การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการใช้เอนไซม์และอัลทราฟิลเทรชัน

นางสาวสุนีย์ โชตินีรนาท

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2539

ISBN 974-634-476-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17377651

REDUCING SUGAR PRODUCTION FROM CASSAVA WASTE USING ENZYME AND ULTRAFILTRATION

Miss Sunee Chotineeranat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technogy

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-634-476-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตกลูโคสจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้เอนไซม์และอัลทราฟิลเทรชัน
โดย	นางสาวสุนีย์ โชตินีรนาท
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ

.....

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

หอสมุดกลาง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สุนีย์ โชตินีรนาท : การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการใช้เอนไซม์และอัลทราฟิลเทรชัน (REDUCING SUGAR PRODUCTION FROM CASSAVA WASTE USING ENZYME AND ULTRAFILTRATION) อ.ที่ปรึกษา : อ. ดร. สุเมธ ตันตระเธียร, อ. ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ, 95 หน้า. ISBN 974-634-476-5

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่คือ คาร์โบไฮเดรตและไฟเบอร์ มีปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 66.22 และ 15.26 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ แนวทางหนึ่งเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับกากมันสำปะหลัง คือ นำกากมันสำปะหลังมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลกลูโคส การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดไฮโดรคลอริกเป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 61.68 ± 0.62 งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยโดยนำอัลทราฟิลเทรชันมาประยุกต์ใช้ จากการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมที่เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส น่าจะทำงานร่วมกันได้ คือ ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสในการย่อยกากมันสำปะหลัง พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสหรือกลูโคอะไมเลสเพียงชนิดเดียว อัตราส่วนของแอลฟาอะไมเลสต่อกลูโคอะไมเลสต่อกากมันสำปะหลังที่เหมาะสม คือ แอลฟาอะไมเลส 285.6 MWU ต่อกรัมกากมัน กลูโคอะไมเลส 0.21 DUต่อกรัมกากมัน ที่อัตราส่วนนี้ค่าความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด (V_{max}) มีค่าเท่ากับ 0.133 มิลลิกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ต่อมิลลิลิตรต่อนาที การย่อยกากมันสำปะหลังเป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 285.6 MWUต่อกรัมกากมันผสมกลูโคอะไมเลส 0.21 DUต่อกรัมกากมัน และเซลลูเลส 15.48 NCUต่อกรัมกากมัน ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 39.02 มากกว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส ซึ่งผลิตได้ร้อยละ 24.10 และพบว่าน้ำตาลกลูโคสมีผลไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส

การใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังที่ความดันเฉลี่ย 98 kPa อัตราการไหลผ่านผิวหน้าแผ่นกรอง 130 มิลลิลิตรต่อวินาที พื้นที่ในการกรอง 28.27 ตารางเซนติเมตร พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้เมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสชุดที่ผ่านการกรองมีปริมาณมากกว่าชุดที่ไม่ผ่านการกรอง และเมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส พบว่าการกรองไม่ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น จากผลการทดลองคำนวณหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการกรองสำหรับระบบที่ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส พบว่าต้องการพื้นที่ในการกรองมากกว่าที่ใช้ในการทดลองนี้ประมาณ 27 เท่า หรือต้องการพื้นที่ในการกรอง 0.256 ตารางเซนติเมตรต่อปริมาตรสารละลายกากมันสำปะหลัง 1 มิลลิลิตร

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต สุนีย์ โชตินีรนาท

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C526862 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : ULTRAFILTRATION / CASSAVA WASTE / ENZYME HYDROLYSIS / REDUCING SUGAR

SUNEE CHOTINEERANAT : REDUCING SUGAR PRODUCTION FROM CASSAVA WASTE USING ENZYME AND ULTRAFILTRATION. THESIS ADVISOR : SUMATE TANTRATAIN, Ph.D., CHIDPHONG PRADISTSUWANA, Ph.D. 95 pp.

ISBN 974-634-476-5

Generally, the cassava waste which mostly carbohydrate (66.22 % dried) and fiber (15.26 % dried) were used as feed. Because of high carbohydrate content, it could be used as raw material in glucose production. To hydrolyze cassava waste, it would be done by using acids or enzymes. Hydrolyzation of cassava waste by hydrochloric acid produced hydrolyzate with reducing sugar content 61.68 ± 0.62 % in 2.5 hours. This research aimed to study the hydrolyzation condition of cassava waste by using three enzymes with ultrafiltration application to enhance the efficiency. It was found that suitable condition for alpha-amylase and glucoamylase were pH 5.0 and temperature 50 $^{\circ}$C and gave hydrolyzate with higher reducing sugar content than using each enzyme alone. The amount of alpha-amylase and glucoamylase per gram of cassava waste were 285.6 MWU and 0.21 DU, respectively. At this condition, V_{max} was 0.133 mg of reducing sugar/ml.min and gave reducing sugar content in the hydrolyzate at 24.10 %. The addition of cellulase 15.48 NCU/g of cassava waste gave hydrolyzate contained a reducing sugar content at 39.02 % .

The hydrolyzation of cassava waste by alpha-amylase and glucoamylase with the ultrafiltration application using, average pressure of 98 kPa, flow rate passed membrane surface at 130 ml/sec and filtration area 28.27 cm^2, gave higher reducing sugar content than the non- filtrated. The hydrolyzation of cassava waste with combination of three enzymes, the ultrafiltration did not enhance the efficiency of enzymes. By calculation, filtration area for three enzymes need at least 0.256 cm^2/ ml of cassava waste solution, or 27 times of filtration area that used in this experiment to accomplish the enhancement.

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต สุนีย์ โชตินีรนาท

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่งของอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล และรองศาสตราจารย์ ดร. ปราณี อ่านเปรื่อง ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำต่าง ๆ รวมทั้งแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่านที่มีส่วนในการช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณบริษัทไทยวาจำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์กากมันสำปะหลัง ขอขอบคุณบริษัทซินนามอน จำกัด และบริษัทอีสต์เอเชียติ๊ก (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัยทุกท่านที่ได้ให้ความสะดวกต่าง ๆ

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และทุกคนในครอบครัว ที่ช่วยส่งเสริมสนับสนุน และให้โอกาศที่ดีแก่ข้าพเจ้า ตลอดจนให้กำลังใจและความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านด้วยดีเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญรูปภาพ.....ฌ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....3
3. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....29
4. ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง.....42
5. สรุปผลการทดลอง.....74
รายการอ้างอิง.....76
ภาคผนวก.....80
ประวัติผู้เขียน.....95

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 องค์ประกอบทางเคมีบางชนิด 7

2 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังที่เก็บในช่วงเดือน กรกฎาคม - สิงหาคม.....8

3 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง.....42

4 ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์.....45

5 ผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง....49

6 ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์.....53

7 ผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง.....57

8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้เมื่อย่อยกากมันสำปะหลังความเข้มข้น 2 g/dl
ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส อัตราส่วนต่าง ๆ กัน
ที่ pH 5.0 อุณหภูมิ 50 °C.....60

9 ความเร็วของปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นกากมันสำปะหลังต่าง ๆ.....62

10 ค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันของแผ่นกรองในการกักโปรตีนและน้ำตาลกลูโคส.....67

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้งหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดหนึ่ง (first grade tapioca starch)	4
2	กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบอังไฟหรือแป้งมันสำปะหลังเกรด (second grade tapioca starch)	6
3	โครงสร้างของอะไมโลส	10
4	โครงสร้างของอะไมโลเพคติน	10
5	โครงสร้างของเซลลูโลส	11
6	ผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลสทั้ง 3 ชนิด	13
7	Substate Saturation curve	17
8	Lineweaver - Burk plot	18
9	การยับยั้งแบบ Competitive inhibition	19
10	การยับยั้งแบบ Uncompetitive inhibition	19
11	การยับยั้งแบบ Non-competitive inhibition	20
12	Concentration Polarization model	25
13	Gel Polarization model	27
14	ขั้นตอนการศึกษาผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์	33
15	ผลของความเป็นกรดด่างต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์	44
16	ผลของความเป็นกรดด่างต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง	48
17	ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์	52
18	ผลของอุณหภูมิต่อความคงทนของเอนไซม์ในการย่อยกากมันสำปะหลัง	56
19	ปฏิกิริยาไซโคลเซชัน	58
20	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้กับอัตราส่วนของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อกลูโคอะไมเลสที่ใช้ในการย่อยกากมันสำปะหลัง	61

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
21	ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วปฏิกิริยากับความเข้มข้นร้อยละของสารละลายกากมันสำปะหลัง	63
22	ผลของการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์	65
23	ผลการทดลองใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลส	69
24	ผลการทดลองใช้อัลทราฟิลเทรชันในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส	71
25	อัตราการไหลของเพอมิเอท เมื่อทำการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์	72
26	อัตราการไหลของเพอมิเอท ที่ความดัน 98 kPa เมื่อทำการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส	73
27	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้เมื่อย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกลูโคอะไมเลสแลเซลลูเลส	73
28	แผนภาพระบบอัลทราฟิลเทรชัน	81
29	แผนภาพหน่วยกรองของระบบอัลทราฟิลเทรชัน	82
30	กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส ที่ความยาวคลื่น 520 nm เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (1952)	85
31	กราฟมาตรฐานของสารละลายโบวีน ซีรัม อัลบูมิน (Bovine Serum Albumin) ที่ความยาวคลื่น 750 เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Lowry (Lowry และคณะ, 1951)	87