นจะมีความหนืด โดยส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ไฮโดรไลซิสแป้งได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ อีกทั้งความร้อนในช่วงแรกของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ใช้อุณหภูมิสูงถึง 90 องศาเซลเซียส และเวลาจะมีผลให้ต่อการทำลายพันธะและโครงสร้างในแป้งโดยการเกิดเจลลิตไนเซชัน (gelatinization) เป็นการเปลี่ยนโดยเม็ดแป้งมีลักษณะของการพองตัวเกิดขึ้นที่อุณหภูมิที่เหมาะสม และถ้าอุณหภูมิเกินไปจะเกิดการสูญเสียของแป้งเกิดขึ้น (กล้านรงค์ ศรีวรรต และกุล , 2543) เลยส่งผลให้ปริมาณบางส่วนหายไปในช่วงการใช้อุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสด้วย 2 เอนไซม์ ส่วนในปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยถูกใช้ไปร้อยละ 1.66 $\pm$ 0.07, 1.54 $\pm$ 0.22, 1.32 $\pm$ 0.59 และ 1.95 $\pm$ 0.63 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนต่าง ๆ ปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการที่ปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปบางส่วนในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง อาจเป็นเพราะขนาดของตัวอย่างที่ 25 ไมครอนของส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ร่วมกับการใช้ความร้อนที่สูงถึง 90 องศาเซลเซียส ในการไฮโดรไลซิสแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในช่วงแรก ส่งผลให้โครงสร้างของผนังพืชที่เป็นเซลลูโลสถูกทำลาย จึงทำให้เซลลูโลสถูกใช้ไปบางส่วนในช่วงการไฮโดรไลซิสแป้ง และเมื่อนำปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 พบว่าผลผลิตของน้ำตาลที่เกิดขึ้น คือ 2.26 $\pm$ 0.22, 2.76 $\pm$ 0.17, 2.87 $\pm$ 0.32 และ 2.76 $\pm$ 0.26 กรัมต่อกรัมแป้งที่ถูกใช้ ตามลำดับ พบว่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้ในการไฮโดรไลซิสแป้งที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนที่ 1:5, 1:2 และ 1:1 ซึ่งในทั้ง 3 อัตราส่วนนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1 ผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ค่าที่ได้มีความแตกต่างจากอัตราส่วนผสมอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เพราะในอัตราส่วนผสมที่ 0:1 มีปริมาณแป้งอยู่สูงกว่าในอัตราส่วนอื่น ๆ ซึ่งในอัตราผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:5, 1:2 และ 1:1 ปริมาณแป้งที่ได้มีปริมาณใกล้เคียงกันหลังจากได้มีการผสมเปลือกมันสำปะหลังลงไป โดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มาจากผลผลิตน้ำตาลของการวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสด้วยแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส นั้นต้องคำนึงถึงองค์ประกอบในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง โดยที่แต่ละอัตราส่วนมีปริมาณของแป้งแตกต่างกัน (ตารางที่ 5)

3.3.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลสในส่วนผสมของเปลือก และกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ

การผลิตน้ำตาลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบประเภทแป้งและเส้นใยที่ประกอบไปด้วยเซลลูโลสด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์และในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งในเปลือกและกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่มีทั้งองค์ประกอบของเซลลูโลสและแป้ง โดยที่ในเปลือกมันสำปะหลังมีปริมาณเซลลูโลสและแป้งอยู่ร้อยละ 35.01 $\pm$ 5.99 และ 28.09 $\pm$ 6.44 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนในกากมันสำปะหลังมีปริมาณเซลลูโลสและแป้งอยู่ร้อยละ 16.56 $\pm$ 0.82 และ 60.39 $\pm$ 6.44 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำเซลลูโลสและแป้งในเปลือกและกากมันสำปะหลังมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งคู่ จากการศึกษาในหัวข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 เป็นการศึกษาการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลสใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส

และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกับเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสใช้ในการไฮโดรไลซิสแป้ง โดยที่ผลผลิตของน้ำตาลที่ได้มีสารตั้งต้นที่เป็นแหล่งอาหารของยีสต์ที่จะนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการให้พลังงานแกียีสต์ที่จะผลิตเอทานอล ทั้งนี้เนื่องจากในองค์ประกอบของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีเซลลูโลสและแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ใช้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง และศึกษาผลของการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดในการไฮโดรไลซิสเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ให้เกิดประสิทธิผลในการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำตาลเพื่อใช้ในการนำไปหมักเป็นเอทานอลเพื่อเป็นพลังงานทดแทน

จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งที่มีอยู่ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เซลลูเลส 30 ยูนิต ที่ความเป็นกรดต่าง 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยมีค่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ คือ 2.27 ± 0.02 , 3.00 ± 0.04 , 3.26 ± 0.07 และ 3.94 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยแอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ที่ความเป็นกรดต่าง 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้เพิ่มขึ้น 3.21 ± 0.08 , 3.83 ± 0.04 , 4.37 ± 0.05 และ 5.44 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สุดท้ายนำมาไฮโดรไลซิสด้วยอะไมโลกลูโคซิเดส 6 ยูนิต ที่ความเป็นกรดต่าง 4.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ทั้งหมดจากการไฮโดรไลซิส คือ 31.38 ± 0.95 , 33.41 ± 0.37 , 34.75 ± 0.08 และ 37.17 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงของการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด โดยที่ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ

ผลการศึกษาในผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิดได้แสดงในตารางที่ 15 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเอนไซม์เซลลูเลส ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 พบว่า ผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าที่สูงกว่า อัตราส่วนที่ 1:2, 1:5 และ 0:1 ตามลำดับโดยค่าที่ได้เท่ากับ 0.393 ± 0.002 , 0.325 ± 0.007 , 0.298 ± 0.004 และ 0.226 ± 0.002 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และในทุกอัตราส่วนผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เพราะในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีปริมาณเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน (ตารางที่ 5) และทำการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่า ผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.09 ± 0.009 , 0.08 ± 0.007 , 0.11 ± 0.008 และ 0.15 ± 0.002 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยอัตราส่วนที่ 0:1 และ 1:5 ค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้ไม่มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส มีค่าผลผลิตน้ำตาลที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ในตารางที่ 13 ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ในแต่ละตัวมีหน้าที่ในการทำงานที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์เซลลูเลสมีหน้าที่ไฮโดรไลซิสเซลลูโลส ทำให้แบ่งที่ยึดเกาะกับลิกโนเซลลูโลสในเปลือกและกากมันสำปะหลังหลุดออก และง่ายต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสในการไฮโดรไลซิสแบ่งเป็นน้ำตาล เป็นผลทำให้การไฮโดรไลซิสเพื่อเปลี่ยนแบ่งในกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลจึงสูงขึ้น โดยที่เซลลูโลสจะถูกละลายได้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส อีกทั้งช่วยลดความหนืดของกากมันสำปะหลัง ทำให้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสไฮโดรไลซิสแบ่งให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลงโดยใช้อุณหภูมิประมาณ 90 – 100 องศาเซลเซียส ส่วนการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส จะเข้าไปช่วยย่อยให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และช่วยให้จับกับโมเลกุลของแบ่งได้มากขึ้น (พรพนทิพย์ พูนไพโรจน์, 2539) และสุดท้ายนำส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 มาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส พบว่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าเท่ากับ 2.81 ± 0.08 , 3.08 ± 0.03 , 2.89 ± 0.01 และ 3.16 ± 0.02 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตน้ำตาลที่ได้ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 กับ 1:2 และอัตราส่วนที่ 1:5 กับ 1:1 ค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสกันในแต่ละอัตราส่วนที่ 1:5 มีค่าสูงกว่าอัตราส่วนที่ 1:2 อาจมีผลมาจากสารตั้งต้นในช่วงแรกทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและแอลฟาอะไมเลสการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแบ่งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:5 ได้ดี รวมถึงการกระจายตัวของตัวอย่างและเมื่อทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ส่งผลให้ผลผลิตของน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีค่าสูงกว่าส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:2 แต่เมื่อพิจารณาถึงผลผลิตของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ทั้งหมดในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 3.13 ± 0.08 , 3.46 ± 0.04 , 3.33 ± 0.01 และ 3.70 ± 0.02 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 16) และในทุกอัตราส่วนผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และค่าผลผลิตน้ำตาลที่ได้ทั้งหมดในการใช้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 พบว่ามีค่าผลผลิตน้ำตาลที่สูงกว่าอัตราส่วนผสมอื่น ๆ คือ 3.70 ± 0.02 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด

อัตราส่วนผสม เปลือกมัน : กากมัน	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) จาก		
	เซลลูโลส	แอลฟาอะไมเลส	อะไมโลกลูโคซิเดส
0 : 1	0.226 ^a ± 0.002	0.09 ^a ± 0.009	2.81 ^a ± 0.08
1 : 5	0.298 ^b ± 0.004	0.08 ^a ± 0.007	3.08 ^b ± 0.03
1 : 2	0.325 ^c ± 0.007	0.11 ^b ± 0.008	2.89 ^a ± 0.01
1 : 1	0.393 ^d ± 0.002	0.15 ^c ± 0.002	3.16 ^b ± 0.02

a, b,..., d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

ตารางที่ 16 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์

อัตราส่วน เปลือกมัน : กากมัน	การใช้วัตถุเติม (%)		ปริมาณน้ำตาลที่ได้ ทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตน้ำตาลที่ได้ (กรัม/กรัมน้ำหนัก แห้ง)
	เซลลูโลส	แป้ง		
0 : 1	91.44 ^{ns} ± 0.94	92.37 ^a ± 0.59	31.38 ^a ± 0.95	3.13 ^a ± 0.08
1 : 5	93.31 ^{ns} ± 4.30	91.25 ^a ± 0.44	33.41 ^b ± 0.37	3.46 ^b ± 0.04
1 : 2	93.59 ^{ns} ± 2.04	92.45 ^a ± 0.72	34.75 ^c ± 0.08	3.33 ^c ± 0.01
1 : 1	93.63 ^{ns} ± 2.15	95.18 ^b ± 1.07	37.17 ^d ± 0.26	3.70 ^d ± 0.02

ns แสดงความไม่แตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

a, b,..., d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของธีรภัทร และคณะ (2549) ได้มีการศึกษาการไฮโดรไลซิส กากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นร้อยละ 8, 10 และ 12 ของน้ำหนักแห้ง และทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูโลสที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 4.8 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสุดท้ายทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 4.5 เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พบว่ามีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ 31.1, 36.8 และ 47.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และสุนีย์ โชติสินานพ (2539) ทำการไฮโดรไลซิสแป้งในกากมันสำปะหลังที่มีคาร์โบไฮเดรตและเยื่อใยร้อยละ 66.2 และ 15.26 โดยน้ำหนักที่เป็นองค์ประกอบ พบว่าการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูโลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ คือ 39.02 กรัมต่อ 100 กรัมกากมันสำปะหลัง และเมื่อวิเคราะห์ถึงปริมาณการใช้แป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยค่าที่เริ่มต้นของแป้งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นผลผลิตน้ำตาลของส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 แสดงได้ในตารางที่ 16 พบว่า ในปริมาณแป้งที่ถูกใช้โดยเฉพาะในอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณที่ถูกใช้ไปสูงกว่าอัตราส่วน 1:2, 0:1 และ 1:5 โดยปริมาณที่แป้งถูกใช้ไปร้อยละ 95.18 ± 1.07, 92.45 ± 0.72, 92.37 ± 0.59 และ 91.25 ± 0.44 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทำให้ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 1:5 และ 1:2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ในอัตราส่วนที่ 1:1 ปริมาณแป้งที่ถูกใช้มีความแตกต่างกับ

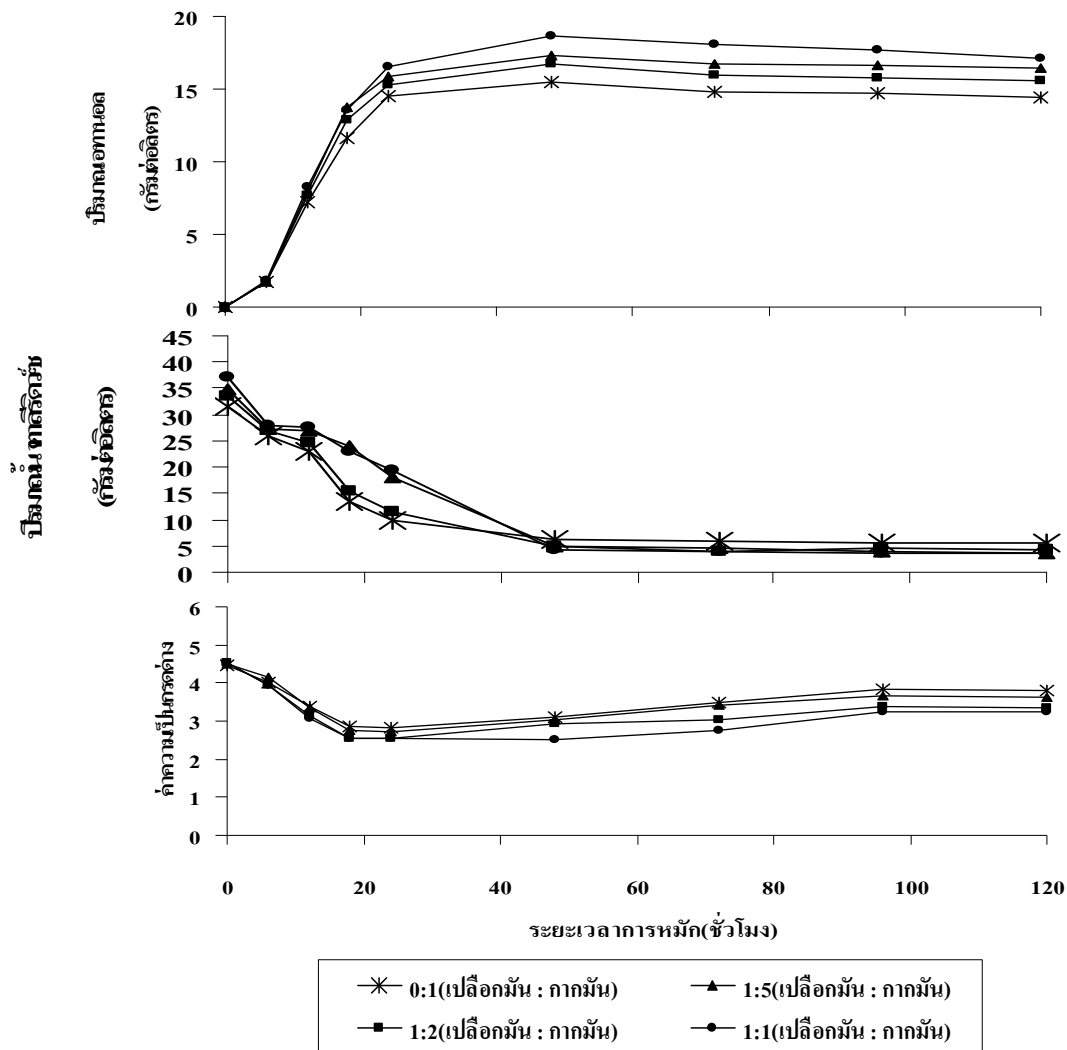
อัตราส่วนผสมเปลือกและกากมันที่อัตราส่วนอื่น ๆ โดยที่ค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเช่นเดียวกันในปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสมีอยู่ร้อยละ 91.44 ± 0.94 , 93.31 ± 4.30 , 93.59 ± 2.04 และ 93.63 ± 2.15 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับไม่มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้ในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 มีองค์ประกอบของเซลลูโลสที่มีปริมาณแตกต่างกันออกไปตามอัตราส่วนการเพิ่มปริมาณของเปลือกมันสำหรับ และเมื่อทำการให้ไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสส่งผลให้แบ่งที่ยึดเกาะตามผนังของลิกโนเซลลูโลสหลุดออกมา แล้วเมื่อทำการไฮโดรไลซิสแป้งต่อด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสส่งผลให้ปริมาณแป้งมีการถูกใช้ในปริมาณที่สูงขึ้นตามสัดส่วนของอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับ

การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส มีผลมาจากเปลือกและกากมันสำหรับมีคุณสมบัติของเส้นใยพวกโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ เซลลูโลส และเส้นใยต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำ และการพองตัว ทำให้เกิดลักษณะของความหนืดสูงมาก จับตัวเป็นก้อนและยากต่อการกวน ส่งผลต่อกระบวนการให้ความร้อน และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลจากเปลือกและกากมันสำหรับต่ำ ดังนั้นในกระบวนการให้ความร้อนแก่เปลือกและกากมันสำหรับแล้วเติมเอนไซม์ลงไป เพื่อช่วยในการไฮโดรไลซิสโพลีแซคคาไรด์ เพื่อที่จะเพิ่มผลผลิตของน้ำตาล แต่การใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสในการไฮโดรไลซิสจะส่งผลให้ลักษณะที่ได้จากเปลือกและกากมันสำหรับมีความหนืดจะมีต่อการทำงานของเอนไซม์ การเติมเอนไซม์เซลลูเลสลงไปไฮโดรไลซิสก่อนจะเป็นการปรับสภาพของเปลือกและกากมันสำหรับเพื่อลดความหนืด และการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสได้มีประสิทธิภาพดีขึ้น (กล้านรงค์ ศรีวรรต และคณะ, 2548) อีกทั้งการนำเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มผลผลิตของน้ำตาลได้ อีกทั้งการนำเปลือกมันสำหรับที่มีปริมาณเซลลูโลสที่สูงกว่าในกากมันสำหรับมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อช่วยในเพิ่มศักยภาพของวัตถุดิบประเภทเส้นใยในการเปลี่ยนเป็นปริมาณน้ำตาลเพื่อใช้ในผลิตเอทานอลต่อไป

3.4 ผลการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่อัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยเอนไซม์

เมื่อนำสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คือ 31.38 ± 0.95 , 33.41 ± 0.37 , 34.75 ± 0.08 และ 37.17 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักเอทานอล ด้วยยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 150 รอบต่อนาที พบว่าน้ำตาลถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วภายในเวลา 48 ชั่วโมง จากระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นของส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 สามารถผลิตเอทานอลได้ดีที่สุดจากระยะเวลาการหมักทั้งหมด ซึ่งผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 17 โดยมีปริมาณเอทานอลอยู่ร้อยละ 1.55 ± 0.03 , 1.73 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 และ 1.87 ± 0.05 (w/v) ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง คือ 6.24 ± 0.23 , 5.02 ± 0.50 , 4.89 ± 0.29 และ 4.35 ± 0.28 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยที่ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำหรับที่อัตราส่วนต่าง ๆ นั้นค่าที่ได้พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลจะถูกใช้ไปน้อยมากหรือเกือบไม่ใช้เลย ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 9 ขณะที่เอทานอลถูกผลิตขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นจนคงที่ภายใน 48 ชั่วโมง โดยปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ คือ 15.48 ± 0.29 , 17.29 ± 0.20 , 16.73 ± 0.25 และ 18.64 ± 0.38 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยที่ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงประมาณ 3-4 ในช่วงระยะเวลาการหมักเอทานอล และเมื่อในระยะเวลาในการหมักที่ 60 ชั่วโมงปริมาณน้ำตาลจะลดลงเริ่มเข้าสู่สภาวะที่คงที่ทั้งนี้เพราะเชื้อ *Saccharomyces*

cerevisiae TISTR 5343 ได้มีการใช้สารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ไป เช่นเดียวกันกับถ้าสับเสวตของสารตั้งต้นถูกใช้ไปผลผลิตที่ได้ก็จะมีปริมาณที่น้อยลงไปด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เป็นเพราะปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลที่สำคัญ คือ ธาตุอาหารหลักที่ใช้เป็นแหล่งอาหารให้กับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ทุกสายพันธุ์ นั่นคือสารประกอบคาร์บอน เช่น น้ำตาลและแป้ง (Nagadawithaha และคณะ, 1974) ส่วนความเข้มข้นของน้ำตาล อุณหภูมิ รวมไปถึงความเป็นกรดต่าง ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้มีผลเกี่ยวเนื่องกันซึ่งจำเป็นต้องมีการควบคุมเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการหมักสูงสุด (Jones และคณะ, 1981) ซึ่งจะสอดคล้องกับงานวิจัยของจิรศักดิ์ คงเกียรติขจร(2546) ได้นำเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ร้อยละ 1.5 ทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แล้วต่อยอดด้วยเอนไซม์กลูโคซิเดส ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 6.37 และ 7.59 กรัมต่อลิตร ทำการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 บ่มบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากเปลือกและกากมันสำปะหลัง คือ 2.94 ± 0.25 และ 3.27 ± 0.41 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และงานวิจัยของ Srinorakutara และคณะ (2004) ได้ผลิตเอทานอลจากของเสียของโรงงานแปรงมันสำปะหลัง โดยขั้นตอนแรกทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ได้ปริมาณน้ำตาล 122.4 กรัมต่อลิตร ต่อจากนั้นหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5596 10% (v/v) ใช้อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตเอทานอลได้มากที่สุดคือ ร้อยละ 3.84 (w/v) ในเวลา 36 ชั่วโมง



รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณเอทานอล และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ

ตารางที่ 17 ผลการหมักเอทานอลในส่วนผสมเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่ 48 ชั่วโมง

อัตราส่วน การผสม (เปลือก : กากมัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		ค่าความเป็นกรดต่าง		เอทานอล % (w/v)
	0 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	0 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	
0 : 1	31.38 ^a ± 0.95	6.24 ^a ± 0.23	4.54 ± 0.03	3.09 ± 0.02	1.55 ^a ± 0.03
1 : 5	33.41 ^b ± 0.37	5.02 ^b ± 0.50	4.51 ± 0.01	3.05 ± 0.03	1.73 ^b ± 0.02
1 : 2	34.75 ^c ± 0.08	4.89 ^b ± 0.29	4.54 ± 0.03	2.93 ± 0.03	1.67 ^c ± 0.02
1: 1	37.17 ^d ± 0.26	4.35 ^b ± 0.28	4.52 ± 0.01	2.57 ± 0.02	1.87 ^d ± 0.05

a, b,..., d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 18 ในการวิเคราะห์ถึงผลผลิตที่ได้ในการหมักเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 พบว่า ผลผลิตน้ำตาลของส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ สามารถให้ผลผลิตเอทานอล คือ 1.55 ± 0.03, 1.72 ± 0.02, 1.67 ± 0.02 และ 1.86 ± 0.03 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งในอัตราส่วนผสมเปลือกต่อกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 ให้ผลผลิตเอทานอลสูงกว่าอัตราส่วน 1:5 1:2 และ 0:1 ตามผลผลิตน้ำตาลที่ผลิตได้สูงเช่นกัน ในผลผลิตเอทานอลที่ได้จากผลผลิตน้ำตาลในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:5 และ 1:2 ผลผลิตเอทานอลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 18 ผลผลิตน้ำตาลเริ่มต้นก่อนการหมักเอทานอลและผลผลิตเอทานอลที่ผลิตได้

อัตราส่วนการผสม (เปลือกมัน : กากมัน)	ผลผลิตน้ำตาลเริ่มต้น (กรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)	ผลผลิตเอทานอล (กรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)
0 : 1	3.13 ^a ± 0.08	1.55 ^a ± 0.03
1 : 5	3.46 ^b ± 0.04	1.72 ^b ± 0.02
1 : 2	3.33 ^c ± 0.01	1.67 ^b ± 0.02
1: 1	3.70 ^d ± 0.02	1.86 ^c ± 0.03

a,b,...,d แสดงความแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน

โดยจะสอดคล้องกับงานวิจัยของกัลลาณรงค์ และคณะ (2548) ได้ทำการผลิตเอทานอลด้วยการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสทำการไฮโดรไลซิสในกากมันสำปะหลังที่ร้อยละ 20 แล้วทำการหมักด้วยด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้ 0.407 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และได้น้ำมากากของเสียทางอุตสาหกรรมหรือวัสดุทางการเกษตรอื่นที่มีองค์ประกอบของแป้งและเซลลูโลสเหลืออยู่เป็นองค์ประกอบมาทำการผลิตเอทานอล ดังเช่นในงานวิจัยของระวีวรรณ ขวัญเมือง (2538) ได้ทำการศึกษาผลิตเอทานอลจากฟางข้าว โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายฟางข้าวด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงเชื้อ ในกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน จะได้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 1.3 โดยปริมาตร และเมื่อเทียบกับการนำเปลือกมันสำปะหลังมาผสมในกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าในการหมักเอทานอล ค่าที่ได้จะสูงกว่ากากของเสียประเภทอื่น ทั้งนี้เพราะส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบของเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้นอีกทั้งยังคงมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ และเช่นเดียวกัน

กับการนำกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียวมาผลิตเอทานอลปริมาณเอทานอลที่ได้ก็มีปริมาณที่ต่ำกว่าการมีเปลือกมันสำปะหลังผสมลงไป ดังนั้นในงานวิจัยนี้ที่มีการนำเปลือกมันสำปะหลังมาผสมกับกากมันสำปะหลังจะช่วยให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีและมีประสิทธิภาพมากขึ้นจากการใช้เซลลูโลสและแป้งที่เป็นองค์ประกอบหลักในวัตถุดิบ อีกทั้งส่งผลให้การผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ก็เพื่อจะใช้เป็นแนวทางทางเลือกหนึ่งของพลังงานทดแทนในอนาคต

3.5 ต้นทุนค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ

ความสำคัญในการผลิตเอทานอล คือการช่วยลดวิกฤตการณ์ราคาน้ำมันที่เพิ่มสูงขึ้น และเป็นทางเลือกหนึ่งให้แก่พลังงานทดแทน พร้อมทั้งช่วยลดต้นทุนราคาน้ำมัน (E10 และ E20) และเพิ่มศักยภาพให้แก่วัสดุเหลือใช้จากเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรที่นำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพลังงานทดแทน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเห็นถึงความสำคัญการนำเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังในโรงงานงานอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์ด้านพลังงานทดแทน โดยจากผลการทดลองในหัวข้อที่ 3.4 คือการนำสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนผสมต่างๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักเอทานอล ด้วยยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยระยะเวลาการหมักที่ 48 ชั่วโมง พบว่า มีปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 1.55 ± 0.03 , 1.73 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 และ 1.87 ± 0.05 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ หรือร้อยละ 1.96 ± 0.04 , 2.19 ± 0.03 , 2.12 ± 0.03 และ 2.36 ± 0.05 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งการประมาณการต้นทุนการผลิตเอทานอลในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่างๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์เกี่ยวกับต้นทุนการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ประเภทอื่น ๆ ได้ โดยจากข้อมูลราคาของวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลสามารถแสดงได้จากตารางที่ 19 พบว่า ราคาของเปลือกและกากมันสำปะหลัง 0.25 และ 0.40 บาทต่อกิโลกรัม ส่วนเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสมีราคาต้นทุนที่ 0.80, 0.18 และ 0.2 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ แล้วนำไปใช้ในการประมาณต้นทุนในการผลิตเอทานอล

ตารางที่ 19 ราคาของวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ

วัตถุดิบ	หน่วย	ราคาวัตถุดิบ (บาทต่อหน่วย)
เปลือกมันสำปะหลัง*	กิโลกรัม	0.25
กากมันสำปะหลัง*	กิโลกรัม	0.40
เอนไซม์เซลลูเลส**	กรัม	0.80
เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส**	กรัม	0.18
เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส**	กรัม	0.2

* ราคาเปลือกและกากมันสำปะหลัง ณ วันที่ 18 กันยายน 2548 จากโรงงานชลเจริญ จังหวัดชลบุรี

** กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ (2548)

จากต้นทุนในการผลิตเอทานอล ประกอบไปด้วยต้นทุน 3 ส่วน คือ ส่วนแรกต้นทุนของหน่วยการผลิต ส่วนที่สองต้นทุนพลังงาน คือ การไฮโดรไลซิส กระบวนการหมัก และการกลั่น ซึ่งจะต้องใช้พลังงานไฟฟ้าและน้ำในการผลิตเอทานอล และ ส่วนสุดท้ายเป็นค่าใช้จ่ายอื่นๆ ในการผลิตเอทานอล เช่น ค่าแรงงาน ค่าบำรุงรักษา จากการศึกษาของกล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ (2548) มีการใช้ต้นทุนด้านพลังงานและค่าใช้จ่ายอื่นๆ ในการผลิตเอทานอล คือ 1.76 และ 1.69 บาทต่อลิตรตามลำดับ ดังนั้น ต้นทุนการผลิตเอทานอลในการศึกษานี้ได้ใช้ต้นทุนของหน่วยการผลิตหรือวัตถุดิบจากข้อมูลในตารางที่ 19

ส่วนต้นทุนพลังงานและน้ำ รวมถึงค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ใช้เกณฑ์การศึกษาของสุวิทย์ เตีย และคณะ (2548) เป็นเกณฑ์ที่ได้มีการวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ในคิดคำนวณค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานผลิตเอทานอลจากหัวมันสำปะหลังสด และหัวมันเส้นเป็นวัตถุดิบ โดยที่ต้นทุนการผลิตเอทานอลทางด้านพลังงาน และต้นทุนในส่วนของค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ในกระบวนการผลิต คือ 1.42 และ 1.29 บาทต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งต้นทุนพลังงานไฟฟ้า และค่าดำเนินการผลิตมีค่าต้นทุนที่ต่ำกว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลั่นร่งค์ ศรีรอด และคณะ (2548) และได้มีการนำมาใช้คิดคำนวณค่าใช้จ่ายในผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ในงานวิจัยนี้ โดยที่มีปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 1.96 ± 0.04 , 2.19 ± 0.03 , 2.12 ± 0.03 และ 2.36 ± 0.05 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งจะประกอบไปด้วย ต้นทุนทางด้านวัตถุดิบ (เปลือกและกากมันสำปะหลัง) เอนไซม์ พลังงานไฟฟ้าและน้ำ และรวมไปถึงค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ของกระบวนการผลิต แสดงผลในตารางที่ 20 พบว่า การผลิตเอทานอลในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ คือ 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 ได้ราคาต้นทุนผลิตเอทานอล คือ 13.11, 12.95, 12.82 และ 12.70 บาทต่อลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการผสมเปลือกมันสำปะหลังลงไปทำให้ต้นทุนการผลิตลดลงไป โดยที่ราคาการซื้อขายเอทานอลอยู่ที่ 16.84 -18.54 บาทต่อลิตร ซึ่งมีการปรับราคาเอทานอล ณ วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2549 (กระทรวงพลังงาน, 2550) แต่เมื่อนำมาพิจารณาเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตเอทานอลร้อยละ 99.5 จากวัสดุอื่น ๆ ที่แสดงในตารางที่ 21 พบว่า ในอัตราส่วนของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 สามารถผลิตเอทานอลได้ในปริมาณถึง 236 ลิตรต่อวัตถุดิบ 1 ตัน ซึ่งผลผลิตเอทานอลที่ได้มีปริมาณที่สูงกว่าส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนอื่น ๆ และมีศักยภาพที่ใกล้เคียงกับกากน้ำตาล และจากต้นทุนการผลิตเอทานอลที่มีความแตกต่างกันไม่มากนักในแต่ละอัตราส่วน แต่เมื่อพิจารณาถึงศักยภาพการผลิตเอทานอลแล้วการใช้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 โดยมีต้นทุนการผลิตที่ 12.70 บาทต่อลิตร และมีศักยภาพการผลิตเอทานอลที่ 236 ลิตรต่อตัน จะเห็นได้ว่าการใช้ต้นทุนที่ต่ำ และได้ผลผลิตที่สูงขึ้น เมื่อเทียบกับการใช้ส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 ที่มีเพียงกากมันสำปะหลัง (ตารางที่ 20 และตารางที่ 21)

ตารางที่ 20 การประมาณค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ ที่กำลังผลิตเอทานอล 1 ลิตร

รายการ	หน่วย	การประมาณการต้นทุนการผลิตเอทานอล จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง ที่อัตราส่วน			
		0:1	1:5	1:2	1:1
เปลือกและกากมันสำปะหลัง	บาท/ลิตร	2.04	1.88	1.75	1.63
เอนไซม์	บาท/ลิตร	8.36	8.36	8.36	8.36
พลังงานไฟฟ้า และไอน้ำ	บาท/ลิตร	1.42	1.42	1.42	1.42
ค่าดำเนินการ และอื่น ๆ	บาท/ลิตร	1.29	1.29	1.29	1.29
ต้นทุนเอทานอล 1 ลิตร	บาท	13.11	12.95	12.82	12.70

ตารางที่ 21 ปริมาณเอทานอลร้อยละ 99.5 ที่ผลิตได้จากวัตถุดิบต่างชนิดที่มีปริมาณน้ำหนักร้อยละ 1 ตัน

วัตถุดิบ	ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ (ลิตร)
กากน้ำตาล	260
อ้อย	70
หัวมันสำปะหลัง	180
ข้าวฟ่าง	70
น้ำมันมะพร้าว	83
อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 0:1	196*
อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:5	219*
อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:2	212*
อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:1	236*

ที่มา ; คณะกรรมาธิการการพลังงาน สภาผู้แทนราษฎร (2545)

* คำนวณจากผลการทดลอง

จากตารางที่ 22 พบว่า ต้นทุนวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 99.5 ในปริมาณ 1 ลิตรในวัสดุต่าง ๆ ที่เป็นวัสดุเหลือใช้และวัตถุดิบที่จำเป็นต่อการผลิตอื่น ๆ มีราคาค่าต้นทุนที่สูง เมื่อนำมาเทียบกับต้นทุนราคาวัตถุดิบในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 1:1 พบว่า ต้นทุนราคาวัตถุดิบและต้นทุนในการผลิตเอทานอลต่ำกว่ากากน้ำตาล มันสำปะหลัง มันเส้นปลายข้าว และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ แต่ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเอทานอลสำหรับเปลือกและกากมันสำปะหลังใช้ในปริมาณที่ต่ำเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับมันสำปะหลัง มันเส้น และอ้อย ที่เป็นวัสดุทางการเกษตรที่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่เกิดประโยชน์ แต่ในเปลือกและกากมันสำปะหลังเป็นกากของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่สามารถนำของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการผลิตเป็นพลังงานทดแทน ทั้งนี้อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:1 มีต้นทุนด้านวัตถุดิบน้อยกว่าอัตราส่วน 1:2, 1:5 และ 0:1 คือ 0.33, 0.38, 0.37 และ 0.40 บาทต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 20) ทั้งนี้เห็นได้ว่าการใช้เปลือกมันสำปะหลังผสมลงไปในกากมันสำปะหลังช่วยลดต้นทุนการผลิตลงไป การที่นำเปลือกและกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอลเป็นการใช้เซลล์ลูโลสและแป้งให้เกิดประโยชน์มากที่สุด และจากการสำรวจในประเทศ มีกำลังการผลิตแป้งมันสำปะหลังโดยเฉลี่ย 2.5 ถึง 3 ล้านตันต่อปี (กล่าวรณงค์ ศรีรอด และคณะ, 2548) จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังส่งผลให้เกิดของเสีย คือ เปลือกและกากมันสำปะหลัง นอกจากน้ำเสีย ซึ่งพบในปริมาณ 2 แสนตันต่อปี และ 1.5 ล้านตันต่อปี ตามลำดับ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2546) ด้วยกากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีปริมาณสูงจะส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมโดยการส่งกลิ่นเหม็น ดังนั้นการผลิตเอทานอลจึงเป็นพลังงานที่สามารถพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพลังงานสะอาดได้ โดยไม่ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางอากาศ ลดปริมาณกากของเสียลงไป และยังลดการนำเข้าน้ำมันดิบจากต่างประเทศ ช่วยลดการขาดดุลทางการค้าของประเทศ โดยมุ่งพัฒนาเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพการผลิตสูง ต้นทุนการผลิตต่ำ เพิ่มมูลค่าในกากของเสีย ตลอดจนสามารถพัฒนาการใช้ประโยชน์จากของเสียและเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม นอกจากการนำเปลือกมันสำปะหลังที่มีปริมาณเซลล์ลูโลสอยู่สูงถึงร้อยละ 35.01 $\pm$ 5.99 ของน้ำหนักแห้ง ยังมีวัตถุดิบอื่นที่มีปริมาณเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบอยู่มาก เช่น ข้าวฟ่าง ฟางข้าว หญ้า เป็นต้นถ้ามีการใช้วิธีการไฮโดรไลซิสที่เหมาะสมต่อวัตถุดิบเพื่อให้น้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งอาหารและสารตั้งต้นในการหมักเอทานอลจะช่วยลดต้นทุนการผลิตไปอีก และให้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพอีกด้วย ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำไปสู่การพัฒนาการใช้เป็นพลังงานทดแทนทางเลือกหนึ่งในอนาคตที่

จะประกอบไปด้วยวัตถุดิบที่มีองค์ประกอบที่เหมาะสมแก่การผลิตเอทานอลต่อไป ทั้งนี้การใช้ประโยชน์ของเอทานอล คือ การนำไปส่วนผสมหลักให้กับเชื้อเพลิงน้ำมัน หรือที่เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ เพื่อนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงพลังงานทดแทนให้กับรถยนต์ ทั้งนี้ถ้าราคาเอทานอล 12.70 บาทต่อลิตร ที่ได้จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ 1:1 (ตารางที่ 4.18) ไปผสมกับน้ำมันเบนซินไร้สารตะกั่วออกแทน 91 โดยใช้อัตราส่วนของเอทานอลต่อน้ำมันเบนซินเป็น 1:9 จะทำให้ราคาของแก๊สโซฮอล์ได้ถูกลงไป โดยที่ต้นทุนที่เกิดขึ้นเป็นการประมาณค่าใช้จ่ายในการผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้นเพื่อเป็นการเสนอแนวทางใช้เป็นประโยชน์ในการพัฒนาให้เกิดเป็นรูปธรรมมากขึ้น

ตารางที่ 22 ต้นทุนการผลิตเอทานอลต่อลิตรในวัตถุดิบประเภทต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 99.5

วัตถุดิบ	ปริมาณวัตถุดิบ สำหรับผลิต เอทานอล 1 ลิตร (กิโลกรัม)	ราคาวัตถุดิบ เฉลี่ย (บาท/กิโลกรัม)	ต้นทุนวัตถุดิบใน การผลิต เอทานอล 1 ลิตร (บาท)
กากน้ำตาล*	4.0	3.80	15.20
อ้อย*	14.0	0.80	11.20
มันสำปะหลัง-มันเส้น**	2.50-7.52	1.10-4.00	9.75-10.80
ปลายข้าว*	2.70	6.00	16.20
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์*	2.70	4.16	11.23
อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมัน สำปะหลังที่ 1:1	5.0	3.26	12.70

ที่มา ; * กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549

** สุวิทย์ เตีย และคณะ, 2548 และกล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549

4. สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเปลือกและกากมันสำปะหลังที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล โดยทำการศึกษาถึงปัจจัยที่มีต่อผลผลิตน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์องค์ประกอบทางเคมีในเปลือกและกากมันสำปะหลัง ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสในเปลือกและกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส สัดส่วนผสมของเปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลัง ผลผลิตของน้ำตาลและเอทานอลที่ได้ รวมถึงการคำนวณค่าใช้จ่ายต้นทุนการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมหลักของเปลือกและกากมันสำปะหลัง ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

4.1 องค์ประกอบทางเคมีในเปลือกและกากมันสำปะหลังจากการวิเคราะห์พบว่า เปลือกมันสำปะหลังมีองค์ประกอบที่เป็นเซลลูโลสและแป้งอยู่ร้อยละ 35.01 ± 5.99 และ 28.09 ± 6.44 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนในกากมันสำปะหลังก็มีปริมาณเซลลูโลสและแป้งอยู่ร้อยละ 16.56 ± 0.82 และ 60.39 ± 6.44 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งในการศึกษาได้ผสมเปลือกและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก เพื่อผลิตน้ำตาลและเอทานอลต่อด้วยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ และกระบวนการหมักด้วยยีสต์ตามลำดับ โดยปริมาณเซลลูโลสมีอยู่ร้อยละ 16.56 ± 0.82 , 19.63 ± 1.10 , 22.65 ± 1.95 และ 25.75 ± 2.92 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีปริมาณแป้งอยู่ร้อยละ 60.39 ± 6.44 , 54.78 ± 4.21 , 50.57 ± 4.21 และ 44.9 ± 2.43 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

4.2. ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ซึ่งใช้เป็นกลุ่มตัวแทนในการทดลองจาก 4 อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 พบว่าจากการศึกษาใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสในช่วง 5-40 ยูนิต พบว่า การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ปริมาณ 30 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูง คือ 0.326 ± 0.004 และ 0.367 ± 0.004 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ส่วนปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ซึ่งใช้เป็นกลุ่มตัวแทนในการทดลองจาก 4 อัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 พบว่าจากการศึกษาใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในช่วง 3-15 ยูนิต และอะไมโลกลูโคซิเดสในช่วง 2-10 ยูนิต พบว่า การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ปริมาณ 9 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณ 6 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง มีผลให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูง คือ 1.257 ± 0.007 และ 1.048 ± 0.004 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

4.3 ในการศึกษาการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 30 ยูนิต ที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.0 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ผลผลิตที่เกิดขึ้นได้น้ำตาล 0.226 ± 0.002 , 0.298 ± 0.004 , 0.325 ± 0.007 และ 0.393 ± 0.002 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้ในระหว่างการไฮโดรไลซิสได้มีการใช้เซลลูโลสและแป้งไป โดยที่เซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปร้อยละ 91.01 ± 0.98 , 93.12 ± 1.25 , 92.57 ± 0.96 และ 93.24 ± 1.75 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปร้อยละ 1.03 ± 0.11 , 0.92 ± 0.07 , 1.12 ± 0.21 และ 0.88 ± 0.19 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การที่ปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปบางส่วน (partial hydrolysis) ในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง อาจเป็นเพราะในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ 50 องศาเซลเซียส และสภาวะความเป็นกรดต่างที่ 5.0 ที่มีความเป็นกรดอ่อนสามารถไฮโดรไลซิสแป้งได้เพียงบางส่วน

ส่วนการศึกษาการไฮโดรไลซิสแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 9 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำการไฮโดรไลซิสต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 6 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พบว่า ผลผลิตที่เกิดขึ้นได้น้ำตาล 1.209 ± 0.006 , 1.195 ± 0.007 , 1.155 ± 0.001 และ 1.092 ± 0.006 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้ในระหว่างการไฮโดรไลซิสได้มีการใช้เซลลูโลสและแป้งไป โดยที่เซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดสมีปริมาณแป้งที่ถูกใช้ไปร้อยละ 91.53 ± 1.19 , 81.48 ± 1.48 , 89.71 ± 1.15 และ 81.78 ± 2.04 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปร้อยละ 1.66 ± 0.07 , 1.54 ± 0.22 , 1.32 ± 0.59 และ 1.95 ± 0.63 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การที่ปริมาณเซลลูโลสที่ถูกใช้ไปบางส่วนในแต่ละอัตราส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลัง อาจเกิดจากสาเหตุในการไฮโดรไลซิสแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในช่วงแรกที่ใช้อุณหภูมิสูงที่ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจจะมีผลทำให้โครงสร้างของผนังพืชที่เป็นเซลลูโลสถูกทำลาย จึงทำให้เซลลูโลสถูกใช้ไปบางส่วนในระหว่างการไฮโดรไลซิสแป้ง

4.4 น้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส พบว่า ผลผลิตน้ำตาลที่ได้มีค่า 3.13 ± 0.08 , 3.46 ± 0.04 , 3.33 ± 0.01 และ 3.70 ± 0.02 กรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับหรือที่ความเข้มข้น จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ปริมาณ 30 ยูนิต ค่าความเป็น

กรดต่าง 5.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ปริมาณ 9 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 6.0 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสุดท้ายไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่ปริมาณ 6 ยูนิต ค่าความเป็นกรดต่าง 4.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง และในระหว่างการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสและแป้งที่ถูกใช้ไปในการไฮโดรไลซิสในส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ทำให้ปริมาณแป้งถูกไฮโดรไลซิสไปร้อยละ 92.37 ± 0.59 , 91.25 ± 0.44 , 92.45 ± 0.72 และ 95.18 ± 1.07 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และปริมาณเซลลูโลสที่ถูกไฮโดรไลซิสไปร้อยละ 91.01 ± 0.98 , 93.12 ± 1.25 , 92.57 ± 0.96 และ 93.24 ± 1.75 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

4.5 การผลิตเอทานอลด้วยด้วย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 เชยด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สามารถผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ โดยได้ปริมาณเอทานอล 1.55 ± 0.03 , 1.72 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 และ 1.86 ± 0.03 กรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 1.55 ± 0.03 , 1.73 ± 0.02 , 1.67 ± 0.02 และ 1.87 ± 0.05 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ จากน้ำตาลที่ได้จากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เอนไซม์เซลลูเลส แอลฟาอะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส

4.6 การคิดค่าใช้จ่ายของต้นทุนการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วน 0:1, 1:5, 1:2 และ 1:1 โดยน้ำหนัก พบว่า ด้านพลังงานไฟฟ้าและไอน้ำ และค่าดำเนินการ รวมไปถึงค่าใช้จ่ายอื่นๆ ในการผลิตเอทานอลมีต้นทุนที่ 1.42 และ 1.29 บาทต่อลิตรตามลำดับ และต้นทุนที่ใช้ในการผลิตเอทานอลจากส่วนผสมของเปลือกและกากมันสำปะหลังที่อัตราส่วนต่าง ๆ มีค่าเท่ากับ 13.11, 12.95, 12.82 และ 12.70 บาทต่อลิตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 99.5 จากการผสมเปลือกมันสำปะหลังลงไปในการหมักสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอทานอลเมื่อผสมเปลือกมันสำปะหลังในปริมาณที่เท่ากับกากมันสำปะหลังสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ 0.40 บาทต่อลิตร เมื่อเปรียบกับการใช้กากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียวในผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นแนวทางเพื่อนำไปสู่การวิจัย และพัฒนาในการลดต้นทุนการผลิตเอทานอลต่อไป การนำเปลือกและกากมันสำปะหลังจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้ นอกจากช่วยลดปัญหาของเสียที่มีปริมาณมากที่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ยังเป็นการใช้ประโยชน์ในการผลิตเอทานอล ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันในอนาคต และถือว่าการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุด

5. เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2546, รายงานพลังงานทดแทนของประเทศไทย [Online], Available: http://www2.dede.go.th/renew/report46/Energy%20situation%20Thai_.pdf [วันที่ 20 ธันวาคม 2550]

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2549, เอทานอลพลังงานทดแทนจากพืช, กระทรวงพลังงาน, กรุงเทพฯ

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2550, เอทานอลพลังงานทดแทนจากพืช, กระทรวงพลังงาน, กรุงเทพฯ

กัลยา อญานัน, 2546, การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลจากเปลือกและกากมันสำปะหลัง, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ, 162 หน้า

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2543, **เทคโนโลยีของแป้ง**, พิมพ์ครั้งที่2, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 292 หน้า
- กล้าณรงค์ ศรีรอด, สิริพล โกสินทรเสนีย์, เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, ปฐมา จาตกานนท์ และสิทธิโชค วัลลภพิทย, 2548, **การพัฒนาการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อลดทุน**, รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 124หน้า
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2549, “การผลิตเอทานอลจากมันเส้นจากมันสำปะหลังสุ่อเอทานอล (เทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง)”, **วารสารวิศวกรรมสาร**, ปีที่ 59, ฉบับที่ 2, หน้า 26-28
- จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร, 2546, **โครงการการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดยเชื้อจุลินทรีย์ในสภาพปราศจากออกซิเจน**, รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ, 63 หน้า
- ชลดา ชื้อสัตย์, 2546, **การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 92 หน้า
- เทพปัญญา เจริญรัตน์, 2544, **การผลิตเอทานอลจากการมันสำปะหลังแบบครึ่งคราวโดยการเติมสับเสลดขึ้นกับพีเอช**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 177 หน้า
- ธีรภัทร ศรีนครุต, เลิศลักษณ์ แก้ววิมล และละอียด แซ่ใจ, 2549, “การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย”, **วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**, ปีที่ 31, ฉบับที่ 1, หน้า 77-84
- เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534, **การผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสในน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เชื้อราที่แยกได้**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 131 หน้า
- ประศาสตร์ พุตระกูล, 2540, **การหมักแอลกอฮอล์จากมันเส้นด้วยระบบต่อเนื่องในถังหมักทรงสูงระดับโรงงานทดลอง**, โครงการเผยแพร่และขยายผลงานวิจัยเพื่อการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พัชรา วีระกะลัส, 2543, **เอนไซม์**, พิมพ์ครั้งที่ 2, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 344 หน้า
- มุกดา คูหิรัญ, ھرรษา ปุณณะพยัคฆ์, สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ และบุญริดา โฆษิตทรัพย์, 2546, “แนวทางการพัฒนาการใช้เซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตรเพื่อการผลิตเอทานอล”, **การสัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัยด้านพลังงานทดแทน**, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 25 กันยายน 2546, โรงแรมรามาร์คเด็นส์, กรุงเทพฯ, หน้า 39-49
- ระวีวรรณ ขวัญเมือง, 2538, **การหมักแอลกอฮอล์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรโดยใช้เซลลูโลสและ *Saccharomyces cerevisiae***, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ
- สุนีย์ โชตินิรนาท, 2539, **การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์และอัลตราฟิวดเรชัน**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 95 หน้า
- สุภาวดี ดิสโร, 2543, **การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมในเครื่องปฏิกรณ์อัลตราฟิวดเรชัน**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 99 หน้า

สุวิทย์ เตีย, วีระ โลหะ และบุญยพัต สุภานิช, 2548, รายงานฉบับสมบูรณ์การจัดทำเอกสารประกอบการขออนุญาต
จัดตั้งโรงงานผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากมันสำปะหลัง, 15 กุมภาพันธ์ 2548, ชลบุรี

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2546, **สถานภาพของวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการเกษตรและการใช้
ประโยชน์**, กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ, หน้า 57-71

Aregshore, E.M., 2000, "Chemical Composition and Nutrive Value of Some Tropical By-Product Feedstuffs for
Small Ruminants in Vivo and in Vitro Digestibility", **Animal Feed Science and Technology**, Vol. 85, pp. 99-109.

Agu, R.C., Amadife, A.E., Ude, C.M., Onyia, A., Ogu, E.U., Oka, M. and Ezejiofor, R.T., 1997, "Combined Heat
Treatment and Acid Hydrolysis of Cassava Grate Waste (CGW) Biomass for Ethanol Production", **Waste
Management**. Vol. 17, pp. 91-96.

Beldman, G., Romouts, F.M., Voragen, A.G.J. and Pilinik, W., 1984, "Application of Cellulose and Pectinase from
Fungal Origin for The Liquefaction and Saccharification of Biomass", **Enzyme and Microbial Technology**, Vol. 6,
pp. 503-507.

Jones, R.P., Pamment, N., and Greenfield P.E., 1981, "Alcohol Fermentation byYeasts: The Effect of
Environmental and Other Variabils", **Process Biochemistry**, Vol. 19, No. 3, pp. 42-49.

Murphy, J.D. and McCarthy, K., 2004, "Ethanol Production from Energy Crops and Wastes for Use as A Transport
Fuel in Ireland. **Journalof Applied. Energy**, Vol. 82, pp. 148-166.

Negro, M.J., Manzanares, P., Oliva, J.M., Balleterors, I. and Balleateros, M., 2003, "Change in various
physical/chemical paprameters of *Pinus pinaster* wood after steam explosion pretreatment", **Biomass and
Bioenergy**, Vol. 25, pp. 301-308.

Ramos, L.P., 2003, "The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials", **Quim. Nova**, Vol.
26, pp. 863-871

Salami, R.I. and Odunsi, A.A., 2003, "Evaluation of Processed Cassava Peel Meals as Substitutes for Maize in the
Diets of Layers", **Internation Journal of Poltry Science**, Vol. 2, pp. 112-116.

Shevchenko, S.M., Chang, K., Robinson, J. and Saddler, J.N., 2000, "Optimization of monosaccharide recovery
by post-hydrolysis of the water-soluble hemicellulose component after steam explosion of softwood chips",
Bioresource Technology, Vol. 71, pp. 207-211.

Srinorakutara , T., Suesat, C., Pitiyont, B., Kitpreechavanit, W. and Cattithammanit, S. 2004. **Utilization of
waste from cassava starch plant for ethanol production**. The Joint International Conference On
" Sustainable Energy and Environment (SEE). Hua Hin. Thailand

Wu, M., Chang, K., Gregg, D., Boussaid, A., Beatson, R.P. and Saddler, J.N., 1999, "Optimization of steam explosion to enhance hemicellulose recovery and enzymatic hydrolysis of cellulose in softwood", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 77-79, pp. 47-54.

6. การผลิตนักศึกษา

ระดับปริญญาโท 1 คน

7. สิ่งตีพิมพ์

ศิริฉันทน์ เอกสมทราเมษฐ์, ภาวิณี ชัยประเสริฐ และวรินทร์ สงคศิริ, 2552, "การย่อยสลายเปลือกและกากมันสำปะหลังที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อการผลิตเอทานอล", การประชุมวิชาการ "สิ่งแวดล้อมนครสวรรค์", ครั้งที่ 4, 26-27 พฤษภาคม 2552, มหาวิทยาลัยนครสวรรค์พะเยา, หน้า 349-357

ลงชื่อ _____

(หัวหน้าโครงการ)

วันที่ _____