

การเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดและเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์  
Comparative study of the jackfruit seed and the prebiotic extracted jackfruit seed for ethanol production

บัญชา โลหรัตน์<sup>1</sup> สินีนาฏ จงคง<sup>1</sup> และ ผกามาศ เจริญพัฒนานันท์<sup>1</sup>  
Bancha Lolharat<sup>1</sup> Sininart Chongkhong<sup>1</sup> and Pakamas Chetpattananondh<sup>1</sup>

Abstract

Jackfruit seed consist of 36.38% carbohydrate and 5.48% protein, which could be a suitable raw material for ethanol production. Comparison of the ethanol production from jackfruit seed and prebiotic extracted jackfruit seed were investigated in this work. The jackfruit seed were boiled initially at temperatures of 90°C for 15 min in for to a fermentation process. Loog-Pang (Rice Cake Starch) source of mold and yeast was added to jackfruit seed sample for fermentation. The fermentation process was done in air-lock bottle sets for studying effect of parameters; Loog-Pang amount of 1-6 %wt (weight of Loog-Pang to weight of the jackfruit seed), fermentation times of 1 to 10 days at water bath temperature of 30°C and shaking rate at 60 rpm. The best condition for fermentation process was 4% wt Loog-Pang, 6 days fermentation period at 30°C and 60 rpm shaking rate, yielding 14.6 %v purity of ethanol for prebiotic extracted jackfruit seed 9.6%v of ethanol obtained from 4 days fermentation period of fresh jackfruit seed. The fermented products were distilled to reach 95 %v ethanol.

**Keywords:** Ethanol, Jackfruit seed, Loog-Pang

บทคัดย่อ

เมล็ดขนุนสด ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรต 36.38 % และ โปรตีน 5.48 % สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ดี โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาค้นคว้าที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดเปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนที่ผ่านกระบวนการสกัดฟรีไบโอติกส์แล้ว โดยการทดลองจะเริ่มต้นด้วยการต้มที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 15 นาที ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก โดยทำการทดลองในชุดขวด (Air Lock) มีปัจจัยสำคัญที่ศึกษาคือ ปริมาณลูกแป้งร้อยละ 1-6 โดยน้ำหนัก เวลาในการหมัก 1-10 วัน ควบคุมอุณหภูมิด้วย water bath คงที่ที่ 30°C โดยอัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่ผลิตเอทานอล จากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์ ความบริสุทธิ์สูงสุดที่ร้อยละ 14.6 โดยปริมาตรด้วยการใช้ลูกแป้งร้อยละ 4 หมักเป็นเวลา 6 วัน และเอทานอลจากเมล็ดขนุนสด อยู่ที่ 9.6% ใช้เวลาการหมัก 4 วัน และในขั้นตอนสุดท้าย คือ กระบวนการเพิ่มความบริสุทธิ์ผลผลิตด้วยการกลั่นเป็นร้อยละ 95 โดยปริมาตร

**คำสำคัญ :** เอทานอล, เมล็ดขนุน, ลูกแป้งข้าวหมาก

คำนำ

การพัฒนาเชื้อเพลิงเหลวชีวภาพ (*Bio-fuel*) อันได้แก่ เอทานอล และไบโอดีเซล เป็นเป้าหมายหนึ่งภายใต้แผนการเพิ่มสัดส่วนการใช้พลังงานหมุนเวียนของประเทศไทย ซึ่งมีเป้าหมายหลัก 3 ข้อ คือ สร้างความมั่นคงด้านพลังงานของประเทศไทย และชุมชนอย่างยั่งยืน สร้างศักยภาพชุมชนให้เป็นแหล่งผลิตพลังงาน และสนับสนุนการพัฒนาอุตสาหกรรมไบโอเคมีในประเทศ ดังนั้นการผลิตเอทานอลจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้สำหรับผลิตพลังงานทดแทน ปัจจุบันมีโรงงานผลิตเอทานอลในประเทศไทย 45 โรงงานมีกำลังการผลิต 11.3 ล้านลิตร/วัน เป็นปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการใช้พลังงานในปัจจุบัน (กระทรวงพลังงาน 2550) โดยมีกรรมวิธีการผลิตเอทานอล 2 วิธี คือ ทางเคมี และทางชีวภาพ สำหรับวิธีทางชีวภาพจะมีวัตถุดิบหลัก 3 ชนิด คือ เซลลูโลส แป้ง และน้ำตาล มีหลายงานวิจัยที่เลือกผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น การผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อยีสต์จากลูกแป้ง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การหมักแบบใช้เชื้อเดี่ยวหรือเชื้อ *Saccharomycopsi sp. YCY1* โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 3 ที่สภาวะปราศจากอากาศ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 5.72 กรัมต่อลิตร (ไกรยศ 2550)

<sup>1</sup>ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา 90112

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineer, Prince of Songkla University, Hat-Yai Campus, Songkhla, 90112

และจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์แล้ว ได้ทำการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมากและหมัก ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ ระยะเวลาในการหมัก 9 วัน ปริมาณลูกแป้งร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 30°C pH 5.5 – 6.5 ด้วยอัตราการกวน 150 รอบต่อนาที โดยให้ผลผลิตเอทานอลที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 31 โดยปริมาตร แสดงให้เห็นว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์ ซึ่งมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต 35.25% สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ดี (สินินาฏ, 2552) งานวิจัยนี้จึงศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนสดและเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์ โดยศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดขนุนและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอล โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากซึ่งมีเชื้อยีสต์และเชื้อราที่สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาล และเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลได้

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 1. วัตถุดิบ

เมล็ดขนุนสดและกากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์สด มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตรได้จากกลุ่มวิจัย SMEs-OTOP มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ลูกแป้งข้าวหมากสูตรพื้นบ้านของจังหวัดสงขลา

### 2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 2.1 ทดสอบองค์ประกอบของวัตถุดิบเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุนที่มีขนาด 1 มิลลิเมตรมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณความชื้น ปริมาณเส้นใย ค่าพลังงาน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ทำ Standard curve ระหว่างค่า Refractive index และ % เอทานอล เพื่อใช้ในการหาเปอร์เซ็นต์เอทานอลที่ได้จากการทดลอง

#### 2.2 การเตรียมวัตถุดิบก่อนการหมัก

นำเมล็ดขนุนสดมาล้างให้สะอาด ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ และบดให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร การเตรียมเมล็ดขนุนสดตามอัตราส่วนที่ต้องการศึกษา นำมาต้มด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90°C ระยะเวลา 15 นาที เพื่อช่วยให้วัตถุดิบที่เป็นแป้งและเส้นใย พร้อมที่จะถูกย่อย ให้มีโมเลกุลสั้นลง ตั้งให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ส่วนการเตรียมกากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีไบโอติกส์คือ นำมาตามอัตราส่วนที่ต้องการศึกษา ทำความสะอาดเพื่อล้างเอทานอลที่เหลือจากการกระบวนการสกัดสารฟรีไบโอติกส์ออก แล้วนำมาต้มด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 90°C ระยะเวลา 15 นาที ตั้งให้เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องเช่นเดียวกัน

#### 2.3 การผลิตเอทานอล

นำลูกแป้งข้าวหมากมาบดให้เป็นผงละเอียด แล้วผสมกับเมล็ดขนุนที่ผ่านการต้มแล้ว ตามอัตราส่วนที่ต้องการศึกษา จากนั้นนำไปบรรจุในชุดขวด Air lock ขนาด 250 ml เติมน้ำกลั่นในโตรเจนเพื่อไล่อากาศออก เพราะเป็นการหมักแบบไร้อากาศ (ออกซิเจน) ติดตั้งชุดควบคุมอุณหภูมิ อัตราการเขย่า และเครื่องให้ความร้อน โดยควบคุมอุณหภูมิของการหมักไว้ที่ 30°C ในการทดลองจะใช้อัตราการเขย่า 60 รอบ/นาที ทำการหมักเป็นเวลา 1 - 10 วัน ของในแต่ละอัตราส่วน และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมงนำตัวอย่างมากรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกกากเมล็ดขนุน และลูกแป้งที่เหลือออก แล้วนำไปกรองซ้ำด้วยเครื่องกรองแบบลดความดัน เพื่อให้ได้สารละลายที่ไม่มีของแข็งปนอยู่ แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลเบื้องต้นด้วยเครื่อง Refractometer

#### 2.4 กระบวนการเพิ่มความบริสุทธิ์ของผลผลิต

นำผลผลิตเอทานอลที่ได้หลังกระบวนการหมัก และกระบวนการกรองไปทำการกลั่นด้วยชุดเครื่องกลั่นเพื่อเพิ่มความบริสุทธิ์โดยอุปกรณ์ที่ใช้จะเป็นหม้อกลั่นความจุ 2 ลิตร มีหม้อกลั่นแบบแพค คอลัมน์สูง 45 เซนติเมตร ตัวให้ความร้อนแบบหุ้มด้วยฉนวนกันความร้อน ภายในคอลัมน์บรรจุวัสดุที่ทำจากสแตนเลสเป็นรูปก้อนหอย มีอัตราส่วนการรีฟลักซ์เป็น 3:1 โดยอุณหภูมิในการกลั่นที่ 80°C เป็นระยะเวลา 30 นาที (ที่ระยะเวลามากกว่า 30 นาที ไม่เกิดการระเหยของสารใดอีก) แล้วเก็บผลผลิตเอทานอลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Refractometer

**ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง**

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุดิบเมล็ดขุ่นสดและเมล็ดขุ่นที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ แสดงดัง Table 1 พบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าเมล็ดขุ่นทั้งสองเหมาะสมในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดขุ่นที่ผ่านพรีไบโอติกส์มีค่า 282.5 µg/ml ซึ่งมีค่าประมาณเป็นสองเท่าของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากเมล็ดขุ่นสด ดังนั้นเมล็ดขุ่นที่ผ่านพรีไบโอติกส์จึงสามารถผลิตเป็นเอทานอลได้มากกว่าเมล็ดขุ่นสด

Table 1 Components of the fresh jackfruit seed and the prebiotic extracted jackfruit seed

Components	Fresh Jackfruit seed	Prebiotic extracted jackfruit seed
Protein	5.48%	4.99%
Crude Fat	0.21%	0.23%
Moisture	56.51%	58.83%
Ash	1.42%	0.75%
Crude Fiber	1.27%	2.20%
Total Carbohydrate	36.38%	35.20%
Energy	169.33kcal	162.83kcal
Total Sugar	0.60%	0.40%
Reduce Sugar	133.2 µg/ml	282.5µg/ml

ผลผลิตหลังการหมักตามสภาวะที่ทำการศึกษสามารถหาค่าร้อยละโดยปริมาตรของเอทานอลในการผลิตได้แสดงดัง Figure 1 และ Figure 2 จากการทดลองพบว่าที่อัตราส่วนลูกแบ่งร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก จนถึงร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก ได้ค่าร้อยละของเอทานอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และลดลงหลังจากลูกแบ่งร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก แสดงให้เห็นว่าปริมาณลูกแบ่งร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนัก เป็นปริมาณที่น้อยเกินไปไม่เพียงพอต่อการหมัก และการลดลงของร้อยละของเอทานอลซึ่งอาจเกิดจากปริมาณลูกแบ่งมากเกินไปทำให้เชื้อกินกินเอง ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักคือ ลูกแบ่งร้อยละ 4 สำหรับเมล็ดขุ่นที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์ ได้เอทานอล 13% โดยปริมาตร และสำหรับเมล็ดขุ่นสด คือ ลูกแบ่งร้อยละ 3 ได้เอทานอล 9.8% โดยปริมาตร เมล็ดขุ่นที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์มีความพร้อมที่จะเกิดเป็นเอทานอลได้มากกว่า โดยสังเกตได้จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีค่ามากกว่าเมล็ดขุ่นสด

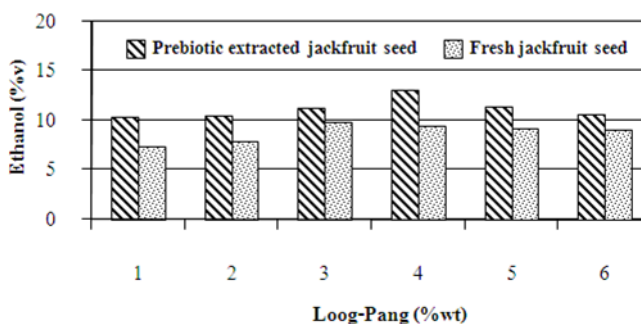
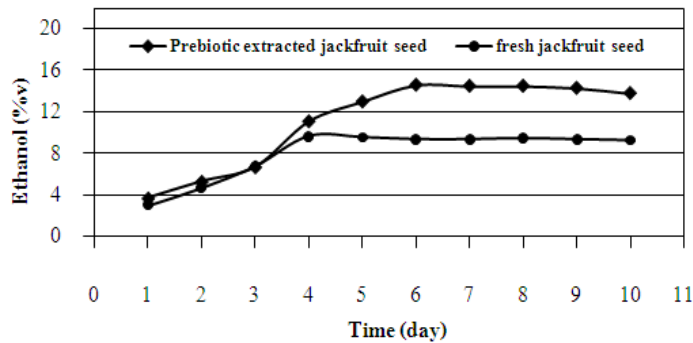


Figure 1 Ethanol production at different percentage of Loog-Pang fermented at 30°C, shaking rate 60 rpm for 5 days

ระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมดัง Figure 2 ซึ่งใช้ลูกแบ่งร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก หมักเป็นเวลา 10 วัน ด้วยอัตราการเขย่า 60 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30°C จากการทดลองพบว่าแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของเมล็ดขุ่นที่ผ่านการสกัดพรีไบโอติกส์และเมล็ดขุ่นสดจะถูกย่อย โดยเชื้อยีสต์จากลูกแบ่ง จะได้ผลผลิตเอทานอลที่มากขึ้น ด้วยซึ่งอยู่ในช่วง Exponential phase อัตราการเติบโตจะเพิ่มขึ้นสูงสุดและคงที่ จากการที่ระยะยีสต์เติบโตอย่างรวดเร็วนี้เองทำให้สารอาหารเริ่มไม่เพียงพอและเกิดสภาวะการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการสร้างและสลายของเซลล์ ดังนั้นอัตราการเติบโตของยีสต์

จึงลดลง จนกระทั่งอัตราการเติบโตเท่ากับอัตราการตาย ทำให้ปริมาณเซลล์อยู่ในสภาพคงที่ เมื่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนี้ยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้ยีสต์สลายเซลล์ตัวเอง ปริมาณเซลล์ลดลงเรื่อยๆ

Wanderley (2004) พบว่าในลูกแป้งมียีสต์และเชื้อราอยู่หลายชนิด เช่น *Aspergillus niger* และ *Amylomyces fibuligera* สามารถย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลและเมื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลแล้วก็จะใช้น้ำตาลที่ได้ผลิตขึ้นมาเป็นอาหาร ซึ่งอาจทำให้ยีสต์ชนิด *Endomycopsis spp.* และ *Saccharomyces spp.* ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ ระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์และเมล็ดขนุนสดคือ 6 วันและ 4 วัน จะได้เอทานอล 14.6 และ 9.6 % โดยปริมาตร ตามลำดับ การที่เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์ได้เปอร์เซ็นต์เอทานอลมากกว่าเนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดขนุนที่ผ่านฟรีโอบิโอดีทส์ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบมากกว่าเมล็ดขนุนสดนั่นเอง



**Figure 2** Effect of fermentation time on ethanol production at 30°C, shaking rate 60 rpm and 4%wt Loog-Pang

ผลของการเพิ่มความบริสุทธิ์ด้วยเครื่องกลั่น พบว่าการกลั่นโดยใช้แบบ Packed column สามารถช่วยให้ได้ผลผลิตบริสุทธิ์เอทานอลที่ร้อยละ 95 โดยปริมาตรตามที่ต้องการ เวลาที่ใช้ในการกลั่น 25 นาที ก็เพียงพอสำหรับการกลั่นเอทานอลด้วยคอลัมน์วัสต์คูปรรจ (Packed column)

### สรุป

เมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์และเมล็ดขนุนสด สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้เพราะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่สูง ในกระบวนการหมักโดยใช้วัตถุดิบเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์เปรียบเทียบกับเมล็ดขนุนสดพบว่าเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดซึ่งให้ความบริสุทธิ์ร้อยละ 14.6 โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ ร้อยละของลูกแป้งต่อกากเมล็ดขนุน 4 ต่อ 100 โดยน้ำหนัก ระยะเวลาหมัก 6 วัน ที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยอัตราการเขย่า 60 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นปริมาณที่คุ้มค่าเชิงพาณิชย์ โดยผลผลิตเอทานอลสามารถเพิ่มความบริสุทธิ์เป็นร้อยละ 95 ได้ด้วยการกลั่น

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากหน่วยวิจัยเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหารทะเลในระดับ SMEs-OTOP บัณฑิตวิทยาลัย สาขาความเป็นเลิศวิศวกรรมเคมี (DoE) คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และงบประมาณแผ่นดินปี 2554

### เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2550. เอทานอลในประเทศไทย (ออนไลน์). สืบค้นจาก : <http://www.energy.go.th> [20 มิถุนายน 2550].
- ไกรยศ แซ่ลิ้ม. 2550. การผลิตเอทานอลจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้ยีสต์จากลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 46น.
- สินินาฏ จงคน นันนันทน์ สาสนานนท์ และ สิทธิเดช ธรรมรัตน์ชูชัย, 2552. การผลิตเอทานอลจากเมล็ดขนุนที่ผ่านการสกัดฟรีโอบิโอดีทส์. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี. คณะวิศวกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 4น.
- Wanderley, K. J., F. A. G. Torres, L. M. P. Moraes and C. J. Ulhoa. 2004. Biochemical characterization of  $\alpha$ -amylase from the yeast *Cryptococcus flaus*. *Microb. Lett.*231: 165-169.