การผลิตเซลลูเลสชนิดผงแห้งจากการหมักแข็งกากมันสำปะหลังโดยใช้ไตรโคเดอร์มา ริสิอี RT-P1

Cellulase Production from Solid State Fermentation of Cassaca Waste by using *Trichoderma reesei* RT-P1

นุสรา สาระมาศ[1*], เจษฎา ทองศิริ[1] ธาดาพันธ์ ยอดนุ่ม[1] และ ผ่องศรี ศิวราศักดิ์[1]
[1]ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เลขที่ 39 หมู่ 1 คลอง 6 ธัญบุรี ปทุมธานี 12110
โทรศัพท์: +66(2)-549-309 โทรสาร: +66(2)-549-4600 อีเมล์: pongsri@gmail.com

บทคัดย่อ การผลิตเซลลูเลสชนิดผงแห้งจากการหมักแข็งกากมันสำปะหลังโดยใช้ไตรโคเดอร์มา รีสิอี RT-P1 มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมจากการหมักแข็งกากมันสำปะหลังด้วยไตรโคเดอร์มา รีสิอี RT-P1 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 2.75x10^6 cell/mL ในอาหารเหลวpH5 ที่ 26 $^\circ$C ขั้นตอนผลิตหัวเชื้อสด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือกากมันสำปะหลัง 200 g ในปริมาตรอาหารเหลว 200 mL ความเข้มข้นน้ำตาลมะพร้าวเริ่มต้น 30 g/L ค่าความชื้นเริ่มต้น 55 %w ความเข้มข้นของจุลินทรีย์เท่ากับ 7.75x10^7 cell/mL ใช้ระยะเวลาหมัก 7 วัน ขั้นตอนการผลิตเอนไซม์ชนิดผงแห้งพบว่า หัวเชื้อสด 200 g เหมาะสมกับการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง 1 kg ที่น้ำตาลมะพร้าวเริ่มต้น 30 g/L ในอาหารเหลวปริมาตร 1 L ใช้ระยะเวลาหมัก 7 วัน นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ผ่านอบแห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 60 $^\circ$C (ความชื้นต่ำกว่า 13 %w) จะได้เซลลูเลสเอนไซม์ชนิดผงแห้งที่มีความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ 1.15X10^9 cell/mL และเซลลูเลสแอคติวีตี้เท่ากับ 7.88 FPU

คำสำคัญ: กากมันสำปะหลัง, การหมักแข็ง, ไตรโคเดอร์มา ริสิอี

1. บทนำ

การผลิตเอทานอลส่วนใหญ่จะยังผลิตจากแป้งและน้ำตาล แต่ปัจจุบันประเทศไทยกำลังให้ความสนใจการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสซึ่งในต่างประเทศจะเน้นการผลิตด้วยเซลลูโลสเป็นหลัก เนื่องจากแป้งและน้ำตาลเป็นพืชอาหารอาจผลิตได้ไม่เพียงพอสำหรับการบริโภค จึงต้องใช้วัสดุอื่นทดแทน เซลลูเลสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสโดยทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยการเติมโมเลกุลของน้ำเข้าไปเพื่อสลายพันธะเคมี พบมากในจุลินทรีย์หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อรา และแบคทีเรียบางชนิด การผลิตเซลลูเลส เอนไซม์ชนิดผงแห้งเพื่อนำมาใช้ในการหมักเอทนานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น กากมันสำปะหลัง เปลือกสับปะรด ลำต้นข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น [1]

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยง

Trichoderma reesie RT-P1 จากจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ (potato dextrose agar) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ได้จากเพาะเลี้ยงจากห้องปฏิบัติการวิศวกรรมชีวเคมีในงานวิจัยนี้

2.2 วัตถุดิบและสูตรอาหารเหลวพีเอช 5 (LM-pH5)

กากมันสำปะหลังบดละเอียดขนาดอนุภาค 80-100 เมช อาหารเหลว (LM-pH5) ประกอบด้วย 1 g/L $CaHPO_4$, 1g/L$MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 8 g/L ปุ๋ยยูเรีย (46% NH_4SO_4), 15 g/L ปุ๋ยฟอสเฟต (NPK: 0-52-34), 30 g/L น้ำตาลมะพร้าว (CCSG) และน้ำสะอาด 1 L ปรับพีเอชให้เท่ากับ 5 [2]

2.3 หาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักแข็ง

2.3.1 การหมักแข็งกากมันสำปะหลัง 200 g ที่แปรผันปริมาตรอาหารเหลวที่ 160 180 200 220 และ 240 mL ในชามแก้ว เป็นระยะเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ทุกวัน

2.3.2 การหมักแข็งกากมันสำปะหลัง 200 g ใช้ปริมาตรอาหารเหลวซึ่งได้จากวิธีการทดลอง 2.3.1 แปรผันปริมาณน้ำตาลมะพร้าวที่ 10 20 30 และ 40 g/L เป็นระยะเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์

2.3.3 การหมักแข็งกากมันสำปะหลัง 1.0 1.5 และ 2.0 kg โดยใช้อัตราส่วนกากมันสำปะหลังต่อปริมาตรอาหารเหลวเท่ากับ 1:1 ด้วยหัวเชื้อสด 200 g เป็นระยะเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของจุลินทีย์ และเซลลูเลส แอคติวีตี้

2.4 วิธีวิเคราะห์

ความเข้มข้นของจุลินทรีย์จากการวัดเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า โดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์ (Boeco, Germany) ใช้วิธีการของ Ghose หาเซลลูเลส แอคติวีตี้ [4] โดยวิธีดีเอ็นเอสที่ความยาวคลื่น 570 nm [5]

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 สภาวะที่เหมาะสมของการหมักแข็งกากมันสำปะหลัง

สภาวะที่เหมาะสมของการหมักแข็งคือกากมันสำปะหลัง 200 g ในอาหารเหลว 200 mL และความเข้มข้นน้ำตาลมะพร้าวเริ่มต้นเท่ากับ 30 g/L ทำให้มีค่าความชื้นเริ่มต้นประมาณ 55 %w ส่งผลต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทีย์สูงสุดประมาณ 7.5X10^7 cell/mL ช่วงระยะเวลา 6-7 วัน ซึ่งเชื้อราใช้เวลาปรับตัวประมาณ 1 วัน การเติบโตแบบเอ็กซ์โพเนนเชียลเกิดขึ้นที่ระยะเวลา 1 ถึง 4 วัน ความชันของเส้นกราฟสูงกว่าที่สภาวะอื่นๆ แสดงว่าอัตราการเติบโตของเชื้อราสูงที่สุด การใช้อาหารเหลวปริมาตรน้อยกว่าและมากว่า 200 mL ทำให้ความชื้นน้อยกว่า 55%w และมากว่า 60%w ส่งผลต่อการ

* Corresponding author(s); pongsri@gmail.com