บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการผลิตกรดมะนาวจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดย *Candida oleophila* NN-39 โดยเน้นศึกษาถึงอิทธิพลของสารเจือปนต่าง ๆในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาว ได้แก่

อิทธิพลของเกลือต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากกรดที่ใช้ในการย่อยกากมันสำปะหลังและด่างที่ใช้ในการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำตาลให้เป็นกลาง ซึ่งชนิดของเกลือที่ศึกษาได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมซัลเฟต จากผลการทดลองพบว่า ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกรดมะนาวมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 0.04 โมลาร์ หรือโซเดียมซัลเฟตสูงกว่า 0.01 โมลาร์ หรือแคลเซียมคลอไรด์สูงกว่า 0.06 โมลาร์ จะทำให้ผลผลิตกรดมะนาวลดลง แต่ไม่มีผลต่อการผลิตกรดไอโซซิตริกและการเจริญของเชื้อ สำหรับเกลือแคลเซียมซัลเฟตซึ่งละลายน้ำได้น้อยมากจึงสามารถกรองกำจัดออกได้ ถึงแม้จะมีบางส่วนละลายอยู่บ้าง แต่จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเกลือแคลเซียมซึ่งละลายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกรดมะนาวไม่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาว กรดไอโซซิตริกและการเจริญของเชื้อ ดังนั้นในกระบวนการย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตสารละลายน้ำตาลที่จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดมะนาวต่อไปนั้น จึงเลือกใช้กรดซัลฟิวริกในขั้นตอนการย่อยและใช้แคลเซียมคาร์บอเนตในขั้นตอนการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำตาลให้เป็นกลาง

นอกจากเกลือต่าง ๆ แล้ว ในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดแก่ยังมีสารเจือปนอื่นๆ อีก ได้แก่ สารสีคล้ำ ซึ่งเกิดภายหลังการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างและการนึ่งฆ่าเชื้อ จึงทำการศึกษาผลของสารสีคล้ำต่อการเจริญและการผลิตกรดมะนาว พบว่า ระดับของสารสีคล้ำในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังซึ่งไม่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวคือ ที่ระดับของค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร ไม่สูงกว่า 1.940

จากการเปรียบเทียบผลผลิตกรดมะนาวที่ได้จากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกซึ่งมีระดับของสารสีน้ำตาลในระดับที่ต่ำกว่า 1.940 แล้ว พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้ต่ำกว่าการใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง

ด้วยเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ดังนั้นจึงคาดว่าในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกอาจมีสารอื่นนอกเหนือจากเกลือและสารสีคล้ำ ที่ทำให้ผลผลิตกรดมะนาวลดลง จึงทำการศึกษาผลของการลดปริมาณสารเหล่านั้นในระดับต่างๆ โดยการผสมสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก (HPS) กับสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ (HST) ในอัตราส่วนต่างๆ กันพบว่า เมื่ออัตราส่วน HPS:HST สูงขึ้นทำให้ปริมาณกรดมะนาวที่ผลิตได้ลดลงเรื่อย ๆ แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณกรดไอโซซิตริก

ผลการทดลองดังกล่าวสนับสนุนสมมุติฐานที่ตั้งไว้ว่าในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกยังมีสารเจือปนอื่นซึ่งมีอิทธิพลต่อการผลิตกรดมะนาวอีกนอกเหนือจาก สารสีคล้ำ และเกลือ

นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเปลี่ยนรุ่น (lot) ของกากมันสำปะหลังซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสารละลายน้ำตาลแล้วทำให้ผลผลิตกรดมะนาวที่ได้แตกต่างกันค่อนข้างสูง ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า สารเจือปนในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังอาจมาจากสารที่ตกค้างในกากมันสำปะหลังซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสารละลายน้ำตาล จึงทำการศึกษาผลของการลดสารตกค้างในกากมันสำปะหลังโดยการล้างน้ำก่อนผ่านการย่อย พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากชุดทดลองซึ่งใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังที่ล้างน้ำสูงกว่าชุดทดลองที่ใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการล้างน้ำอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% แสดงว่าในกากมันสำปะหลังที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมสารละลายน้ำตาลมีสารบางอย่างซึ่งมีผลทำให้ผลผลิตกรดมะนาวลดลง สารเจือปนดังกล่าวอาจติดมากับหัวมันสำปะหลัง ซึ่งหัวมันสำปะหลังนี้มาจากหลายแหล่งจึงมีการผันแปรของสารที่ติดมา หรืออาจมาจากกรดซัลฟิวรัสหรือซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เติมลงไปในน้ำแป้งเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตแป้งมันสำปะหลัง กรดซัลฟิวรัสที่เติมลงไปนี้อาจตกค้างในกากมันสำปะหลัง ดังนั้นจึงศึกษาผลของกรดซัลฟิวรัสต่อการผลิตกรดมะนาว พบว่า ปริมาณกรดซัลฟิวรัสที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาว กรดไอโซซิตริก และน้ำหนักเซลล์แห้ง จากผลงานวิจัยที่รายงานนี้ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าสารเจือปนที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดมะนาวในสารละลายน้ำตาลดังกล่าวเป็นสารประเภทใด

จากรายงานของ Shah และคณะ (1993) พบว่า การใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อนโดยการผ่านตัวกลางแลกเปลี่ยนประจุภาคผ่านผงถ่านกัมมันต์และกำจัดกากออกแล้วให้ปริมาณกรดมะนาวสูงกว่าเมื่อใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ไม่ผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อนและกากออกก่อน จึงศึกษาผลของการใช้สารละลายที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง หลังผ่านตัวกลางแลกเปลี่ยนประจุภาค

ชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งพบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ผลิตได้จากสารละลายน้ำตาลที่ผ่านตัวกลางแลกเปลี่ยนประจุภาคชนิดผสมสูงกว่าชนิดบวก ไม่ผ่านตัวกลางแลกเปลี่ยนประจุภาคและชนิดลบตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shah และคณะ (1993) แม้ว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากสารละลายน้ำตาลที่ผ่านตัวกลางแลกเปลี่ยนประจุภาคชนิดผสมซึ่งสูงกว่าชุดทดลองอื่นแต่ยังคงต่ำกว่าการใช้แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยแล้วด้วยเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

จากการเปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตกรดมะนาวด้วยสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์(HST) การย่อยกากมันด้วยกรด (HPS) และการย่อยกากมันด้วยเอนไซม์(HPE) พบว่าปริมาณกรดมะนาวที่ได้จากการหมักด้วย HST สูงสุด รองลงมาคือ การหมักด้วย HPS และด้วย HPE ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไอโซซิตริกนั้นจะพบว่ามีปริมาณสูงจากการหมักด้วย HPE รองลงมาคือการหมักด้วย HPS และ HST ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความหนืดในน้ำหมักพบว่า การหมักด้วย HST น้ำหมักมีความหนืดสูง รองลงมาคือการหมักด้วย HPE ส่วนการหมักด้วย HPS น้ำหมักไม่มีความหนืด เหตุที่การหมักด้วยสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันให้ผลผลิตกรดมะนาวต่ำกว่าการหมักด้วยสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้ง เพราะในกากมันมีสารเจือปนที่มีผลทำให้การผลิตกรดมะนาวของยีสต์ลดลง จากผลการทดลองที่พบว่าการล้างกากมันก่อนการย่อยด้วยกรดจะทำให้ผลผลิตกรดมะนาวที่ได้สูงขึ้นย่อมสนับสนุนเหตุผลดังกล่าว อีกประการหนึ่งการหมักโดยใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันด้วยเอนไซม์ให้ผลผลิตกรดมะนาวต่ำกว่าการหมักโดยใช้กากมันที่ย่อยด้วยกรดก็ยิ่งแสดงให้เห็นชัดยิ่งขึ้นอีกว่าในกากมันมีสารจือปนที่มีผลให้การผลิตกรดมะนาวลดลง เนื่องจากการย่อยกากมันด้วยเอนไซม์ต้องใช้ปริมาณกากมันมากกว่าการย่อยกากมันด้วยกรดเพื่อให้ได้ปริมาณกลูโคสเท่ากันซึ่งหมายถึงปริมาณสารเจือปนย่อมมากตามไปด้วย

จากการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมัก 5 ลิตร โดยใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังซึ่งเตรียมตามภาคผนวก ข 2 พบว่าเชื้อผลิตกรดมะนาวได้เท่ากับ 122.98 กรัมต่อลิตร ที่ 96 ชั่วโมง คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 70 ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ เชาวรีย์ เรืองวิไลทรัพย์ (2539) ที่ใช้เชื้อสายพันธุ์เดียวกันในการผลิตกรดมะนาวโดยใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ และได้ปริมาณกรดมะนาวเท่ากับ 124.67 กรัมต่อลิตร ที่ 96 ชั่วโมง แต่น้ำหมักที่ได้มีความหนืดสูง จึงไม่สามารถทำการหมักต่อไปได้ สำหรับงานวิจัยนี้น้ำหมักที่ได้ไม่มีความหนืดจึงทำการหมักต่อจนครบ 120 ชั่วโมง ได้ปริมาณกรดมะนาวเท่ากับ 130.30 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลผลิตกรดมะนาวร้อยละ 68.90

จากงานวิจัยของ เชาวรีย์ เรืองวิไลทรัพย์ (2539) รายงานว่าการใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และควบคุมระดับความเข้มข้นของน้ำตาล

กลูโคสไว้ประมาณ 50 กรัมต่อลิตรในระหว่างการหมักด้วยการเติมอย่างต่อเนื่อง ทำให้ปริมาณกรดมะนาวที่ผลิตได้ที่ 96 ชั่วโมงของการหมักเท่ากับ 152.63 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อโดยเติมองค์ประกอบทั้งหมดลงในถังหมักตั้งแต่ต้น และเพื่อเป็นการลดความเข้มข้นของสารเจือปนในช่วงเวลาการหมักโดยเฉพาะในระยะต้นของการหมัก จึงทำการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันที่ใช้เติมในถังหมักในภาวะเดียวกับ งานวิจัยของ เชาวรีย์ ดังกล่าวข้างต้น พบว่า ได้ผลผลิตกรดมะนาวเท่ากับ 151.49 กรัมต่อลิตร และ 162.32 กรัมต่อลิตร ที่ 96 และ 120 ชั่วโมงของระยะเวลาในการหมัก ซึ่งปริมาณกรดมะนาวที่ได้นี้สูงกว่าการหมักโดยเติมองค์ประกอบทั้งหมดลงในถังหมักตั้งแต่ต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ เชาวรีย์ เรืองวิไลทรัพย์ (2539) และน้ำหมักที่ได้ไม่มีความหนืด

จากผลการทดลองที่รายงานนี้ แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้สูงที่จะพัฒนากระบวนการผลิตกรดมะนาวโดยใช้สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกแทนแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย