

สภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเปลือกหน่อไม้ด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางโดยการหาพื้นผิวแบบตอบสนอง
เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส

Optimum Condition of Hydrolysis of Bamboo Shoots Shell by Dilute Sulfuric Acid
Using Response Surface Methodology for Glucose Production

ศิวพร เทพจิ่ง (Siwaporn Thepjung)* ดร.เฉลิม เรืองวิริยะชัย (Dr. Chalerm Ruangviriyachai)**

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากเปลือกหน่อไม้ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปอาหารโดยใช้วิธี Acid Chlorite Delignification – Sodium Hydroxide (ACDSH) ในการปรับสภาพเปลือกหน่อไม้ และใช้การหาพื้นผิวแบบตอบสนองในการวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมของการย่อยด้วยกรดเจือจางเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคสในปริมาณสูง โดยทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของกรด อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง และเวลาที่ใช้ในการย่อย จากงานวิจัยพบว่า การปรับสภาพเปลือกหน่อไม้ด้วยวิธี ACDSH นั้นได้เซลลูโลสเพิ่มจากร้อยละ 42.79 เป็น 54.59 และสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสในปริมาณสูงสุดคือใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่างเท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้ในการย่อยเท่ากับ 71 นาที (ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดถึงร้อยละ 3.43

ABSTRACT

The glucose production from bamboo shoots shell wasting from food processing was investigated in the study. Acid Chlorite Delignification – Sodium Hydroxide (ACDSH) was used to remove the non-cellulose components. Response Surface Methodology (RSM) was used to determine the optimum condition of the acid hydrolysis in order to obtain the high yield of glucose concentration. The study was examined by 3 factors which are H_2SO_4 concentration, ratio of acid volume per sample and hydrolysis time. The extracted cellulose from the bamboo shoots shell through pretreatment with ACDSH were increased from 42.79 up to 54.59 g/100g substrate. The optimized conditions of hydrolysis were obtained by using 0.35 M of H_2SO_4 , acid ratio per sample at 20 mL/g and 71 min of hydrolysis time (at constant temperature and pressure at 121°C and 5 psi, respectively). The highest glucose concentration at 3.43 g/100g cellulose can be observed using the optimized hydrolysis condition.

คำสำคัญ: เปลือกหน่อไม้ น้ำตาลกลูโคส การหาพื้นผิวแบบตอบสนอง

Keywords: Bamboo shoots shell, Glucose, Response Surface Methodology

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

จากวิกฤตการณ์ความผันผวนของราคาน้ำมันในตลาดโลก และปริมาณน้ำมันสำรองของโลกลดลงอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว วิกฤตการณ์ดังกล่าวได้ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจโลกและการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศไทยอย่างต่อเนื่องและรุนแรง เนื่องจากประเทศไทยต้องนำเข้าน้ำมันเป็นมูลค่ามหาศาลเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อการอุปโภคบริโภคของคนในประเทศ โดยใน 3 เดือนแรกของปี พ.ศ.2557 นั้นมีการนำเข้าน้ำมันมากถึงสามแสนล้านบาท (สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน, 2557) ดังนั้นประเทศไทยจึงได้ให้ความสำคัญเกี่ยวกับการใช้เชื้อเพลิงทดแทน โดยเฉพาะเอทานอลมากขึ้นในปัจจุบัน

เอทานอล (Ethanol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่ได้จากกระบวนการหมักพืชเพื่อเปลี่ยนแป้งในพืชเป็นน้ำตาล จากนั้นน้ำตาลก็จะถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์สำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิต เอทานอลนั้นแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ น้ำตาลและแป้ง จากแผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (2551 ถึง 2565) ประเทศไทยได้ตั้งเป้าหมายในการเพิ่มปริมาณการผลิตเอทานอลในช่วงปี พ.ศ.2560-2565 เป็น 9 ล้านลิตรต่อวัน (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2551) ทำให้ส่งผลกระทบต่อวัตถุดิบจำพวกแป้งและน้ำตาลที่อาจไม่เพียงพอสำหรับกระบวนการผลิตเอทานอล ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนากระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบชนิดอื่นขึ้นมาทดแทน เช่น การผลิตเอทานอลจากวัสดุกลไกโน-เซลลูโลส ซึ่งกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากวัสดุกลไกโน-เซลลูโลสนั้นหาได้ง่ายและมีราคาถูก

ด้วยประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและมีผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอุตสาหกรรมทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นจำนวนมากเช่นกัน วัสดุเหลือทิ้งดังกล่าวส่วนมากเป็นวัสดุประเภทกลไกโน-เซลลูโลส ซึ่งสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ โดยเปลือกหน่อไม้

เป็นหนึ่งในวัสดุเหลือทิ้งที่ได้จากการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหาร จากงานวิจัยของ Ming et al. (2013) ได้ศึกษาองค์ประกอบของเปลือกหน่อไม้ พบว่า ในเปลือกหน่อไม้ประกอบด้วยลิกนินร้อยละ 10.55 เซมิเซลลูโลสร้อยละ 13.73 และเซลลูโลสร้อยละ 22.96 ซึ่งเซลลูโลสในเปลือกหน่อไม้นั้นสามารถใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการผลิตเอทานอลได้

สำหรับกระบวนการผลิตเอทานอลจากวัสดุประเภทกลไกโน-เซลลูโลสนั้นประกอบด้วย 3 ขั้นตอน โดยขั้นแรกเป็นการปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment process) เพื่อให้มีความเหมาะสมต่อกระบวนการย่อยขั้นตอนต่อมาเป็นกระบวนการย่อย (Hydrolysis) เป็นการย่อยเซลลูโลสด้วยกรดหรือเอนไซม์ร่วมกับการให้ความร้อนเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิคซ์ (กลูโคส) และขั้นตอนสุดท้ายเป็นการหมัก (Fermentation) ด้วยจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย เป็นต้น เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลรีดิคซ์เป็นเอทานอล (Yang et al., 2009)

การผลิตน้ำตาลรีดิคซ์จากวัสดุประเภทกลไกโน-เซลลูโลสมีหลายขั้นตอน แต่ละขั้นตอนใช้ระยะเวลาโดยเฉพาะกระบวนการย่อย ด้วยเหตุนี้การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการย่อยจึงเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็น ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำสถิติขั้นสูงเกี่ยวกับการหาพื้นผิวแบบตอบสนอง (Response Surface Methodology หรือ RSM) มาประยุกต์ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการย่อยและวิเคราะห์ตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการย่อย เพื่อลดขั้นตอนเวลาและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการย่อยลง จากงานวิจัยของ Romani et al. (2012) ได้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจากต้นยูคาลิปตัสโดยใช้เทคนิค RSM ในการหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* CECT-1170 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารละลายกรดซัลฟิวริกต่ออัตราส่วนตัวอย่างต่อเอนไซม์ที่เดิมคือ 4:1:16 และบรรพต (2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเซลลูโลสจากลำต้นมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจาง โดยใช้เทคนิค RSM พบว่า สภาวะที่เหมาะสม

คือการใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ อัตราส่วนปริมาตรต่อกรดตัวอย่าง 16.71 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้อยู่ 90 นาที (ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยของอับดุลลาตีฟ (2557) ได้ศึกษาการย่อยเปลือกกล้วยให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้น้ำส้มสายชู สภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยด้วยวิธี RSM พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ การใช้ปริมาณน้ำส้มสายชูร้อยละ 0.74 โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย่อย 40 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 7.04 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาปัจจัยของความเข้มข้นของกรด อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง และเวลาที่ใช้ในการย่อย ที่มีผลต่อกระบวนการย่อยเปลือกหน่อไม้ ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปอาหาร และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยเปลือกหน่อไม้ด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจาง โดยใช้ RSM เพื่อให้ได้สารละลายที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงสำหรับการใช้ในการผลิตเอทานอลในขั้นต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยการหาพื้นที่แบบตอบสนองสำหรับการย่อยเซลลูโลสจากเปลือกหน่อไม้ด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางเพื่อให้ได้สารละลายที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเพื่อใช้ในการกระบวนการผลิตเอทานอลต่อไป

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเปลือกหน่อไม้

นำเปลือกหน่อไม้มาล้างให้สะอาด ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปตากให้แห้ง จากนั้นนำไปบดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 20 - 100 mesh แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเปลือกหน่อไม้ที่ร่อนและอบได้ความชื้นเรียบร้อยแล้วไว้ในภาชนะที่มีฉนวนกันความชื้น

2. การปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมีด้วยวิธี Acid-Chlorite Delignification-Sodium Hydroxide (ACDSH)

2.1 การกำจัดลิกนินโดยใช้วิธี Acid-Chlorite Delignification (Kumar et al., 2013)

ใส่เปลือกหน่อไม้ที่แห้งและร่อนแล้วลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำประปาในอัตราส่วน 20 มิลลิลิตรต่อกรัม จากนั้นเติมสารละลาย NaClO_2 ความเข้มข้นร้อยละ 15 โดยมวลต่อปริมาตร อัตราส่วน 15 มิลลิลิตรต่อกรัม และ CH_3COOH เข้มข้น อัตราส่วน 0.5 มิลลิลิตรต่อกรัม แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พร้อมปั่นกวนตลอดเวลา เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยทุกๆ 1 ชั่วโมงจะทำการเติมสารละลาย NaClO_2 และ CH_3COOH เข้มข้นเพิ่มเมื่อครบ 3 ชั่วโมง นำเส้นใยที่เหลือมาล้างด้วยน้ำประปาแล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เรียกเส้นใยที่กำจัดลิกนินว่า “ไฮโดรเซลลูโลส”

2.2 การกำจัดเฮมิเซลลูโลส โดยใช้สารละลาย NaOH (Zhang & Cai, 2008)

ใส่ไฮโดรเซลลูโลสที่แห้งลงในขวดรูปชมพู่แล้วเติมสารละลาย NaOH 0.25 โมลาร์ ในอัตราส่วน 15 มิลลิลิตรต่อกรัม แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเส้นใยที่เหลือมาล้างด้วยน้ำประปาแล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เรียกเส้นใยที่กำจัดเฮมิเซลลูโลสว่า “เซลลูโลส”

2.3 นำเปลือกหน่อไม้ก่อนและหลังปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกหน่อไม้ โดยทดสอบสมบัติทางความร้อน (Thermal Analysis รุ่น Pyris Diamond TG/TGA) ในช่วงอุณหภูมิ 50-900 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราการเพิ่มความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน (Yang และคณะ, 2007)

2.4 นำเปลือกหน่อไม้ก่อนและหลังปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH ไปวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิว โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM รุ่น Mini-SEM SNE-4500M)

3. หาสมการที่เหมาะสมของการย่อยด้วยกรดเจือจางโดยการหาพื้นผิวแบบตอบสนอง

3.1 การทดลองเพื่อหาพื้นผิวแบบตอบสนอง ทำการศึกษาจากแผนการทดลองเซนทรัลคอมโพสิตดีไซน์ (Central Composite Design หรือ CCD) เพื่อหาความสัมพันธ์ของ 3 ตัวแปร ได้แก่ เวลาในการย่อย ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก และอัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง โดยมีรหัสของตัวแปร 5 ระดับ คือ $-\alpha$, -1, 0, +1 และ $+\alpha$ จำนวนการทดลองทั้งหมด 17 การทดลอง วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ RSM ซึ่งคำนวณจากโปรแกรม Design Expert 6.0.10 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะการทดลองหาพื้นผิวแบบตอบสนองในการย่อยเซลลูโลสจากเปลือกหน่อไม้โดยใช้ เทคนิค CCD

ปัจจัย	สัญลักษณ์	รหัส				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
[H ₂ SO ₄], M	A	0.06	0.20	0.40	0.60	0.74
Hydrolysis Time, min	B	40	60	90	120	140
Ratio of Acid, mL/g	C	13	20	30	40	47

* $\alpha = 1.68$

3.2 การย่อยเซลลูโลสด้วยกรดเจือจาง ซึ่งตัวอย่างเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH 2 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วที่ทนความดันสูง ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นและปริมาตรตามที่ออกแบบลงในขวดแต่

ละใบ จากนั้นนำไปย่อยในหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ตามเวลาที่กำหนด จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองเอาสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยชุดทดสอบหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส (Glucose Liquicolor reagent, GL บริษัท Human)

1) การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

เปิดสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำทดสอบ GL ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายสีชมพู แล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น HP 8453 บริษัท Agilent) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปวาดกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0.1–0.5 กรัมต่อลิตร เพื่อนำไปใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างขั้นต่อไป

2) การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากกระบวนการย่อย

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1 โดยเปลี่ยนจากสารละลายกลูโคสมาตรฐานเป็นสารละลายที่ได้จากกระบวนการย่อย จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แล้วนำปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้ ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่าง ดังสมการที่ (1)

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำตาล} &= \frac{R \times V \times 100}{1000 \times M} \\ (\text{กรัมต่อ} 100 \text{ กรัมเซลลูโลส}) &\dots (1) \end{aligned}$$

โดย R คือ ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส
(กรัมต่อลิตร)

V คือ ปริมาตรของกรดซัลฟิวริก (มิลลิลิตร)

M คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ผลการวิจัย

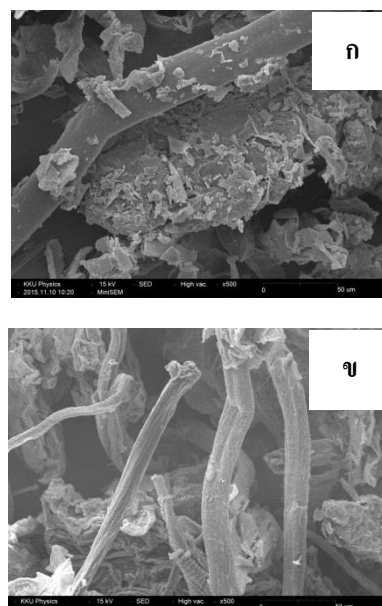
1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกหน่อไม้



ภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของเปลือกหน่อไม้ (ก),
ไฮโดรซิลิกา (ข) และเซลลูโลส (ค)

จากภาพที่ 1 แสดงลักษณะทางกายภาพของเปลือกหน่อไม้ก่อนและหลังการปรับสภาพ พบว่าเปลือกหน่อไม้ก่อนปรับสภาพ (ภาพที่ 1ก) มีลักษณะเป็นเส้นใยแข็งสีน้ำตาลเข้มเนื่องจากในโครงสร้างของเปลือกหน่อไม้ยังมีส่วนประกอบที่เป็นลิกนินอยู่ ซึ่งลิกนินนั้นไม่มีความยืดหยุ่นจึงทำให้เปลือกหน่อไม้ลักษณะแข็ง จากนั้นนำเปลือกหน่อไม้มากำจัด ลิกนินด้วยสารละลาย NaClO_2 กับ CH_3COOH เข้มข้น ได้เส้นใยไฮโดรซิลิกา (ภาพที่ 1ข) ซึ่งมีสีเหลืองอ่อนและความแข็งลดลง และจากนั้นนำไฮโดรซิลิกาไปกำจัดเฮมิเซลลูโลสด้วยสารละลาย NaOH ได้เส้นใยเซลลูโลส (ภาพที่ 1ค) เส้นใยที่ได้มีสีครีมและมีความแข็งแรงน้อยกว่าเปลือกหน่อไม้และไฮโดรซิลิกา

จากผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวของเปลือกหน่อไม้ก่อนและหลังปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH โดยใช้เทคนิค SEM พบว่า เปลือกหน่อไม้ก่อนปรับสภาพ (ภาพที่ 2ก) ลักษณะของเส้นใยจะเชื่อมยึดติดกันแน่นและมีพื้นผิวเรียบ แต่เส้นใยหลังปรับสภาพ (ภาพที่ 2ข) ลักษณะของเส้นใยจะมีการยึดเกาะแบบหลวมๆและพื้นผิวขรุขระ แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงไปของโครงสร้างเส้นใยหลังการปรับสภาพ ซึ่งเกิดจากพันธะโควาเลนต์ที่เชื่อมอยู่ระหว่างเส้นใยถูกทำลาย ทำให้เส้นใยเกิดการแยกออกจากกัน



ภาพที่ 2 ลักษณะพื้นผิววิเคราะห์โดยใช้เทคนิค SEM
ของเปลือกหน่อไม้ก่อนปรับสภาพ (ก) และ
หลังปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH (ข)

และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกหน่อไม้ด้วยการวิเคราะห์ทางความร้อนพบว่า องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกหน่อไม้ก่อนปรับสภาพประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 42.79 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 6.67 และลิกนินร้อยละ 10.74 ของน้ำหนักแห้ง ส่วนเปลือกหน่อไม้หลังปรับสภาพประกอบด้วยเซลลูโลสร้อยละ 54.59 เฮมิเซลลูโลส ร้อยละ 7.00 และลิกนินร้อยละ 7.92 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งจะ

เห็นได้ว่าการปรับสภาพด้วยวิธี ACCSH ทำให้ปริมาณของเซลล์เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 42.79 เป็นร้อยละ 54.59 โดยมวล (ร้อยละการเพิ่มขึ้นของเซลล์โดยเทียบกับ 27.58) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกหอยไม้

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละโดยน้ำหนัก	
	ก่อนปรับสภาพ	หลังปรับสภาพ
เซลล์โดยมวล	42.79	54.59
เฮมิเซลล์โดยมวล	6.67	7.00
ลิกนิน	10.74	7.92
ความชื้น	5.42	3.16
อื่นๆ*	34.38	27.33

หมายเหตุ : อื่นๆ* เช่น เถ้า ดิน เป็นต้น

2. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยด้วย

กรดเจือจางโดยการหาพื้นผิวแบบตอบสนอง

2.1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสที่วัดได้ นำไปสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส ช่วง 0.1–0.5 กรัมต่อลิตร ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร จากกราฟพบว่า สมการเชิงเส้นสองตัวแปรที่ได้ ดังแสดงในสมการที่ (2)

$$Y = 1.55X + 9.8 \times 10^{-3}X \quad \dots(2)$$

โดย X คือ ค่าการดูดกลืนแสง (A)

Y คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)

และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.99 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำตาลที่คำนวณจากกราฟมาตรฐานมีความถูกต้องและใกล้เคียงกับปริมาณของน้ำตาลกลูโคสที่ย่อยได้จริง ดังแสดงในภาพที่ 3

2.2 สภาวะที่เหมาะสมของการย่อยด้วยกรด

เจือจางโดยการหาพื้นผิวแบบตอบสนอง

จากการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่าง นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเปลือกหอยไม้ด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางจากระเบียบวิธี CCD ซึ่งได้ถูกนำมาใช้กำหนดสภาวะในการทดลอง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและสภาวะที่ใช้ในการย่อยเปลือกหอยไม้ตามระเบียบวิธี CCD ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สภาวะที่ใช้ในการทดลองและปริมาณ

น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการออกแบบการทดลองโดยใช้ CCD

ชุดการทดลอง	สภาวะ			น้ำตาลกลูโคส (กรัม ต่อ 100 กรัมของเซลล์โดยมวล)
	A	B	C	
1	0.20	60	20	2.99
2	0.60	60	20	2.78
3	0.20	120	20	2.27
4	0.60	120	20	2.24
5	0.20	60	40	2.58
6	0.60	60	40	2.39
7	0.20	120	40	2.31
8	0.60	120	40	2.65
9	0.06	90	30	2.58
10	0.74	90	30	2.41
11	0.40	40	30	2.84
12	0.40	140	30	2.17
13	0.40	90	13	3.24
14	0.40	90	47	3.14
15	0.40	90	30	3.24
16	0.40	90	30	3.24
17	0.40	90	30	3.24

หมายเหตุ :

A คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (โมลาร์)

B คือ เวลาในการย่อย (นาท)

C คือ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อกรัม)

จากตารางที่ 3 แสดงสภาวะที่ใช้ในการทดลองและปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการ

ออกแบบการทดลองโดยใช้วิธี CCD สามารถนำมา
จำลองเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ เพื่ออธิบาย
ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้กับ
ปัจจัยต่างๆที่ใช้ในการทดลอง ผลของสมการที่
คำนวณได้แสดงในสมการที่ (2)

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำตาล} &= +1.78 + 3.80A + 3.25 \times 10^{-2}B \\ (\text{กรัมต่อ100กรัม} &-2.67 \times 10^{-2}C + 1.47 \times 10^{-2}AB + \\ \text{ของเซลลูโลส}) &2.52 \times 10^{-2}AC + 5.21 \times 10^{-4}BC - \\ &7.53A^2 - 3.32 \times 10^{-4}B^2 \\ &- 5.64 \times 10^{-4}C^2 \end{aligned} \quad \dots(3)$$

โดย A คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (โมลาร์)

B คือ เวลาในการย่อย (นาที)

C คือ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง
(มิลลิลิตรต่อกรัม)

จากสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จาก
แบบจำลอง CCD สามารถนำมาทำนายปริมาณของ
น้ำตาลกลูโคสที่สภาวะต่างๆ จากนั้นนำค่าปริมาณ
น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทำนายเปรียบเทียบกับ
การทดลอง ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลอง
และจากการทำนายด้วยสมการแบบจำลอง
CCD

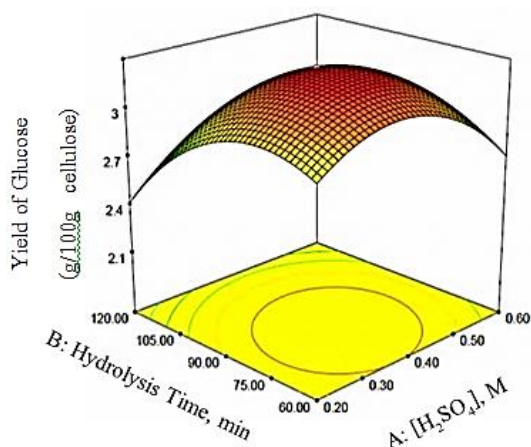
ชุด การทดลอง	น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อ100 กรัมเซลลูโลส)		ร้อยละ ความคลาดเคลื่อน
	การทดลอง	ทำนาย	
1	2.99	3.13	4.47
2	2.78	2.80	0.71
3	2.27	2.29	0.87
4	2.24	2.31	3.03

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลอง
และจากการทำนายด้วยสมการแบบจำลอง
CCD (ต่อ)

ชุด การทดลอง	น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อ100 กรัมเซลลูโลส)		ร้อยละ ความคลาดเคลื่อน
	การทดลอง	ทำนาย	
5	2.58	2.64	2.27
6	2.39	2.51	4.78
7	2.31	2.43	4.94
8	2.65	2.65	0
9	2.58	2.45	5.31
10	2.41	2.35	2.55
11	2.84	2.70	5.19
12	2.17	2.11	2.84
13	3.24	3.15	2.86
14	3.14	3.03	3.63
15	3.24	3.25	0.31
16	3.24	3.25	0.31
17	3.24	3.25	0.31

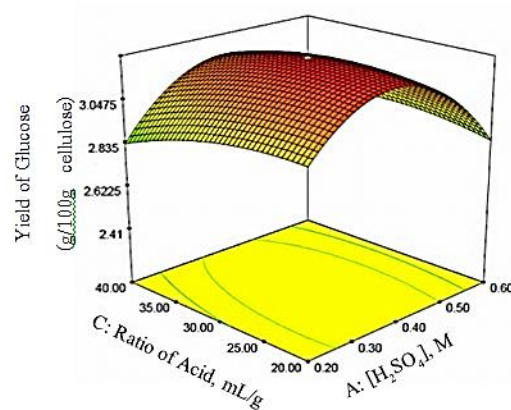
จากตารางที่ 4 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่
ได้จากการทดลองและที่ได้จากการทำนายด้วยสมการ
แบบจำลอง CCD พบว่ามีค่าใกล้เคียง โดยร้อยละ
ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยเท่ากับ 2.61 ± 1.90 ซึ่งเมื่อพิจารณา
จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความน่าเชื่อถือ
ของแบบจำลองพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
เท่ากับ 0.95 และค่าความแปรผันทั้งหมด (Adj. R^2)
เท่ากับ 0.89 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่ได้จาก CCD
มีความเหมาะสมและสามารถนำมาอธิบายปัจจัยที่มีผล
ต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้

สำหรับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของ
ปัจจัยในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้น
โดยใช้การหาพื้นผิวแบบตอบสนอง ดังแสดงในภาพที่
4 ถึง 6

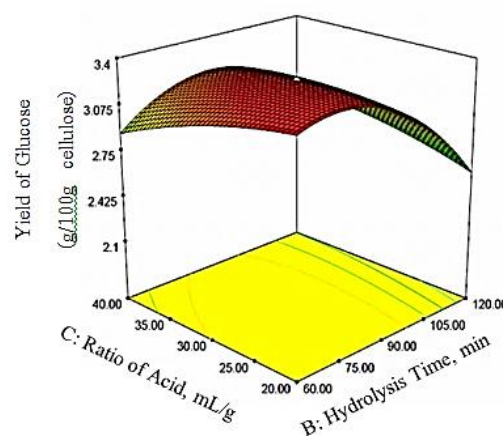


ภาพที่ 3 ผลของความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกกับ
เวลาที่ใช้ในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาล
กลูโคส

จากภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและเวลาที่ใช้ในการย่อยมีผลต่อปริมาณของน้ำตาลกลูโคส พบว่า ที่กรดซัลฟิวริกเข้มข้นของ 0.3 – 0.4 โมลาร์ และเวลาในการย่อย 70 - 75 นาที สามารถย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้ในปริมาณสูงสุด โดยถ้าใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและเวลาในการไฮโดรไลซิสสั้นเกินไป จะทำให้ปริมาณน้ำตาลที่ได้มีค่าลดลง เป็นผลเนื่องจากเกิดกระบวนการการย่อยที่ไม่สมบูรณ์ จึงส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้มีปริมาณน้อย แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและเวลาในการย่อยมากเกินไป จะทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยลดลง เป็นผลเนื่องมาจากน้ำตาลกลูโคสที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยเปลี่ยนไปเป็นสารอื่น จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อย ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลสสูงคือที่กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.3 – 0.4 โมลาร์ และเวลาในการย่อย 70 - 75 นาที



ภาพที่ 4 ผลของความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกกับ
อัตราส่วนของกรดต่อตัวอย่างต่อปริมาณ
น้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ 5 ผลของเวลาที่ใช้ในการย่อยกับอัตราส่วน
ของกรดต่อตัวอย่างต่อปริมาณน้ำตาล
กลูโคส

จากภาพที่ 4 และภาพที่ 5 แสดงให้เห็นเมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของกรดต่อตัวอย่างโดยการเพิ่มอัตราส่วนของกรดต่อตัวอย่างให้มีค่ามากขึ้น พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการย่อยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ถึงแม้จะใช้เวลาในการย่อยหรือความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเพิ่มขึ้นก็ตาม แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนของกรดต่อตัวอย่างมีผลน้อยมากต่อการย่อย โดยอัตราส่วนของกรดต่อตัวอย่างที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดช่วง 20 - 25 มิลลิลิตรต่อ

กรัมของเซลลูโลส เพราะให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดและไม่สิ้นเปลืองสารเคมี ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยตามไปด้วย

จากแบบจำลองสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากแบบจำลอง CCD นำมาวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยเซลลูโลสจากเปลือกหน่อไม้เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสปริมาณสูงสุด พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการย่อยเซลลูโลสจากเปลือกหน่อไม้เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสปริมาณสูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการย่อยที่ได้จากแบบจำลอง CCD

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก	0.35 โมลาร์
อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่าง	20 มิลลิลิตรต่อกรัม
เวลาที่ใช้ในการย่อย	70.69 นาที

จากตารางที่ 5 แสดงสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการย่อยที่ได้จากแบบจำลอง CCD พบว่าปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการทำนายมีค่าสูงสุดเท่ากับ 3.34 กรัมต่อ 100 กรัมเซลลูโลส จากนั้นทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่ใกล้เคียงกับแบบจำลอง CCD คือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.35 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่างเท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้ในการย่อยเท่ากับ 71 นาที พบว่า ได้น้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 3.43 กรัมต่อ 100 กรัมของเซลลูโลส ร้อยละความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยเท่ากับ 2.73 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการทำนาย

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยเซลลูโลสจากเปลือกหน่อไม้ด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจาง โดยการหาพื้นที่ผิวแบบตอบสนองเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดสำหรับใช้ใน

การกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล จากงานวิจัยพบว่า เปลือกหน่อไม้ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี ACDSH สามารถเตรียมเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 42.79 เป็นร้อยละ 54.59 โดยมวล มวล (ร้อยละการเพิ่มขึ้นของเซลลูโลสเท่ากับ 27.58) จากนั้นออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยโดยใช้วิธี CCD ในการย่อยเซลลูโลส แล้วจำลองเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้กับปัจจัยต่างๆที่ใช้ในการทดลอง ผลของสมการที่คำนวณได้ดังแสดงในสมการ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำตาล} &= +1.78 + 3.80A + 3.25 \times 10^{-2}B \\ (\text{กรัมต่อ 100 กรัม} &-2.67 \times 10^{-2}C + 1.47 \times 10^{-2}AB + \\ \text{ของเซลลูโลส}) &2.52 \times 10^{-2}AC + 5.21 \times 10^{-4}BC - \\ &7.53A^2 - 3.32 \times 10^{-4}B^2 \\ &- 5.64 \times 10^{-4}C^2 \end{aligned}$$

โดยมีความสัมพันธ์ของค่าจากการทดลองพบว่า ความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยร้อยละ 2.61 ± 1.90 และค่าที่ทำนายได้คิดเป็น R^2 เท่ากับ 0.9508 รวมทั้งมีค่า $\text{Adj. } R^2$ เท่ากับ 0.89 และสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการย่อยเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสปริมาณสูงสุดคือการใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.35 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่างเท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้ในการย่อยเท่ากับ 70.69 นาที จะได้น้ำตาลกลูโคสจากการทำนายเท่ากับ 3.34 กรัมต่อ 100 กรัมเซลลูโลส จากนั้นทดลองโดยใช้สภาวะใกล้เคียงที่ได้จากแบบจำลองโดยใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ อัตราส่วนกรดต่อตัวอย่างเท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อกรัม และเวลาที่ใช้ในการย่อย 71 นาที สามารถเตรียมน้ำตาลกลูโคสได้สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 กรัมต่อ 100 กรัมเซลลูโลส ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทำนาย

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สควท.) และขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน.

แผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (พ.ศ.2551-2565). กรุงเทพมหานคร: กระทรวงพลังงาน; 2551.

บรรพต กลิ่นประทุม. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยลำต้นมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางโดยใช้วิธีพื้นผิวแบบตอบสนองเพื่อผลิตลิกโนเซลลูโลสิกเอทานอล [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี]. ขอนแก่น: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2557

สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน. สถานการณ์พลังงานไทย ช่วง 3 เดือนแรกของปี 2557. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงพลังงาน; 2557.

อับดุลลาตีฟ ดอโรอแม และสินินาญ จงคง. การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกกล้วยด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู. วารสารวิศวกรรมลาดกระบัง 2557; 31 (1): 31-36.

Kumar, R., Hu, F., Hubbell, CA., Ragauskas, AJ. And Wyman, CE. Comparison of laboratory delignification method, their selectivity and impact on physiochemical characteristics of cellulose biomass. Bioresource Technology 2013; 130: 372-382.

Ming, X.H., Qing, L., Xinying, L., Qichun, H., Guoquan, H., Ke, P., Qili, Z. and Jin, W. (2013). Bio-ethanol production from bamboo residues with lignocellulose fractionation technology (LFT) and separate hydrolysis fermentation (SHF) by *Zymomonas Mobilis*. Biomass and Bioenergy 2013; 2(1): 15-24.

Romani, A., Garrote, G. and Parajo, J.C. Bioethanol production from autohydrolyzed *Eucalyptus globulus* by simultaneous saccharification and fermentation operating at high solids loading. Fuel 2012; 94(April): 305-312.

Yang H., Yan R., Chen H., Lee DH., Zheng C. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. Fuel 2007; 86: 1781-1788.

Yang, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Burns, J.C. and Cheng, J. Saccharification and fermentation of dilute-acid-pretreated freeze-dried switchgrass. Energy Fuels 2009; 23(11): 5626-5635.

Zhang Q. and Cai W. Enzymatic hydrolysis of alkali-pretreated rice straw by *Trichoderma reesei* ZM4-F3. Biomass and Bioenergy 2008; 32(12): 1130-1135.