

การเตรียมและการศึกษาสมบัติของเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลัง เพื่อการประยุกต์ใช้ในอาหาร

Preparation and Characterization of Cellulose Gel from Cassava Pulp for Food Applications

สารรยา ปัญญานันท์¹ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ² และกัลลารงค์ ศรีรอด¹
Sawanya Punyanunt¹, Kuakoon Piyachomkwan² and Klanarong Sriroth¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้งแล้วจึงศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ และพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลส โดยกากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งสูงร้อยละ 55 (โดยน้ำหนักแห้ง) เมื่อผ่านการสกัดแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) มีปริมาณแป้งลดลงเหลือเพียง ร้อยละ 0.39 (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณเส้นใยเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 39 (โดยน้ำหนักแห้ง) เรียกว่า กากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง (destarched cassava pulp; DCP) ทำการแยกเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (alkali treatment) แล้วทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมคลอไรท์ (bleaching treatment หรือการฟอกสี) พบว่าเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังมีปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสมีค่าลดลง และมีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสเพิ่มขึ้น (ร้อยละ 81.17 โดยน้ำหนักแห้ง) เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสด้วยวิธีฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR spectroscopy) พบว่าลิกนินถูกกำจัดออกได้เป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ จากการศึกษาลักษณะค่าพีเอชต่อพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลส พบว่า เซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังแสดงพฤติกรรมคล้ายเจล (gel like) และมีพฤติกรรมการไหลแบบเชียร์ทินนิง (shear thinning) คือ ความหนืดลดลงด้วยแรงเฉือนที่สูงขึ้น มีเสถียรภาพที่ดีในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3 7 และ 11 ตามลำดับ ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้เซลลูโลสในอาหาร

คำสำคัญ: กากมันสำปะหลัง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เซลลูโลส การฟอกสี พฤติกรรมการไหล

Abstract

The objective of this study was cassava cellulose production from cassava pulp. Cassava pulp produced during cassava starch production. Physicochemical and rheological properties were also evaluated for application in food production. Initially, cassava pulp with 55% (dwb) starch was hydrolyzed by α -amylase to remove starch and the lignocellulosic residues, named as destarched cassava pulp (DCP) were obtained, having 0.39% starch (dwb) and 39% (dwb) crude fiber. DCP after treated with alkali and NaClO_2 had lower contents of lignin and hemicellulose while the amount of α -cellulose significantly increased (81.17%). The fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy was applied to confirm the chemical structure that lignin peak was almost entirely removed during alkali and bleaching treatment. Cassava cellulose suspension was gel like materials and exhibited mainly shear thinning behavior with good stability to pH of buffer solutions (acid and alkali at pH 3, 7 and 11 respectively). Cassava cellulose suspension was also elucidated to apply in food system.

Keywords: cassava pulp, α -amylase, cellulose, bleaching, rheology

¹ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

²ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชหัว เจริญในภูมิประเทศเขตร้อนและเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของประชากรในหลายทวีป เช่น แอฟริกา อเมริกาใต้ เอเชีย และประเทศแถบมหาสมุทรแปซิฟิก (Teixeira *et al.*, 2012) ประเทศไทยผลิตแป้งมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังดัดแปร (modified starch) เป็นอุตสาหกรรมส่งออกรายใหญ่ที่สุดในโลก (Tran *et al.*, 2015) หัวมันสำปะหลังสดประมาณ 14.5-16.5 ล้านตันต่อปี นำไปผลิตเป็นแป้งมันสำปะหลังด้วยอัตราส่วนหัวมันสำปะหลังสดต่อแป้งมันสำปะหลังที่ผลิตได้คิดเป็นอัตราส่วน 4:1 (เกื้อกูล และคณะ, 2556) และมีกากมันสำปะหลัง (cassava pulp หรือ cassava bagasse) เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังอย่างน้อย 5 ล้านตันต่อปี ซึ่งองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังได้แก่น้ำ (ร้อยละ 70-80 โดยน้ำหนักแห้ง) แป้งที่เหลืออยู่ (residual starch) (ร้อยละ 50-60 โดยน้ำหนักแห้ง) และเส้นใย (ร้อยละ 15-50 โดยน้ำหนักแห้ง) (Teixeira *et al.*, 2009) มีงานวิจัยจำนวนมากศึกษาการใช้ประโยชน์จากแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลัง (ในรูปของแป้ง น้ำตาล และวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการหมัก) เพื่อลดการสูญเสียแป้งจากกระบวนการผลิต (Divya Nair *et al.*, 2011; Sriroth *et al.*, 2000) ซึ่งกากมันสำปะหลังที่เกิดขึ้นหลังจากผ่านการสกัดแป้งที่เหลืออยู่ออกแล้วจัดเป็นวัตถุดิบประเภทเส้นใยลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic materials) ที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก เรียกว่า กากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง (destarched cassava pulp; DCP) หากสกัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจะทำให้ได้เซลลูโลสที่มีปริมาณและความบริสุทธิ์สูงขึ้น

เซลลูโลสจัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำ มีองค์ประกอบทางเคมีคือ น้ำตาลกลูโคสเช่นเดียวกับแป้ง โครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสต่อกันเป็นสายตรง ไม่มีกิ่งสาขา เซลลูโลสและแป้งมีสมบัติบางประการคล้ายคลึงกัน เช่น มีหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลกลูโคสที่สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ง่าย และสมบัติบางประการแตกต่างกัน เช่น สมบัติโครงสร้าง โดยสายโซ่เซลลูโลสจะมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลและออกซิเจน และไม่มีพันธะกิ่ง จึงทำให้สายโซ่เซลลูโลสสามารถจัดเรียงตัวซ้อนกันได้เป็นเส้นใย (elementary fibrils) ที่ประกอบด้วยโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบและอสัณฐานทำให้เซลลูโลสมีความแข็งแรงมากกว่าแป้งและมีความเป็นผลึก (crystallinity) สูงกว่า เกิดโครงสร้างร่างแห หรือเกิดการฟอร์มเจลที่มีเสถียรภาพดี การใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสในผลิตภัณฑ์อาหารไม่เพียงแต่เป็นการเสริมเส้นใยอาหาร แต่ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสของอาหาร เซลลูโลสมีสมบัติไม่ละลายน้ำแต่สามารถอุ้มน้ำไว้ที่ผิวจึงเกิดการพองตัวสามารถทดแทนไขมัน (fat replacer) ในผลิตภัณฑ์ขนมอบไขมันต่ำได้ โดยไม่ทำให้คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปมากนัก (Thompson, 2004) แหล่งวัตถุดิบหลักในการผลิตเซลลูโลสทางการค้า คือ ไม้และฝ้ายประกอบด้วยเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์สูง (Abdul Khalil *et al.*, 2012) มีงานวิจัยที่ศึกษาการสกัดเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร เช่น เปลือกกล้วย ฟางข้าวสาลี และเปลือกถั่วเหลือง (Zuluage *et al.*, 2009; Alemdar and Sain, 2008; Wang *et al.*, 2007) แต่ยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาการสกัดเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังเพื่อการประยุกต์ใช้ในอาหาร

กากมันสำปะหลังที่ได้หลังจากการสกัดแป้งในรูปของแป้ง น้ำตาล หรือการหมักน้ำตาลจากการย่อยแป้ง ยังมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก จึงมีความเป็นไปได้ที่กากมันสำปะหลังที่สกัดแป้งออกแล้วสามารถเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตเซลลูโลสบริสุทธิ์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่สกัดแป้งที่เหลือออกแล้วศึกษาสมบัติสมบัติทางเคมีกายภาพ และพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ผลิตขึ้นเพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

กากมันสำปะหลัง จากบริษัท ชลเจริญ จำกัด อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแบ่งออกด้วยวิธีทางเอนไซม์

ทำการสกัดแบ่งที่เหลือออกจากกากมันสำปะหลัง โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase จากเชื้อ *Bacillus licheniformis*; Termamyl® Novo Nordisk, Denmark) ที่อัตราส่วนกากมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักเปียก): น้ำ : เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เท่ากับ 1 กิโลกรัม : 5 ลิตร : 5 มิลลิลิตร ต้มจนมีอุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ปรับพีเอชให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ที่ 5.5-6 ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีนเพื่อติดตามการย่อยแป้ง (Siroth et al., 2000) แล้วล้างกากมันสำปะหลังด้วยน้ำจนน้ำล้างมีค่าความหวานเท่ากับ 0 องศาบริกซ์ นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดและร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 60 เมช (mesh) (ขนาด 250 ไมโครเมตร) เพื่อใช้ในการทดลอง

2.2 ศึกษาการสกัดเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลัง

นำกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแบ่งออกตามวิธีการข้อ 2.1 มาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อัตราส่วนกากมันสำปะหลังต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 10 กรัมต่อ 250 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาในหม้อนิ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Deepa et al., 2010) เพื่อละลายเอมิเซลลูโลสออกจากเส้นใย จากนั้นกรองและล้างจนน้ำล้างมีค่าพีเอชเป็นกลาง นำกากมันสำปะหลังที่ผ่านการทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วมาศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดลิกนินออกจากกากมันสำปะหลังด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรท์ (NaClO_2) ความเข้มข้นร้อยละ 0.40 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำปฏิกิริยาที่พีเอชเท่ากับ 5 ที่อุณหภูมิสองระดับ คือ อุณหภูมิ 25 และ 80 องศาเซลเซียส (LaCourse et al., 1994) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.44 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำปฏิกิริยาที่พีเอชเท่ากับ 11 ที่อุณหภูมิสองระดับ คือ อุณหภูมิ 25 และ 60 องศาเซลเซียส (Belkhir et al., 2013; LaCourse et al., 1994) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ขั้นตอนนี้เรียกว่า การฟอกสี (bleaching) ทำปฏิกิริยาจนได้สารละลายเซลลูโลสที่มีสีขาว อัตราส่วนกากมันสำปะหลังต่อสารละลาย NaClO_2 หรือ NaOCl เท่ากับ 10 กรัม ต่อ 125 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากรองและล้างจนน้ำล้างมีค่าพีเอชเป็นกลาง นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดและร่อนผ่านตะแกรงเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.3 ศึกษาผลของค่าพีเอชต่อพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลส

เตรียมตัวอย่างเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 2.2 ความเข้มข้นเซลลูโลสร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนัก) ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 3 7 และ 11 (Fall et al., 2011; Pääkkö et al., 2007) โดยทดสอบความหนืดของตัวอย่างต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล โดยหยอดตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงบนแท่นวางตัวอย่างที่ตั้งอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้หัวกดแบบเพลาท่อนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร กำหนดขนาดช่องว่างสำหรับใส่ตัวอย่าง (gap size) เท่ากับ 1,000 ไมโครเมตร (1 มิลลิเมตร) และแปรผันอัตราเฉือน (shear rate) ระหว่าง 0.01-100 ต่อวินาที

3. การวิเคราะห์

3.1 วิเคราะห์สมบัติกากมันสำปะหลังที่เตรียมด้วยวิธีเอนไซม์

3.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งโดยการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase จากเชื้อ *Aspergillus niger*; Novozymes AMG, Switzerland) จากนั้นตรวจหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นด้วยการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี Somogyi-Nelson และคำนวณกลับเป็นปริมาณแป้ง

(ดัดแปลงจาก AACC Method 76-11)

3.1.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ได้แก่ ความชื้น โปรตีนในรูปปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีเคดาห์ (Kjeldahl, ใช้แฟคเตอร์ 6.25) ปริมาณไขมันโดยการสกัดด้วยสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาณเถ้าโดยการเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และปริมาณเส้นใยจากการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ดัดแปลงจากวิธีการจาก AOAC 1990)

3.1.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย ได้แก่ ปริมาณสารแทรก (solvent extractives) ลิกนิน ไฮโดรเซลลูโลส และ แอลฟาเซลลูโลส ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ของ Technical association of the pulp and paper industry (TAPPI) และคำนวณปริมาณเฮมิเซลลูโลสจากผลต่างระหว่างไฮโดรเซลลูโลสและแอลฟาเซลลูโลส ดังนั้น วิเคราะห์ปริมาณสารแทรกโดยการสกัดสารแทรกด้วยสารผสมเอทานอล-เบนซีน (ตามมาตรฐาน TAPPI T264 om-88 และ มาตรฐาน TAPPI T264 cm-97) วิเคราะห์ปริมาณลิกนินโดยการย่อยอย่างกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 72 และความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนัก) (ตามมาตรฐาน TAPPI T222 om-98) วิเคราะห์ไฮโดรเซลลูโลสโดยนำตัวอย่างกากมันสำปะหลังที่ปราศจากสารแทรกมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมคลอไรท์และกรดอะซิติก จนได้ไฮโดรเซลลูโลสที่มีสีขาวด้วยวิธี Acid chlorite ของ Browning และวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาเซลลูโลสโดยนำตัวอย่างไฮโดรเซลลูโลสมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 17.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (ตามมาตรฐาน T 203 om-88)

3.1.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตรวจสอบลักษณะของกากมันสำปะหลังด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยควบคุมสภาพการทดลองที่ค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 10 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยายตั้งแต่ 500-7,500 เท่า ตามวิธีของ Deepa *et al.* (2010)

3.2 วิเคราะห์สมบัติเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง

3.2.1 สมบัติด้านสี

ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer รุ่น CM-3500d) โดยนำตัวอย่างกากมันสำปะหลังบรรจุในภาชนะใส่ทรงกระบอกสำหรับวัดสีของเครื่อง และบันทึกค่าของสีที่วัดในระบบของ Hunter เป็น L^* , a^* และ b^*

3.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย (ดังข้อ 3.1.3)

3.2.3 การติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrophotometer; FTIR)

นำตัวอย่างใส่ในเซลล์ที่ใช้ตรวจสอบ ทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 400-4,000 ต่อเซนติเมตร ค่า resolution 4 ต่อเซนติเมตร และทำการเปรียบเทียบภาพสเปกตรัม (spectrum) ที่ได้ (Mandal and Chakrabarty, 2011)

4. แผนการทดลอง

ข้อ 3.1.3 และ 3.2.1 และ 3.2.2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลการทดลองข้อ 3.1.3 และ 3.2.2 ด้วย T-test และข้อ 3.2.1 ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังที่เหลือจากอุตสาหกรรมแป้ง ได้แก่ ปริมาณ เส้นใยหยาบ (crude fiber) โปรตีน ไขมัน เถ้า (ดัดแปลงจาก AOAC 1990) และปริมาณแป้ง (ดัดแปลงจาก AACC method 76-11) ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงใน Table 1 พบว่ากากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งร้อยละ 55 (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณเส้นใยหยาบร้อยละ 19.45 (โดยน้ำหนักแห้ง) เมื่อนำกากมันสำปะหลังมาสกัดแป้งที่เหลือด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) พบว่ามีปริมาณแป้งลดลงเหลือร้อยละ 0.39 (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณเส้นใยเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 39 (โดยน้ำหนักแห้ง) ดังนั้น องค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง (destarched cassava pulp; DCP) คือเส้นใย อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางเคมีรวมของกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้งที่วิเคราะห์ได้มีเหลืออยู่เพียงร้อยละ 47.15 (โดยน้ำหนักแห้ง) เนื่องจากในระหว่างกระบวนการสกัดแป้งด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสอาจมีผลทำให้สัดส่วนของเส้นใยที่ละลายน้ำ (ไม่ได้ทำการวิเคราะห์) เช่น เพคตินเพิ่มขึ้นด้วย และละลายออกไปในระหว่างกระบวนการวิเคราะห์ทั้งนี้ นอกจากเส้นใยหยาบแล้วยังมีการรายงานถึงปริมาณเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ในกากมันสำปะหลังมีร้อยละ 35.2 (โดยน้ำหนักแห้ง) ประกอบด้วยเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble fiber) เช่น เซลลูโลสร้อยละ 4.11-15.60 (โดยน้ำหนักแห้ง) และเฮมิ-เซลลูโลสร้อยละ 4.20-5.10 (โดยน้ำหนักแห้ง) (Kurdi and Hansawasdi, 2015; Chaikew *et al.*, 2012; Kosugi *et al.*, 2009) และเส้นใยที่ละลายน้ำ (soluble fiber) เช่น ปริมาณเพคตินในกากมันสำปะหลังมีร้อยละ 7 (โดยน้ำหนักแห้ง) (Djuma'ali *et al.*, 2011)

Table 1 Chemical composition of cassava pulp and destarched cassava pulp (DCP).

sample	composition (% dry weight basis)				
	starch	crude fiber	protein	lipid	ash
Cassava pulp	55.07 $\pm$ 0.82	19.45 $\pm$ 0.05	2.65 $\pm$ 0.05	0.20 $\pm$ 0.11	1.98 $\pm$ 0.00
DCP	0.39 $\pm$ 0.10	39.21 $\pm$ 0.14	3.78 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.02	3.59 $\pm$ 0.01

เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาดัง Figure 1 พบว่าแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลังส่วนใหญ่ นั้นถูกสกัดออกแล้วด้วยการย่อยแป้งจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส สอดคล้องกับค่าปริมาณแป้งที่ลดลงดังแสดงใน Table 1 กากมันสำปะหลังที่เหลือจากอุตสาหกรรมแป้งนั้นมีแป้งเหลืออยู่สูง การย่อยแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลังออกโดยใช้เอนไซม์นั้นยังถือเป็นแนวทางในการใช้เทคโนโลยีชีวภาพที่น่าสนใจสำหรับการสกัดแป้งที่เหลือหรือน้ำตาลรีดิวซ์ออกจากกากมันสำปะหลัง และสามารถนำแป้งที่เหลือในกากมันสำปะหลัง และน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้ประโยชน์ต่อไปในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ จุลินทรีย์โปรตีน (single cell protein) หรือผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมักอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส (Sriroth *et al.*, 2000) นอกจากนี้ การสกัดแป้งที่เหลือออกจากกากมันสำปะหลังส่งผลต่อการเตรียมเซลลูโลส คือลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) (Alvira *et al.*, 2010)

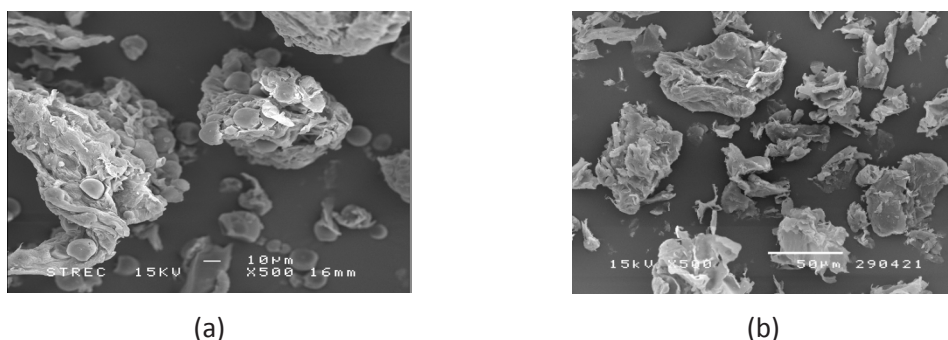


Figure 1 Scanning electron micrographs of (a) cassava pulp (b) destarched cassava pulp (DCP)

2. การแยกเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง

กากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้งมีเส้นใยสูง จัดเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic materials) ที่มีองค์ประกอบหลัก คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน การกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจะทำให้ได้เซลลูโลสบริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งลักษณะปรากฏและค่าสีของกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการแยกเซลลูโลสแสดงใน Table 2 พบว่ากากมันสำปะหลังที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ทำให้กากมันสำปะหลังมีค่าความสว่าง (ค่า L^*) สูงที่สุด คือมีค่าความสว่างเท่ากับ 81.85 ซึ่งได้กากมันสำปะหลังที่มีสีขาวที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับค่าองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย ได้แก่ ปริมาณแอลฟาเซลลูโลส ลิกนิน โอลิโกเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารแทรก (solvent extractives) ดัง Table 3 พบว่ากากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้งออกมีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 60.87 ลิกนินเท่ากับร้อยละ 24.96 เฮมิเซลลูโลสเท่ากับ ร้อยละ 11.62 เมื่อผ่านกระบวนการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากกากมันสำปะหลังได้เซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่มีสีขาว มีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 81.17 มีค่าใกล้เคียงกับเซลลูโลสที่ผลิตทางการค้าซึ่งมีองค์ประกอบของแอลฟาเซลลูโลสร้อยละ 80 ขึ้นไป (Leppänen *et al.*, 2009)

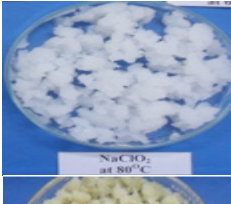
เมื่อพิจารณาขั้นตอนการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เรียกว่า ขั้นตอนการทำปฏิกิริยากับสารละลายต่าง (alkali treatment) ซึ่งทำปฏิกิริยาในหม้อหนึ่งความดันไอน้ำทำให้เกิดการย่อยสลาย (hydrolysis) พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ของน้ำตาลไซโลส (xylose) น้ำตาลแมนโนส (mannose) และน้ำตาลกลูโคส (glucose) ที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างเฮมิเซลลูโลสออกมา และเกิดการตัด (cleavage) พันธะเอสเทอร์ระหว่างเฮมิ-เซลลูโลสและลิกนินได้ (Jiebing *et al.*, 2007) แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีปริมาณลิกนินหลงเหลืออยู่ จึงต้องทำปฏิกิริยาต่อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ซึ่งช่วยในการกำจัดลิกนิน และส่งผลดีในการฟอกสีทำให้เซลลูโลสมีสีขาวขึ้นด้วย จะเห็นได้ว่าหลังจากขั้นตอนการฟอกสีมีผลทำให้กากมันสำปะหลังมีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นและลิกนินลดลงอย่างชัดเจน ทั้งนี้ เนื่องจากสารละลายโซเดียมคลอไรด์ฟอรั่มพันธะกับลิกนินอยู่ในรูปของสารประกอบลิกนินคลอไรด์ (lignin-chloride) (Abraham *et al.*, 2011) หรือสารประกอบเชิงซ้อนของลิกนินคลอไรด์ (lignin-chlorine complex) (Mandal and Chakrabarty, 2011) ละลายออกมา

เมื่อนำเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังมาวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีโดยวิธี FT-IR spectroscopy แสดงดัง Figure 2 เพื่อยืนยันผลของการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน กากมันสำปะหลังแสดงพีกในช่วงความยาวคลื่น 1700-1730 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงช่วงการดูดกลืนแสงของหมู่อะซีทิล (acetyl) และหมู่เอสเทอร์ของกรดยูโรนิก (uronic ester) ในโครงสร้างเพคติน เฮมิเซลลูโลส หรือพันธะเอสเทอร์ของหมู่คาร์บอกซิลของกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และกรดพาราควเมอริก (p-coumaric acid) ของลิกนิน (Chen *et al.*, 2009) และที่ตำแหน่ง 1245 ต่อเซนติเมตร

แสดงถึงการโค้งงอ (bending) ของ C-H, O-H หรือ CH_2 ของหมู่เอริล (aryl) ของลิกนิน (Mandal and Chakrabarty, 2011; Abraham *et al.*, 2011; Moran *et al.*, 2008) ที่เด่นชัด แต่เซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการกำจัดลิกนินไม่ปรากฏค่าการดูดกลืนในช่วงนี้ ซึ่งแสดงว่าลิกนินนั้นถูกกำจัดออกแล้ว และแสดงพีคของพันธะเบต้าไกลโคซิดิก (β -glycosidic) ระหว่างหมู่กลูโคสของเซลลูโลสในช่วงความยาวคลื่น 890-900 ต่อเซนติเมตร ที่ชัดเจนขึ้น เนื่องจากการกำจัดพวกเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกไป ทำให้เซลลูโลสมีความบริสุทธิ์มากขึ้นสอดคล้องกับค่าการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

กากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแบ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายโซเดียมคลอไรท์ทำให้ได้กากมันสำปะหลังที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก (ร้อยละ 81) จึงมีความเหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส เรียกว่า เซลลูโลสจากกากมันสำปะหลัง (bleached cellulose หรือ cassava cellulose) ซึ่งมีลักษณะปรากฏคล้ายเจล (gel like) จึงเป็นที่น่าสนใจสำหรับการประยุกต์ใช้ในอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

Table 2 Color of delignified cassava pulp with NaClO_2 and NaOCl .

Delignified cassava pulp	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Physical appearance	Color		
			L*	a*	b*
NaOH	-		30.60 ^e	11.96 ^e	20.98 ^b
NaOH + NaClO_2	Low temp. (25 $^{\circ}\text{C}$)		57.54 ^d	10.54 ^d	36.70 ^e
NaOH + NaClO_2	High temp. (80 $^{\circ}\text{C}$)		81.85 ^a	-1.35 ^a	0.15 ^a
NaOH + NaOCl	Low temp. (25 $^{\circ}\text{C}$)		74.79 ^c	-0.35 ^c	29.70 ^d
NaOH + NaOCl	High temp. (60 $^{\circ}\text{C}$)		77.78 ^b	-1.00 ^b	23.09 ^c

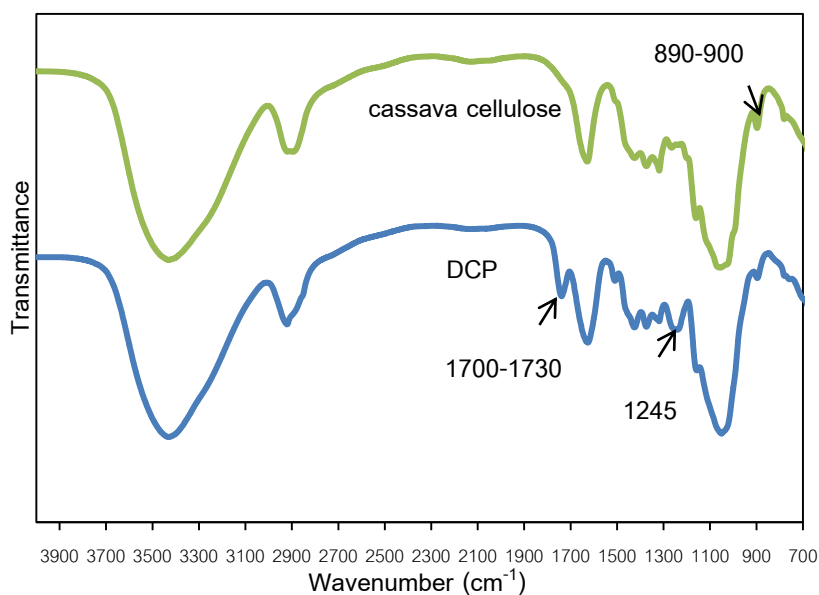
^{a-d} Different letters in the same column mean significant differences ($p \leq 0.05$)

Table 3 Chemical composition of destarched cassava pulp and cassava cellulose.

sample	content (% dry weight basis)				
	cellulose	lignin	Holocellulose	Hemicellulose*	Solvent extractive
DCP	60.87 ± 3.02 ^b	24.96 ± 0.23 ^b	72.49 ± 1.94 ^b	11.62	0.61 ± 0.02 ^b
NaOH + NaClO ₂	81.17 ± 0.95 ^a	8.41 ± 1.80 ^a	83.65 ± 0.60 ^a	2.47	0.22 ± 0.20 ^a

^{a-d} Different letters in the same column mean significant differences ($p \leq 0.05$)

*Reported as the difference between holocellulose and α -cellulose

**Figure 2** FTIR spectra of destarched cassava pulp and cassava cellulose.

3. ศึกษาผลของค่าพีเอชต่อพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลส

การศึกษาพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังภายในบัฟเฟอร์พีเอช 3, 7 และ 11 เพื่อเป็นแบบจำลองสภาพจริงของอาหารในสภาวะความเป็นกรดต่างที่แตกต่างกัน แสดงการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการไหล ดังแสดงใน Figure 3 พบว่าเซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังมีค่าความหนืดลดลงเมื่ออัตราแรงเฉือนเพิ่มขึ้นจัดเป็นพฤติกรรมการไหลแบบเชียร์ทินนิง (shear thinning fluid) ซึ่งเซลลูโลสที่แขวนลอยในสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 3 แสดงค่าความหนืดสูงกว่าที่พีเอช 7 และ 11 ตามลำดับ เนื่องจากประจุบวกจากไฮโดรเจนไอออนในสารละลายที่มีความเป็นกรดสูงทำให้ประจุบนผิวของเซลลูโลสมีค่าเป็นกลาง ซึ่งลดแรงผลักของประจุไฟฟ้าภายในอนุภาค (electrostatic repulsion) เป็นผลทำให้การเชื่อมโยงระหว่างสายเซลลูโลสสูงขึ้น ส่งผลให้สารละลายมีความหนืดสูงขึ้น ในขณะที่ความเป็นกรดต่ำ ประจุบนผิวของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นนำมาสู่แรงผลักรันของประจุไฟฟ้าภายในอนุภาคที่สูงส่งผลให้ความหนืดต่ำลงด้วย (Ankerfors, 2012)

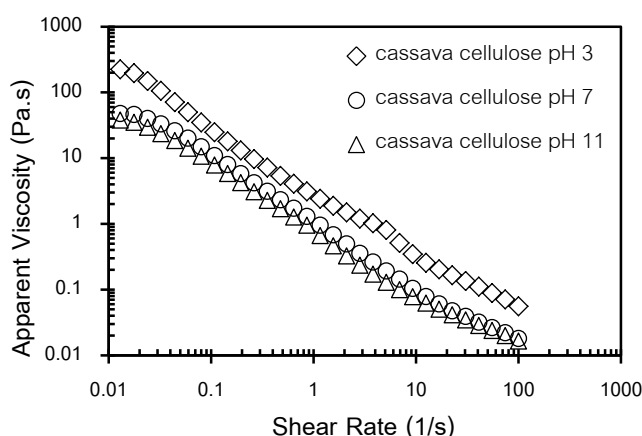


Figure 3 Influence of shear rate on viscosity at pH 3 7 and 11 of the cassava cellulose (0.5 wt %)

สรุป

เมื่อสกัดแป้งในกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) พบว่า ปริมาณแป้งลดลงเหลือร้อยละ 0.39 (โดยน้ำหนักแห้ง) และปริมาณเส้นใยเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 39 (โดยน้ำหนักแห้ง) เรียกว่า กากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง (destarched cassava pulp; DCP) มีเส้นใยเป็นองค์ประกอบหลัก สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในกากมันสำปะหลัง คือ การทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่อุณหภูมิสูง (80 องศาเซลเซียส) ที่พีเอช 5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เซลลูโลสจากกากมันสำปะหลังที่ได้มีค่าความสว่าง (ค่า L^*) สูงที่สุดเท่ากับ 81.85 และมีปริมาณแอลฟาเซลลูโลสสูงขึ้น (ร้อยละ 81.17) มีค่าใกล้เคียงกับเซลลูโลสที่ผลิตทางการค้า เมื่อทดสอบผลของค่าพีเอชต่อพฤติกรรมการไหลของเซลลูโลส เพื่อจำลองสภาวะการประยุกต์ใช้เซลลูโลสในสภาพจริงของอาหาร พบว่า เซลลูโลสแสดงการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการไหลแบบเชียร์ทินนิง (shear thinning fluid) คือ ความหนืดลดลงด้วยแรงเฉือนที่สูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนรัฐบาลกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และทุนวิจัย The Seventh Framework Programme (FP 7) ของ European Union ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง "Gains from Losses of Root and Tuber Crops: Gratitude" (<http://www.fp7-gratitude.eu>)

เอกสารอ้างอิง

เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, สุณีย์ โชตินิรันดร์, จักรพล สุนทรวรภาส, สิทธิโชค วัลลภาทิพย์, กิตติวุฒิ เกษมวงศ์, ปฐมา จาตุกานนท์ และกล้าณรงค์ ศรีรอด. 2556. กากมันสำปะหลัง: Waste or Wealth. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdul Khalil, H.P.S., A.H. Bhat and A.F. Ireana Yusra. 2012. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils : A review. Carbohydrate Polymer. 87: 963-979.

Abraham, E., B. Deepa, L.A. Pothan, M. Jacob, S. Thomas, U. Cvelbar and R. Anandjiwala. 2011. Extraction of nanocellulose fibrils from lignocellulosic fibers : A novel approach. Carbohydrate Polymer. 86: 1468-1475.

Alemdar, A and M. Sain. 2008. Isolation and Characterization of nanofibers from agricultural residues-wheat straw and soy hulls. Bioresource Technology. 99(6): 1664-1671.

- Alvira, P., E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros and M.J. Negro. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis : A review. *Bioresouce Technology*. 101: 4851-4861.
- American Association of Cereal Chemists (AACC). 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemist (AACC). 10th ed. Method 76-11. The Association: St.Paul, Minn.
- Ankerfors, M. 2012. Microfibrillated cellulose : energy-efficient preparation techniques and key properties. KTH Chemical Science and Engineering.
- Association of Official Analysis Chemiscal (AOAC). 1990. Office method of analysis 15th ed. Virginia: The Association of Office Agriculture Chemists.
- Belkhiria, S., A. Koubaa, A. Khadhri, M. Ksontini, H. Hamid Nadjji, S. Smiti and T. Stevanovic. 2013. Seasonal effect on the chemical composition of the leaves of *Stipa tenacissima* L. and implications for pulp properties. *Industrial Crops and Products*. 44: 56– 61.
- Chaikaew, S., Y. Maeno, W. Visessanguan, K. Ogura, G. Sugino, S. H. Lee and K. Ishikawa. 2012. Application of thermophilic enzymes and water jet system to cassava pulp. *Bioresource Technology*. 126: 87-91.
- Chen, Y., C. Liu, P.R. Chang, X. Cao and D.P. Anderson. 2009. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: Effect of hydrolysis time. *Carbohydrate Polymers*. 76(4): 607–615.
- Deepa, B., E. Abraham, B.M. Cherian, A. Bismarck, J.J. Blaker, L.A. Pothan, A.L. Leao, S.F.D. Souza and M. Kottaisamy. 2010. Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. *Bioresource Technology*. 102: 1988-1997.
- Divya Nair, M.P., G. Padmaja and S.N. Moorthy. 2011. Biodegradation of cassava starch factory residue using a combination of cellulases, xylanases and hemicellulases. *Biomass and Bioenergy*. 35: 1211-1218.
- Djuma'ali, N. Soewarno, Sumarno, D. Primarini, and W. Sumaryono. 2011. Cassava pulp as a biofuel feedstock of an enzymatic hydrolysis process. *Makara Teknologi*. 15 (2): 183-192.
- Fall, A.B., S. Lindström, O. Sundman, L. Ödberg and L. Wågber. 2011. Colloidal stability of aqueous nanofibrillated cellulose dispersions. *Langmuir* 27. 18: 11332-11338.
- Jiebing, L., Gunnar, H., Göran, G. 2007. Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion. *Bioresource Technology*. 98: 3061-3068.
- Kosugi, A., A. Kondo, M. Ueda, Y. Murata, P. Vaithanomsat, W. Thanapase, T. Arai and Y. Mori. 2009. Production of ethanol from cassava pulp via fermentation with a surface engineered yeast strain displaying glucoamylase. *Renewable Energy*. 34: 1354-1358.
- Kurdi, P. and C. Hansawasdi. 2015. Assessment of the prebiotic potential of oligosaccharide mixtures from rice bran and cassava pulp. *LWT-Food Science and Technology*. 63: 1288-1293
- LaCourse, N.L., K. Chicalo, J.P. Zallie and P.A. Altieri. 1994. Dietary fiber derived from tapioca and process Therefor. Patent number 5,350,593.
- Leppänen, K., S. Andersson, M. Torkkeli, M. Knaapila and N. Kotelnikova. 2009. Structure of cellulose and microcrystalline cellulose from various wood species, cotton and flax studied by X-ray scattering. *Cellulose*. 16: 999–1015.
- Mandal, A. and D. Chakrabarty. 2011. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydrate Polymers*. 86: 1291– 1299.
- Morán, J.I., V.A. Alvarez, V.P. Cyras and A. Vázquez. 2008. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*. 15: 149-159.
- Pääkkö, M., M. Ankerfors, H. Kosonen, A. Nykänen, S. Ahola, M. Österberg, J. Ruokolainen, J. Laine,| P. T. Larsson, O. Ikkala, and T. Lindström. 2007. Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*. 8: 1934-1941.
- Sriroth, K., R. Chollakup, S. Chotineeranat, K. Piyachomkwan and C.G. Oates. 2000. Processing of cassava waste for improved biomass utilization. *Bioresource Technology*. 71: 63-69.

- Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI). 1984. Pentosans in wood and pulp. Official Test Method T-223 om-84. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1988. Preparation of wood for chemical analysis. Official Test Method T-264 om-88. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1992. Alpha-, beta- and gama-cellulose in pulp and wood. Official Test Method T-203 om-88. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1993. Ash in pulp and wood. Official Test Method T-211 om-93. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1997. Solvent extractives of wood and pulp and T 203: Alpha, beta and gramma of cellulose. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1997. Preparation of wood for chemical analysis. Official Test Method T-264 cm-97. Tappi press. Atlanta.
- TAPPI. 1998. Acid insoluble lignin in pulp and wood. Official Test Method T-222 om-98. Tappi press. Atlanta.
- Teixeira, E.D.M., D. Pasquini, A.A.S. Curvelo, E. Corradini, M.N. Belgacem and A. Dufresne. 2009. Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*. 78: 422–431.
- Teixeira, E.M., A.A.S. Curvelo, A.C. Corrêa, J.M. Marconcini, G.M. Glenn and L.H.C. Mattoso. 2012. Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Industrial Crops and Products*. 37: 61-68.
- Thompson, O.M., G. Ballew, K. Resincow, A. Must, H. Bandini, H. Cyr and W.H. Dietz. 2004. Food purchased away from-home as a predictor of change in BMI-score among girls. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*. 28: 282-289.
- Tran, T., G. Da, M.A. Moreno-Santander, G.A. Vélez-Hernández, A. Giraldo-Toro, K. Piyachomkwan, K. Sriroth and D. Dufour. 2015. A comparison of energy use, water use and carbon footprint of cassava starch production in Thailand, Vietnam and Colombia. *Resources, Conservation and Recycling*. 100: 31-40.
- Wang, B., M. Sain and K. Oksman. 2007. Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale. *Applied Composite Materials*. 14: 89–103.
- Zuluage, R., J.L. Putaux, J. Cruz, J. Velez, I. Mondragon and P. Gānan. 2009. Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrate Polymer*. 76(1): 51-59.