การผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกด้วยลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

Ethanol Production from Ripe Palmyra Palm Fruit Pulp Extract using Loog Pang Khao MaK and Loog Pang Satho

โกสินทร์ ทีปรักษพันธ์[1*], ณิชา ประสงค์จันทร์[1], นพดล โพชกำเหนิด[1]

Kosin Teeparuksapun[1*], Nicha Prasongchan[1], Noppadon Podkumnerd[1]

[1]คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดสงขลา

[1]Faculty of Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Srivijaya , Songkhla, Thailand

*Corresponding author.Tel.: 09 1049 8885, E-mail: kosin.t@rmutsv.ac.th

บทคัดย่อ

ผลตาลโตนดสุกเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่สามารถนำมาใช้ผลิตพลังงานทดแทน น้ำคั้นของเนื้อผลตาลสุกมีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ คาร์โบไฮเดรต 108.01 ± 0.05 g/L และน้ำตาล 64.36 ± 1.67 g/L สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำคั้นของเนื้อผลตาลสุกโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกโดยใช้ปริมาณของน้ำคั้นที่ 20, 40, 60, 80, และ 100% v/v พบว่าที่ปริมาณของน้ำคั้น 100% v/v จะให้ปริมาณของเอทานอลสูงที่สุดสำหรับการหมักด้วยลูกแป้งทั้งสองชนิด ทำการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อประสิทธิภาพการหมักเอทานอลที่พีเอช 4.5, 4.8, 5.0 และ 5.5 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมของการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท คือ พีเอช 4.5 และ พีเอช 5.0 ตามลำดับ การหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากที่สภาวะที่เหมาะสมให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุด 10.57 ± 0.03 g/L ที่เวลาในการหมัก 48 h ให้ผลได้ 0.23 ± 0.001 g/g อัตราการผลิตเอทานอล 0.22 ± 0.001 g/L/h และประสิทธิภาพของการหมัก 45.08 ± 0.15 % สำหรับการหมักด้วยลูกแป้งสาโท พบว่าให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุด 7.93 ± 0.03 g/L ที่เวลาในการหมัก 48 h มีผลได้ อัตราการผลิตเอทานอล และประสิทธิภาพของการหมักเท่ากับ 0.17 ± 0.001 g/g, 0.17 ± 0.001 g/L/h และ 32.7 ± 0.02% ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

คำสำคัญ : ผลตาลโตนดสุก เอทานอล ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งสาโท การหมัก

ABSTRACT

Ripe palmyra palm fruit is an agricultural residue that can be used to produce alternative energy. The fruit pulp extract contained carbohydrates (108.01 ± 0.05 g/L) and sugars

Received 15-01-2019
Revised 09-04-2019
Accepted 10-04-2019

(64.36 ± 1.67 g/L) which can be used as substrate for ethanol fermentation. This research investigated the production of ethanol from palmyra fruit pulp extract by using Loog Pang Khao Mak and Look Pang Satho. The effect of reducing sugar concentrations was studied by using fruit pulp extract at 20, 40, 60, 80, and 100% v/v. The result showed that 100% v/v of fruit pulp extract gave the highest ethanol concentrations for the fermentation with the two types of Loog Pang. The pH affecting the fermentation efficiency was investigated at 4.5, 4.8, 5.0 and 5.5. The optimum pH for the fermentation with Look Pang Khao Mak and Loog Pang Satho were 4.5 and 5.0, respectively. The fermentation with Look Pang Khao Mak at optimum condition gave the highest ethanol concentration at 10.57 ± 0.03 g/L with 48 h fermentation time. The ethanol yield was 0.23 ± 0.001 g/g. The productivity and fermentation efficiency were 0.22 ± 0.001 g/L/h and 45.08 ± 0.15 %. For the fermentation with Loog Pang Satho, the highest ethanol concentration was 7.93 ± 0.03 g/L with 48 h fermentation time. The ethanol yield, productivity and fermentation efficiency were 0.17 ± 0.001 g/g, 0.17 ± 0.001 g/L/h and 32.7 ± 0.02 %, respectively. These were significantly lower than the fermentation with Loog Pang Khao Mak when statistically tested at 95 % confidential level.

Keywords: Palmyra palm fruit, Ethanol, Loog Pang Khao Mak, Look Pang Satho, Fermentation

1. บทนำ

สภาพวิกฤติการณ์ทางด้านพลังงานของโลกอันเนื่องมาจากความต้องการการใช้พลังงานที่เพิ่มขึ้นทั้งทางด้านการขนส่ง และอุตสาหกรรม ทำให้ราคาของเชื้อเพลิงโดยเฉพาะน้ำมันดิบพุ่งสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดหลายปีที่ผ่านมา [1-4] จาการที่การผลิตน้ำมันในอุตสาหกรรมน้ำมันมีอย่างจำกัดและไม่เพียงพอต่อความต้องการพลังงานของโลก ส่งผลให้หลายประเทศทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยเร่งดำเนินการทางด้านพลังงานทดแทนเพื่อสร้างทางเลือกและความมั่นคงทางด้านพลังงาน ซึ่งในขณะที่ทั่วโลกกำลังมุ่งเน้นปัญหาวิกฤตการณ์ทางด้านพลังงานนั้น โลกก็ต้องเผชิญกับปัญหามลพิษอันเนื่องมาจากการใช้น้ำมัน โดยเฉพาะปรากฏการณ์ก๊าซเรือนกระจกซึ่งส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพบรรยากาศของโลกและภาวะโลกร้อน ดังนั้นพลังงานทดแทนที่สะอาดจึงเป็นความหวังที่จะนำมาใช้แก้ปัญหาวิกฤตการณ์ด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม [1], [5-6] ประเทศไทยมีความจำเป็นที่จะต้องมีการจัดหาแหล่งพลังงานทดแทนเพื่อใช้ทดแทนน้ำมันและการนำเข้า โดยภาครัฐมีมาตรการและนโยบายที่สนับสนุนให้มีการใช้พลังงานทดแทนที่สามารถผลิตได้ภายในประเทศ เนื่องจากต้นทุนในการผลิตเอทานอลประมาณครึ่งหนึ่งมาจากราคาของวัตถุดิบที่นำมาใช้ [7] และประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีผลผลิตทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ดังนั้นแหล่งพลังงานทดแทนที่เหมาะสมของประเทศไทยจึงควรมาจากผลผลิตและของเหลือใช้ทางการเกษตร

ตาลโตนด มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Borassus flabellifer Linn*. เป็นพืชตระกูลปาล์มชนิดหนึ่งจากปาล์ม 20 จีนัส 1,500 สปีชีส์ เป็นพืชที่พบทั่วไปในเขตร้อน ในประเทศไทยมีตาลโตนดจำนวนมากซึ่งพบมากในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นครปฐม อยุธยา สงขลา และปัตตานี [8] ผนังชั้นกลาง (Mesocarp) ของผลของตาลโตนดเมื่อสุกเต็มที่จะมีสีเหลืองซึ่งนิยมนำมาคั้นเพื่อเตรียมเป็นแป้งตาลโตนดและนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของการทำขนม เช่น ขนมตาลไอศกรีม และเค้ก สำหรับน้ำที่ได้จากการคั้นจะไม่ได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำคั้นพบว่ามีปริมาณของน้ำตาลที่สูงซึ่งสามารถนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลได้ จากการตรวจสอบรายงานการวิจัยพบว่าการผลิตเอทานอลจากผลตาลโตนดยังมีน้อย ซึ่งงานวิจัยแรกที่ได้มีการศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากตาลโตนด คืองานวิจัยของ Theivendirarajah และ Chrystopher (1986) ซึ่งได้นำส่วนของผลตาลโตนดมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* [9]

การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลนั้นสามารถทำได้โดยอาศัย กระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Candida stellimalicola* [8] *Saccharomyces cerevisiae* [10-11] และ ยีสต์ขนมปัง [12] นอกจากนี้มีรายงานว่าสามารถใช้ลูกแป้งในการหมัก เช่น ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า ซึ่งเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ผสมธรรมชาติ โดยในลูกแป้งที่มีกล้าเชื้อทั้งราและยีสต์ [13-14] ราที่พบมากจะอยู่ในตระกูล *Amylomyces sp.* รองลงมาคือตระกูล *Aspergillus sp.* และ *Rhizopus sp.* เชื้อราจะทำหน้าที่หลักในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ยีสต์ที่พบในลูกแป้งได้แก่ *Saccharomyces sp.* และ *Pichia sp.* ซึ่งพบมากในลูกแป้งข้าวหมาก [14-15] จะทำหน้าที่หลักในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยลูกแป้งแต่ละชนิดจะมีสมุนไพรและเครื่องเทศที่เป็นที่เป็นตัวควบคุมยีสต์หรือเชื้อราให้ได้ตามต้องการ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

ผลตาลโตนดสุกที่หล่นจากต้นจะเก็บจากพื้นที่ตำบลคลองรี อำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา ลูกแป้งข้าวหมากเป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัทไฮไซน์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ลูกแป้งสาโทเป็นผลิตภัณฑ์จากร้านแป้งสาโทอุบล จังหวัดอุบลราชธานี 3, 5 -Dinitrosalicyclic acid ผลิตโดยบริษัท Sigma เอทานอลเกรดวิเคราะห์จากบริษัท RCI Labscan กลูโคส ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem

2.2 การเตรียมน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก

นำผลตาลโตนดสุกมาล้างสิ่งสกปรกและนำมาลอกเปลือกดำออก สำหรับเนื้อตาลสุกซึ่งมีสีเหลืองจะถูกนำมาคั้นโดยการยีด้วยน้ำทีละน้อย โดยใช้อัตราส่วนเนื้อตาลต่อน้ำ 2 : 1 จากนั้นจึงนำมากรองด้วยตะแกรงตาถี่เพื่อกรองเส้นใยออกและนำมากรองด้วยผ้าขาวบางจะได้ส่วนที่เป็นแป้งและน้ำคั้น สำหรับในการทำวิจัยครั้งนี้ จะใช้น้ำคั้นผลตาลโนดสุกเพื่อศึกษาการหมักเอทานอล น้ำคั้นจะถูกนำมาเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำมาศึกษาการผลิตเอทานอล

2.3 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

ในการศึกษาการผลิตเอทานอลจะใช้จุลินทรีย์จากลูกแป้ง 2 ชนิด คือ ลูกแป้งข้าวหมาก และลูกแป้ง

สาโท โดยทำการเตรียมกล้าเชื้อโดยการเติมลูกแป้ง 7.5 g ลงในข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 100 g จากนั้นจึงนำไปบ่มในตู้บ่ม (Incubator) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 h นำน้ำหมักที่ได้ 10% v/v เทลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Yeast peptone glucose (YPG) ซึ่งประกอบด้วย กลูโคส 20.0 g/L เพปโทน 3.0 g/L ยีสต์สกัด 3.0 g/L KH_2PO_4 0.5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g/L และ $(NH_4)_2SO_4$ 1.0 g/L ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL และทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 24 h

2.4 การหมักเอทานอลโดยกระบวนการหมักแบบกะ

2.4.1 การหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

นำกล้าเชื้อ 10% w/w เติมลงในตัวอย่างน้ำคั้นจากผลตาลโตนดสุก และเติม Yeast extract 1.0 g/L เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 96 h ทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก ๆ 12 h นำไปวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือเพื่อคำนวณการใช้น้ำตาล และทำการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

2.4.2 การหาภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการหมักเอทานอล

2.4.2.1 ความเข้มข้นของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก

ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างน้ำคั้นจะมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเอทานอล น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกซึ่งมีองค์ประกอบที่สำคัญคือน้ำตาลรีดิวซ์จะถูกนำมาเจือจางโดยจะศึกษาความเข้มข้นของน้ำคั้นที่ 20, 40, 60, 80, และ 100% v/v และศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท โดยมีรายละเอียดการทดลองดังอธิบายในหัวข้อ 2.4.1 ทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักที่เวลาต่าง ๆ แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์และวิเคราะห์ปริมาณของเอทานอล สำหรับการหาภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นของน้ำคั้นนั้น จะพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของปริมาณของเอทานอลและเวลาที่ใช้ในการหมัก ความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำคั้นที่ได้จากการทดลองนี้ จะถูกนำไปใช้ในการศึกษาผลของพีเอชในขั้นตอนต่อไป

2.4.2.2 พีเอช

เนื่องจากพีเอชจะมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลูกแป้ง ดังนั้นในการทดลองนี้จะทำการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อประสิทธิภาพการหมักเอทานอลโดยทำการทดลองที่พีเอช 4.5, 4.8, 5.0 และ 5.5 โดยใช้สารละลาย 0.05 M โซเดียมซิเตรทบัฟเฟอร์ในการควบคุมพีเอช การทดลองนี้จะใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่ได้จากการหาภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอน 2.4.2.1 ทำการทดลองโดยการถ่ายกล้าเชื้อผสมลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทที่ได้จากการเตรียมในขั้นตอน 2.3 ความเข้มข้น 10% v/v เติมลงในตัวอย่างน้ำคั้นจากผลตาลโตนดสุกเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและ Yeast extract 1.0 g/L เป็นแหล่งไนโตรเจน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 96 h จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ที่เวลาต่าง ๆ ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือและปริมาณของเอทานอล

2.4.3 การคำนวณผลผลิตของผลิตภัณฑ์

ในการศึกษาการผลิตเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทนั้น จะทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลโดยเปรียบเทียบจาก ผลได้ (Yield) อัตราผลผลิต (Product formation rate, P.F.R) และประสิทธิภาพของการหมัก (Fermentation efficiency, F.E. (%)) ซึ่งคำนวณได้จากสมการที่ (1), (2) และ (3) ตามลำดับ [10]

$$\text{Yield} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (1)$$

$$\text{P.F.R} = \frac{\Delta P}{\Delta t} \quad (2)$$

$$\text{F.E. (\%)} = \frac{\Delta P}{\Delta S \times 0.51} \times 100 \quad (3)$$

โดยที่

ΔP = ปริมาณของเอทานอลที่ผลิตได้ (g/L)

ΔS = ปริมาณของน้ำตาลที่รีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป (g/L)

Δt = เวลาที่ใช้ในการหมัก (h)

ผลได้ อัตราผลผลิต และประสิทธิภาพของการหมักที่คำนวณได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทจะถูกนำมาเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้ Independent t test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.5 เทคนิควิเคราะห์

2.5.1 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตโดยใช้วิธีแอนโทรน (Antrone) [16] ในการวิเคราะห์จะใช้ตัวอย่างน้ำคั้นปริมาตร 1 mL เติมลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายแอนโทรนปริมาตร 2 mL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา15 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยการนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำแข็ง จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 nm โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis) รุ่น Libra S22, Biochrome ติดตั้งด้วยซอร์ฟแวร์ Biochrome resolution version 2.10.0.0 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างน้ำคั้น

2.5.2 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

ตัวอย่างน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกและตัวอย่างที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลจะถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้ 3, 5-Dinitrosalicylic Acid (DNS) [17] ตัวอย่างจำนวน 1 mL จะถูกเติมลงในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเติมสารละลาย DNS 1 mL ผสมให้เข้ากันและนำมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยการนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นจำนวน 10 mL ผสมให้เข้ากันนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาล

2.5.3 การวิเคราะห์เอทานอล

ตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากกระบวนการหมักเอทานอลถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ รุ่น HEWLETTE PACKARD HP 6890 Series ติดตั้งด้วยตัวตรวจวัดชนิด Flame ionization detector (FID) และคอลัมน์ Agilent 19090N-133 HP-INNOWAX polyethylene glycol โดยใช้ Helium เป็นแก๊สพา ที่อัตราการไหล 40 mL/min

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลรีดิวซ์และเอทานอลนั้น จะทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (n = 2)

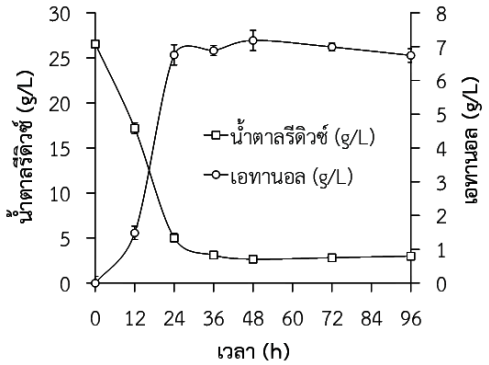
3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ลักษณะทางกายภาพ ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก

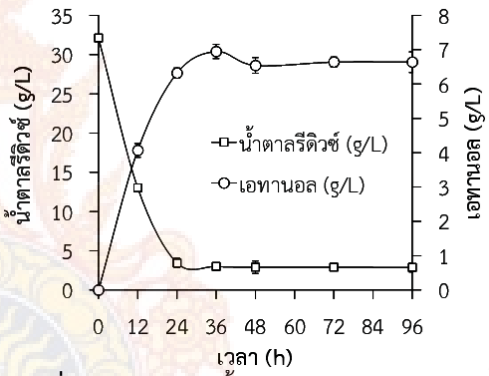
น้ำคั้นที่ได้จากการคั้นเนื้อของผลตาลโตนดสุกพบว่าจะมีลักษณะเป็นคอลลอยด์สีเหลืองส้ม มีค่าพีเอชประมาณ 4.4-5.1 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการผลิตเอทานอลพบว่าความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 108.01 ± 0.05 และ 64.36 ± 1.67 g/L ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของน้ำตาลที่วัดได้ในตัวอย่างน้ำคั้นในการทดลองนี้จะมีปริมาณสูงกว่าในตัวอย่างแป้งตาลโตนด (1.38 ± 0.02 g/L)[8] ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในขั้นตอนของการคั้น น้ำตาลจะถูกชะออกจากเนื้อของลูกตาลทำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างน้ำคั้นสูงกว่าแป้งตาลโตนด จากการที่น้ำคั้นมีปริมาณของน้ำตาลสูงจึงสามารถนำตัวอย่างน้ำคั้นไปเข้าสู่กระบวนการหมักเอทานอลได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาล

3.2 การหมักเอทานอลด้วยลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

ในเบื้องต้นจะทำการศึกษาการหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท โดยใช้น้ำคั้นผลตาลโตนดสุก (60% v/v) และทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 96 h ผลการทดลองของการหมักเอทานอลด้วยลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทแสดงดังภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ปริมาณของน้ำตาลที่เหลือและปริมาณของเอทานอลที่ได้จากการหมักที่เวลา 0 – 96 h โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมาก



ภาพที่ 2 ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณของเอทานอลที่ได้จากการหมักที่เวลา 0 – 96 h โดยใช้ลูกแป้งสาโท

จากภาพที่ 1 พบว่าเริ่มต้นปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 26.55 ± 0.30 g/L จากนั้นเมื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก ยีสต์จะมีการใช้น้ำตาลทำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่เวลา 96 h ปริมาณของ

น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 3.00 ± 0.40 g/L จากการวิเคราะห์ปริมาณของเอทานอลพบว่าเมื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก ความเข้มข้นของเอทานอลจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 48 h จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.19 ± 0.26 g/L

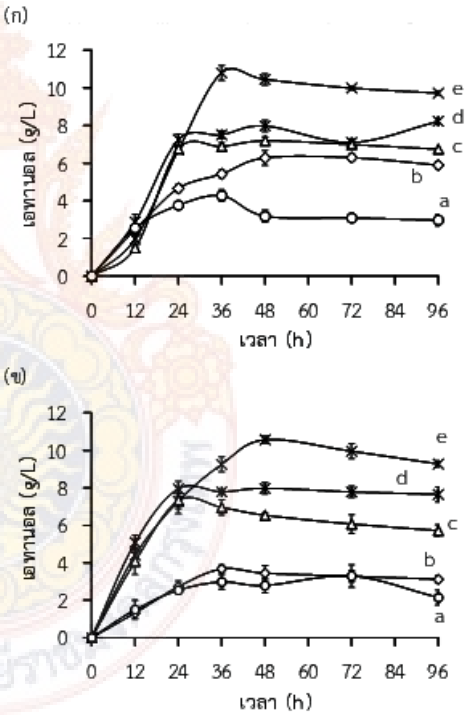
สำหรับการหมักเอทานอลของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกโดยใช้ลูกแป้งสาโทพบว่าเมื่อเริ่มต้นกระบวนการหมัก ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 32.12 ± 0.12 g/L และเมื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก จุลินทรีย์ที่อยู่ในลูกแป้งสาโทจะมีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ทำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่เวลา 96 h พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์คงเหลือเท่ากับ 2.88 ± 0.60 g/L เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณของเอทานอลที่เวลาต่าง ๆ ในกระบวนการหมักพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งปริมาณของเอทานอลของการหมักด้วยลูกแป้งสาโทเป็นเวลา 36 h จะให้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 6.95 ± 0.01 g/L (ภาพที่ 2) จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถนำน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกมาใช้เป็นซับสเตรทในการผลิตเอทานอลได้

3.3 ภาวะที่เหมาะสมของการหมักเอทานอล

3.3.1 ความเข้มข้นของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก

เนื่องจากการเจริญเติบโตของยีสต์นั้นจะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของน้ำตาล ปริมาณของน้ำตาลที่สูงเกินไปจะรบกวนการหายใจของยีสต์หรือที่เรียกว่า “Cabtree” ซึ่งจะไปยับยั้งการหายใจของยีสต์ ดังนั้นจึงต้องมีการหาปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหมาะสมที่จะใช้ในกระบวนการหมักเอทานอล [13] ในการทดลองนี้จึงทำการทดลองหมักเอทานอลโดยเจือจางน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่ให้มีปริมาณความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100% v/v ซึ่งจะมีความเข้มข้นของน้ำรีดิวซ์ที่แตกต่างกัน และทำการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

ภาพที่ 3 แสดงผลของการหมักเอทานอลด้วยลูกแป้งข้าวหมากโดยใช้น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่มีปริมาณแตกต่างกันคือ 20, 40, 60, 80 และ 100% v/v ซึ่งจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 9.46 ± 0.01, 18.24 ± 0.04, 26.55 ± 0.36, 37.83 ± 0.12 และ 54.93 ± 0.01 g/L ตามลำดับ



ภาพที่ 3 ปริมาณของเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้ (ก) ลูกแป้งข้าวหมาก และ (ข) ลูกแป้งสาโท ที่เวลา 0 - 96 h โดยใช้น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่ความเข้มข้น (a) 20, (b) 40, (c) 60, (d) 80 และ (e) 100% v/v

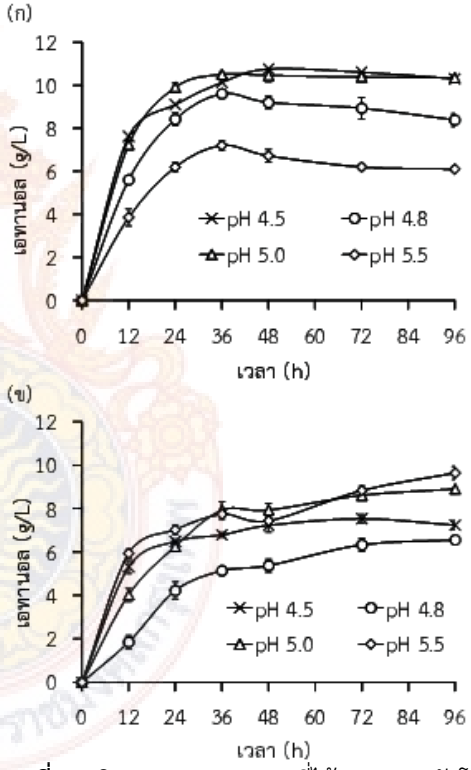
ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่แตกต่างกันซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลที่แตกต่างกันนั้นจะมีผลต่อการหมักเอทานอล ภาพที่ 3 (ก) แสดงให้เห็นว่าการหมักเอทานอลโดยใช้ปริมาณของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก 100% v/v ซึ่งมีปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 54.93 ± 0.01 g/L ให้ปริมาณของเอทานอลสูงที่สุด (10.80 ± 0.02 g/L) ที่เวลาในการหมัก 36 h ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้นอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่อยู่ในน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก 100% v/v ไม่ได้มีผลยับยั้งต่อการหายใจของยีสต์ ดังนั้นน้ำคั้นจากผลตาลโตนดสุกสามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากได้โดยตรงโดยไม่จำเป็นต้องมีการเจือจาง

สำหรับการหมักโดยใช้ลูกแป้งสาโทให้ผลที่สอดคล้องเช่นเดียวกันกับการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก กล่าวคือ การหมักเอทานอลโดยใช้ปริมาณของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก 100% v/v ซึ่งมีปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 54.93 ± 1.67 g/L ให้ปริมาณของเอทานอลสูงที่สุด (10.57 ± 0.04 g/L) ที่เวลาในการหมัก 48 h ดังแสดงในภาพที่ 3 (ข) ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมของน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่ใช้ในการผลิตเอทานอลคือ 100% v/v และสภาวะที่เหมาะสมนี้จะถูกนำไปใช้ในการหาภาวะที่เหมาะสมของพีเอชต่อไป

3.3.2 พีเอช

ในการศึกษาผลของพีเอชของน้ำคั้นจากผลตาลโตนดสุก (100% v/v) ต่อประสิทธิภาพการหมักเอทานอล โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรทในการควบคุมพีเอชที่แตกต่างกัน คือ 4.5, 4.8, 5.0 และ 5.5 ภาพที่ 4 (ก) แสดงผลการทดลองของการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากซึ่งพบว่าที่พีเอช 4.5 จะให้ปริมาณของเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 10.76 ± 0.01 g/L โดยใช้เวลาในการหมัก 48 h ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพีเอชอื่น ๆ ดังนั้นพีเอชที่เหมาะสมกับการหมักเอทานอลด้วยลูกแป้งข้าวหมากคือ พีเอช 4.5

ภาพที่ 4 (ข) แสดงการศึกษาผลของพีเอชในการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกโดยใช้ลูกแป้งสาโทซึ่งพบว่าที่พีเอช 5.0 ให้ปริมาณของเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 9.64 ± 0.01 g/L ที่เวลาในการหมัก 96 h ดังนั้นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการหมักด้วยลูกแป้งสาโทคือ พีเอช 5.0



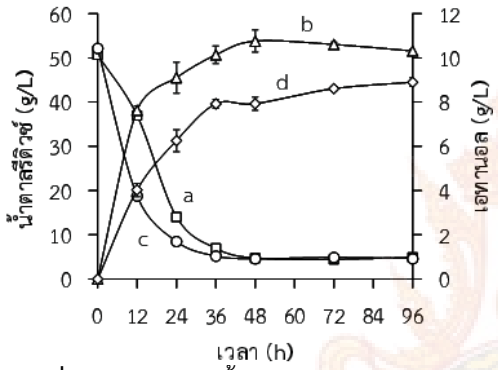
ภาพที่ 4 ปริมาณของเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยใช้ (ก) ลูกแป้งข้าวหมาก และ (ข) ลูกแป้งสาโท ที่เวลา 0 - 96 h โดยใช้น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่พีเอช 4.5, 4.8, 5.0 และ 5.5

ผลการทดลองการหาภาวะที่เหมาะสมของพีเอชในการหมักโดยใช้ลูกแป้งทั้งสองชนิดพบว่า

สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่นซึ่งได้มีการรายงานว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์จะอยู่ระหว่าง 4.5 – 5.0 [18]

3.4 การหมักเอทานอล

น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกถูกนำมาใช้ในการหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ภาพที่ 5 แสดงปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปในระหว่างกระบวนการหมักและปริมาณของเอทานอลที่เวลา 0 -96 h



ภาพที่ 5 ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณของเอทานอลที่ได้จากการหมักที่เวลา 0 – 96 h; (a) และ (b) คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L) และเอทานอล (g/L) ของการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมาก; (c) และ (d) คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L) และเอทานอล (g/L) ของการหมักด้วยลูกแป้งสาโท

สำหรับการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากพบว่าปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50.72 ± 0.48 g/L เมื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก ยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมากจะใช้น้ำตาลในการผลิตเอทานอลในช่วง แรกของการหมัก ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 36 h ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 6.94 ± 0.48 g/L หลังจากนั้นปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเล็กน้อยและเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่เวลา 96 h ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์คงเหลือเท่ากับ 4.93 ± 0.04 g/L แสดงให้เห็นว่าหลังจากกระบวนการหมักเป็นเวลา 36 h ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลในการผลิตเอทานอลเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เมื่อทำการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่าง ๆ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของเอทานอล พบว่า ปริมาณของเอทานอลจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการหมักโดยที่เวลาในการหมัก 48 h จะให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 10.57 ± 0.03 g/L

ในการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกด้วยลูกแป้งสาโทที่ภาวะที่เหมาะสม จะให้ผลเช่นเดียวกันกับการหมักลูกแป้งข้าวหมาก กล่าวคือ เมื่อเข้าสู่กระบวนการหมัก ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จะถูกใช้โดยยีสต์ที่อยู่ในลูกแป้งสาโททำให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างต่อเนื่อง ที่เวลาในการหมัก 36 h ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 4.30 ± 0.10 g/L และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่เวลา 96 h ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 4.62 ± 0.10 g/L ผลการทดลองดังกล่าวนี้สอดคล้องกับความเข้มข้นของเอทานอลที่วิเคราะห์ได้ที่เวลาต่าง ๆ ของกระบวนการหมัก เมื่อเริ่มต้นกระบวนการหมักปริมาณของเอทานอลจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าเมื่อทำการหมักเป็นเวลา 48 h จะให้ปริมาณของเอทานอล 7.93 ± 0.03 g/L และพบว่าที่เวลาในการหมักสูงขึ้น ปริมาณของเอทานอลไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่เวลา 96 h จะให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 8.90 ± 0.01 g/L

3.5 ผลได้ อัตราผลผลิต และประสิทธิภาพของการหมัก

ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างน้ำคั้นผลตาลโตนดสุก ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปในกระบวนการหมัก และปริมาณของเอทานอลที่ผลิตได้สูงสุดที่สภาวะที่เหมาะสมถูกนำมาใช้ในการคำนวณผลได้ อัตราผลผลิต และประสิทธิภาพของการหมักเอทานอล โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลได้ อัตราผลผลิต และประสิทธิภาพของการหมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโท

กระบวนการหมักเอทานอล	ชนิดของลูกแป้ง	
	ลูกแป้งข้าวหมาก	ลูกแป้งสาโท
เอทานอล (g/L)	10.57 ± 0.03	7.93 ± 0.03
น้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้ (g/L)	45.98 ± 0.04	46.67 ± 0.03
ผลได้ (g/g)	0.23 ± 0.001	0.17± 0.001
อัตราการผลิตเอทานอล (g/L/h)	0.22 ± 0.001	0.17 ± 0.001
ประสิทธิภาพของการหมัก (%)	45.08 ± 0.15	32.70 ± 0.02

การหมักเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกที่สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากจะให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุด 10.57 ± 0.03 g/L มีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ 45.98 ± 0.04 g/L เมื่อนำข้อมูลมาคำนวณพบว่า จะให้ผลได้ 0.23 ± 0.001 g/g อัตราการผลิตเอทานอล 0.22 ± 0.001 (g/L/h) และประสิทธิภาพของการหมัก 45.08 ± 0.15% ตามลำดับ สำหรับการหมักด้วยลูกแป้งสาโท พบว่าจะมีผลได้ อัตราการผลิตเอทานอล และประสิทธิภาพของการหมักต่ำกว่าการหมักด้วยลูกแป้งข้าวหมากอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทำการทดสอบค่าทางสถิติโดยใช้วิธี Independent t test โดยมีผลได้ 0.17 ± 0.001 g/g อัตราการผลิตเอทานอล 0.17 ± 0.001 g/L/h และประสิทธิภาพของการหมัก 32.70 ± 0.02% ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีสต์ที่อยู่ในลูกแป้งข้าวหมากมีความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงกว่ายีสต์ในลูกแป้งสาโท

4. สรุป

น้ำคั้นผลตาลโตนดสุกมีองค์ประกอบที่สำคัญคือคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นซับสเตรทในการผลิตเอทานอลโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล (Hydrolysis) เนื่องจากในน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกจะมีปริมาณของน้ำตาลที่สูงเหมาะแก่การหมักเอทานอลได้โดยตรง การศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำคั้นผลตาลโตนดสุกโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งสาโทพบว่าจะให้ปริมาณของเอทานอลสูงสุดท่ากับ 10.57 ± 0.03 และ 7.93 ± 0.03 g/L ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการมักเอทานอลโดยใช้ลูกแป้งทั้งสองชนิดพบว่าผลได้ อัตราการผลิต และประสิทธิภาพของการหมักเอทานอล ของการหมักโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากสูงกว่าการหมักด้วยลูกแป้งสาโทอย่างมีนัยสำคัญ

การใช้ผลตาลโตนดสุกเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลสามารถลดต้นทุนของวัตถุดิบเนื่องจากผลตาลโตนดสุกเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่ง หากว่าสามารถเพิ่มสเกลของการหมักให้ใหญ่ขึ้นในอุตสาหกรรมได้ก็จะเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตพลังงานทดแทนได้ในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2560 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Vohra M, Manwar J, Manmode R, et al. Bioethanol production: Feedstock and current technologies. J Environ Chem Eng. 2014; 2(1):573–584.

[2] Derman E, Abdulla R, Marbawi H, et al. Oil palm empty fruit bunches as a promising feedstock for bioethanol production in Malaysia. Renew Energ. 2018; 129:285-298.

[3] Azhar HSM, Abdulla R, Jambo SA, et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. Biochem Biophys Reports. 2017; 10:52–61.

[4] Jiang D, Hao M, Fu J, et al. Potential bioethanol production from sweet sorghum on marginal land in China. J Clean Prod. 2019; 220:225-234.

[5] Demirbas A. Biofuels securing the planet's future energy needs. Energy Convers Manag. 2009; 50(9):2239–2249.

[6] Nieves DC, Alanís MJR, Quiroz RC, et al. Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial wastes in Mexico. Renew Sust Energ Rev. 2019; 102:63-74.

[7] Roble ND, Ogbonna JC, Tanaka H. A novel circulating loop bioreactor with cells immobilized in loofa (Luffa cylindrica) sponge for the bioconversion of raw cassava starch to ethanol. Appl Microbiol Biotechnol. 2003; 60(6):671–678.

[8] Artnarong S, Masniyom P, Maneesri J. Preparation of the substrate from Palmyra palm fruit by Candida stellimalicola fermentation for acetic acid production. KKU Res J. 2016; 21(2):697-403.

[9] Theivendirarajah K, Chrystopher RK, Alcohol from palmyra palm (Borassus Flabellifer L.) fruit pulp. Vinganam J Sci. 1986; 1:44-46.

[10] Kassim MA, Kheang LS, Bakar NA, et al. Biothanol production from enzymatically saccharified empty fruit bunches hydrolysate using Saccharomyces cerevisiae. Res J Environ Sci. 2011; 5(6):573–586.

[11] Teeparuksapun K, Sontimuang C, Congkumnert W. Comparative study of hydrolysis methods for bioethanol production from ripe palmyra palm fruit pulp (Borassus flabellifer Linn). using Saccharomyces cerevisiae TISTR5204. The 7th International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agriculture Products; 2017 July

25-28; Khon Kaen, Thailand. Khon Kaen University; 2017. P. 256-264.

[12] Chongkhong S, Mardla A, Yai H. Ensiling - wet-storage method for bio-ethanol production by baker ' s yeast. The 10th International PSU Engineering Conference; 2012 May 14-15; Hat Yai, Thailand. Prince of Songkla University. 2012. P. 8–11.

[13] Pfeiffer T, Morley A, An evolutionary perspective on the Crabtree effect. Front Mol Biosci. 2014; 1:1-6.

[14] Deesuth O, Samneing A, Laopaiboon P, et al. Decrease in ethanol fermentation time for Sato making by Rhizopus sp And mixed cultures of yeasts. KKU Res J. 2010; 15(7):670–678.

[15] Sridam P, Dajanta K. Screening of potential indigeneous Loog Pang for production of fermented glutinous rice (KhaoMak) with high total soluble solid and lower alcohol ordor. The 15th National and International Conference Interdisciplinary Research for Local Development Sustainability; Lampang, Thailand. Lampang Rajabhat University. 2015; 129-139.

[16] Morris DL. Quantitative determination of carbohydrates with dreywood's anthrone reagent. Science. 1948; 107(1):254-255.

[17] Miller GL. Use of Dinitrosalicylic acid regent for determination of reducing sugar. Anal Chem. 1959; 31:426-428.

[18] Reed G, Nagodawithana TW. Baker's yeast production. Yeast Technol. New York: Springer, Dordrecht; 1991. P. 261-314.