การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน

นางสาว สุภาวดี ดิสโร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-346-712-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7 ก.พ. 2546
I19511188

HYDROLYZATION OF CASSAVA WASTE BY ENZYME MIXTURE IN AN ULTRAFILTRATION REACTOR

Miss Supawadee Dissaro

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology
Program of Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2000

ISBN 974-346-712-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน
โดย	นางสาว สุภาวดี ดิสโร
ภาควิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

สุภาวดี ดิสโร : การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน (HYDROLYZATION OF CASSAVA WASTE BY ENZYME MIXTURE IN AN ULTRAFILTRATION REACTOR) อาจารย์ที่ปรึกษา : อ. ดร. ชิดพงศ์ ประดิษสุวรรณ, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ; 91 หน้า , ISBN 974-346-712-2

กากมันสำปะหลังมีคาร์โบไฮเดรทเป็นองค์ประกอบหลักปริมาณ 67.46 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็น 48.63 เปอร์เซ็นต์ของแป้งที่ผลิตได้จากหัวมันสำปะหลังในระดับอุตสาหกรรม มีศักยภาพนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ผสม ได้แก่ กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส เซลลูเลส และเพกทิเนส ภาวะที่เหมาะสมต่อการนำเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดมาทำงานร่วมกัน คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5 อัตราส่วนของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดที่เหมาะสมต่อการย่อยกากมันสำปะหลังปริมาณ 8 กรัม คือ กลูโคอะไมเลส 48.6 AGU แอลฟาอะไมเลส 0.6 KNU เซลลูเลส 75 NCU และเพกทิเนส 130 PG ให้ประสิทธิภาพต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยอัตราสูงสุด 8.15 กรัม/ลิตร.นาที และประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคสมีค่าสูงถึง 64.37 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การย่อยด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส และเซลลูเลส ให้ประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคสมีค่า 59.77 เปอร์เซ็นต์

ในการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ batch ด้วยอัตราส่วนระหว่างเอนไซม์และสับสเทรตที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้น โดยการกวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 0.61 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์/กรัมกากมันสำปะหลัง ให้ประสิทธิภาพการย่อยกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลรีดิวซ์มีค่า 70.11 เปอร์เซ็นต์

การย่อยกากมันสำปะหลังแบบ semicontinuous ในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าการย่อยแบบ Fed-batch ดังนั้นการใช้การกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันร่วมกับการย่อยกากมันสำปะหลัง จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการกักเอนไซม์ไว้ใช้ได้อย่างคุ้มค่า ซึ่งการย่อยกากมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันที่มีปริมาตรของระบบการย่อยเป็น 0.4 ลิตร พื้นที่การกรอง 3.85×10^{-3} ตารางเมตร กวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที ใช้ความดันในการกรอง 200 kPa ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหมาะสม ทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สมดุลกับอัตราการดึงเอาน้ำตาลรีดิวซ์ออกจากระบบ คือ 115 กรัม/ลิตร

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....สุภาวดี ดิสโร.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางชีวภาพ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2543..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4072432423 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : CASSAVA WASTE/ ULTRAFILTRATION/ ENZYME MIXTURE

SUPAWADEE DISSARO : HYDROLYZATION OF CASSAVA WASTE BY EMZYME MIXTURE IN AN ULTRAFILTRATION REACTOR. THESIS ADVISOR : CHIDPHONG PRADISTSUWANA, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. SUMATE TANTRATIAN, Ph.D. 97 pp. ISBN 974-346-712-2

Due to its high carbohydrate content of 67.46%, cassava waste, by product from cassava starch manufacture, was used as raw material in glucose production by hydrolyzing with enzymes mixture, composed of glucoamylase, ∝ - amylase, cellulase and pectinase. Studies the effect of temperature, pH and enzyme on substrate ratio showed that the optimum condition, which gave the highest V_{max} of 8.15 g $_{reducing\ sugar}$ /litre.min, are 50°C and pH 5. While the optimum concentration of glucoamylase, ∝ - amylase, cellulase and pectinase for hydrolyzing 8 grams of cassava waste are 48.6 AGU, 0.6 KNU, 75 NCU and 130 PG, respectively. Results indicated that addition of pectinase to the enzymes mixture of glucoamylase, ∝ - amylase and cellulase increased percent conversion of hydrolysis from 59.77% to 64.37%.

Batch hydrolysis, conducted in the optimum condition with agitation speed of 600 rpm, gave 0.61 g $_{reducing\ sugar}$ / g $_{cassava\ waste}$ with percent conversion of 70.11%.

Semi-continuous hydrolysis of cassava waste conducted by ultrafiltration reactor (UFR) is an interesting alternative to reuse the enzyme efficiently, moreover it gave more reducing sugar than these from fed-batch hydrolysis. The most suitable reducing sugar concentration, which gave mass balance between produced and out put reducing sugar of cassava waste hydrolysis by UFR with reaction volume of 0.4 litre and filter area of 3.85×10^{-3} m^2 at pressure of 200 kPa and agitation speed of 600 rpm, are 115 g/l.

Department.....Biotechnology.....Student's signature.....

Field of study.....Biotechnology.....Advisor's signature.....

Academic year.....2000.....Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิตและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้โดยได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์ และรองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณบริษัท สำปะหลังพัฒนา จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์กากมันสำปะหลังซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณบริษัท อีสเอเชียติ๊ก (ประเทศไทย) ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้ในวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณคุณธีระชัย ประสมแสง นายช่างเทคนิค วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี ที่ช่วยซ่อมเครื่องมือให้ตลอดการทดลอง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ พี่ ๆ และเพื่อน ๆ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการเป็นอย่างดี

รวมทั้งขอขอบคุณคุณสมพงษ์ นิลมณี ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการวิเคราะห์ผล HPLC อย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติผู้ใหญ่ ที่เป็นกำลังใจสำคัญอย่างยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์นี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ญ
สารบัญรูป.....ฎ

บทที่

1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....2
   2.1 มันสำปะหลัง.....2
   2.2 กากมันสำปะหลัง.....4
   2.3 การย่อยกากมันสำปะหลัง.....6
   2.4 จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์.....14
   2.5 อัลทราฟิลเทรชัน.....19
   2.6 การใช้อัลทราฟิลเทรชันในการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์.....21
3. วิธีการทดลอง.....24
   3.1 วัตถุดิบ.....24
   3.2 อุปกรณ์.....24
   3.3 เอนไซม์.....25
   3.4 สารเคมี.....26
   3.5 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง.....26
   3.6 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์.....26
   3.7 ศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์.....27
   3.8 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม.....28
   3.9 ศึกษาอัตราส่วนของเอนไซม์ผสม (กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส
   เซลลูเลส และเพกทิเนส) ต่อกากมันสำปะหลัง.....29

สารบัญ(ต่อ)

บทที่

3.10 ศึกษาเปรียบเทียบการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม.....29

3.11 ศึกษาอิทธิพลของความเร็วรอบของใบกวนต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง.....30

3.12 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ batch.....30

3.13 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed - batch.....30

3.14 ศึกษาการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ semicontinuous.....32

4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....34

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง.....34

4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์.....35

4.3 ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์.....42

4.4 การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม.....49

4.5 อัตราส่วนของเอนไซม์ผสม (กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส เซลลูเลส และเพกทิเนส) ต่อกากมันสำปะหลัง.....54

4.6 ศึกษาเปรียบเทียบการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม.....57

4.7 อิทธิพลของความเร็วรอบของใบกวนต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง.....60

4.8 ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ batch.....63

4.9 ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed - batch.....65

4.10 ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ semicontinuous.....69

4.11 การคาดการณ์ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในเครื่องปฏิกรณ์ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา.....79

5. สรุปผลของทดลอง และข้อเสนอแนะ.....83

รายการอ้างอิง.....85

ภาคผนวก.....91

ภาคผนวก ก เครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน.....92

ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์.....94

สารบัญ(ต่อ)

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ข้อมูล.....98
ประวัติผู้เขียน.....100

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง....4
2. องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย....34
3. ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์....36
4. ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์....43
5. ผลของปริมาณเซลลูเลสต่อการย่อยกากมันสำปะหลังร่วมกับ กลูโคอะไมเลสและแอลฟาอะไมเลส....50
6. ผลของปริมาณเพกทิเนสต่อการย่อยกากมันสำปะหลังร่วมกับ กลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส และเซลลูเลส....52
7. ผลของความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ที่ผลิตได้และอัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น....55
8. ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมต่อความเข้มข้นของ น้ำตาลกลูโคสที่ผลิตได้....58
9. อิทธิพลของความเร็วรอบของใบกวนต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง....61

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. การใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง 3
2. โครงสร้างของเซลลูโลส 7
3. โครงสร้างของสารประกอบเพคติน 8
4. ลักษณะปฏิกริยาของเอนไซม์เพกทิเนส 9
5. โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน 13
6. Substrate saturation curve 17
7. กลไกการไหลผ่านเมมเบรน 20
8. ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกลูโคอะไมเลส 37
9. ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส 38
10. ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส 40
11. ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส 41
12. ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกลูโคอะไมเลส 44
13. ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยแอลฟาอะไมเลส 46
14. ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเซลลูเลส 47
15. ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเพกทิเนส 48
16. ผลของปริมาณเซลลูเลสต่อการย่อยกากมันสำปะหลังร่วมกับกลูโคอะไมเลส และแอลฟาอะไมเลส 51
17. ผลของปริมาณเพกทิเนสต่อการย่อยกากมันสำปะหลังร่วมกับกลูโคอะไมเลส แอลฟาอะไมเลส และเซลลูเลส 53
18. ผลของความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ 56
19. ผลของความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังต่ออัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 57
20. ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมต่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตได้ 59
21. อิทธิพลของความเร็วรอบของใบกวนต่อการย่อยกากมันสำปะหลัง 62
22. ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ batch 64

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

23 ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นค่าต่างๆ.....66

24 อัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed – batch ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นค่าต่างๆ.....67

25 ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed – batch.....68

26 อัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยในการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed – batch ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยค่าต่างๆ.....69

27 ผลการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ semicontinuous.....71

28 อัตราการกรองในการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ semicontinuous ที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ยค่าต่างๆ.....72

29 สัดส่วนของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของส่วนที่กรองได้ต่อความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในถังปฏิกรณ์ที่เวลาต่างๆ.....74

30 ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเติมกากมันสำปะหลังหลังจากการย่อยแบบ semicontinuous.....76

31 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยรวมที่ผลิตได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed – batch และ semicontinuous.....77

32 ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังแบบ Fed – batch และ semicontinuous.....78

33 ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา.....92

34 ความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของปริมาตรของระบบกับพื้นที่การกรองต่อความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในเครื่องปฏิกรณ์.....82

35 เครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน.....92