

คุณสมบัติทางเคมีและกระบวนการหมักเอทานอล
จากมันพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp.

CHEMICAL PROPERTIES AND ETHANOL FERMENTATION
FROM *Dioscorea* sp.

ศศิกันต์ ปานปราณีเจริญ^{1*} และ นุชจรี สิงห์พันธ์^{2*}

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

²สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
เพชรบูรณ์ 67000

Sasikarn Panpraneecharoen^{1*} and Nootjaree Singphan^{2*}

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University,
Phetchabun, 67000

²Department of Agriculture, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology,
Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun, 67000

*E-mail: scipcru62@gmail.com, nootjareetuds@gmail.com

Received: 2018-09-22

Revised: 2018-12-07

Accepted: 2019-01-15

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มันจาวพั่ว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida* Dennst.) พบว่า มันจาวพั่วมีปริมาณไขมันสูงสุด ส่วนมันมือเสือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและพลังงานสูงสุด ในขณะที่กลอยมีปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้นสูงสุด สำหรับการผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม พบว่า กระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกันแบบ SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) แบบไม่เติมอากาศ ขั้นตอนที่ 1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันพื้นเมืองสกุลแยม ทั้ง 3 ชนิด ที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus oryzae* เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันจาวพั่ว มันมือเสือ และกลอย สูงสุดเท่ากับ 65.95 ± 12.44 64.17 ± 14.64 และ 59.19 ± 16.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตามลำดับขั้นตอนที่ 2 การผลิตเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยม ผ่านกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 พบว่า สารละลายส่วนใสที่แยกได้จากกระบวนการหมักของมันจาวพรวัว มันมือเสือ และกลอย ให้ค่าความเป็นกรด - ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ: มันพื้นเมืองสกุล *Dioscorea* sp กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ เอทานอล

Abstract

The chemical properties and production of ethanol from 3 species of *Dioscorea* sp. compose of *D. alata* L., *D. esculenta* L., and *D. hispida* Dennst. were studied. The results shown that *D. alata* L. gave the highest fat content, *D. esculenta* L. gave the highest carbohydrate and energy. While, *D. hispida* Dennst. gave the highest of ash, protein content, and moisture content. The production of ethanol from Yam digested process into sugar and fermented with a Simultaneous Saccharification and Fermentation and anaerobic condition was tested. Phase 1: digestion of starch into reducing sugar of *Dioscorea* sp. with 0.1 percent by weight of α -amylase produced from *Aspergillus oryzae*. Reducing sugar of *D. alata* L., *D. esculenta* L. and *D. hispida* Dennst. was 65.95 ± 12.44 64.17 ± 14.64 and 59.19 ± 16.49 mg/mL, respectively. Phase 2: the production of ethanol from *Dioscorea* sp. with the SSF in laboratory using *Saccharomyces cerevisiae* strains TISTR 5339 was found pH, Total Soluble Solid, glucose and ethanol that the difference was statistically significant ($p < 0.05$).

Keywords: *Dioscorea* sp., Alcohol fermentation, Ethanol

บทนำ

พืชจำพวกหัวใต้ดิน ได้แก่ มันสำปะหลัง มันเทศ มันฝรั่งและเผือก ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งทางตรงและทางอ้อม คือ ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ สัตว์และใช้ในทางอุตสาหกรรม ซึ่งพืชที่กล่าวมาข้างต้นจัดเป็นพืชเศรษฐกิจ จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมากในปัจจุบัน สำหรับมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จัดอยู่ในวงศ์ Dioscoraceae พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วโลกในแถบทวีปแอฟริกา ตอนกลางและตอนใต้ของทวีปอเมริกาและทวีปเอเชียประมาณ 600 ชนิด สำหรับประเทศไทยพบเพียงประมาณ 62 ชนิด

แต่กลับพบว่าการใช้ประโยชน์ยังคงอยู่ในด้านใช้เป็นอาหารและใช้ในทางการแพทย์บางชนิดเท่านั้น จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งในมันพื้นเมืองสกุลแยมสายพันธุ์ *D. alata* อื่น ๆ พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ได้แก่ *D. alata* มีโปรตีนร้อยละ 0.16 ไขมันร้อยละ 0.5 เถ้าร้อยละ 0.13 (Karam et al., 2006) *D. cayenensis-rotundifolia* มีโปรตีนร้อยละ 0.22 ไขมันร้อยละ 0.11 เถ้าร้อยละ 0.24 (Wickramasinghe et al., 2009) *D. alata* มีโปรตีนร้อยละ 0.01 - 0.03 ไขมันร้อยละ 0.1 - 0.03 และเถ้าร้อยละ 0.17 - 0.32 ซึ่งปริมาณโปรตีนที่พบมีผลต่อสมบัติด้านความหนืดของเจลแป้ง เป็นต้น

จากการนำมันพื้นเมืองสกุลแยมไปใช้ในอุตสาหกรรมบางประเภทอาจมีข้อจำกัดทางคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ดังนั้นจึงมีการค้นหาแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากพืชเพื่อให้ได้แหล่งที่มีคุณสมบัติแตกต่างออกไปให้ตรงกับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมแต่ละประเภท และในปัจจุบันจึงมีความสนใจนำแป้งที่สกัดได้จากมันพื้นเมืองสกุลแยมมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมเอทานอล (Wagner, 2005; Jeon et al., 2006; Osuji, 2010; Akponah & Akpomie, 2011; Soontornchaiboon et al., 2012; Thatoi et al., 2014) อีกทั้งยังสามารถนำไปใช้ในทางการแพทย์ (Riley et al., 2006) และเป็นสารความหนืดและสารทำให้เกิดเจล (Brunnschweiler et al., 2005) รวมถึงใช้ผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ (Mali et al., 2002) เป็นต้น

จังหวัดเพชรบูรณ์นับว่ามีความอุดมสมบูรณ์ด้านทรัพยากรธรรมชาติจึงได้มีการสำรวจชนิดของมันพื้นเมืองสกุลแยมสกุลพบว่ามี 6 ชนิด เช่น มันจาวพรวัว กลอย มันมือเสือ มันนก มันเห็บ มันข้าวกร่ำ เป็นต้น ซึ่งเรียกชื่อแตกต่างกันตามท้องถิ่น (Farhat et al., 1999; Amani et al., 2004; Brunnschweiler et al., 2005; Jayakody et al., 2007) การศึกษามันพื้นเมืองสกุลแยมส่วนใหญ่แล้วเป็นการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาทางด้านนี้น้อยมาก เนื่องจากไม่ใช่พืชเศรษฐกิจ ดังนั้นเพื่อเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากมันพื้นเมืองสกุลแยมในท้องถิ่นเพิ่มมากขึ้น ซึ่งงานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม ได้แก่ มันจาวพรวัว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida* Dennst.) และการผลิตเอทานอลด้วยเทคนิค SSF เพื่อเป็นประโยชน์ในเชิงวิชาการช่วยให้มีความรู้ความเข้าใจในคุณสมบัติของแป้งจากพืชสกุลแยมมากขึ้นและทำให้สามารถประเมินศักยภาพของมันพื้นเมืองสกุลแยมเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลต่อไป

วิธีการ

เก็บตัวอย่างมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพรวัว มันมือเสือ และกลอย ในพื้นที่ป่าชุมชนตำบลบ่อไทย อำเภอหนองไผ่ และตำบลตาตกกลอย อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ นำไปล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วตัดเป็นแผ่นบาง ๆ

และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดพีชสมุนไพร นำผงแป้งตัวอย่างนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 ไมโครเมตร และทำการอบแห้งตัวอย่าง มันพื้นเมืองอีกครั้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เก็บรักษาไว้ในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปวิเคราะห์และทำการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม

นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยมที่ผ่านการร่อน จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ดังนี้ ปริมาณเถ้า และ ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC (AOAC, 2000) คาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Calculation ปริมาณ โปรตีน โดยวิธี Kjeldahi Method และปริมาณไขมัน โดยวิธี Extraction

การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม

การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันพื้นเมืองสกุลแยม โดยการเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ทำการเตรียมตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อ ปริมาตร โดยชั่งมันพื้นเมืองสกุลแยมแห้งบด 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วใส่สารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) ให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม ทั้ง 3 สายพันธุ์ ปรับสภาพด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งในแต่ละการทดลองจะมีขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์ ดังนี้ 1) เอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 2) เอนไซม์ แอลฟาไกลูโคอะไมเลส (α -Glucosyl amylase from *S. cerevisiae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บสารละลายตัวอย่างโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อนำส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Miller et al. (1956) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

ทำการเตรียมตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยชั่งน้ำหนักของมันพื้นเมืองสกุลแยมแห้งบด 60 กรัม ใส่ในขวด Duran ขนาด 2,000 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่นให้มี

ปริมาตรเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร นำตัวอย่างของมันพื้นเมืองสกุลแยม ทั้ง 3 สายพันธุ์ปรับสภาพ ด้วยการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการย่อยแบ่งเป็นน้ำตาล เป็นขั้นตอนการย่อยแบ่งให้ได้น้ำตาล ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำ ควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อมาทำการย่อยครั้งสุดท้ายหรือ การเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์ แอลฟาไกลูโคไซด์อะไมเลส เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำการลดอุณหภูมิลงอีกครั้งจนเหลือ 30 องศาเซลเซียส จึงเติมสารละลายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 ปริมาตรร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก และบ่มที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่มีการกวน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) โดย Hand Refractometer ปริมาณกลูโคสโดยวิธี HPLC (พจนา วานิก, 2550) และปริมาณเอทานอลโดยวิธี HPLC (Zaky et al., 2017) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนสถิติ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย พบว่า กลอยมีปริมาณเถ้าสูงสุด เท่ากับร้อยละ 3.29 รองลงมาคือ มันจาวพร้าวและมันมือเสือ มีปริมาณเถ้า เท่ากับร้อยละ 3.04 และ 2.05 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตของมันมือเสือพบว่ามีคาร์โบไฮเดรตสูงสุด เท่ากับร้อยละ 83.36 รองลงมา คือ มันจาวพร้าวและกลอย มีคาร์โบไฮเดรต เท่ากับร้อยละ 77.64 และ 68.56 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า กลอยมีโปรตีนสูงสุด เท่ากับร้อยละ 12.58 รองลงมาคือ มันจาวพร้าวและมันมือเสือ มีโปรตีน เท่ากับร้อยละ 6.38 และ 4.18 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน พบว่า มันจาวพร้าวมีไขมันสูงสุด เท่ากับร้อยละ 0.34 รองลงมา คือ กลอยและมันมือเสือ พบไขมันเท่ากับร้อยละ 0.06 และ 0.04 ตามลำดับ การวิเคราะห์ ความชื้น พบว่า กลอยมีความชื้นสูงสุด เท่ากับร้อยละ 15.56 รองลงมาคือ มันจาวพร้าวและ มันมือเสือ มีความชื้นเท่ากับร้อยละ 12.60 และ 10.37 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีมันพื้นเมืองสกุลแยม

คุณสมบัติทางเคมี	มันจาวพร้าว	มันมือเสือ	กลอย
ปริมาณเถ้า โดยวิธี AOAC, %	3.04	2.05	3.29
คาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Calculation, %	77.64	83.36	68.56
ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahi Method, %	6.38	4.18	12.58
ปริมาณไขมัน โดยวิธี Extraction, %	0.34	0.04	0.06
ปริมาณความชื้น โดยวิธี AOAC, %	12.60	10.37	15.56

จากตารางที่ 1 พบว่า ปริมาณเถ้า คาร์โบไฮเดรต ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณความชื้น ของมันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย มีความแตกต่างกัน จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า หัวมันพื้นเมืองสกุลแยมมีคาร์โบไฮเดรต ในปริมาณสูงประมาณร้อยละ 50 - 85 มีโปรตีนร้อยละ 3 - 5 เยื่อใยร้อยละ 2 - 5 ไขมันร้อยละ 0.7 เถ้าร้อยละ 2 - 7 และมีปริมาณอะไมโลส ร้อยละ 10 - 40 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (Riley et al., 2004; Wang et al., 2006)

การทดลองที่ 2 การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม

จากการทดลองใช้สารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย ที่เตรียมด้วยความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก และเอนไซม์แอลฟาไกลโคอะไมเลส (α -Glucoamylase from *Saccharomyces cerevisiae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก พบว่า น้ำกลั่นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันจาวพร้าว กลอย และมันมือเสือสูงสุดเท่ากับ 65.95 ± 12.44 64.17 ± 14.64 และ 59.19 ± 16.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของสารที่ใช้ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ของมันพื้นเมืองสกุลแยม

สายพันธุ์มันพื้นเมือง	สารที่ใช้	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)
มันจาวพรวัว	น้ำกลั่น	65.95 ± 12.44 ^a
	1M Tris HCl (pH5)	20.23 ± 2.78 ^b
	1M MES buffer (pH5)	23.22 ± 3.60 ^b
มันมือเสือ	น้ำกลั่น	59.19 ± 16.49 ^a
	1M Tris HCl (pH5)	15.99 ± 1.60 ^b
	1M MES buffer (pH5)	23.03 ± 1.94 ^b
กลอย	น้ำกลั่น	64.17 ± 14.64 ^a
	1M Tris HCl (pH5)	15.93 ± 2.97 ^b
	1M MES buffer (pH5)	17.24 ± 1.70 ^b
F-test		*

หมายเหตุ * = ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 2 พบว่า ผลของการย่อยแป้งของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพรวัว (*D. alata* L.) มันมือเสือ (*D. esculenta* L.) และกลอย (*D. hispida* Dennst.) ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase from *Aspergillus oryzae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักและเอนไซม์แอลฟาไกลโคอะไมเลส (α -Glucoamylase from *Saccharomyces cerevisiae*) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก ในสารที่ใช้แตกต่างกัน 3 สภาวะ ได้แก่ น้ำกลั่น 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) ที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) พบว่า น้ำกลั่นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันจาวพรวัว กลอย และมันมือเสือสูงสุด โดยปกติกระบวนการย่อยวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องนำไปผ่านกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนด้วยวิธีการทางเคมี ฟิสิกส์ หรือวิธีทางชีวภาพ เพื่อเปลี่ยนแป้งให้มีโครงสร้างโมเลกุลอยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (น้ำตาลกลูโคส) ซึ่งการใช้เอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) เป็นวิธีการใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง การใช้เอนไซม์ย่อยแป้งจะเป็นที่นิยม เนื่องจากเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดต้นทุนการผลิต ให้ค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูง การย่อยสลายแป้งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ 2 กลุ่ม คือ เอนไซม์ที่ใช้ในการตัดพันธะ α -1, 4 ที่เชื่อมระหว่างกลูโคส

แต่ละหน่วยและเอนไซม์ที่ตัดพันธะ α -1, 6 ที่เป็นสาขาเชื่อมอะไมโลแพกติน การย่อยสลายแป้งโดยเอนไซม์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ Liquefaction และ Saccharification (กล้าณรงค์ ศรีรอด และคณะ, 2549) ดังนั้นกระบวนการผลิตเอทานอลจากผลผลิตที่มีแป้งสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในการหมักเป็นเอทานอล จากหลักการทำงานของเอนไซม์ จำเป็นต้องอาศัยประสิทธิภาพและความเสถียรของเอนไซม์ในการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับสารละลายที่ใช้และระดับ pH ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่า pH มีผลให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ (Fan et al., 1987) ทั้งนี้การใช้สาร 1 M Tris HCl (pH 5.0) และ 1 M MES buffer (pH 5.0) ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ในมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) อาจเนื่องมาจากสารละลายทั้ง 2 ชนิด ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) และเอนไซม์แอลฟาไกลูโคอะไมเลส (α -Glucoamylase) เพื่อย่อยโมเลกุลของแป้งจึงส่งผลให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลงได้

จากผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตารางที่ 2 พบว่า ไม่แปรผันโดยตรงกับปริมาณคาร์โบไฮเดรต ผลแสดงในตารางที่ 1 นั้น เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ทั้ง 3 ชนิดนั้น อาจมีองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) และน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ที่มีหมู่คาร์บอนิลซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายมีความแตกต่างกัน (Tamunaidu et al., 2013)

การทดลองที่ 3 การหมักเอทานอลจากมันพื้นเมืองสกุลแยมด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339

การหมักเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยม จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มันจาวพร้าว มันมือเสือ และกลอย ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ผ่านการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 เมื่อนำสารละลายส่วนใสที่แยกได้จากกระบวนการหมักเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยมให้ค่าความเป็นกรด - ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และ ปริมาณเอทานอลของมันพื้นเมืองสกุลแยมที่ผ่านการหมักด้วยวิธี SSF ในระดับห้องปฏิบัติการ

มันพื้นเมือง สกุลแยม	pH	ปริมาณของแข็ง ที่ละลาย ได้ทั้งหมด (°Brix)	ปริมาณ กลูโคส (g/100g)	ปริมาณ เอทานอล (%, v/v)
มันจาวพร้าว	2.94 ± 0.06 ^b	2.67 ± 0.12 ^c	Not detected	0.98 ± 0.01 ^c
มันมือเสือ	4.20 ± 0.09 ^a	3.07 ± 0.12 ^b	Not detected	1.97 ± 0.01 ^a
กลอย	4.13 ± 0.04 ^a	3.53 ± 0.31 ^a	1.30 ± 0.01	1.54 ± 0.00 ^b
F-test	*	*		*

หมายเหตุ * = ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อยีสต์จะใช้น้ำตาลรีดิทซ์จากกระบวนการย่อยได้อย่างรวดเร็ว ภายหลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมักในกระบวนการผลิตเอทานอล และให้ปริมาณเอทานอลค่อนข้างคงที่ ซึ่งเป็นเพราะ น้ำตาลรีดิทซ์ในรูปที่ยีสต์สามารถย่อยเพื่อให้เป็นอาหารในการเจริญเติบโตและใช้ในการผลิตเอทานอลได้มีปริมาณน้อยลง (กัลยา อยู่นาน, 2546) จากตารางที่ 3 พบว่า ปริมาณเอทานอลไม่แปรผันโดยตรงกับปริมาณน้ำตาลรีดิทซ์ที่แสดงในตารางที่ 2 นั้น เนื่องจากน้ำตาลรีดิทซ์ประกอบด้วยน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเพนโตส ซึ่งเชื้อยีสต์แต่ละชนิดจะสามารถใช้น้ำตาลแตกต่างกัน (Hernández-Salas et al., 2009) โดยน้ำตาลที่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถใช้ได้ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส ฟรุคโตส มอลโตส (Scragg, 2009) อีกประการหนึ่งสำหรับกระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล อาจมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจากกระบวนการใช้น้ำตาลของยีสต์ ถ้าไม่มีการระบายอากาศออกจากระบบทำให้ความดันในการหมักสูงขึ้น ทำให้อัตราการหมักลดลง นอกจากนี้กระบวนการหมักเป็นกระบวนการคายความร้อน ซึ่งถ้ามากเกินไปทำให้อุณหภูมิในการหมักสูงขึ้น และทำให้การทำงานของยีสต์ในการใช้น้ำตาลลดลง ส่งผลให้ความเข้มข้นของเอทานอลลดลง

สรุป

คุณสมบัติทางเคมีของมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) พบว่า มันจาวพร้าวมีปริมาณไขมันสูงสุด มันมือเสือมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุด ในขณะที่กลอยมีปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน และปริมาณความชื้นสูงสุด งานวิจัยนี้เลือกใช้มันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ทั้ง 3 ชนิดนี้ มาเป็นวัตถุดิบทางเลือกเพื่อการผลิตเอทานอลผ่านกระบวนการหมักด้วยวิธี SSF

ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR 5339 จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จากมันจาวพรวัว มันมือเสือ และกลอย มีค่าร้อยละโดยปริมาตร เท่ากับ 0.98 ± 0.01 1.97 ± 0.01 และ 1.54 ± 0.00 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด - ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกลูโคส และปริมาณเอทานอล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามหากมีการต่อยอดงานวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตเอทานอลให้เกิดผลผลิตสูงสุดจากมันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea* sp.) ซึ่งเป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตพลังงานทดแทนได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงานวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560 ประเภทสร้าง สะสมองค์ความรู้ที่มีศักยภาพ (PCRU_2560_NO01) และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิต คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องบดพืชสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

- Akponah, E. & Akpomie, O.O. (2011). Analysis of the suitability of yam, potato and cassava root peels for bioethanol production using *Saccharomyces cerevisiae*. *International Research Journal of Microbiology*. 2(10), 393-398.
- Amani, N.G.G., Buléon, A., Kamenan, A. & Colonna, P. (2004). Variability in starch physicochemical and functional properties of yam (*Dioscorea* sp.) cultivated in Ivory Coast. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(15), 2085-2096.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th Edition, *The Association of Official Analytical Chemists*, Gaithersburg, MD, USA.
- Brunnschweiler, J., Luehi, D., Handschin, S., Farah, Z., Escher, F. & Conde-Petit, B. (2005). Isolation, physicochemical characterization and application of yam (*Dioscorea* spp) starch as thickening and gelling agent. *Starch*. 57(3-4), 107-117.
- Fan, L. T., Gharpuray, M. M. & Lee, Y. H. (1987). *Cellulose hydrolysis*. Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Farhat, I.A. Oguntola, T. & Neal, R.J. (1999). Characterisation of starches from west African yams. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79(15), 2105-2112.

- Hernández-Salas, J.M., Villa-Ramírez, M.S., Veloz-Rendón, J.S., Rivera-Hernández, K.N., González-César, R.A., Plascencia-Espinosa, M.A., & Trejo-Estrada, S.R. (2009). Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. **Bioresource Technology**. 100(3), 1238-1245.
- Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q. & Donner, E. (2007). Studies on tuber starched. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea* sp.) starches grown in Sri Lanka. **Carbohydrate Polymers**. 69(1), 148-163.
- Jeon, J.R., Lee, J.S., Lee, C.H., Kim, S.D. & Nam, D.M. (2006). Effect of ethanol extract of dried Chinese yam (*Dioscorea batatas*) flour containing dioscin on gastrointestinal function in rat model. **Archives of Pharmacal Research**. 29(5), 348-353.
- Karam, L.B., Ferrero, C., Martino, M.N, Zaritzky, N.E. & Grossmann, M.V.E. (2006). Thermal microstructural and textural characterisation of gelatinised corn, cassava and yam starch blends". **International of Food Science and Technology**. 41(7), 805-812.
- Mali, S., Grossmann, M.V.E., Garcia, M.A., Martino, M.N. & Zaritzky. (2002). Micro-structural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**. 50(4), 379-386.
- Miller, C.O., Skoog, F., Okomura, F.S., von Saltza, M.H. & Strong, F.M. (1956). Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division. **Journal of the American Chemical Society**. 78, 1345-1350.
- Osuji, C.M., Nwanekezi, E.C., Amadi, E.M. & Osuji, C.A. (2010). Yield of ethanol from enzyme-hydrolyzed yam (*Dioscorea rotundata*) and cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) Flours. **Nigerian Food Journal**. 28(2), 1-5.
- Tamunaidu, P., Matsui, N., Okimori, Y. & Saka, S. (2013). Nipa (*Nypa fruticans*) sap as a potential feedstock for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**. 52, 96-102.
- Riley, C.K., Adebayo, S.A., Wheatley, A.O. & Asemota, H.N. (2006). Fundamental and Derived properties of yam (*Dioscorea* spp.) starch powders and implications in tablet and capsule formulation. **Starch**. 58(8), 418-424.
- Riley, C.K., Wheatley, A.O. Hassan, I., Ahmad, M.H. Morrison, E.Y.S.A. & Asemota,

- H.N. (2004). In vitro Digestibility of Raw Starch Extracted from Five Yam (*Dioscorea* spp.) Species Grown in Jamaica. **Starch**. 56(2) 69-73.
- Scragg, A.H. (2009). **Biofuels: Production, Application and Development**. UK: Cambridge.
- Soontornchaiboon, W., Chunhachart, O., & Pawongrat, R. (2012). Ethanol production from yam bean using yease *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339. 1st Mae Fah Luang University International Conference.
- Sriroth, K., Piyachomkwan K., Chatakanonda, P., Wanlapatit, S. & Keawsompong, S. (2006). Improvement of raw starch hydrolysis by enzyme process in ethanol production from cassava. Complete Research Report, National Research Council of Thailand. (in Thai)
- Thatoi, H., Dash, P.K., Mohapata, S. & Swain, M.R. (2014). Ethanol production from tuber crops using fermentation technology: A Review. **Indian Institute of Technology Madras**. 1-26.
- Wagner, W. (2005). Biodiesel and ethanol from soybeans and sugar beets. **BioCycle**. 46(6), 10.
- Wang, W.-M., Lai, V.M.F., Chang, K.,-F., Lu, S. & Ho, H.-H. (2006). Effect of Amylopectin Structure on the Gelatinization and Pasting Properties of Selected Yam (*Dioscorea* spp.). **Starch**. 58(11), 572-579.
- Wanikorn, P. (2007). **Qualitative and quantitative analysis of some substances in pummelo wine**. Bachelor of Science (General Science) Thesis. Department of Science, Kasetsart University. (in Thai)
- Wickramasinghe, H.A.M., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Yamauchi, H. & Noda, T. (2009). Comparative analysis of starch properties of different root and tuber crops of Sri Lanka. **Food Chemistry**. 112(4), 547-560.
- Yoonan, K. (2003). **A Study of optimal conditions for fermentable sugar production from cassava peels**. Master of Science Thesis, King Mongkut's University of Technology Thonburi. (in Thai)
- Zaky, A.S., Pensupa, N., Andrade-Eiroa, A., Tucker, G.A. & Chenyu Du. (2017). A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. **Journal of Food Composition and Analysis**. 56, 25-33.