

การผลิตน้ำตาลรีตีฟจากขานอ้อย โดยการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน
ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การผลิตน้ำตาลรีตีวซ์จากขานอ้อย โดยการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน
ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Reducing Sugars by Two-step Hydrolysis of
Sugarcane Bagasse with Hot-compressed Water and Cellulase Enzyme



A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Bachelor of Engineering in Chemical Engineering
Faculty of Engineering,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาานิพนธ์เรื่อง การผลิตน้ำตาลรีตีวซ์จากชานอ้อย โดยการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน
ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส
โดย นางสาวบุษกร แพงพงษ์มา
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ณัฐนนท์ ไพบุลย์ศิลป์
ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญาานิพนธ์นี้ได้ รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญาานิพนธ์



ประธานกรรมการ

(ดร.ณัฐนนท์ ไพบุลย์ศิลป์)



กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อัญชลีพร วาริตสวัสดิ์ หล่อทองคำ)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขานอ้อย โดยการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส
โดย	นางสาวบุษกร แพงพงษ์มา
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขานอ้อยด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน โดยใช้น้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส ขั้นตอนที่ 1 เป็นการไฮโดรไลซิสขานอ้อยเพื่อย่อยสลายเอมิเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 190–290 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0–60 นาที ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะปริมาตร 10 มิลลิลิตร ขั้นตอนที่ 2 เปรียบเทียบการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยที่ได้จากภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 1 คือ เมื่อผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด โดยใช้น้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 230–270 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0–30 นาที และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส จากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 คือ อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที มีร้อยละผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์ 22.0 โดยมวล คิดเป็นร้อยละผลได้คีนมาเท่ากับ 81.3 โดยมวล กากของแข็งที่เหลือร้อยละ 54.7 โดยมวล ประกอบด้วยเอมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 0.7, 33.5 และ 12.6 โดยมวล ตามลำดับ องค์ประกอบที่เหลือร้อยละ 7.9 โดยมวล ประกอบด้วยเถ้าและสารประกอบอื่นๆ สำหรับขั้นตอนที่ 2 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันคือที่อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที มีร้อยละผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์ 6.0 โดยมวล คิดเป็นร้อยละผลได้คีนมาเท่ากับ 14.6 โดยมวล เมื่อเปรียบเทียบผลดังกล่าวกับการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าการใช้เอนไซม์สามารถผลิตเซลโลแซ็กคาไรด์ในรูปกลูโคสได้สูงกว่า คือร้อยละ 24.5 โดยมวล คิดเป็นร้อยละผลได้คีนมาเท่ากับ 54.3 โดยมวล การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งใช้อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดการควบแน่นของลิกนินปกคลุมพื้นผิวกากของแข็ง และส่งผลให้เซลลูโลสเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้ภายใต้ภาวะดังกล่าวยังเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำและการแตกโมเลกุลของกลูโคสจึงทำให้ร้อยละผลได้ของกลูโคสต่ำ

Report Title	Production of Reducing Sugars by Two-step Hydrolysis of Sugarcane Bagasse with Hot-compressed Water and Cellulase Enzyme
By	Ms.Butsakorn Pangpongma
Degree	Bachelor of Engineering
Program	Chemical Engineering
Year	2016
Advisor	Dr.Nattanon Phaiboonsilpa

ABSTRACT

This work aimed to produce a reducing sugars from sugarcane bagasse by two-step hydrolysis with hot-compressed water and cellulase enzyme. The best conditions of the two-step hydrolysis were justified in terms of the maximum yield of total reducing sugars. In the first stage, the hydrolysis of sugarcane bagasse to decompose the hemicelluloses was studied in a 10-ml batch reactor by using hot-compressed water at a temperature of 190–290°C for 0–60 min. In the second stage, the hydrolysis of the sugarcane bagasse residue obtained from the first-stage hydrolysis at the best conditions was investigated. A comparative study on the second-stage hydrolysis using hot-compressed water at 230–270°C for 0–30 min and cellulase enzyme was carried out. As a result, in the first stage, hemicelluloses were hydrolyzed to xylo-saccharides with the maximum yield of 22.0 wt% (81.3 % recovery) at 210°C and 0 min. The residue of 54.7 wt% was composed of 0.7 wt% hemicelluloses, 33.5 wt% cellulose, and 12.6 wt% lignin. The remaining compositions of 7.9 wt% was ash and other unknown compounds. In the second stage, the maximum yield of cello-saccharides of 6.0 wt% (14.6 % recovery) from the hydrolysis of first-stage residue with hot-compressed water was obtained at 260°C and 0 min. In contrast, the enzymatic hydrolysis could produce cello-saccharides at a higher yield of 24.5 wt% (54.3 % recovery). This was due to the high temperature of hot-compressed water in the second-stage hydrolysis, which led to a condensation reaction of lignin on the residue surface and caused the incomplete hydrolysis of cellulose. Furthermore, under such conditions, the dehydration reaction and fragmentation of glucose could result in low percent yield of glucose.

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะ และช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อัญชลีพร วาริตสวัสดิ์ หล่อทองคำ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ กรรมการผู้ตรวจสอบปริญญาานิพนธ์ที่ตรวจแก้รายงานให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ ที่เอื้อเฟื้อหมอนิ่งอัดไอน้ำ คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คุณพิสันต์ ผลโพธิ์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.นวดล เหล่าศิริพจน์ อาจารย์ประจำบัณฑิตวิทยาลัยร่วมด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และ ดร.วีระวัฒน์ แซ่มปรีดา หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์/ห้องปฏิบัติการพลังงานและเคมีชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการและเครื่องมือสำหรับการทดลอง และขอขอบคุณพี่ๆ ในห้องปฏิบัติการที่คอยช่วยเหลือ และสอนวิธีการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบคุณทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สัญญาเลขที่ MRG5980129 จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนเงินในการซื้อเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สุดท้ายขอขอบคุณบิดา มารดา ครอบครัว และเพื่อนๆ ที่คอยเป็นกำลังแรงใจตลอดการทำโครงการนี้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแก่บิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

บุษกร แพงพงษ์มา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	I
ABSTRACT.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญรูป.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	3
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ชีวมวล.....	4
2.2 ลิกโนเซลลูโลส.....	4
2.3 น้ำตาลรีดิวซ์.....	7
2.4 กระบวนการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส.....	8
2.5 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.....	12
2.6 การวิเคราะห์โครงสร้างความเป็นผลึกของเซลลูโลสในกากของแข็งด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์.....	13
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	19
3.1 การเตรียมขานอ้อยปราศจากสารสกัด.....	19
3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของขานอ้อย.....	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 การไฮโดรไลซิสซานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน.....	23
3.4 การไฮโดรไลซิสซานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส.....	25
3.5 การวิเคราะห์ผล.....	27
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย.....	30
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของซานอ้อย.....	30
4.2 การไฮโดรไลซิสซานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 1 ขั้นตอน.....	31
4.3 การไฮโดรไลซิสซานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน.....	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	46
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	46
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	47
บรรณานุกรม.....	48
ภาคผนวก.....	53

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 3.1	ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาสำหรับการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสในชานอ้อย.....	24
ตารางที่ 3.2	ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาสำหรับการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็ง ของชานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน.....	25
ตารางที่ 3.3	ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทด้วยเทคนิค โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.....	28
ตารางที่ 4.1	ปริมาณน้ำตาลโมลเลกุลเดี่ยวจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของชานอ้อยด้วยวิธี เคลซอนลิกนิน.....	30
ตารางที่ 4.2	องค์ประกอบทางเคมีในชานอ้อย.....	31
ตารางที่ 4.3	ผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันภายใต้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม.....	43
ตารางที่ 4.4	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้คืนมาจากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส.....	44
ตารางที่ 4.5	ผลได้และผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที และการ ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....	45
ตารางที่ ก.1	ความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่อุณหภูมิต่างๆ.....	54
ตารางที่ ค.1	พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน.....	60
ตารางที่ ค.2	พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของกลูโคสและไซโลสแฉีกคาร์ไต์ที่ได้จากการ ไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.....	61
ตารางที่ ค.3	พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของไซโลสและไซโลสแฉีกคาร์ไต์ที่ได้จากการ ไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.....	62
ตารางที่ ค.4	พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่ได้จาก การไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและ เวลาต่างๆ.....	63
ตารางที่ ค.5	พื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ชานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ค.5	พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ซานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....64
ตารางที่ ค.6	ปริมาณกลูโคสและเซลโลแซ็กคาไรด์ (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ซานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ.....65
ตารางที่ ค.7	ปริมาณไซโลสและไซโลแซ็กคาไรด์ (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ซานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ..... 66
ตารางที่ ค.8	ปริมาณเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการ ไฮโดรไลซิสซานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและ เวลาต่างๆ.....67
ตารางที่ ค.9	ปริมาณของกลูโคสและไซโลส (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสซานอ้อย ขั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส..... 68
ตารางที่ ค.10	ปริมาณกากของแข็ง (ร้อยละโดยมวล) ที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสซานอ้อย แบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน.....69
ตารางที่ ค.11	ปริมาณกากของแข็ง (ร้อยละโดยมวล) ที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสซานอ้อย แบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส.....70
ตารางที่ ค.12	ดัชนีความเป็นผลึกของกากของแข็งที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสซานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน.....71

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1	เบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส.....5
รูปที่ 2.2	สายโซ่กลูแคนในเซลลูโลส.....5
รูปที่ 2.3	การจัดเรียงตัวของสายโซ่กลูแคนในไมโครไฟบริล.....5
รูปที่ 2.4	โครงสร้างของอะราบิโนกลูโคโรโนไซแลน.....6
รูปที่ 2.5	สูตรโครงสร้างของ (ก) ทรานส์-พารา-คูมาริวแอลกอฮอล์ (ข) โคนิเฟอริล แอลกอฮอล์ (ค) ไซนาฟิลแอลกอฮอล์.....7
รูปที่ 2.6	ผลจากการปรับสภาพวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส.....8
รูปที่ 2.7	กลไกการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยกรด.....10
รูปที่ 2.8	กลไกการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....12
รูปที่ 2.9	โครมาโทแกรมของตัวอย่างสารละลายที่ประกอบด้วยฟรุกโตส กลูโคส และซูโครส.....13
รูปที่ 2.10	ลักษณะการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์.....14
รูปที่ 2.11	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงเซลลูโลส (Solka floc).....15
รูปที่ 3.1	เครื่องสกัดแบบซีอิกเลต.....20
รูปที่ 4.1	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่เกิดขึ้นในการ ไฮโดรไลซิส.....32
รูปที่ 4.2	ผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.....33
รูปที่ 4.3	ผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ.....33
รูปที่ 4.4	ผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ ต่างๆ และเวลา 0 นาที.....34
รูปที่ 4.5	ผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที.....35
รูปที่ 4.6	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที.....36
รูปที่ 4.7	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 30 นาที.....37

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.8	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิส ขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 60 นาที..... 37
รูปที่ 4.9	ดัชนีความเป็นผลึกของกากของแข็งจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน..... 38
รูปที่ 4.10	กลไกการเกิดเพอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล และสารพลอยได้อื่นๆ จาก ไซโลสและกลูโคส..... 39
รูปที่ 4.11	ปริมาณเพอร์ฟูรัลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ..... 40
รูปที่ 4.12	ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ..... 40
รูปที่ 4.13	ผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อย ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที..... 42
รูปที่ 4.14	ผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อย ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที..... 42
รูปที่ ก.1	รูปแบบของอนุกรมและความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่ใช้ในการทดลอง ไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน..... 54
รูปที่ ค.1	กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของกลูโคส..... 58
รูปที่ ค.2	กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของไซโลส..... 58
รูปที่ ค.3	กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของเพอร์ฟูรัล..... 59
รูปที่ ค.4	กราฟมาตรฐานพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของ ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล..... 59

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในแต่ละปีประเทศไทยมีวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรเป็นจำนวนมาก จากข้อมูลการเพาะปลูก ในปี 2556 พบว่ามีวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร 134,134,102 ตัน แต่มีการนำไปใช้ประโยชน์ 71,289,681 ตัน ทำให้เหลือวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรอีก 62,844,420 ตัน ที่ถูกกำจัดทิ้ง (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2559) ในการกำจัดวัสดุเหล่านี้ ส่วนใหญ่ใช้วิธีการเผาซึ่งทำให้เกิดเขม่าควัน และเถ้าลอย ซึ่งก่อให้เกิดมลภาวะทางอากาศ นอกจากนี้การเผาทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะโลกร้อนอีกด้วย ปัจจุบันจึงมีการศึกษาวิธีการนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรที่ต้องกำจัดไปใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่น การนำไปผลิตเป็นพลังงานทดแทน เป็นต้น

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยส่วนมากเป็นวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocelluloses) ที่ได้มาจากพืช ลิกโนเซลลูโลสมีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลักภายในโครงสร้างของผนังเซลล์ เนื่องจากลิกโนเซลลูโลสมีโครงสร้างที่แข็งแรง ในกระบวนการผลิตเอทานอลจากลิกโนเซลลูโลสจึงจำเป็นต้องปรับสภาพ (Pretreatment) เพื่อทำลายโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส โดยกำจัดลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสบางส่วน ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าถึงโครงสร้างของเซลลูโลสได้มากขึ้น และเกิดการไฮโดรไลซิสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสสามารถทำได้โดยวิธีการต่างๆ ได้แก่ วิธีการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ เช่น การบดเพื่อลดขนาด และเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยา การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) การไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือด่าง การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis) เป็นต้น

จากการศึกษาเรื่องการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางแบบ 2 ขั้นตอน (ตรัยนรา และนิพิชฌน์, 2558) พบว่าการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก ในขั้นตอนที่ 1 ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส และเวลา 30 นาที ด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสขานอ้อยเพื่อย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส และมีร้อยละผลได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 25.0 โดยมวล แต่ในขั้นตอนที่ 2 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยจากขั้นตอนที่ 1 มีค่าต่ำ คือเพียงร้อยละ 4.4 โดยมวล ซึ่งเกิดจากภาวะการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกที่อุณหภูมิสูง 170

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 30 นาที ทำให้โมเลกุลลิกนินเกิดการควบแน่นปกคลุมพื้นผิวของเซลลูโลสและไม่สามารถเกิดการไฮโดรไลซิสได้อย่างสมบูรณ์

ดังนั้นโครงการงานนี้จึงสนใจศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลสแทนการใช้กรด โดยในขั้นตอนที่ 1 จะศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันเพื่อเปลี่ยนเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ และขั้นตอนที่ 2 จะศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอัดความดันหรือเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้กากของแข็งของขานอ้อยที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมเป็นวัตถุดิบตั้งต้นเพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งคาดว่า การใช้ น้ำร้อนอัดความดันจะสามารถหลีกเลี่ยงปฏิกิริยาการควบแน่นของลิกนิน และช่วยให้เซลลูโลสเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้อย่างสมบูรณ์ในขั้นตอนที่ 2 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบผลกับการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจะสามารถชี้ให้เห็นวิธีการไฮโดรไลซิสที่เหมาะสมในขั้นตอนดังกล่าวได้ โดยพิจารณาจากผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์

ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากขานอ้อย โดยวิธีการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณสูงสุดจากเฮมิเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 และจากการเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 2

1.3 ขอบเขตการศึกษา

- 1.3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของขานอ้อย ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน
- 1.3.2 ศึกษาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนที่ 1 การไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน โดยพิจารณาจากผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด
- 1.3.3 ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน
- 1.3.4 ศึกษาอุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนที่ 2 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด และเปรียบเทียบผลกับการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

- 1.3.5 ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน และด้วยเอนไซม์เซลลูเลส
- 1.3.6 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวมที่เกิดขึ้นจากวิธีการไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน โดยใช้น้ำร้อนอัดความดัน และด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

- 1.4.1 ศึกษาทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
- 1.4.2 เตรียมตัวอย่างขานอ้อยที่ปราศจากสารสกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี
- 1.4.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนที่ 1 ในการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน
- 1.4.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนที่ 2 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยที่เหลือหลังจากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันในขั้นตอนที่ 1 โดยใช้น้ำร้อนอัดความดัน และด้วยเอนไซม์เซลลูเลส
- 1.4.5 จัดทำรายงานและนำเสนอผลงาน

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ

- 1.5.1 สามารถนำวิธีการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอนด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลสไปประยุกต์ใช้ในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสชนิดอื่นๆ เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้
- 1.5.2 ทราบชนิดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส และใช้เป็นข้อมูลในการศึกษากระบวนการแปลงสภาพในขั้นตอนถัดไปเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่า หรือเป็นแหล่งพลังงานทางเลือก เป็นต้น
- 1.5.3 ชี้ให้เห็นศักยภาพและความเป็นไปได้ของการใช้ขานอ้อยหรือวัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นแหล่งพลังงานทดแทน
- 1.5.4 ลดปริมาณมลพิษจากวิธีการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยการเผาทิ้ง

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีวมวล

ชีวมวล (Biomass) คือ สารอินทรีย์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตและเป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติ สามารถนำมาผลิตเป็นพลังงานได้ ชีวมวลประกอบด้วยธาตุหลักๆ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน นอกจากนี้ยังมีไนโตรเจน และสารอนินทรีย์อื่นๆ อีกปริมาณเล็กน้อย สามารถจำแนกแหล่งที่มาชีวมวลอย่างง่ายได้ 3 ประเภท ได้แก่

1. ชีวมวลจากพืช เช่น ไม้ ชี้อเลื้อย เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร กากจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมการเกษตร
2. ชีวมวลจากสัตว์ เช่น มูล ชาก หรือไขมันของสัตว์
3. ชีวมวลจากอุตสาหกรรมหรือกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ของเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร เศษอาหาร น้ำทิ้งจากครัวเรือน และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

2.2 ลิกโนเซลลูโลส

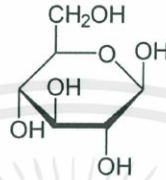
ลิกโนเซลลูโลส (Lignocelluloses) คือ สารอินทรีย์ที่พบอยู่ในผนังเซลล์พืช ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารอนินทรีย์ ลิกโนเซลลูโลสที่พบสามารถจำแนกประเภทได้ดังต่อไปนี้ เศษวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปไม้ ทั้งไม้เนื้อแข็ง (Hardwood) และไม้เนื้ออ่อน (Softwood) เศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น ชานอ้อย แกลบ ฟางข้าว และชังข้าวโพด ขยะจากกระบวนการแปรรูปอาหารและจากบ้านเรือน รวมถึงมูลสัตว์ต่างๆ (อรุณี, 2555) โดยส่วนใหญ่ลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณร้อยละ 30-50 โดยมวล เฮมิเซลลูโลสประมาณร้อยละ 20-40 โดยมวล ลิกนินประมาณร้อยละ 15-25 โดยมวล และอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน และสารอนินทรีย์ประมาณร้อยละ 3-35 โดยมวล (Lee และคณะ, 2008)

2.2.1 เซลลูโลส

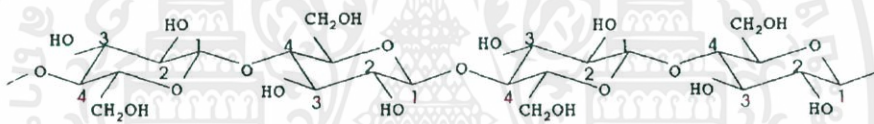
เซลลูโลส (Cellulose) เป็นโพลิเมอร์ขนาดใหญ่ ประกอบด้วยหน่วยย่อย คือ กลูโคส (Glucose) ที่มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.1 เรียกว่า เบต้า-D-กลูโคไพราโนส (β -D-Glucopyranose) เรียงต่อกันเป็นสายโซ่ตรง ยาวประมาณ 2,000–10,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 ไกลโคซิดิก (β -(1,4) Glycosidic linkage) เกิดเป็นสายโซ่กลูแคน (Glucan) แสดงดังรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

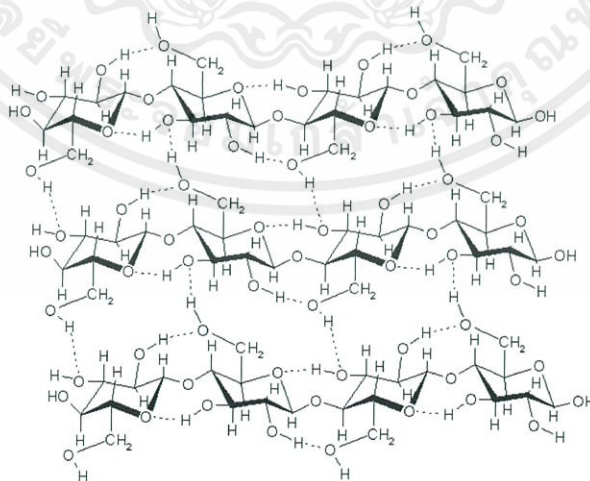
เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักในวัสดุคัลลินเซลลูโลส โดยพบอยู่ร่วมกับเอมิเซลลูโลสและ ลิกนินในส่วนของผนังเซลล์พืช โครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยเส้นใยเล็กๆ เรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) เกิดจากสายโซ่กลูแคนจำนวนมากเชื่อมต่อกันอย่างแข็งแรงด้วยพันธะไฮโดรเจน ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล ดังรูปที่ 2.3 ทำให้เซลลูโลสมีโครงสร้างผลึกและไม่ละลายน้ำ



รูปที่ 2.1 เบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (Wikipedia, 2017)



รูปที่ 2.2 สายโซ่กลูแคนในเซลลูโลส (Bobleter และคณะ, 1994)



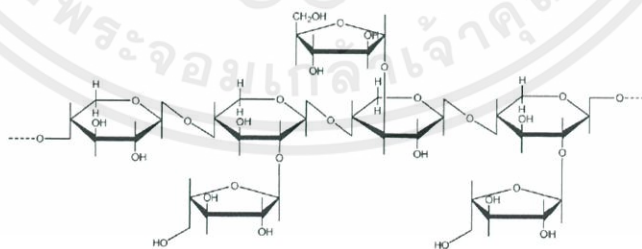
รูปที่ 2.3 การจัดเรียงตัวของสายโซ่กลูแคนในไมโครไฟบริล (Lustri และคณะ, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในธรรมชาติ เซลลูโลสมีโครงสร้าง 2 แบบ คือ เซลลูโลสแบบผลึก (Crystalline cellulose) เกิดจากการเรียงตัวของไมโครไฟบริลอย่างเป็นระเบียบ และเซลลูโลสแบบกึ่งผลึก (Paracrystalline cellulose) เกิดจากการเรียงตัวของไมโครไฟบริลที่ไม่เป็นระเบียบ ทำให้เซลลูโลสแบบกึ่งผลึกถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาทางเคมีหรือเอนไซม์ได้ง่ายกว่าเซลลูโลสแบบผลึก

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส

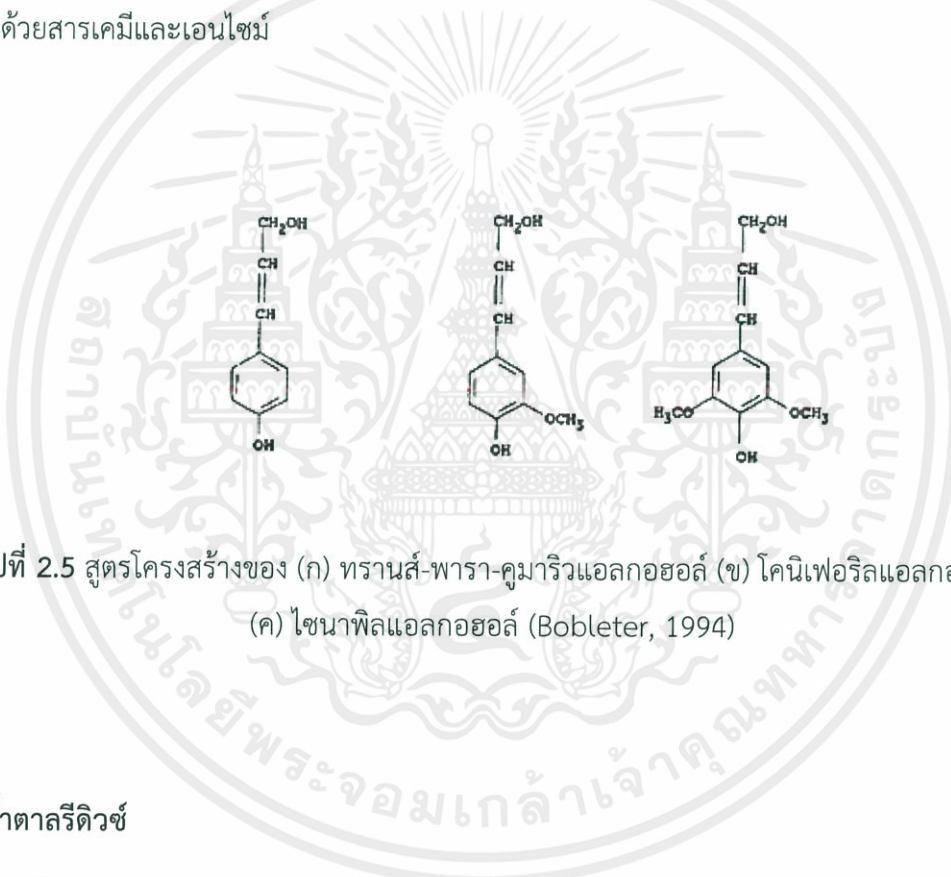
เฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses) เป็นเฮเทอโรโพลิเมอร์ (Heteropolymer) ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิดเชื่อมต่อกัน เช่น ไซโลส (Xylose) อะราบินอส (Arabinose) แมนโนส (Mannose) กลูโคส และกาแล็กโทส (Galactose) มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 200 หน่วย โดยมีโครงสร้างแบบผสมทั้งโซ่ตรงและโซ่กิ่ง อัตราส่วนและชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสขึ้นอยู่กับชนิดของพืช สำหรับวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร พบว่ามีปริมาณน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 85-93 โดยมวล โดยโมเลกุลของไซโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 โกลโคซิดิก เป็นสายโซ่ตรง เรียกพอลิเมอร์ของไซโลสนี้ว่าไซแลน (Xylan) และมีน้ำตาลหรือกรดอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ต่อเป็นโซ่กิ่ง ทำให้เฮมิเซลลูโลสมีโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (Bobleter, 1994) ตัวอย่างโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรแสดงดังรูปที่ 2.4 เฮมิเซลลูโลสสลายตัวได้ง่ายโดยการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกรดหรือด่างที่อุณหภูมิต่ำ แต่อาจทำให้เกิดสารพลอยได้ (By-products) ที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้การขจัดลิกนิน (Delignification) ก่อนการทำปฏิกิริยาจะทำให้ผลผลิตจากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสเพิ่มขึ้น



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของอะราบินอกลูโคโรโนไซแลน (Arabinoglucuronoxylan)
(Bastawde และคณะ, 1992)

2.2.3 ลิกนิน

ลิกนิน (Lignin) เป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติกที่พบมากบริเวณขอบมูมของผนังเซลล์พืช มีปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ลิกนินเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบ 3 มิติ ไม่เป็นผลึก (Cheng และคณะ, 2008) ลิกนินประกอบด้วยโมเลกุลหน่วยย่อยที่เป็นวงแหวน ได้แก่ ทรานส์-พารา-คูมาริวแอลกอฮอล์ (*trans-p-coumaryl alcohol*) โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ (Coniferyl alcohol) และ ซินาปิลแอลกอฮอล์ (Sinapyl alcohol) ดังแสดงในรูปที่ 2.5 (Bobleter, 1994) เชื่อมต่อกันแบบสุมด้วยพันธะอีเทอร์ พันธะเอสเทอร์ หรือพันธะระหว่างคาร์บอน 2 โมเลกุล โครงสร้างลิกนินจึงมีความซับซ้อน และมีคุณสมบัติไม่มีขั้ว ทำให้ลิกนินมีความทนทานต่อการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์



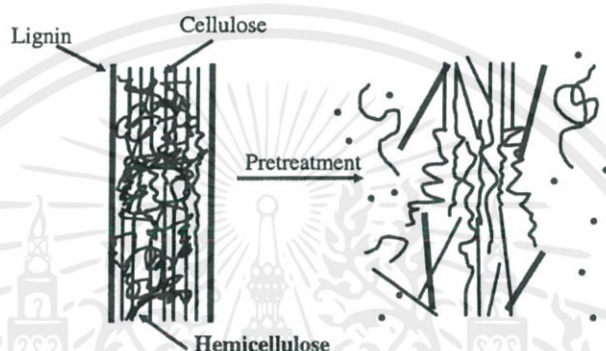
รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ (ก) ทรานส์-พารา-คูมาริวแอลกอฮอล์ (ข) โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ (ค) ซินาปิลแอลกอฮอล์ (Bobleter, 1994)

2.3 น้ำตาลรีดิวซ์

น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) คือ น้ำตาลที่มีหมู่อัลดีไฮด์หรือหมู่คีโตนอิสระ ทำให้มีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ได้ น้ำตาลที่จัดเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) ทั้งหมด เช่น กลูโคส กาแล็กโทส ฟรุกโทส ซิโลส อะราบิโนส และ แมนโนส เป็นต้น น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharides) และน้ำตาลหลายโมเลกุล (Polysaccharides) บางชนิดที่สามารถแปลงสภาพให้อยู่ในรูปสายโซ่เปิดของหมู่แอลดีไฮด์หรือคีโตนได้ เช่น แลคโทส (Lactose) มอลโทส (Maltose) และเซลโลไบโอส (Cellobiose) เป็นต้น

2.4 กระบวนการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส

วัตถุประสงค์ของกระบวนการปรับสภาพ คือ การกำจัดลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสออกจากโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส ลดความเป็นผลึก เพิ่มความเป็นรูพรุนของวัสดุ และเพิ่มพื้นที่ผิวเซลลูโลส ดังแสดงในรูปที่ 2.6 เพื่อให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และเกิดการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสได้อย่างสมบูรณ์ (Zheng และคณะ, 2009) วิธีการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสสามารถแบ่งได้ 4 ประเภทดังนี้



รูปที่ 2.6 ผลจากการปรับสภาพวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส (Mosier, 2005)

2.4.1 วิธีการทางกายภาพ

2.4.1.1 การใช้แรงทางกล

วิธีการนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลง ทำลายโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสให้มากขึ้น สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทุบ การบด การม่ เป็นต้น

2.4.1.2 การไพโรไลซิส

กระบวนการไพโรไลซิส (Pyrolysis) เป็นกระบวนการแตกตัวหรือสลายโมเลกุลของสารประกอบหรือวัสดุต่าง ๆ ในสภาวะปราศจากออกซิเจน ภายใต้อุณหภูมิสูง ผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นจะประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ของแข็ง หรือ ถ่าน ของเหลวซึ่งมีลักษณะและสมบัติคล้ายน้ำมัน และก๊าซ วิธีการไพโรไลซิสลิกโนเซลลูโลสส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเถ้าที่เกิดขึ้นจากการเผา วิธีนี้จึงไม่เป็นที่นิยม (อรทัย และคณะ, 2559)

2.4.2 วิธีการทางเคมี

2.4.2.1 การไฮโดรไลซิสด้วยต่าง

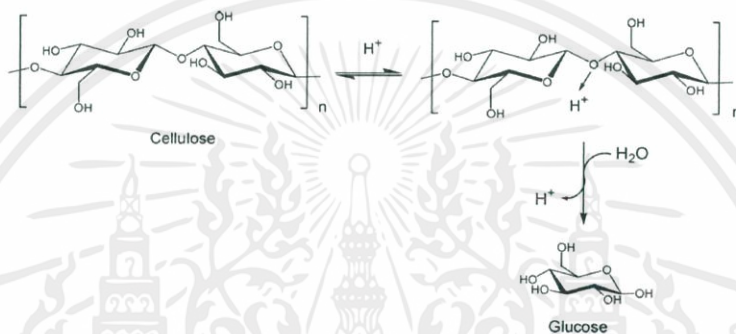
กลไกการทำงานของต่างในการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ การทำให้เกิดการบวมภายในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส เมื่อพันธะที่เชื่อมต่อกภายในโครงสร้างดังกล่าวถูกทำลาย จะทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้น เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ นอกจากนี้ต่างยังสามารถทำลายพันธะเคมีระหว่างโมเลกุลของลิกนินและทำลายพันธะเคมีระหว่างโมเลกุลของลิกนินกับเฮมิเซลลูโลส การใช้ต่างจึงเป็นที่นิยมในกระบวนการกำจัดลิกนิน ออกจากโครงสร้างผนังเซลล์พืช ปริมาณลิกนินในลิกโนเซลลูโลสส่งผลต่อประสิทธิภาพกระบวนการปรับสภาพวัสดุด้วยการใช้ต่าง (Sun, 2002) ดังนั้น วิธีการนี้จึงเหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสลิกนินในพืชที่ไม่มีเนื้อไม้ (Herbaceous) เช่น อ้อย หญ้าหรือข้าวโพด เป็นต้นมากกว่าในไม้เนื้อแข็ง เนื่องจากโดยส่วนใหญ่พืชที่ไม่มีเนื้อไม้จะมีปริมาณลิกนินน้อย ต่างที่นิยมใช้ในการไฮโดรไลซิสลิกนิน ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมคาร์บอเนต แอมโมเนีย และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Kim และคณะ, 2016)

2.4.2.2 การไฮโดรไลซิสด้วยกรด

กรดที่สามารถนำมาปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ กรดซัลฟิวริก กรดไฮโดรคลอริก กรดไนตริก หรือกรดฟอสฟอริก สามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเร่งปฏิกิริยา และลดอุณหภูมิในการไฮโดรไลซิส (Palmqvist และ Hahn-Hagerdal, 2002) กรดซัลฟิวริกนิยมนำมาใช้ในการปรับสภาพ เนื่องจากมีราคาถูก และให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูง โดยทั่วไปพบว่าการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายกรดเจือจางที่อุณหภูมิสูงและเวลาสั้นๆ ทำให้มีผลได้ไซโลสสูง ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการไฮโดรไลซิสด้วยกรด คือ ชนิดของกรด ความเข้มข้นที่ใช้ อุณหภูมิ และเวลา การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสโดยการใช้กรดซัลฟิวริกเจือจางที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เฮมิเซลลูโลสจะสามารถถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีผลได้คืนมา (Recovery yield) สูงถึงประมาณร้อยละ 80–95 โดยมวล (Mcmillan และคณะ, 1994) จากนั้นสามารถใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นกลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Silverstien และคณะ, 2007)

อุณหภูมิและความดันที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสด้วยกรดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของกรด หากใช้กรดเจือจางจะต้องใช้อุณหภูมิและความดันที่สูงกว่ากรณีใช้กรดเข้มข้น การเพิ่มความเข้มข้นของกรดจะสามารถลดอุณหภูมิและความดันในการเกิดปฏิกิริยาได้ กลไกการไฮโดรไลซิส

เซลลูโลสด้วยกรดมี 3 ขั้นตอน แสดงดังรูปที่ 2.7 ขั้นตอนที่ 1 โปรตอนจากกรดเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนของพันธะไกลโคซิดิก จากนั้นในขั้นตอนที่ 2 พันธะระหว่างคาร์บอนและออกซิเจนถูกทำลายและเกิดเป็นไซคลิกคาร์โบเนียมไอออน (Cyclic carbonium ion) และขั้นตอนสุดท้าย โมเลกุลของน้ำเข้าทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วทำให้ปลดปล่อยโปรตอนออกมา เกิดการแยกและสลายพันธะโดยสมบูรณ์ และได้เส้นใยเซลลูโลสที่มีขนาดสั้นลง หากเกิดการไฮโดรไลซิสเช่นนี้อย่างต่อเนื่องไปเรื่อยๆ จะได้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ละลายน้ำได้ โดยกลูโคสจะเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายของการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส



รูปที่ 2.7 กลไกการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยกรด (Jollet และคณะ, 2009)

นอกจากนี้การไฮโดรไลซิสด้วยกรดสามารถทำให้เกิดสารพลอยได้จากปฏิกิริยาการสูญเสียของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Dehydration) เช่น เฟอร์ฟูรัล (Furfural) และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (Hydroxymethylfurfural) ซึ่งนอกจากทำให้ผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำลงแล้วยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนการหมัก และส่งผลต่อปริมาณของผลผลิตเอทานอลอีกด้วย

2.4.3 วิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี

2.4.3.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ

การระเบิดลิกโนเซลลูโลสด้วยไอน้ำ (Steam explosion) เป็นเทคนิคการใช้ไอน้ำที่มีอุณหภูมิและความดันสูงในช่วงระยะเวลาสั้น เพื่อทำลายโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส หลักการของวิธีนี้ คือ ทำให้ลิกโนเซลลูโลสอิ่มตัวด้วยไอน้ำความดันสูง จากนั้นลดความดันลงอย่างรวดเร็ว ทำให้น้ำที่อยู่ภายในโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสระเหยอย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้เส้นใยเกิดการแยกออกจากกัน และเฮมิเซลลูโลสบางส่วนถูกไฮโดรไลซิสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในขั้นตอนถัดไป และช่วยลดการเกิดสารที่เป็นตัวยับยั้งในขั้นตอนการ

ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์หรือขั้นตอนการหมัก โดยวิธีการนี้มีผลต่อกับวัสดุที่เป็นไม้เนื้อแข็งและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เนื่องจากเกิดการดัดแปลงจากเอมิเซลลูโลสขึ้นในระหว่างการทำให้อิ่มตัวด้วยไอน้ำ และกรดอะซิติกทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสต่อไป เรียกกระบวนการนี้ว่า ออโตไฮโดรไลซิส (Autohydrolysis) (Clark และ Mackie, 1987)

2.4.3.2 การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ explosion)

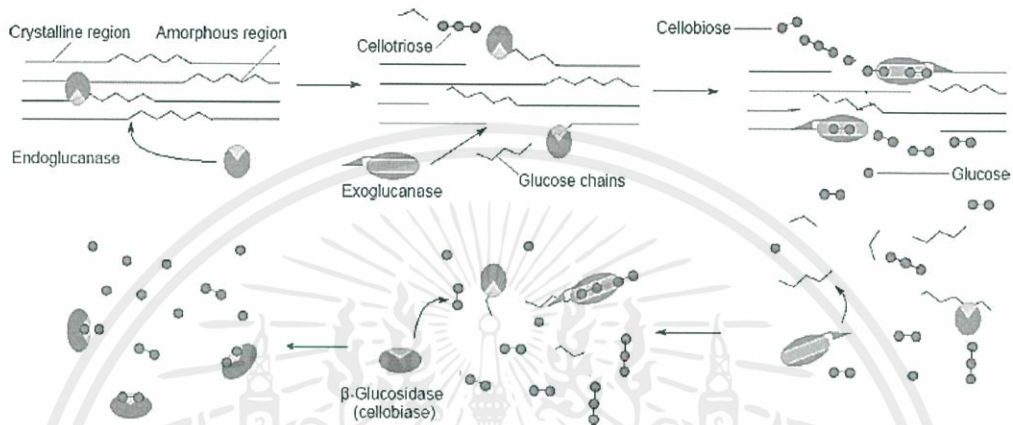
เทคนิคการระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ คือ การใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความดันมากกว่า 70 เท่าของบรรยากาศ และที่อุณหภูมิเหมาะสม ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งที่ภาวะดังกล่าวคาร์บอนไดออกไซด์จะประพฤติตัวเป็นของไหลหนืด/ไต่วิฤติ และทำหน้าที่คล้ายกับการสกัดในการละลายองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว เช่น ลิกนินออกมา หลังจากทิ้งไว้เป็นระยะเวลาที่เหมาะสม หลังการลดความดันอย่างรวดเร็ว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเปลี่ยนสถานะจากภาวะหนืด/ไต่วิฤติกลับเป็นก๊าซ ทำให้โครงสร้างของลิกนินเซลลูโลสเกิดการแยกตัวคล้ายกับการใช้วิธีระเบิดด้วยไอน้ำ แต่จะไม่เกิดด้วยขบวนการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนไฮโดรไลซิสหรือขั้นตอนการหมักเช่นเดียวกับวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ

2.4.4 วิธีการทางชีวภาพ

2.4.4.1 การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์

กระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ เป็นที่นิยมกันมาก เนื่องจากสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ปริมาณมาก และไม่เกิดสารพลอยได้ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง จึงเหมาะแก่การนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไปหมักเป็นเอทานอล เอนไซม์สำคัญที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส คือ เซลลูเลส (Cellulase) เอนไซม์ดังกล่าวเป็นของผสมเอนไซม์ที่มีความจำเพาะหลายชนิด สามารถเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส เพื่อสลายพันธะเคมีด้วยน้ำ และเกิดกลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย เนื่องจากความจำเพาะในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ในกระบวนการไฮโดรไลซิสจึงใช้เอนไซม์หลายชนิด กลไกการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์แสดงในรูปที่ 2.8 ในขั้นตอนแรก เอนไซม์เอ็นโดเซลลูเลส (Endocellulase) จะทำลายโครงสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่กลูแคนในเซลลูโลส ทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสถูกทำลาย เกิดเป็นสายโซ่กลูแคนอิสระ ต่อมาเอนไซม์เอกโซเซลลูเลส (Exocellulase) จะไฮโดรไลซ์สายโซ่กลูแคนให้สั้นลงเป็นเซลโลไบโอส ขั้นตอนสุดท้าย เอนไซม์เบต้าไกลโคซิเดส (β -glycosidase) จะไฮโดรไลซ์เซลโลไบโอสเกิดเป็นกลูโคส (Arantes และ Saddler, 2010) อัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเซลลูโลส ขึ้นอยู่กับปริมาณและความบริสุทธิ์ของเซลลูโลส

เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสและลิกนินจะทำหน้าที่เป็นตัวขัดขวางการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ดังนั้น หากลดปริมาณองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินในวัสดุด้วยวิธีการปรับสภาพก่อน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ได้ดีขึ้น (Massutto และคณะ, 2007) นอกจากนี้ ความเป็นผลึกของเซลลูโลสส่งผลให้อัตราการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ช้าลง (Fan และคณะ, 1980)

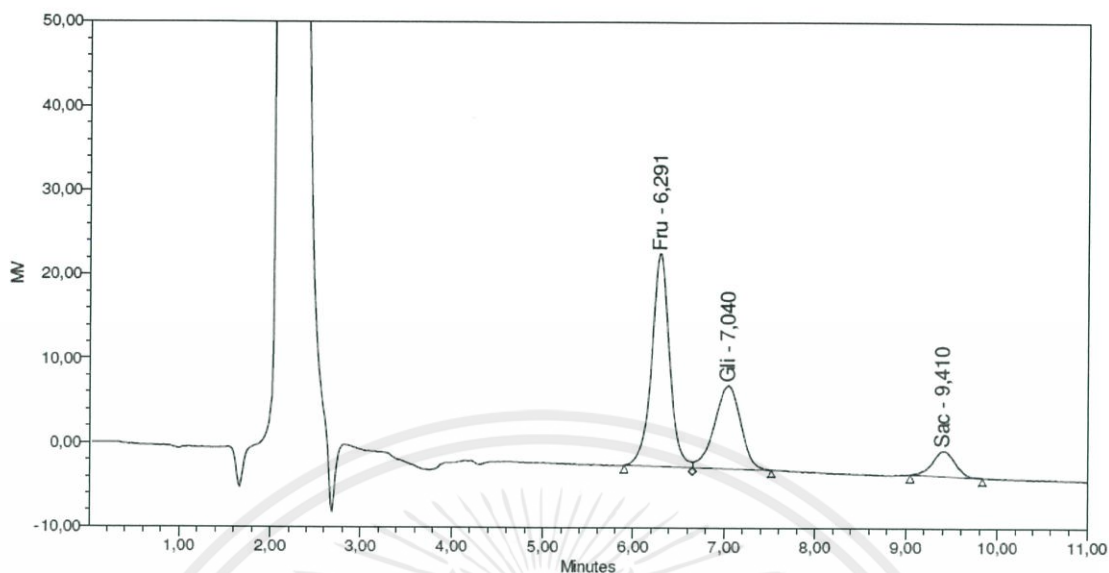


รูปที่ 2.8 กลไกการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Zhu และคณะ, 2005)

2.5 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

เครื่องวิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) เป็นเครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสมที่มีสมบัติเป็นสารที่ระเหยยาก หรือสลายตัวเมื่อโดนความร้อน เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ หรือพอลิเมอร์ เป็นต้น เทคนิคนี้มีหลักการแยกสารโดยอาศัยความแตกต่างของความสามารถในการละลายของแต่ละสารในตัวทำละลาย กระบวนการแยกสารเกิดขึ้นระหว่าง 2 วัฏภาค คือ วัฏภาคนิ่ง (Stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งสารที่สามารถละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่จะถูกแยกออกมาก่อนสารที่สามารถละลายได้ดีในวัฏภาคนิ่ง ทำให้สารถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน จากนั้นจึงตรวจวัดสารที่ถูกแยกออกมาด้วยตัววัดสัญญาณ (Detector) สัญญาณที่ตรวจวัดได้เรียกว่า โครมาโทแกรม (Chromatogram) แสดงดังรูปที่ 2.9 ซึ่งสามารถหาชนิดของสารได้จากการเปรียบเทียบเวลาการเกิดพีกกับสารตัวอย่างมาตรฐาน และสามารถคำนวณปริมาณของสารโดยใช้กราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่างมาตรฐานนั้นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 โครมาโทแกรมของตัวอย่างสารละลายที่ประกอบด้วยฟรุกโตส กลูโคส และซูโครส (Ribeiro และคณะ, 2013)

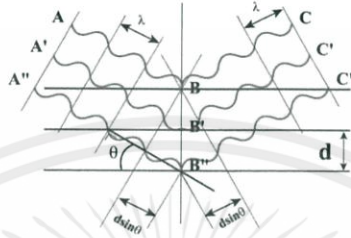
2.6 การวิเคราะห์โครงสร้างความเป็นผลึกของเซลลูโลสในกากของแข็งด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์

เครื่องวิเคราะห์โครงสร้างความเป็นผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer: XRD) นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติความเป็นผลึกของวัสดุต่างๆ โดยสามารถใช้วิเคราะห์ทดสอบชนิดหรือประเภทของสารประกอบโครงสร้างผลึกรูปแบบต่างๆ ในวัสดุ เนื่องจากผลึกของวัสดุแต่ละชนิดมีขนาดหน่วยเซลล์ที่ไม่เท่ากัน รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของสารประกอบจึงมีลักษณะต่างกัน และมีคุณสมบัติเฉพาะตัว ทำให้ทราบชนิดของสารประกอบที่อยู่ในวัสดุได้ (ศุภฤกษ์, 2555)

ลักษณะการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์แสดงดังรูปที่ 2.10 เกิดจากการหักเหของลำรังสีเอกซ์ที่สะท้อนออกมาทำมุมกับระนาบของอนุภาคเท่ากับมุมของลำรังสีตกกระทบ โดยอาศัยกฎของแบร็กก์ (Bragg's law) แสดงดังสมการ

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (2.1)$$

โดยที่	λ	คือ	ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์
	n	คือ	ลำดับของการสะท้อน
	d	คือ	ระยะห่างระหว่างระนาบ
	θ	คือ	มุมตกกระทบและมุมสะท้อนเมื่อวัดจากแนวระนาบที่กำลังพิจารณา



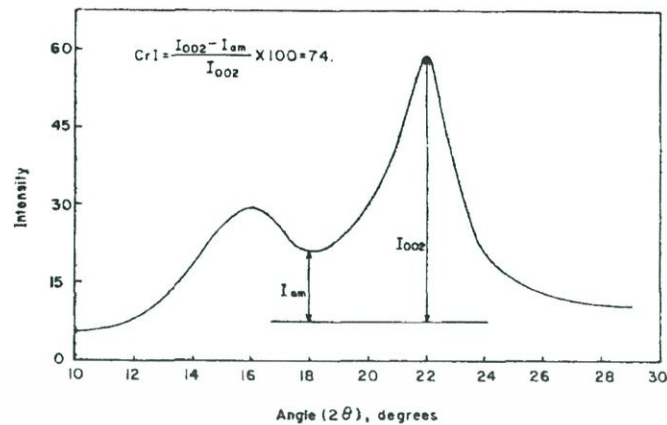
รูปที่ 2.10 ลักษณะการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (อิศราวุธ, 2558)

โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสในลิกโนเซลลูโลส สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคนี้ รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์จำเพาะของเซลลูโลสแบบผลึก แสดงดังรูปที่ 2.11 โดยที่ความเข้มแสงที่มุม 2θ เท่ากับ 22 องศา จะแสดงถึงระนาบโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส และที่ความเข้มแสงที่มุม 2θ เท่ากับ 18 องศา แสดงถึงระนาบของโครงสร้างอสัณฐานภายในของแข็ง และสามารถแสดงค่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสด้วยดัชนีความเป็นผลึก (Crystallinity Index: CrI) คำนวณได้จากสมการที่ 2.2 (Fan และคณะ, 1980)

$$\%CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\% \quad (2.2)$$

เมื่อ I_{002} คือ ค่าความเข้มแสงที่มุม 2θ เท่ากับ 22 องศา

I_{am} คือ ค่าความเข้มแสงที่มุม 2θ เท่ากับ 18 องศา



รูปที่ 2.11 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงเซลลูโลส (Solka floc) (Fan และคณะ, 1980)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการนี้สนใจศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสมีความแข็งแรงต่างกัน โดยไฮโดรไลซิสขานอ้อยเพื่อย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 และไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยเพื่อย่อยสลายเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 2 และหาภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวมสูงสุด สารสำคัญของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องสรุปได้ดังนี้

Suilter และคณะ (2010) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุชีวมวล โดยในขั้นตอนแรกใช้วิธีการไฮโดรไลซิสลิกนินด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ จากนั้นเจือจางสารละลายกรดด้วยน้ำ และให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 100 – 125 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เปลี่ยนน้ำตาลหลายโมเลกุลให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งหมด ซึ่งจะอยู่ในผลิตภัณฑ์ของเหลวที่สามารถนำไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสของชีวมวล สำหรับน้ำหนักกากของแข็งที่เหลือหลังจากการอบแห้งแล้ว นำมาคำนวณร้อยละของลิกนินได้ วิธีการนี้เป็นที่ยอมรับ และใช้กันอย่างแพร่หลายในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุลิกโนเซลลูโลส

Massatto และคณะ (2007) ศึกษาผลกระทบของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินในโครงสร้างของกากธัญชาติเหลือทิ้งจากการผลิตเบียร์ (Brewer's spent grain) ในกระบวนการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ การทดลองใช้กากธัญชาติที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีที่ต่างกัน 3 วิธี คือ ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจาง และผ่านการปรับสภาพแบบ 2 ขั้นตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจางตามด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการกากธัญชาติการปรับสภาพแบบ 2 ขั้นตอน สามารถกำจัดเอมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากโครงสร้างนี้ของกากธัญชาติได้จนเกือบหมด และเมื่อนำมาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ พบว่าเกิดน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณมากที่สุด จึงสรุปได้ว่า ปริมาณลิกนินและเอมิเซลลูโลสส่งผลยับยั้งต่อการทำงานของเอนไซม์

Moutta และคณะ (2014) ศึกษาการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ในขานอ้อยและฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางเป็นวัตถุดิบ ทดลองโดยนำขานอ้อย ฟางข้าว และของผสมระหว่างขานอ้อยและฟางข้าวที่อัตราส่วนโดยมวล 3:1 1:1 และ 1:3 มาผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 2.9 โดยมวลต่อปริมาตร จากนั้นนำกากของแข็งที่ได้ไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส 10 FPU ต่อชีวมวล 1 กรัม และเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส 30 IU ต่อมิลลิลิตร ที่ภาวะความเป็นกรด มี pH เท่ากับ 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า การปรับสภาพขานอ้อยและฟางข้าวด้วยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 2.9 โดยมวลต่อปริมาตร ทำให้เอมิเซลลูโลสถูกไฮโดรไลซิสเป็นไซโลสร้อยละ 90 และกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสฟางข้าวและขานอ้อยคิดเป็นร้อยละ 76 และ ร้อยละ 65 ตามลำดับ คิดเป็นผลได้คืนมาร้อยละ 89 และ 59 โดยมวลตามลำดับ

Sindhu และคณะ (2011) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกและเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการไฮโดรไลซิส ปัจจัยการศึกษาคือ ปริมาณขานอ้อย ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ และเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้ปริมาณขานอ้อยเท่ากับ 11.2 กรัม ความเข้มข้นเอนไซม์เท่ากับ 50 FPU ต่อกรัม และเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา 60 นาที สามารถทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 68.5 โดยมวล เทียบกับน้ำหนักขานอ้อยเริ่มต้น และหากนำไฮโดรไลเซทที่ได้ไปผ่านกระบวนการหมัก สามารถผลิตเอทานอลได้ 11.4 กรัมต่อลิตร

Inoue และคณะ (2016) ศึกษาการไฮโดรไลซิสไม้ดักลาสเฟอร์ (Douglas fir) ด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกะ ความดัน 0.5 เมกะปาสคาล พบว่าที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 คือ อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไซโลสคืนมาเท่ากับร้อยละ 67.8 โดยมวล จากนั้นนำกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 มาไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดัน พบว่าภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส มีผลได้คืนมาเท่ากับร้อยละ 70.8 โดยมวล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

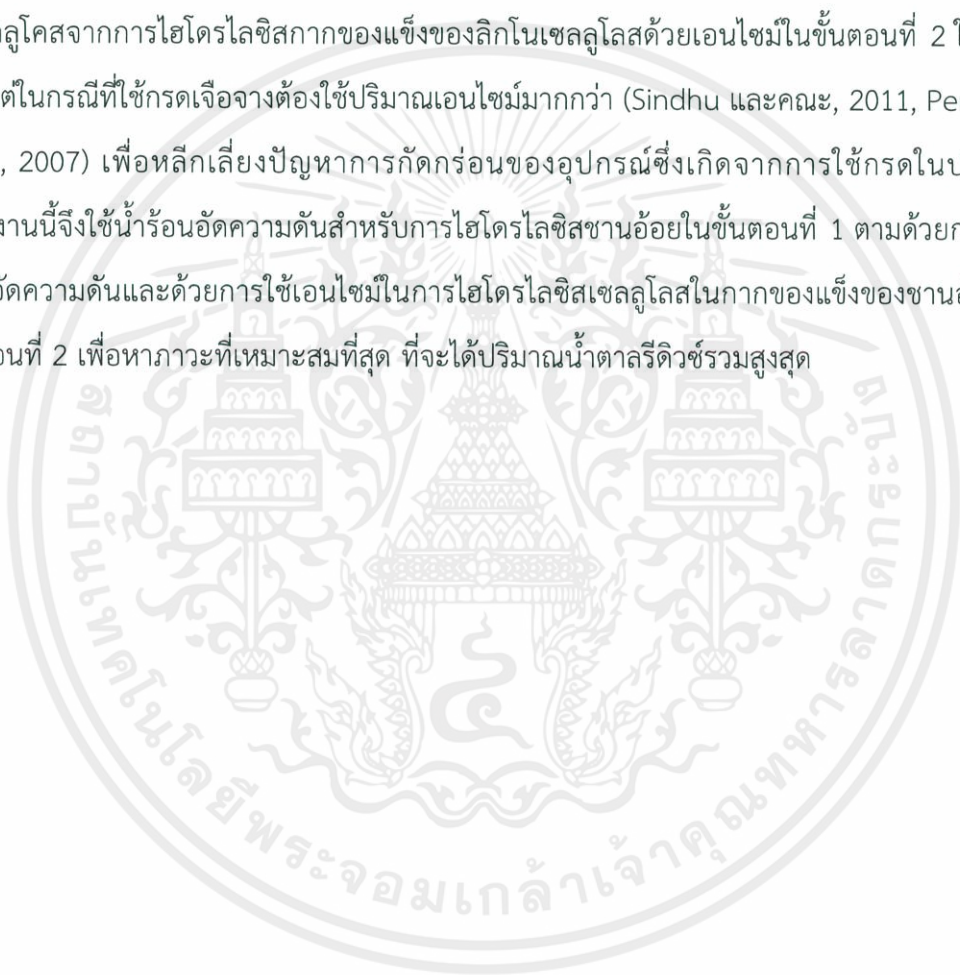
Phaiboonsilpa และคณะ (2009) ศึกษาการไฮโดรไลซิสลิกโนเซลลูโลส จากพืชประเภทที่มีท่อลำเลียง (Vascular plants) ได้แก่ บีชญี่ปุ่น สนญี่ปุ่น ทางจาก ฟางข้าว และแกลบ ในการทดลองใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบไหลผ่าน (Flowthrough reactor) ที่ความดัน 10 เมกะปาสคาล และอัตราการไหลของน้ำร้อนอัดความดัน 10 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส คือ 230 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส คือ 270-280 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า เฮมิเซลลูโลสเกือบทั้งหมดเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ และเซลลูโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 70 ของน้ำหนักเซลลูโลส

Perez และคณะ (2007) ศึกษาการไฮโดรไลซิสฟางข้าวด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์ ในขั้นตอนแรก คือ การไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร อัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของฟางข้าวและน้ำเท่ากับ 1:20 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส คือ อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ได้ปริมาณไซโลสคีนมาร้อยละ 94.1 โดยมวล จากนั้นนำกากของแข็งของฟางข้าวที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาณเอนไซม์เท่ากับ 15 FPU ต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณกลูโคสคีนมาร้อยละ 64.0 โดยมวล

Yu และคณะ (2010) ศึกษาการไฮโดรไลซิสฟางข้าวแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์ ในขั้นตอนแรก คือ การไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของฟางข้าวและน้ำเท่ากับ 1:10 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสคือ อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส และเวลา 10 นาที ได้ปริมาณไซโลสคีนมาร้อยละ 43.3 โดยมวล จากนั้นนำกากของแข็งของฟางข้าวที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาณเอนไซม์เท่ากับ 40 FPU ต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณกลูโคสคีนมาร้อยละ 85.0 โดยมวล

Yu และคณะ (2013) ศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกะ เป็นเวลา 20 นาที โดยอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของขานอ้อยและน้ำเท่ากับ 1:20 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส คือ 180 องศาเซลเซียส มีผลได้คีนมาของเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 85 โดยมวล จากนั้นนำกากของแข็งของขานอ้อยไปย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสเท่ากับ 15 FPU ต่อกรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณกลูโคสคีนมาร้อยละ 57.7 โดยมวล

จากการศึกษางานวิจัยดังกล่าว พบว่าการไฮโดรไลซิสลิกโนเซลลูโลสแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกะ (Perez และคณะ, 2007, Yu และคณะ, 2010, Yu และคณะ, 2013) สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากทั้งเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีปริมาณผลได้คีนมาของเฮมิเซลลูโลสโดยเฉลี่ยไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85 โดยมวล และผลได้คีนมาของเซลลูโลสไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 โดยมวล แต่ผลได้คีนมาของเฮมิเซลลูโลสดังกล่าวยังมีค่าต่ำกว่าการไฮโดรไลซิสโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบไหลผ่าน (Phaiboonsilpa และคณะ, 2009) นอกจากนี้ พบว่าการใช้น้ำร้อนอัดความดันหรือกรดเจือจางในการไฮโดรไลซิสลิกโนเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 ให้ผลได้ของกลูโคสจากการไฮโดรไลซิสของแข็งของลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ในขั้นตอนที่ 2 ใกล้เคียงกัน แต่ในกรณีที่ใช้กรดเจือจางต้องใช้ปริมาณเอนไซม์มากกว่า (Sindhu และคณะ, 2011, Perez และคณะ, 2007) เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการกักตัวของอุปกรณ์ซึ่งเกิดจากการใช้กรดในปฏิกิริยาโครงการนี้จึงใช้น้ำร้อนอัดความดันสำหรับการไฮโดรไลซิสขานอ้อยในขั้นตอนที่ 1 ตามด้วยการใช้น้ำร้อนอัดความดันและด้วยการใช้เอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยที่ในขั้นตอนที่ 2 เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมที่สุด ที่จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวมสูงสุด



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

โครงการนี้ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน โดยในขั้นตอนแรก คือ การไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ต่อมาในขั้นตอนที่ 2 คือ การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันในขั้นตอนที่ 1 ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม โดยการไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการไฮโดรไลซิส 2 วิธี คือ การไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดัน และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส วิธีการดำเนินงานมีดังต่อไปนี้

3.1 การเตรียมขานอ้อยปราศจากสารสกัด

ขานอ้อยที่ใช้ในการทดลองเป็นพันธุ์สิงคโปร์ ปลูกที่จังหวัดสุพรรณบุรี ก่อนนำไปใช้ในการทดลองผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและน้ำร้อนเพื่อกำจัดสารสกัดต่างๆ ในขานอ้อยออก ให้เหลือเพียงองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน โดยมีวิธีเตรียมตัวอย่างขานอ้อยดังนี้ (Rabemanolontsoa และคณะ, 2013)

3.1.1 การลดขนาดขานอ้อย

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องปั่นอาหาร
2. ชุดตะแกรงร่อนขนาด

ขั้นตอนการทดลอง

1. ล้างขานอ้อยที่ด้วยน้ำสะอาด และนำไปผึ่งแดดจนแห้งสนิท
2. ตัดขานอ้อยให้ได้ขนาด 1 เซนติเมตร และนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอาหาร
3. นำขานอ้อยผ่านการลดขนาดแล้ว คัดแยกขนาดด้วยชุดตะแกรงร่อนขนาด โดยขนาดของขานอ้อยที่ต้องการมีขนาดอยู่ในช่วง 425-850 ไมโครเมตร

3.1.2 การสกัดด้วยอะซิโตน (Acetone extraction)

การสกัดด้วยอะซิโตน คือ การสกัดสารสกัดจำพวกไม่มีขั้ว (Non-polar extractives) ที่มีอยู่ในขานอ้อย เช่น สารสกัดไขมัน น้ำมัน และคลอโรฟิลล์ เป็นต้น

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

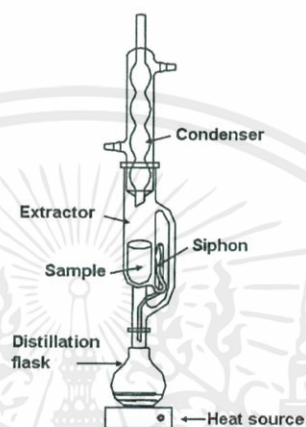
1. ขานอ้อยที่ผ่านการตัดขนาดแล้ว
2. เครื่องสกัดแบบซ็อกเลต (Soxhlet extractor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ถาดอะลูมิเนียม
4. อะซิโตน

ขั้นตอนการทดลอง

1. ติดตั้งเครื่องสกัดแบบซ็อกเลต ดังรูปที่ 3.1 โดยเติมอะซิโตนปริมาตร 500 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม และใส่ขานอ้อยที่คัดขนาดแล้วลงในหลอดกระดาษกรอง (Thimble)



รูปที่ 3.1 เครื่องสกัดแบบซ็อกเลต (Soxhlet extractor) (Luque de castro, 2010)

2. ให้ความร้อนกับอะซิโตน รอจนอะซิโตนเดือด และควบแน่นหยดลงในหลอดกระดาษกรอง จับเวลาเป็นเวลา 8 ชั่วโมง
3. นำขานอ้อยที่สกัดแล้วเกลี่ยใส่ถาดอะลูมิเนียม ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อระเหยอะซิโตน
4. เมื่อครบเวลา นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ต่ออีก 12 ชั่วโมง เพื่อให้อะซิโตนที่เหลือระเหยออกจนหมด

3.1.3 การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot-water extraction)

สารสกัดจำพวกมีขี้ (Polar extractive) ที่หลงเหลืออยู่ในขานอ้อย เช่น น้ำตาล อีสาระ ไอออนอีสาระ และสารประกอบจำพวกเกลือ สามารถสกัดออกมาด้วยน้ำร้อน

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ขานอ้อยที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตน
2. ปีกเกอร์

3. จานให้ความร้อน (Plate heater)
4. ตัวกวนสารละลายแบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)
5. เทอร์โมมิเตอร์
6. แท่งแก้ว
7. ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum filter)
8. ถาดอะลูมิเนียม
9. ถุงซิปล็อค
10. น้ำกลั่น

ขั้นตอนการทดลอง

1. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. ต้มน้ำกลั่นด้วยจานให้ความร้อน จนได้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
3. เทขานอ้อยลงในบีกเกอร์น้ำกลั่นที่ควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้แท่งแก้วคนให้ขานอ้อยกระจายตัว ต้มขานอ้อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พร้อมปั่นกวนด้วยตัวกวนสารละลายแบบแม่เหล็ก
4. ปิดจานให้ความร้อนแล้วปล่อยให้ของผสมเย็นตัวลงจนถึงอุณหภูมิต่ำกว่าห้อง จากนั้นกรองแยกขานอ้อยด้วยชุดกรองสุญญากาศ
5. อบขานอ้อยที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นตัวลง จะได้ขานอ้อยปราศจากสารสกัด แล้วเก็บในถุงซิปล็อคเพื่อป้องกันความชื้น ก่อนทำการทดลองทุกครั้ง อบขานอ้อยอีกครั้งอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นตัวลง และชั่งน้ำหนักเพื่อใช้เป็นฐานน้ำหนักขานอ้อยเริ่มต้นในการคำนวณ (Oven-dried extractives-free basis)

3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของขานอ้อย

3.2.1 การวิเคราะห์เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน

ขานอ้อยประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้ ยังมีสารอื่นๆ เช่น คลอโรฟิลล์ ไขมัน น้ำตาลอิสระ ไอออนอิสระ และสารอนินทรีย์ต่างๆ ในขั้นตอนการเตรียมขานอ้อย สารเหล่านี้ได้ถูกกำจัดออกจนเกือบหมดแล้วโดยการสกัดด้วยอะซิโตน และน้ำร้อน ยกเว้นเถ้าซึ่งประกอบไปด้วยสารอนินทรีย์ที่แทรกตัวอยู่ในโครงสร้างของผนังเซลล์พืช

และสกัดออกไม่ได้ด้วยตัวทำละลายดังกล่าว ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของชานอ้อยที่วิเคราะห์ คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ชานอ้อย
2. ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร
3. ปีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
5. กรวยแก้ว
6. แท่งแก้ว
7. ชุดกรองสุญญากาศ
8. หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave)
9. โถดูดความชื้น (Desiccator)
10. กระดาษกรองขนาดรูพรุน 8 ไมโครเมตร (Whatman เบอร์ 4)
11. ฟอยล์อะลูมิเนียม
12. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก
13. น้ำกลั่น

ขั้นตอนการทดลอง

1. อบชานอ้อยที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำออกจากเตาอบ และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักชานอ้อย 0.2 กรัม ใส่ในปีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในปีกเกอร์ข้อที่ 2 ใช้แท่งแก้วคนชานอ้อยและกรดซัลฟิวริกให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
4. ตวงน้ำกลั่น ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ใส่ในปีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง เทน้ำบางส่วนที่เตรียมไว้ในข้อที่ 4 ใส่ปีกเกอร์ในข้อที่ 3 เพื่อเจือจางความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก และหยุดปฏิกิริยา
6. ถ่ายชานอ้อยและกรดซัลฟิวริกใส่ขวดตัวอย่างขนาด 100 มิลลิลิตร และใช้น้ำจากปีกเกอร์ในข้อที่ 4 ที่เหลือล้างปีกเกอร์หลายๆ ครั้ง และเทใส่ขวดตัวอย่าง ควรทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยความระมัดระวังเพื่อป้องกันการสูญเสียมวลของชานอ้อยและกรดซัลฟิวริกของผสมสุดท้ายที่ได้มีปริมาตรรวม 77 มิลลิลิตร และมีความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเท่ากับร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก

7. ปิดฝาขวดตัวอย่างให้สนิท ท่อด้วยฟอยด์อะลูมิเนียม และนำไปให้ความร้อนด้วยหม้อน้ำอัดไอ น้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-60 นาที
8. เมื่อครบกำหนดเวลา นำขวดตัวอย่างออกจากหม้อน้ำอัดไอ และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
9. กรองแยกผลิตภัณฑ์ของเหลวหรือไฮโดรไลเซตและกากของแข็งด้วยชุดกรองสุญญากาศ
10. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซตด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (หัวข้อ 3.5.1) น้ำหนักของไซโลสที่คำนวณได้ คือ ปริมาณเฮมิเซลลูโลส และน้ำหนักของกลูโคส คือ ปริมาณของเซลลูโลส
11. อบกากของแข็งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นตัวลงถึงอุณหภูมิห้องในหม้อดูดความชื้น จากนั้น ชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณเคลซอนลิกนิน

3.3 การไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

3.3.1 ภาวะที่ศึกษา

ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาแสดงดังตารางที่ 3.1 เพื่อกำจัดผลของอากาศและเพิ่มความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์ในขณะที่ทำการทดลองที่มีการเพิ่มอุณหภูมิ ในขั้นตอนการเตรียมเครื่องปฏิกรณ์แบบกะจิ้งบรรจุก๊าซไนโตรเจน ความดัน 2.5 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่มีปริมาตรคงที่ ความดันจะแปรผันตรงกับอุณหภูมิ สามารถวัดความดัน และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความดันได้ในภาคผนวก ก ในการทดลองนี้จึงกำหนดให้ความดันเป็นปัจจัยควบคุม

ตารางที่ 3.1 ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาสำหรับการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสในขานอ้อย

ปัจจัย	ภาวะที่ศึกษา
เวลา	0–60 นาที
อุณหภูมิ	190–290 องศาเซลเซียส

3.3.2 อุปกรณ์และขั้นตอนการทดลอง

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ขานอ้อยสกัด
2. เครื่องปฏิกรณ์แบบกะ ขนาด 10 มิลลิลิตร
3. ชุดอุปกรณ์ให้ความร้อน (Heater)
4. ชุดกรองสุญญากาศ
5. กระดาษกรองขนาดรูพรุน 8 ไมโครเมตร (Whatman เบอร์ 4)
6. ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
7. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)
8. ก๊าซไนโตรเจน ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.999

ขั้นตอนการทดลอง

1. อบขานอ้อยที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักขานอ้อยประมาณ 0.1 กรัม ใส่ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ
3. ปิเปตน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ใส่ลงในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ และปิดฝาเครื่องปฏิกรณ์ให้สนิท
4. อัดก๊าซไนโตรเจนใส่เครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่ความดัน 2.5 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง และทดสอบการรั่วของเครื่องปฏิกรณ์แบบกะโดยจุ่มเครื่องปฏิกรณ์แบบกะลงในน้ำ หากไม่พบฟองอากาศผุดขึ้นมาถือว่าไม่เกิดการรั่ว สามารถนำไปทำการทดลองต่อได้
5. ประกอบเครื่องปฏิกรณ์เข้ากับชุดอุปกรณ์ให้ความร้อน ปรับตั้งอุณหภูมิตามค่าที่ต้องการ เริ่มทำการทดลอง โดยเปิดสวิตซ์เตาให้ความร้อน การเพิ่มอุณหภูมิเครื่อง

ปฏิกรณ์จนถึงอุณหภูมิที่ต้องการใช้เวลาประมาณ 30 นาที เริ่มจับเวลาในการไฮโดรไลซิสเมื่ออุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการ

6. เมื่อครบเวลา ปิดสวิตซ์เตาให้ความร้อน ถอดเครื่องปฏิกรณ์ออกจากชุดอุปกรณ์ให้ความร้อน และจุ่มลงในถังบรรจุน้ำแข็งเพื่อหยุดปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที
7. เปิดวาล์วลดความดันของเครื่องปฏิกรณ์แบบกะซำๆ เพื่อปล่อยก๊าซไนโตรเจนและผลิตภัณฑ์ในวัฏภาคก๊าซออก แล้วจึงเปิดฝาเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ จากนั้นกรองแยกไฮโดรไลเซตออกจากกากของแข็งด้วยชุดกรองสูญญากาศ
8. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซต และองค์ประกอบทางเคมีของกากของแข็งของขานอ้อย

3.4 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส

ขั้นตอนที่ 1 คือ การไฮโดรไลซิสเอนไซม์เซลลูโลสในขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน และขั้นตอนที่ 2 คือการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยที่เหลืออยู่ภายหลังการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 โดยการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 2 นี้จะเปรียบเทียบผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสโดยใช้ น้ำร้อนอัดความดันกับการไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส

3.4.1 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

3.4.1.1 ภาวะที่ศึกษา

ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาแสดงดังตารางที่ 3.2 เพื่อกำจัดผลของอากาศและเพิ่มความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์ในขณะทำการทดลองที่มีการเพิ่มอุณหภูมิ ในขั้นตอนการเตรียมเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ จึงบรรจุก๊าซไนโตรเจน ความดัน 2.5 เมกะปาสคาล ที่อุณหภูมิห้อง เช่นเดียวกับการไฮโดรไลซิสเอนไซม์เซลลูโลสในขานอ้อยในหัวข้อที่ 3.3

ตารางที่ 3.2 ปัจจัยและภาวะที่ศึกษาสำหรับการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

ปัจจัย	ภาวะที่ศึกษา
เวลา	0-30 นาที
อุณหภูมิ	230-270 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.2 อุปกรณ์และขั้นตอนการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองเป็นวิธีเดียวกับการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ในหัวข้อที่ 3.3.2 แต่เปลี่ยนจากขานอ้อยเป็นกากของแข็งของขานอ้อยที่เหลืออยู่จากการไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 1 และเปลี่ยนช่วงอุณหภูมิและเวลาในการศึกษา

3.4.2 การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

วิธีการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสนี้อ้างอิงจาก Manorach และคณะ (2015) โดยมีวิธีขั้นตอนดังนี้

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. กากของแข็งขานอ้อยที่เหลืออยู่จากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 1
2. หลอดปั่นเหวี่ยง (Centifuge tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. ปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร
4. ไมโครปิเปตขนาด 20 ไมโครมิลลิลิตร
5. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaking incubator)
6. เอนไซม์เซลลูเลส (Cellic® CTec2)
7. สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งกากของแข็งขานอ้อย 0.25 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง จำนวน 3 หลอด
2. ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงในข้อที่ 1 ทั้ง 3 หลอด ปริมาตรหลอดละ 4.685 มิลลิลิตร
3. ปิเปตเอนไซม์ ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงหลอดที่ 1 และ 2 ปริมาตรหลอดละ 15.55 ไมโครลิตร แต่ไม่ต้องใส่ในหลอดที่ 3 เนื่องจากใช้หลอดที่ 3 เป็นหลอดควบคุมเพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น
4. นำหลอดปั่นเหวี่ยงทั้ง 3 หลอด ใส่ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ตั้งอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
5. เมื่อครบกำหนดเวลา นำหลอดปั่นเหวี่ยงไปต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ และหยุดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กรองไฮโดรไลเซทออกจากกากของแข็งด้วยชุดกรองสุญญากาศ
7. วิเคราะห์ร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซท

3.5 การวิเคราะห์ผล

3.5.1 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซท

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์ของเหลวหรือไฮโดรไลเซท ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เนื่องจากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและภาวะที่ใช้สามารถวิเคราะห์ได้เฉพาะน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเท่านั้น ในการทดลองนี้มีเพียงไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เท่านั้นที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งสามารถใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้ทันที แต่ไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันนั้นประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ และน้ำตาลหลายโมเลกุล ดังนั้นเพื่อให้ทราบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการโพสไฮโดรไลซิส (Post-hydrolysis) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลหลายโมเลกุลให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทั้งหมด โดยเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 98 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 17.25 ไมโครลิตร ลงในไฮโดรไลเซท 1 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำไปให้ความร้อนในหม้อนึ่งอัดไอ น้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ผลได้ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ได้จากการวิเคราะห์หลังการทำโพสไฮโดรไลซิสมีค่าเท่ากับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด (Total reducing sugars) หากต้องการทราบปริมาณน้ำตาลโมเลกุลคู่และหลายโมเลกุล สามารถคำนวณได้จากนำปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดหักออกด้วยปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่วิเคราะห์ได้ในไฮโดรไลเซทก่อนทำโพสไฮโดรไลซิส

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง มีรายละเอียดภาวะที่ใช้วิเคราะห์ดังนี้

ตารางที่ 3.3 ภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ปัจจัย	ภาวะ
คอลัมน์วิเคราะห์	Aminex HPX-87H (Bio-rad)
สารพา (Mobile phase)	กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์
อัตราการไหลของสารพา	0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิคอลัมน์	65 องศาเซลเซียส
ตัววัดสัญญาณ	ดัชนีหักเห (Refractive Index Detector: RID)

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) จากสารละลายมาตรฐาน ได้แก่ ไฮโลสและกลูโคสที่ทราบความเข้มข้นอย่างน้อยสองค่า เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด จากนั้นใช้กราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทที่วัดได้ และรายงานค่าเป็นร้อยละผลได้เทียบกับน้ำหนักขานอ้อยปราศจากสารสกัดแห้งเริ่มต้น

3.5.2 การวิเคราะห์เฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลในไฮโดรไลเซท

การวิเคราะห์เฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลในไฮโดรไลเซทใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ภาวะเช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซท ยกเว้นตัววัดสัญญาณซึ่งใช้ดัชนีรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet index detector) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แทน

3.5.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากของแข็ง

องค์ประกอบทางเคมีที่เหลืออยู่ในกากของแข็งสามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธีเคelson ลิกนิน ดังอธิบายโดยละเอียดในหัวข้อ 3.2.1

3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณผลึกเซลลูโลสในกากของแข็ง

การตรวจสอบโครงสร้างความเป็นผลึกของกากของแข็งของขานอ้อยใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ วิธีเตรียมตัวอย่างวิเคราะห์ คือ อบกากของแข็งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักกากของแข็งของขานอ้อยประมาณ 0.2 กรัม และเทลงบนแผ่นบรรจุตัวอย่าง จากนั้นเกลี่ยให้ผิวของตัวอย่างเรียบและเสมอกับขอบของแผ่นที่บรรจุ นำแผ่นบรรจุตัวอย่าง

ไปใส่ที่แทนวางตัวอย่างภายในเครื่องวิเคราะห์โครงสร้างโครสฟลิก ตรวจสอบความเข้มแสงที่มุม 2 θ มีค่าระหว่าง 10 องศา ถึง 45 องศา และคำนวณหาค่าดัชนีความเป็นผลึกจากสมการที่ 2.2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปราย

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของชานอ้อย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของชานอ้อยปราศจากสารสกัดด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน พบว่ามีปริมาณกลูโคส ไซโลส และอะราบินอสร้อยละ 45.1, 27.1 และ 2.2 โดยมวล ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Rabemanolontsoa และ Saka (2013) ซึ่งใช้ตัวอย่างชานอ้อยจากประเทศไทยเช่นเดียวกัน ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบในชานอ้อยดังกล่าว

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของชานอ้อยด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน

	น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (ร้อยละโดยมวล)					
	กลูโคส	ไซโลส	อะราบินอส	กาแล็กโทส	ฟรุคโตส	แมนโนส
Rabemanolontsoa และ Saka	43.5	27.8	1.6	0.5	0.0	0.0
โครงการนี้	45.1	27.1	2.2	-	-	-

โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวต่อกันเป็นสายโซ่ การเชื่อมต่อระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 โมเลกุล ทำให้เกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำ 1 โมเลกุล ดังนั้นในกรณีของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสสามารถแปลงปริมาณไซโลสทั้งหมดในชานอ้อยเป็นปริมาณเฮมิเซลลูโลสได้ คำนวณได้โดยนำปริมาณไซโลสคูณด้วยแฟกเตอร์ 0.88 ส่วนการคำนวณปริมาณเซลลูโลสทำได้โดยคูณปริมาณกลูโคสทั้งหมดด้วยแฟกเตอร์ 0.9 องค์ประกอบทางเคมีของชานอ้อย ปริมาณเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับค่าที่รายงานในงานวิจัยของ Rabemanolontsoa และ Saka (2013) แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีในขานอ้อย

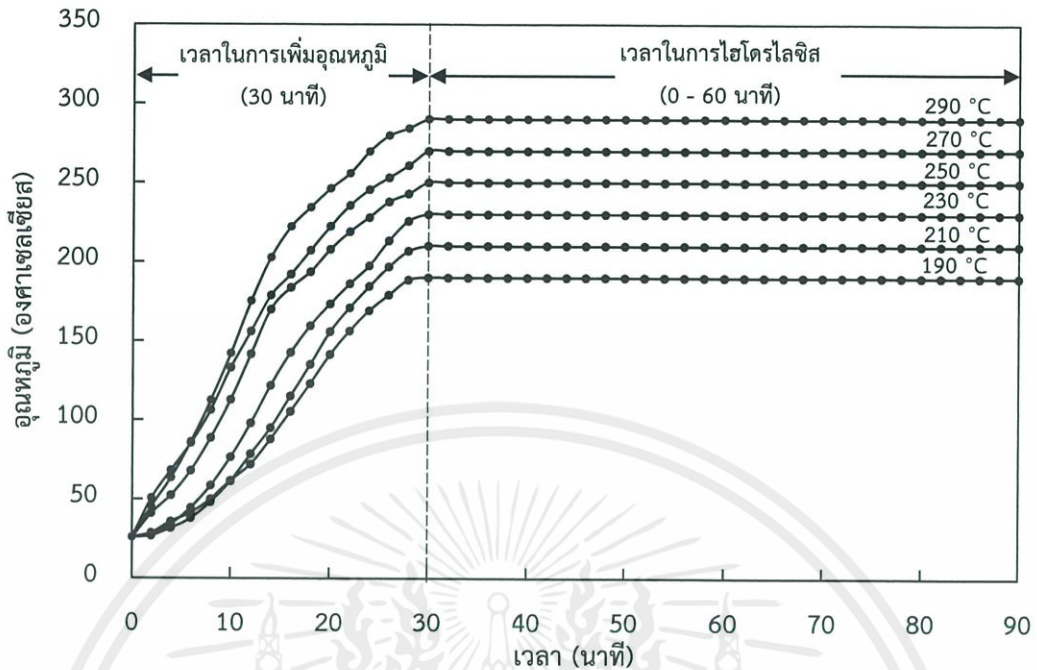
	องค์ประกอบ (ร้อยละโดยมวล)				
	เฮมิเซลลูโลส	เซลลูโลส	ลิกนิน	เถ้า	อื่นๆ
Rabemanolontsoa และ Saka	33.0	40.9	22.3	2.1	1.6
โครงการนี้	23.8	40.6	21.7	1.0	12.9

องค์ประกอบทางเคมีของขานอ้อยที่ใช้ในโครงการนี้ ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ร้อยละ 23.8, 40.6, 21.7 และ 1.0 โดยมวล ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลรวมขององค์ประกอบต่างๆ ที่วิเคราะห์ได้ ส่วนที่เหลือจำนวนร้อยละ 12.9 โดยมวล ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กาแล็กโทส ฟรุคโตส และแมนโนส และน้ำตาลกรดส่วนน้อยที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส ซึ่งไม่ได้วิเคราะห์เนื่องจากขาดเครื่องมือวิเคราะห์ที่เหมาะสม และสารอื่นๆที่ไม่ทราบ (Unknowns) โครงการนี้จึงใช้ปริมาณไซโลสซึ่งมีค่าร้อยละ 27.1 โดยมวลเป็นตัวแทนปริมาณเฮมิเซลลูโลส และใช้ปริมาณกลูโคสร้อยละ 45.1 โดยมวล เป็นตัวแทนของปริมาณเซลลูโลสในขานอ้อย สำหรับประเมินหาภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส โดยพิจารณาจากปริมาณผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส ส่วนปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณน้อยกว่างานวิจัยของ Rabemanolontsoa และ Saka (2013) เป็นเพราะว่าตัวอย่างขานอ้อยที่ใช้ในโครงการนี้ถูกกำจัดเปลือกแล้ว ซึ่งตามปกติเปลือกขานอ้อยจะมีองค์ประกอบเถ้าสูง

4.2 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 1 ขั้นตอน

การทดลองนี้ศึกษาช่วงอุณหภูมิและเวลาที่เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสในขานอ้อยเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส แสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่าในการเพิ่มอุณหภูมิเครื่องปฏิกรณ์ให้ถึงอุณหภูมิที่ต้องการโดยเฉลี่ยใช้เวลา 30 นาที ดังนั้นเวลาในการไฮโดรไลซิสจึงนิยามให้เริ่มนับภายหลังจาก 30 นาทีแรก ซึ่งที่จุดของเวลาดังกล่าว เครื่องปฏิกรณ์แบบกะมีอุณหภูมิเท่ากับค่าที่ต้องการแล้วและนับระยะเวลาการไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิต่างๆ จนกระทั่งปิดสวิตซ์ให้ความร้อน ดังนั้นเวลาในการไฮโดรไลซิสที่ 0 นาที คือ ปิดสวิตซ์ให้ความร้อนทันทีเมื่ออุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับค่าที่ต้องการ

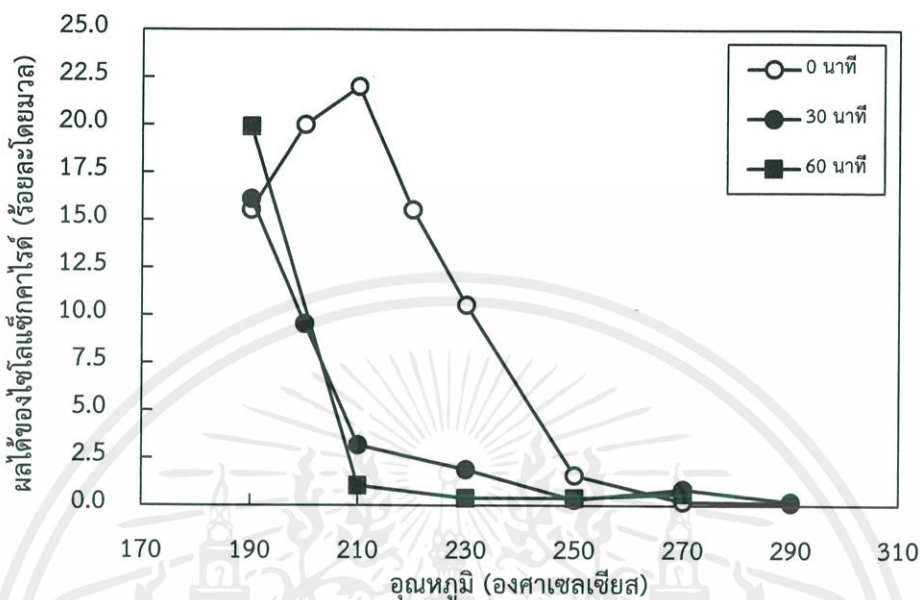


รูปที่ 4.1 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่เกิดขึ้นในการไฮโดรไลซิส

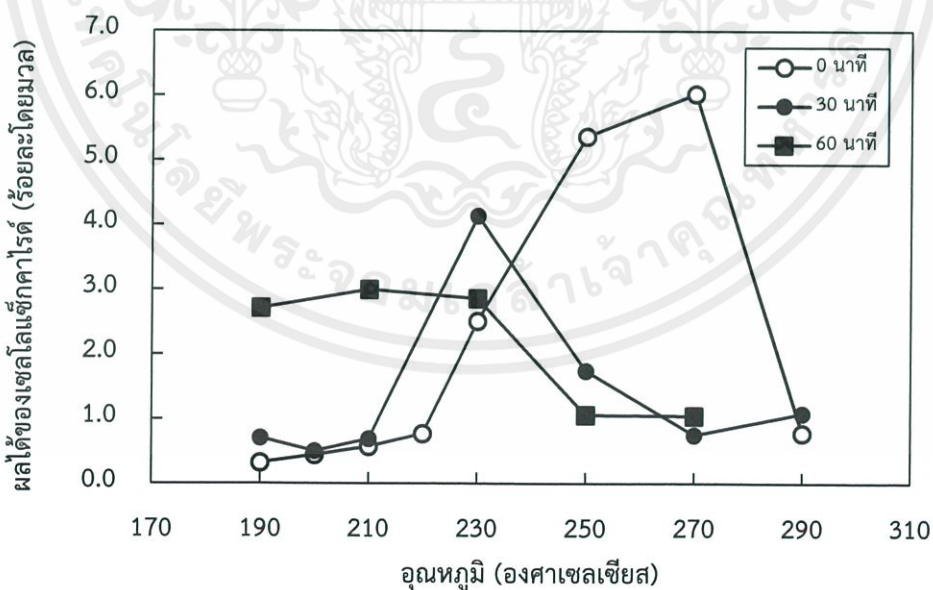
4.2.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อผลได้น้ำตาลรีดิวซ์

จากการไฮโดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส คือ ไฮโลแซ็กคาไรด์ ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ ไฮโลส และน้ำตาลหลายโมเลกุล คือ ไฮโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ ส่วนน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส คือ เซลโลแซ็กคาไรด์ ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือกลูโคส และน้ำตาลหลายโมเลกุล คือ เซลโลแซ็กคาไรด์ จากรูปที่ 4.2 พบว่าเมื่อใช้เวลาในการไฮโดรไลซิส 0 นาที ปริมาณไฮโลแซ็กคาไรด์มีค่าสูงสุดที่ อุณหภูมิเท่ากับ 210 องศาเซลเซียส หากเวลาในการไฮโดรไลซิสนานขึ้น กล่าวคือ 30 และ 60 นาที ไฮโลแซ็กคาไรด์จะมีปริมาณลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น สาเหตุเกิดจากที่อุณหภูมิสูงและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยานาน ทำให้ไฮโลแซ็กคาไรด์ถูกย่อยสลายเป็นสารผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ใช่ น้ำตาลรีดิวซ์ สำหรับเซลโลแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส ที่เวลา 0 นาที พบว่ามีปริมาณเซลโลแซ็กคาไรด์ร้อยละ 5-6 โดยมวล ในช่วงอุณหภูมิ 250-270 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 4.3 เนื่องจากโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสมีความแข็งแรงกว่าโครงสร้างอัญรูปของเฮมิเซลลูโลส

จึงจำเป็นต้องใช้ภาวะที่รุนแรงกว่าในการทำลายโครงสร้างความเป็นผลึก ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสจึงมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลส



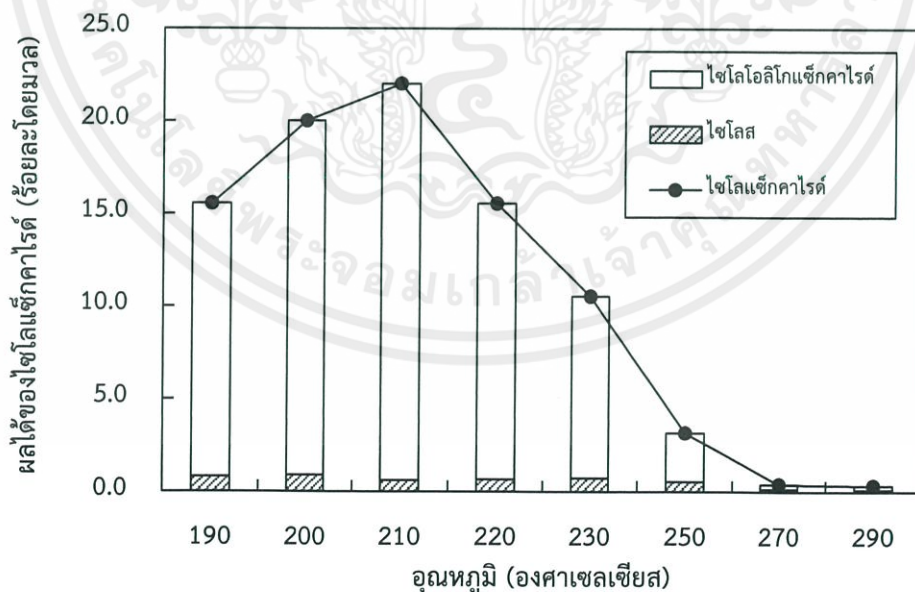
รูปที่ 4.2 ผลได้ของไฮโดรไลซิสเซลลูโลสจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.3 ผลได้ของเซลลูโลสจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

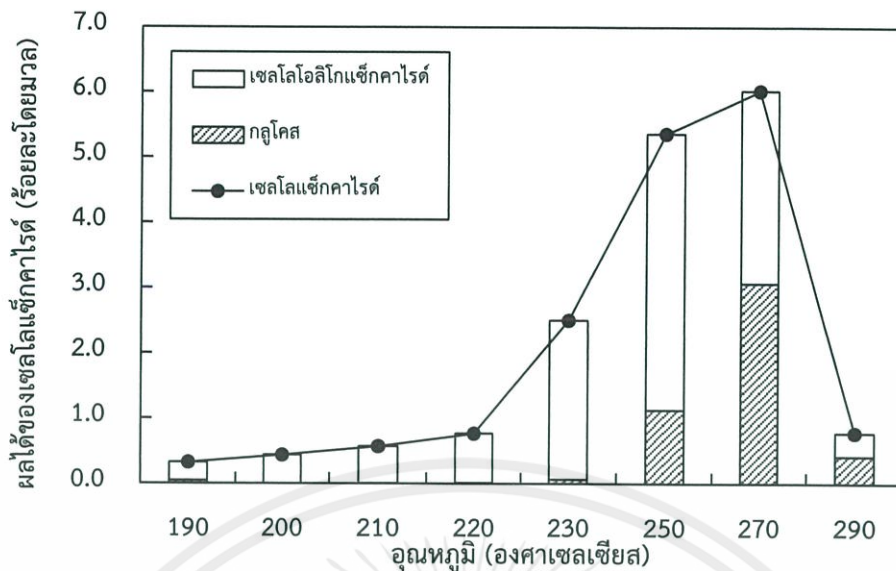
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเซทที่เวลา 0 นาที พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ปริมาณไซโลสไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ส่วนไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 190-210 องศาเซลเซียส และลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นแสดงดังในรูปที่ 4.4 สามารถอธิบายได้ว่าน้ำร้อนอัดความดันสามารถไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสและเกิดไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นผลิตภัณฑ์หลัก แต่ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ให้ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นไซโลสได้มากนัก เมื่อเทียบกับการไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Ando และคณะ, 2000) ซึ่งที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที เป็นภาวะที่สามารถผลิตไซโลแซ็กคาไรด์ได้มากที่สุดคือร้อยละ 22.0 โดยมวล ส่วนการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในช่วงอุณหภูมิที่ศึกษาเดียวกัน ที่เวลา 0 นาที พบว่าปริมาณเซลโลแซ็กคาไรด์มีค่ามากในช่วงอุณหภูมิสูง เซลโลแซ็กคาไรด์ที่ได้ประกอบด้วยน้ำตาลทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ เซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ และกลูโคส โดยอัตราส่วนของกลูโคสต่อเซลโลแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิสูง การไฮโดรไลซิสเซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นกลูโคสสามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Yu และคณะ, 2010) แม้ไม่มีการเติมกรดเข้าไปในปฏิกิริยาดังรูปที่ 4.5 ภาวะที่สามารถผลิตเซลโลแซ็กคาไรด์ได้มากที่สุดคือ ที่อุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที มีผลได้เซลโลแซ็กคาไรด์ร้อยละ 6.0 โดยมวล คิดเป็นผลได้คั้นมาของเซลลูโลสร้อยละ 13.0 โดยมวล



รูปที่ 4.4 ผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



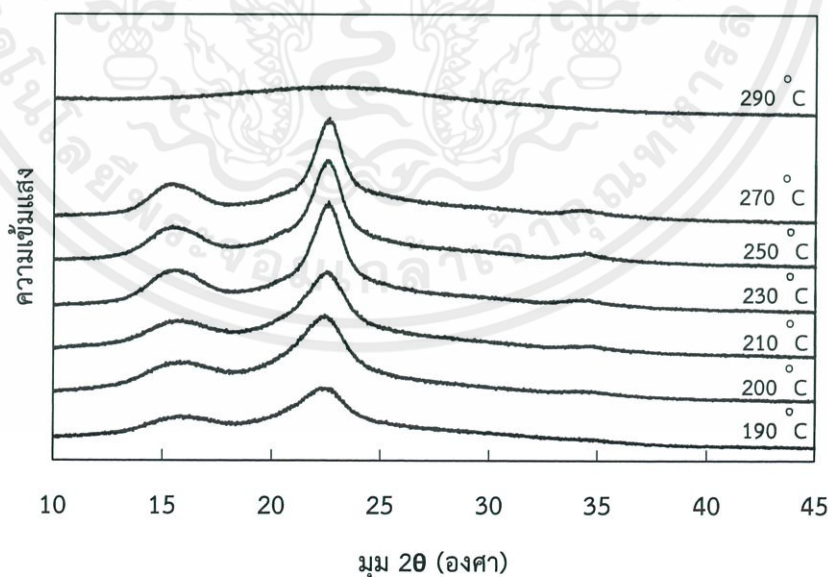
รูปที่ 4.5 ผลได้ของเซลลูโลสอะซิเตตจากการไฮโดรไลซิสในชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที

จากผลการทดลองการไฮโดรไลซิสในชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน สรุปได้ว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลสเป็นไซโลอะซิเตตสูงสุด คือ อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ได้ปริมาณไซโลอะซิเตตรวมเท่ากับร้อยละ 22.0 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของเอมิเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 81.3 โดยมวล ซึ่งนำมาใช้เป็นภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 1 ของการไฮโดรไลซิสชานอ้อย แต่ภาวะในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส แม้จะพบว่า มีผลได้ของเซลลูโลสอะซิเตตสูงสุดที่อุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที แต่มีปริมาณต่ำ คือ เพียงร้อยละ 6.0 โดยมวลเท่านั้น คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 13.3 โดยมวล

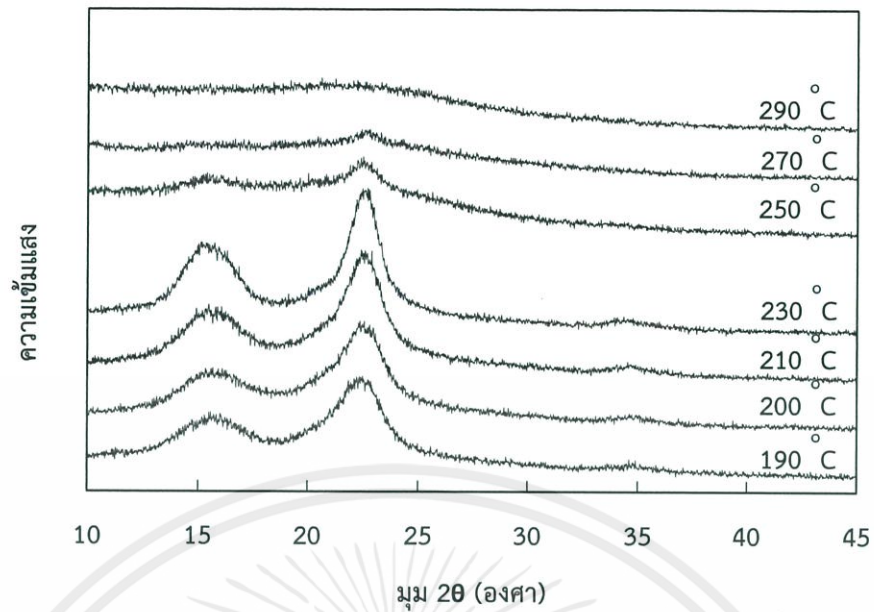
เมื่อนำกากของแข็งจากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ซึ่งมีเหลืออยู่ร้อยละ 54.7 โดยมวล ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 33.5 โดยมวล ส่วนปริมาณเอมิเซลลูโลสเหลือเพียงร้อยละ 0.7 โดยมวล และลิกนินมีปริมาณร้อยละ 12.6 โดยมวล ดังนั้นเพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์รวม จึงสมควรใช้การไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน โดยนำกากของแข็งของชานอ้อยที่ถูกไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที (นับเป็นขั้นตอนที่ 1) ซึ่งยังคงมีเซลลูโลสส่วนใหญ่หลงเหลืออยู่ มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 2 ต่อไป และทดลองหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสเพื่อเพิ่มผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์รวม

4.2.2 โครงสร้างความเป็นผลึกของเซลลูโลสในกากของแข็ง

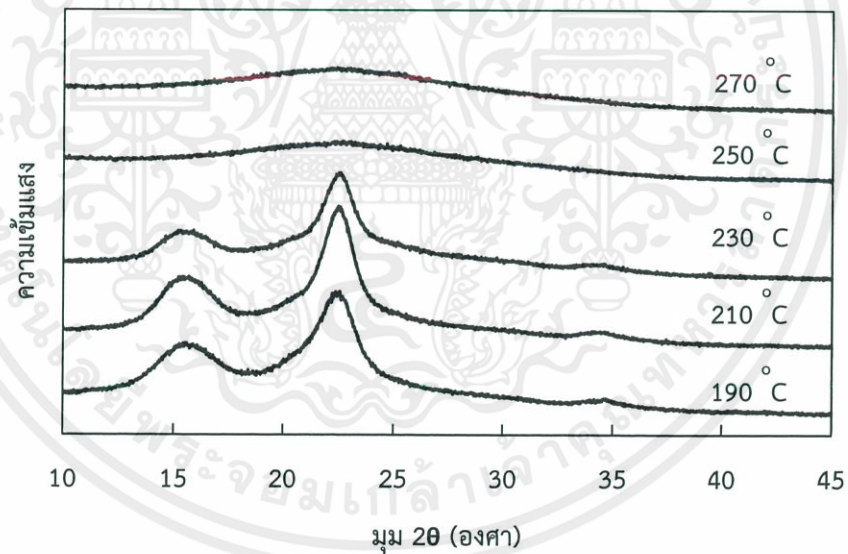
จากการตรวจสอบความเป็นผลึกในกากของแข็งของชานอ้อยที่หลงเหลือจากการไฮโดรไลซิสแบบ 1 ขั้นตอนด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ พบว่ารูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์แสดงได้ดังรูปที่ 4.6-4.8 จะเห็นได้ว่าพีกที่ตำแหน่ง 2 θ เท่ากับ 22 องศา ซึ่งแสดงความเป็นผลึกของเซลลูโลสในวัสดุมีความสูงเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการไฮโดรไลซิส และความสูงของพีกดังกล่าวจะลดลงจนหายไป เมื่ออุณหภูมิเกินกว่าค่าหนึ่งๆ ผลการวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้นซึ่งพบว่าส่วนที่เป็นอสัณฐาน ได้แก่ เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ถูกกำจัดออกไปจากโครงสร้างผนังพืชของชานอ้อย โดยการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในช่วงอุณหภูมิต่ำ จึงทำให้อัตราส่วนปริมาณของเซลลูโลสในกากของแข็งมีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นจนเพียงพอต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส โครงผลึกจึงถูกทำลาย และย่อยสลายเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ของเหลว ได้แก่ เซลโลแซ็กคาไรด์ จากกราฟในรูปที่ 4.6 ซึ่งใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสชานอ้อย 0 นาที ที่อุณหภูมิ 290 องศาเซลเซียส พบว่าไม่เกิดพีกที่ตำแหน่ง 2 θ เท่ากับ 22 องศา โครงผลึกของเซลลูโลสถูกทำลายจนหมด สำหรับระยะเวลาในการไฮโดรไลซิสที่ยาวนาน ได้แก่ 30 และ 60 นาที อุณหภูมิที่สามารถทำลายโครงสร้างผลึกได้จนหมดมีค่าลดลง คือ 250 และ 270 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และ 4.8



รูปที่ 4.6 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที



รูปที่ 4.7 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 30 นาที

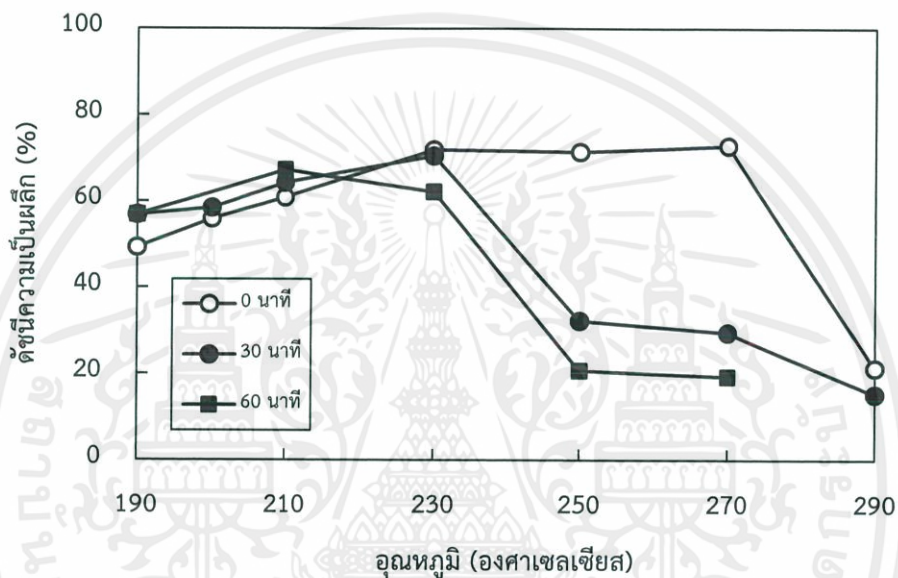


รูปที่ 4.8 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 60 นาที

รูปที่ 4.9 แสดงดัชนีความเป็นผลึกของเซลลูโลสในกากของแข็งของชานอ้อยจากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่าในช่วงอุณหภูมิ 190-230 องศาเซลเซียส กากของแข็งของชานอ้อยมีค่าดัชนีความเป็นผลึกเพิ่มขึ้น ในช่วงอุณหภูมิดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

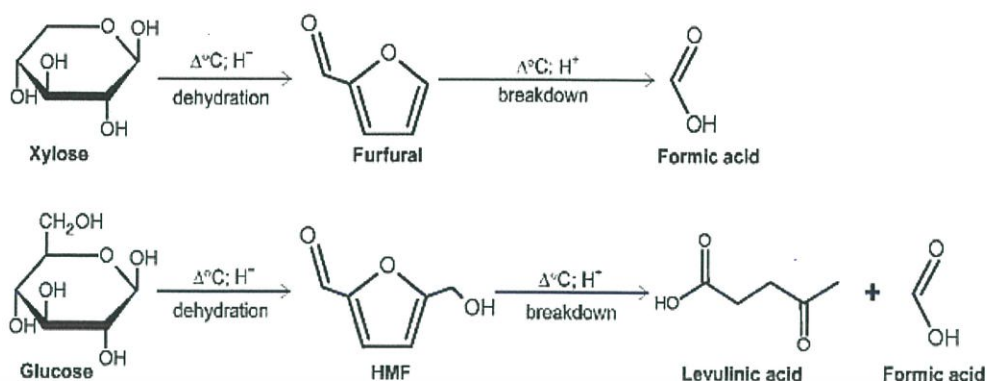
เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ซึ่งมีโครงสร้างอสังฐานถูกไฮโดรไลซิสและถูกกำจัดออกจากผนังเซลล์พืชเกิดในผลิตภัณฑ์ของเหลว (Sasaki และคณะ, 2003) ส่วนในช่วงอุณหภูมิ 250-270 องศาเซลเซียส พบว่าโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสถูกทำลายได้แล้วด้วยน้ำร้อนอัดความดัน โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกะ แต่ต้องใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสตั้งแต่ 30 นาทีขึ้นไป หากไฮโดรไลซิสในช่วงเวลาสั้นๆ (0 นาที) ความรุนแรงไม่เพียงพอในการทำลายโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส โครงสร้างผลึกจึงถูกทำลายที่อุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่ากรณีใช้เวลาในการไฮโดรไลซิสนาน



รูปที่ 4.9 ดัชนีความเป็นผลึกของกากของแข็งจากการไฮโดรไลซิสนานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน

4.2.3 สารพลอยได้จากน้ำตาลรีดิวซ์ในการไฮโดรไลซิส

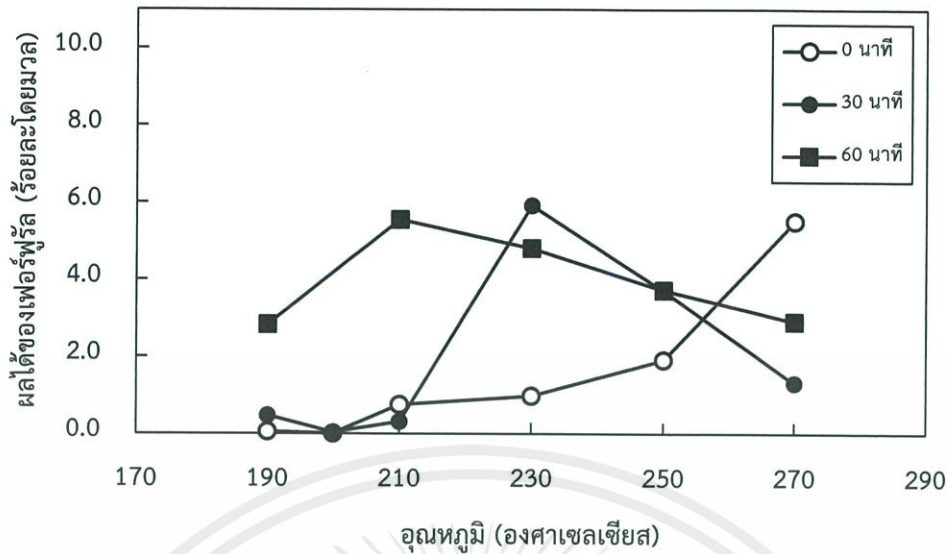
นอกเหนือจากน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส สารพลอยได้อื่นๆ ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล สามารถเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และหากไฮโดรไลเซทถูกทำปฏิกิริยาภายใต้ภาวะเดิมต่อไป เฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล หรือสารพลอยได้อื่นๆ จะสลายโมเลกุลเป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก (Formic acid) หรือกรดเลวูลินิก (Levulinic acid) เป็นต้น หรือก๊าซได้กลไกการเกิดเฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล และสารพลอยได้อื่นๆ จากไซโลสและกลูโคสแสดงดังรูปที่ 4.10



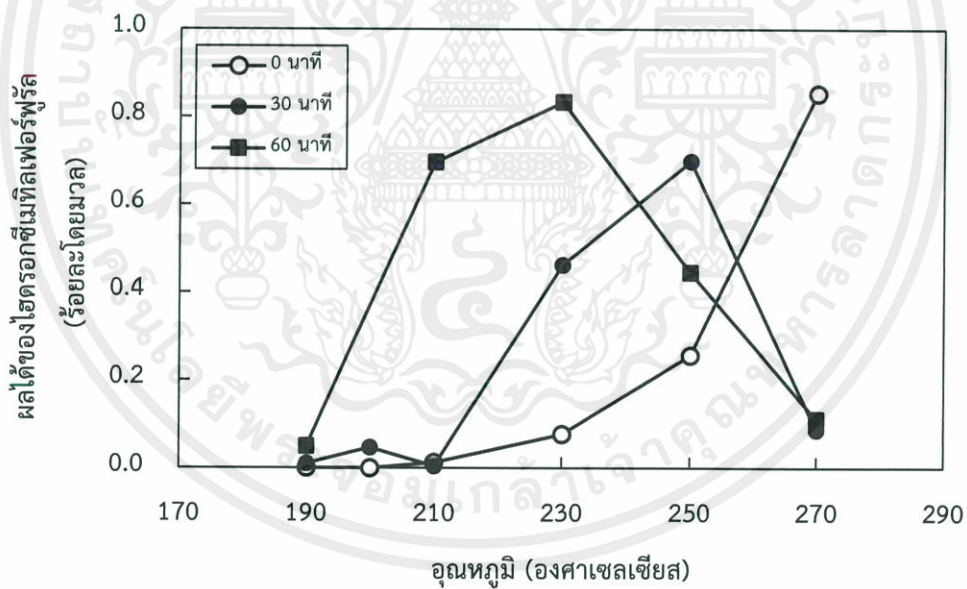
รูปที่ 4.10 กลไกการเกิดเฟอร์ฟูรัล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล และสารพลอยได้อื่นๆ จากไซโลส และกลูโคส (Almeida และคณะ, 2009)

รูปที่ 4.11 แสดงปริมาณเฟอร์ฟูรัลที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ตามลำดับ พบว่าที่เวลา 0 นาที เมื่ออุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสสูงขึ้น เฟอร์ฟูรัลมีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนที่เวลา 30 นาที หลังจกอุณหภูมิสูงกว่า 230 องศาเซลเซียส เฟอร์ฟูรัลจะมีปริมาณลดลงเนื่องจากเกิดการแตกสลายของโมเลกุล (Fragmentation) ไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น หากใช้เวลานานขึ้น ได้แก่ 60 นาที เฟอร์ฟูรัลจะเกิดการแตกสลายโมเลกุลได้ที่อุณหภูมิต่ำลง คือ 210 องศาเซลเซียส

ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ แสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่าปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลมีแนวโน้มคล้ายกับปริมาณเฟอร์ฟูรัล แต่อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการแตกสลายของโมเลกุลที่เวลา 30 เพิ่มขึ้นจาก 210 องศาเซลเซียส เป็น 230 องศาเซลเซียส และที่เวลา 60 นาที อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 230 องศาเซลเซียส เป็น 250 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล เป็นสารพลอยได้จากกลูโคส ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสที่เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิสูงกว่า ดังนั้นช่วงอุณหภูมิในการเกิดการแตกสลายโมเลกุลของไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล จึงเลื่อนมาในช่วงอุณหภูมิสูงกว่ากรณีของเฟอร์ฟูรัล



รูปที่ 4.11 ปริมาณเฟอร์รูล์ฟรัสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสซันอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ



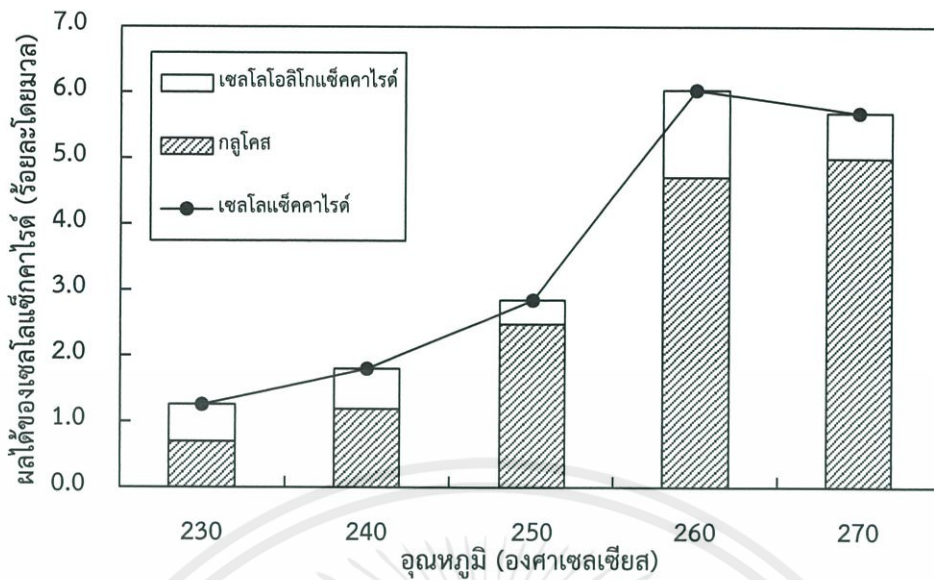
รูปที่ 4.12 ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์รูล์ฟรัสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสซันอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิต่างๆ

4.3 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน

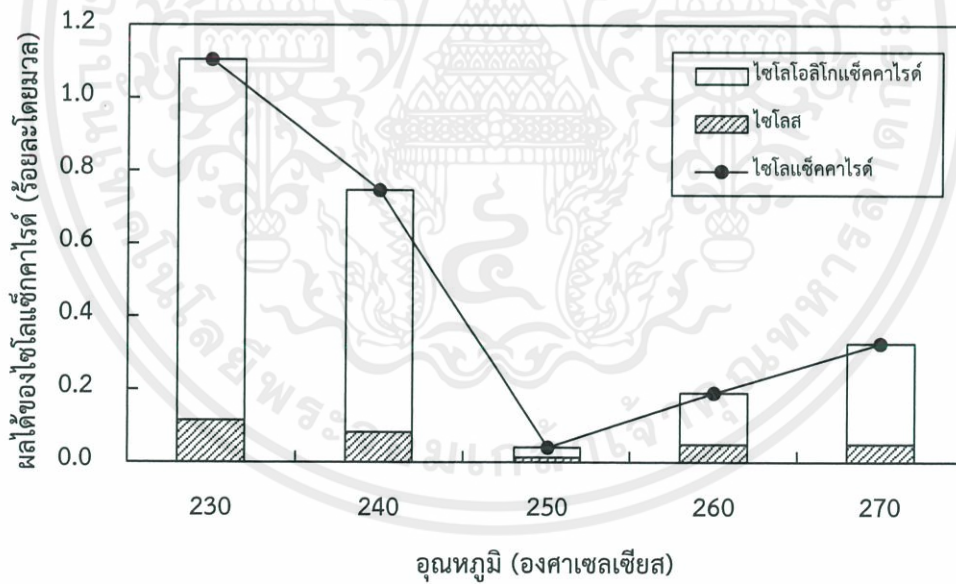
4.3.1 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

จากผลการทดลองการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน โดยการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที นับเป็นขั้นตอนที่ 1 ส่วนในขั้นตอนที่ 2 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยที่ได้จากการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 คือ อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ดังแสดงในรูปที่ 4.13 มีผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์เท่ากับร้อยละ 6.0 โดยมวล ค่ารายงานบนฐานน้ำหนักขานอ้อยปราศจากสารสกัดอบแห้ง คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลโลแซ็กคาไรด์เท่ากับร้อยละ 13.3 โดยมวล เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของปริมาณกลูโคสและเซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ พบว่าเซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ส่วนกลูโคส คือ น้ำตาลรีดิทซ์ที่วิเคราะห์ได้ส่วนใหญ่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากกากของแข็งของขานอ้อยที่ใช้ในขั้นตอนที่ 2 ผ่านการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากโครงสร้างของผนังพืชแล้ว เซลลูโลสจึงถูกไฮโดรไลซ์ได้ง่ายขึ้น และเกิดปฏิกิริยาดีโพลีเมอร์ไรเซชันของเซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นกลูโคสได้ดี (Yu และคณะ, 2010) นอกจากนี้ ยังพบปริมาณไซโลแซ็กคาไรด์เพียงเล็กน้อยที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในกากของแข็งของขานอ้อยจากขั้นตอนที่ 1 แสดงได้ดังรูปที่ 4.14

ตารางที่ 4.3 แสดงผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิทซ์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันภายใต้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน พบว่าวิธีการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอนด้วยน้ำร้อนอัดความดัน สามารถเพิ่มผลได้น้ำตาลรีดิทซ์รวมเป็นร้อยละ 28.8 โดยมวล ประกอบด้วยปริมาณไซโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 22.2 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของไซโลแซ็กคาไรด์เท่ากับร้อยละ 82.0 โดยมวล และเซลโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสร้อยละ 6.6 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลโลแซ็กคาไรด์ร้อยละ 14.0 โดยมวล ซึ่งค่ารายงานบนฐานน้ำหนักขานอ้อยปราศจากสารสกัดอบแห้ง แต่อย่างไรก็ตามเซลโลแซ็กคาไรด์ยังต่ำอยู่ สาเหตุที่ผลได้คืนของเซลโลแซ็กคาไรด์มีปริมาณต่ำ เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาข้างเคียงอื่นๆ ภายใต้ภาวะอุณหภูมิสูง ทำให้เกิดสารพลอยได้อื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ หรือก๊าซมากกว่าเกิดเป็นน้ำตาลรีดิทซ์



รูปที่ 4.13 ผลได้ของเซลโลสแอซเตทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของชานอ้อย ที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที



รูปที่ 4.14 ผลได้ของเซลโลสแอซเตทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของชานอ้อยที่ อุณหภูมิต่างๆ และเวลา 0 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อน อดความดันภายใต้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม

ชนิดน้ำตาลรีดิวซ์	ผลได้ (ร้อยละโดยมวล)			ผลได้คืนมารวม (ร้อยละโดยมวล)
	ขั้นตอนที่ 1*	ขั้นตอนที่ 2**	รวม	
ไซโลแซ็กคาไรด์	22.0	0.2	22.2	82.0
- ไซโลส	0.6	0.1	0.8	
- ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	21.4	0.1	21.5	
เซลโลแซ็กคาไรด์	0.6	6.0	6.6	14.0
- กลูโคส	0.0	4.7	4.7	
- เซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	0.6	1.3	1.9	

หมายเหตุ: * ขั้นตอนที่ 1 คือ การไฮโดรไลซิสขานอ้อยที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที

** ขั้นตอนที่ 2 คือ การไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยจากการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 ที่อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที

ปริมาณกากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสที่อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที เหลืออยู่ร้อยละ 26.5 โดยมวล ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส ลิกนิน และอื่นๆ ร้อยละ 20.6, 5.4 และ 0.5 โดยมวล ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเซลลูโลสในกากของแข็งหลังทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแบบ 2 ขั้นตอน มีปริมาณมากถึงร้อยละ 20.6 โดยมวล ทั้งนี้อาจเกิดจากการควบแน่นของโมเลกุล ลิกนินปกคลุมพื้นที่ผิวของโครงสร้างเซลลูโลส ทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสไม่สมบูรณ์ ดังนั้น เพื่อเพิ่มผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 2 จึงได้ทดลองใช้เอนไซม์ เซลลูเลสย่อยสลายกากของแข็งของขานอ้อยที่ถูกไฮโดรไลซิสภายใต้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 1 (210 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกับการใช้ความร้อนอดความดัน

4.3.2 การไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอดความดันในขั้นตอนที่ 1

และเอนไซม์เซลลูเลสในขั้นตอนที่ 2

ในขั้นตอนที่ 1 คือการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสด้วยน้ำร้อนอดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที และในขั้นตอนที่ 2 คือการนำกากของแข็งที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาไฮโดรไลซิสเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเซลโลแซ็กคาไรด์ที่ได้ คือ กลูโคส จากการย่อยสลายของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสในเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณร้อยละ 24.5 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลลูโลสร้อยละ 54.3 โดยมวล และยังได้ไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสที่หลงเหลืออยู่ในกาก

ของแข็งของขานอ้อยปริมาณร้อยละ 2.1 โดยมวล คิดเป็นผลได้คีนมาของเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 7.7 โดยมวล ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.4

การไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอนด้วยน้ำและเอนไซม์เซลลูเลส ให้ผลได้น้ำตาลรีดิวซ์รวมร้อยละ 49.2 โดยมวล ประกอบด้วยไซโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 24.1 โดยมวล คิดเป็นผลได้คีนมาของเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 96.0 โดยมวล และเซลโลแซ็กคาไรด์จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสร้อยละ 25.1 โดยมวล คิดเป็นผลได้คีนมาของเซลลูโลสร้อยละ 55.6 โดยมวล และเหลือกากของแข็งร้อยละ 14.1 โดยมวล

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้คีนมาจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอนด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส

ชนิดน้ำตาลรีดิวซ์	ผลได้ (ร้อยละโดยมวล)			ผลได้คีนมารวม (ร้อยละโดยมวล)
	ขั้นตอนที่ 1*	ขั้นตอนที่ 2**	รวม	
ไซโลแซ็กคาไรด์	22.0	2.1	24.1	96.0
- ไซโลส	0.6	2.1	2.7	
- ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	21.4	0.0	21.4	
เซลโลแซ็กคาไรด์	0.6	24.5	25.1	55.6
- กลูโคส	0.0	24.5	24.5	
- เซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	0.6	0.0	0.6	

หมายเหตุ: * ขั้นตอนที่ 1 คือ การไฮโดรไลซิสขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที

** ขั้นตอนที่ 2 คือ การไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยจากการไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

4.3.3 การเปรียบเทียบการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วย

น้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส

เมื่อเปรียบเทียบผลน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 ระหว่างวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันและวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ผลการทดลองสรุปดังตารางที่ 4.5 พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส มีร้อยละผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์มากกว่าการใช้ น้ำร้อนอัดความดัน เนื่องจากกากของแข็งของขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพแล้วจากขั้นตอนที่ 1 มีโครงสร้างของผนังพืชอ่อนแอลง เอนไซม์

เซลล์เลสซึ่งมีความจำเพาะต่อการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสจึงสามารถย่อยสลายเซลลูโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ดีกว่าการใช้ความร้อนอัดความดันที่ภาวะรุนแรง เพราะนอกจากทำให้ลิกนินเกิดการควบแน่นของโมเลกุลแล้ว น้ำร้อนอัดความดันยังทำให้เกิดการเปลี่ยนทางเคมีของกลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เพอร์ฟูรัล และไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟูรัล เป็นต้น (Lazer และคณะ, 2002)

ตารางที่ 4.5 ผลได้และผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลล์เลส

น้ำตาลรีดิวซ์	ผลได้ (ร้อยละโดยมวล)		ผลได้คืนมา (ร้อยละโดยมวล)	
	น้ำร้อนอัดความดัน	เซลล์เลส	น้ำร้อนอัดความดัน	เซลล์เลส
ไซโลแซ็กคาไรด์	0.2	2.1	0.7	7.7
- ไซโลส	0.1	2.1		
- ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	0.1	0.0		
เซลโลแซ็กคาไรด์	6.0	24.5	13.4	54.3
- กลูโคส	4.7	24.5		
- เซลโลโอลิโกแซ็กคาไรด์	1.3	0.0		

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน พบว่า เหมิเซลลูโลสถูกไฮโดรไลซิสเป็นไซโลแซ็กคาไรด์สูงสุดที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ได้ปริมาณไซโลแซ็กคาไรด์รวมเท่ากับร้อยละ 22.0 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของเหมิเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 81.3 โดยมวล แต่พบว่าผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์รวมจากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลสดีที่สุดในอุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที ยังมีปริมาณต่ำ คือ เพียงร้อยละ 6.0 โดยมวล เท่านั้น คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 13.3 โดยมวล ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า เหมิเซลลูโลสและเซลลูโลสมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสแตกต่างกัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Lu และคณะ (2009), Phaiboonsilpa และคณะ (2009) และ Sasaki และคณะ (2003) กากของแข็งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 1 ยังมีปริมาณเซลลูโลสหลงเหลืออยู่มาก คือ ร้อยละ 33.5 โดยมวล จึงศึกษาการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน โดยนำกากของแข็งของขานอ้อยที่ถูกไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที นับเป็นขั้นตอนที่ 1 มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 2 โดยเปรียบเทียบการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส ผลปรากฏว่า ภาวะที่เหมาะสมในไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ได้แก่ อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที ได้ปริมาณไซโลแซ็กคาไรด์ร้อยละ 6.0 โดยมวล คิดเป็นผลได้คืนมาของเซลลูโลสเท่ากับ 13.4 โดยมวล และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถผลิตกลูโคสได้สูงกว่าคือร้อยละ 44.8 โดยมวล คิดเป็นร้อยละผลได้คืนมาเท่ากับ 54.3 โดยมวล การไฮโดรไลซิสเซลลูโลสในกากของแข็งของขานอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งใช้อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดการควบแน่นของลิกนินปกคลุมพื้นผิวกากของแข็งส่งผลให้เซลลูโลสเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไม่สมบูรณ์ ปริมาณกลูโคสจึงไม่สูงมากนัก นอกจากนี้ภายใต้ภาวะรุนแรงดังกล่าว เกิดปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำและการแตกโมเลกุลของกลูโคสทำให้อัตราผลได้ของกลูโคสยิ่งต่ำ ดังนั้นภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน คือ การไฮโดรไลซิสขานอ้อยในขั้นตอนที่ 1 ด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที และการไฮโดรไลซิสขานอ้อยในขั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ได้ผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์จากเหมิเซลลูโลสและเซลลูโลสร้อยละ 89.0 และ 55.6 โดยมวล ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของตรัยนรา และนิพิชฌน์ (2558) พบว่างานวิจัยนี้ได้ผลได้คืนมาของไซโลแซ็กคาไรด์สูงกว่าการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกเจือจางร้อยละ 3 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียส และเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการไฮโดรไลซิสกากของแข็งของขานอ้อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสในขั้นตอนที่ 2 พบว่ามีร้อยละผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์เท่ากับ 24.5 โดยมีผล คิดเป็นผลได้คืนมาจากเซลลูโลสร้อยละ 55.4 โดยมีผล และเหลือกากของแข็งหลังจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ร้อยละ 25.9 โดยมีผล เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากของแข็งดังกล่าว พบว่าเป็นเซลลูโลสร้อยละ 13.2 โดยมีผล ลิกนินร้อยละ 11.6 โดยมีผล และเถ้าและสารอื่นๆ ที่ไม่ทราบร้อยละ 1.1 โดยมีผล เซลลูโลสที่หลงเหลืออยู่ในกากของแข็งซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ที่ไม่สมบูรณ์ คิดเป็นร้อยละ 32.5 โดยมีผล ของเซลลูโลสในองค์ประกอบของขานอ้อย ผู้วิจัยเสนอแนะทำการทดลองเพิ่มปริมาณเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 2 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส และเพิ่มผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์ แต่ทั้งนี้ควรประเมินความคุ้มค่าเชิงเศรษฐศาสตร์ในการเพิ่มปริมาณเอนไซม์กับผลได้ของเซลโลแซ็กคาไรด์ด้วย



บรรณานุกรม

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2559. ศักยภาพชีวมวลในประเทศ (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://biomass.dede.go.th/biomass_web/index.html
- คุชฎี อุตภาพ. 2550. Carbohydrate Technology. Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology.
- ตรัยนรา แซ่ตัน และนิพิชฌน์ โลหะวิจิตรานนท์. 2558. การไฮโดรไลซิสซังอ้อยด้วยกรดซัลฟิวริก เจือจางแบบ 2 ขั้นตอน เพื่อผลิตน้ำตาลรีดิทซ์. ปรินูญานิพนธ์, สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศุภฤกษ์ เห็นประเสริฐแท้. 2555. ทำไมต้องมีเทคนิคการเลี้ยงเบนของรังสีเอกซ์. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะ และวัสดุแห่งชาติ. กันยายน-ตุลาคม, 12-18
- อรทัย วงษาเวียง, มาลีวรรณ อุณพิพัฒน์, ชลธิชา เจริญเนตร และเอกราชชัย ไชยชนะ. 2559. ไฟโรไลซิสของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในท้องถิ่นจังหวัดนครปฐม. วารสารสหวิทยาการ. ปีที่ 11, 46-53
- อรุณี ศุภสินสาธิต. 2555. พลังงานจากชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง. วารสารสิ่งแวดล้อม, ปีที่ 16, 36-43
- อิศราวุธ ประเสริฐสังข์. 2558. โครงการผลของสภาวะของพลาสมาวิทยภาคของเหลวที่มีต่อการย่อยสลายโคโคโตซาน. รายงานวิจัย, สาขาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยนเรศวร
- Almeida, R.M.J., Bertilsson M., Gorwa-Grauslund, M.F., Gorsich S., Lidén G. 2009. Metabolic effects of furaldehydes and impacts on biotechnological processes. Appl Microbiol Biotechnol. 82, 625–638
- Ando, H., Sakaki, T., Kokusho, T., Shibata, M., Uemura, Y., Hatate, Y., 2000. Decomposition behavior of plant biomass in hot-compressed water. Industrial and Engineering Chemistry Research. 39, 3688–3693
- Anonymous. n.d. Glucose. [Online]. Available: <http://wikipedia.org/wiki/Glucose>
- Arantes, V. and Saddler, J.N. 2010. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. Biotechnology for Biofuels, 3, 4

- Bastawde, K.B. 1992. Xylan structure, microbial xylanases and their mode of action. *World J. of Microbiol. and Biotechnol.* 8: 355-368
- Bobleter, O. 1994. Hydrothermal degradation of polymerization of polymers derived from plants. *Progress in Polymer Science*, 19, 797-841
- Cara, C., Ruiz, E., Oliva, J.M., Sáez, F., Castro, E., 2008. Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification. *Bioresource Technology*. 99, 1869–1876
- Cheng K.K., Zhang J.A., Ping W.X., Ge J.P., Zhou Y.J., Ling H.Z., Xu J.M. 2008. Sugarcane bagasse mild alkaline/oxidative pretreatment for ethanol production by alkaline recycle process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 151, 43-50
- Clark, T.A., and Mackie, K.L. 1987. Steam explosion of the soft-wood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. Process optimization. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 7, 373–403
- Fan, L.T., Lee, Y., Beardmore, H.D. 1980. Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 22, 177-199
- Inoune, H., Fujimoto, S., Sakaki, T. 2016. Two-step hot-compressed water treatment of douglas fir for efficient total reducing sugar recovery by enzymatic hydrolysis. *Bioresources*, 11(2), 5124-5137
- Kim, J.S., Lee, Y.Y., Kim, T.H. 2016. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 199, 42-48
- Jollet, V., Chambon, F., Rataboul, F., Cabiac, A., Pinel, C., Guillonb, E., Essayem, N. 2009. Non-catalyzed and Pt/V-Al₂O₃-catalyzed hydrothermal cellulose dissolution-conversion: influence of the reaction parameters and analysis of the unreacted cellulose. *Green Chemistry*, 11, 2052-2060
- Laser, M., Schulman, D., Allen, S.G., Lichwa, J., Antal Jr, M.J., Lynd, L.R., 2002. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresource. Technol.*, 81, 33–44

- Lee, J.S., Parameswaran, B., Lee, J.P., Park, S.C. 2008. Recent developments of key technologies on cellulosic ethanol production. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67, 865-873
- Li, W., Teck, N., Ang, G., Cheng, N., Adeline, S., May C. 2014. Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*, 67, 319-338
- Lu, X., Yamauchi, K., Phaiboonsilpa, N., Saka, S. 2009. Two-step hydrolysis of Japanese beech as treated by semi-flow hot-compressed water. *J. Wood Sci.* 55, 367-375
- Luque de Castro, M.D., Priego-Capote, F. 2010. Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*. 1217, 2383-2389
- Lustri, W.R., Gomes de Oliveira, B., Barud, H., Peres, M.F.S., Gutierrez, J. 2015. Microbial cellulose-Biosynthesis mechanisms and medical applications. In: Matheus Poletto (Ed.), *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends*, InTech. [Online]. Available: <https://www.intechopen.com/books/cellulose-fundamental-aspects-and-current-trends/microbial-cellulose-biosynthesis-mechanisms-and-medical-applications>.
- Manorach, K., Poonsrisawat, A., Viriya-empikul, N., Laosiripojana, N. 2015. Optimization of Sub-Critical Water Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. *Energy Procedia*, 79, 937-942
- Massutto, S.I., Fernandes, M., Milagres, A.M.F., Roberto, I.C. 2008. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Enzyme and Microbial Technology*, 43, 124-129
- McMillan, J.D., 1994. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Eds.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*. American Chemical Society, Washington, DC, 292-324
- Mosier, N. S., Wyman, C., Dale, B. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96, 673-686
- Moutta, R., Ferreira-leitaoelba, V. Bon, P. 2014. Enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse and straw mixtures pretreated with diluted acid. *Biocatalysis and Biotransformation*, 32, 93-100

- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2002. Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates.I: Inhibition and Detoxification. *Bioresource Technology*, 74, 17-24
- Pérez, J., González, A., Oliva, M.J., Ballesteros, Ignacio., Manzanares, P. 2007. Effect of process variables on liquid hot water pretreatment of wheat straw for bioconversion to fuel-ethanol in a batch reactor. *Chemical Technology and Biotechnology*. 82, 929-938
- Phaiboonsilpa, N., Lu, X., Yamauchi, K., Saka, S. 2009. Chemical conversion of lignocellulosics as treated by two-step semi-flow hot-compressed water. In: *Proceedings of the World Renewable Energy Congress 2009-Asia*, Bangkok, Thailand, 235–240
- Phaiboonsilpa, N., Mai, O., Yamauchi, K., Rabemanolontsoa, H., Saka, S. 2013. Two-step decomposition behavior of rice straw as treated by semi-flow hot-compressed water. *Industrial Crops and Products*, 92, 319-326
- Rabemanolontsoa H., Sumiko A., Shiro S. 2013. Comparative study on chemical composition of various biomass species. *The Royal Society of Chemistry* 2013, 3, 3946-3956
- Ribeiro, E. M. G., Carvalho, L., Ortiz, G., Cardoso, F., Viana D., 2013. An overview on cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) macro and micro components and a technological approach. In: Innocenzo Muzzalupo (ed), *Food Industry*., Intech, [Online].Available: <https://www.intechopen.com/books/food-industry/an-overview-on-cagaita-eugenia-dysenterica-dc-macro-and-micro-components-and-a-technological-approac>
- Sasaki, M., Adschiri, T., Arai, K., 2003. Fractionation of sugarcane bagasse by hydrothermal treatment. *Bioresource Technology* 86, 301–304
- Sindhu, R., Kuttiraja, M., Binod, P., Janu, K.U., Sukumaran R.K., Pandey A. 2011. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Bioresource Technology*, 102, 10915-10921
- Silverstein, R.A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Boyette, M.D., Osborne, J., 2007. A comparison of chemical pre-treatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology*, 98, 3000-3011

- Suiter, J.B., Ruiz, R.O., Scarlata, C.J., Sluiter, A.D., Templeton D.W. 2010. Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9043-9053
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. *Bioresource Technology*, 83, 1-11
- Yu, Q., Zhuang, X., Yuan, Z., Wang Q., Qi, W., Zhang, Y., Xu, J., Xu, H., Wang W. 2010. Two-step liquid hot water pretreatment of *Eucalyptus grandis* to enhance sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. *Bioresource Technology*. 101, 4895-4899
- Yu, Q., Zhuang, X., Lv, S., He, M., Zhang, Y., Yuan, Z., Wang, Q., Wang, W., Tan, X. 2013. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes. *Bioresource Technology*, 129, 592-598
- Zheng, Y., Pan, Z., Zhang, R. 2009. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 2, 51-68

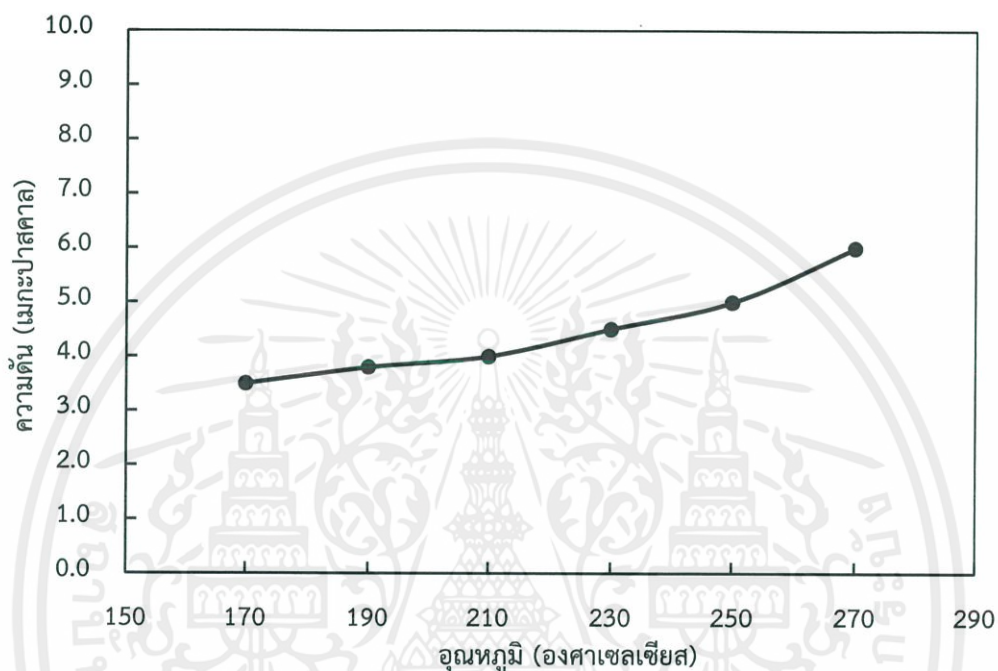
ภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

รูปแบบของอุณหภูมิและความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่ใช้ในการทดลองไฮโดรไลซิสซันอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน



รูปที่ ก.1 รูปแบบของอุณหภูมิและความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่ใช้ในการทดลองไฮโดรไลซิสซันอ้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

ตารางที่ ก.1 ความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความดัน (เมกะปาสคาล)
170	3.5
190	3.8
210	4.0
230	4.5
250	5.0
270	6.0

ภาคผนวก ข

การคำนวณ

1. การคำนวณปริมาณองค์ประกอบในไฮโดรไลเซท

ตัวอย่างที่ 1 คำนวณปริมาณไซโลสและไซโลแซ็กคาไรด์ในไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที ปริมาตร 6 มิลลิลิตร พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ไฮโดรไลเซท เท่ากับ 443,705 และไฮโดรไลเซทหลังทำโพสตีไฮโดรไลซิส เท่ากับ 133,079

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของไซโลส ดังรูปที่ ค.2 เขียนสมการได้ดังนี้

$$Y = 3.13X$$

เมื่อ Y คือ ความเข้มข้นของไซโลส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

X คือ พื้นที่ใต้กราฟ ($\times 10^6$)

แทนค่า
$$Y = 3.13 \times (443,705 \times 10^6)$$

$$Y = 1.3888 \text{ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ในไฮโดรไลเซทปริมาตร 6 มิลลิลิตร มีปริมาณไซโลสเท่ากับ

$$1.3888 \times 6 = 8.33 \text{ มิลลิกรัม}$$

$$= 0.0083 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาณไซโลสทั้งหมดในไฮโดรไลเซท เท่ากับ 0.0083 กรัม

ปริมาณไซโลแซ็กคาไรด์หาได้จากปริมาณไซโลสที่ได้จากการทำโพสตีไฮโดรไลซิส และเจือจางสารละลาย 10 เท่า

แทนค่า
$$Y = 3.13 \times (133079 \times 10^6) \times 10$$

$$= 4.1654 \text{ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

ในไฮโดรไลเซทปริมาณ 6 มิลลิลิตร มีปริมาณไซโลสเท่ากับ

$$4.1654 \times 6 = 24.9922 \text{ มิลลิกรัม}$$

$$= 0.025 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาณไซโลสแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในไฮโดรไลเซท เท่ากับ 0.025 กรัม

ตัวอย่างที่ 2 คำนวณปริมาณกลูโคสในไฮโดรไลเซทที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในขั้นตอนที่ 2 ที่อุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที ปริมาตร 6 มิลลิลิตร พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ เท่ากับ 558,540

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของไซโลส ดังรูปที่ ค.1 เขียนสมการได้ดังนี้

$$Y = 2.9168X$$

เมื่อ Y คือ ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

X คือ พื้นที่ใต้กราฟ ($\times 10^6$)

แทนค่า $Y = 2.9168 \times (558,540 \times 10^{-6})$

$$Y = 1.6291 \text{ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

เนื่องจากปริมาณกากของแข็งที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มีร้อยละ 54.71 โดยมวล และนำมาใช้ในไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 2 รายงานค่าความเข้มข้นกลูโคสฐานน้ำหนักขานอ้อยอบแห้งก่อนการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสในขั้นตอนที่ 1 ได้ว่า

ในไฮโดรไลเซทปริมาณ 6 มิลลิลิตร มีปริมาณกลูโคสเท่ากับ

$$1.6291 \times 6 \times 0.5471 = 5.35 \text{ มิลลิกรัม}$$

$$= 0.0054 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาณกลูโคสทั้งหมดในไฮโดรไลเซท เท่ากับ 0.0054 กรัม

2. การคำนวณปริมาณผลได้และผลได้คืนมาของน้ำตาลรีดิวซ์

$$\text{ผลได้ของน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละโดยมวล} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักขานอ้อยแห้งเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ผลได้คืนมาของน้ำตาลรีตีวซ์ร้อยละโดยมวล} = \frac{\text{ผลได้ของน้ำตาลรีตีวซ์ (ร้อยละโดยมวล)}}{\text{น้ำตาลรีตีวซ์ในชานอ้อยเริ่มต้น (ร้อยละโดยมวล)}} \times 100$$

ตัวอย่างที่ 3 คำนวณปริมาณผลได้และผลได้คืนมาของไซโลแซ็กคาไรด์หลังการไฮโดรไลซิสชานอ้อยแบบ 1 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส และเวลา 0 นาที โดยใช้น้ำหนักชานอ้อยแห้งเริ่มต้นเท่ากับ 0.1135 กรัม และจากตารางที่ 4.1 ชานอ้อยเริ่มต้นมีไซโลสร้อยละ 27.1 โดยมวล

$$\text{ร้อยละผลได้ของไซโลแซ็กคาไรด์} = \frac{0.025}{0.1135} \times 100 = 22.02 \text{ โดยมวล}$$

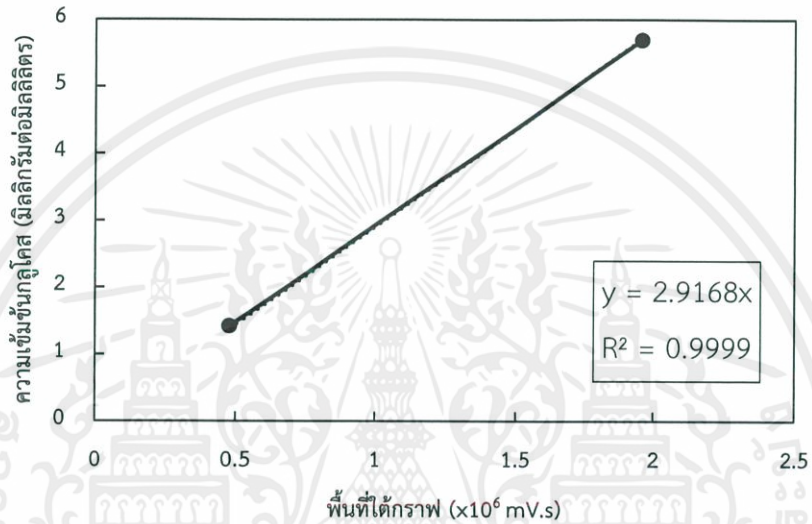
$$\text{ร้อยละผลได้คืนมาของไซโลแซ็กคาไรด์} = \frac{22.02}{27.10} \times 100 = 81.25 \text{ โดยมวล}$$



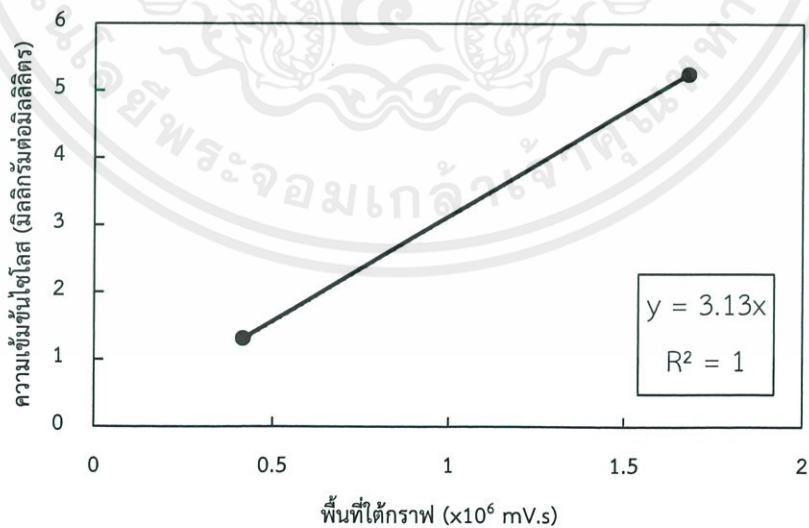
ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบ

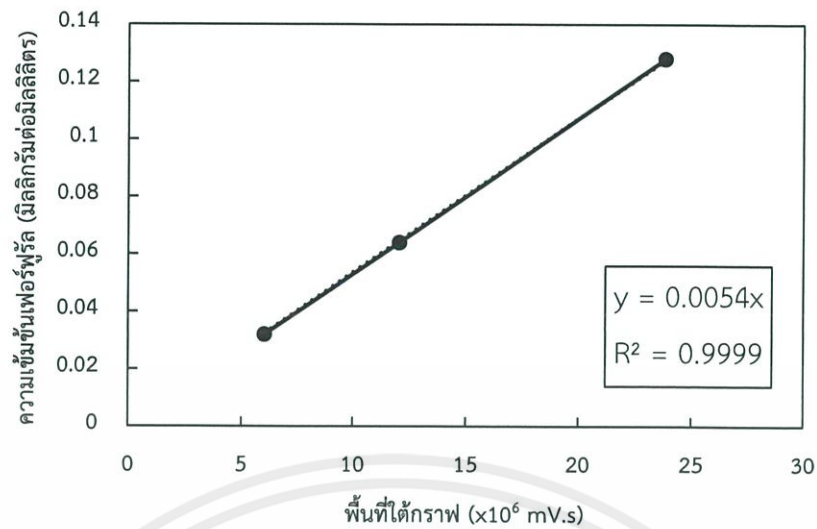
1. กราฟมาตรฐานสำหรับการคำนวณความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และสารพลอยได้จากพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม



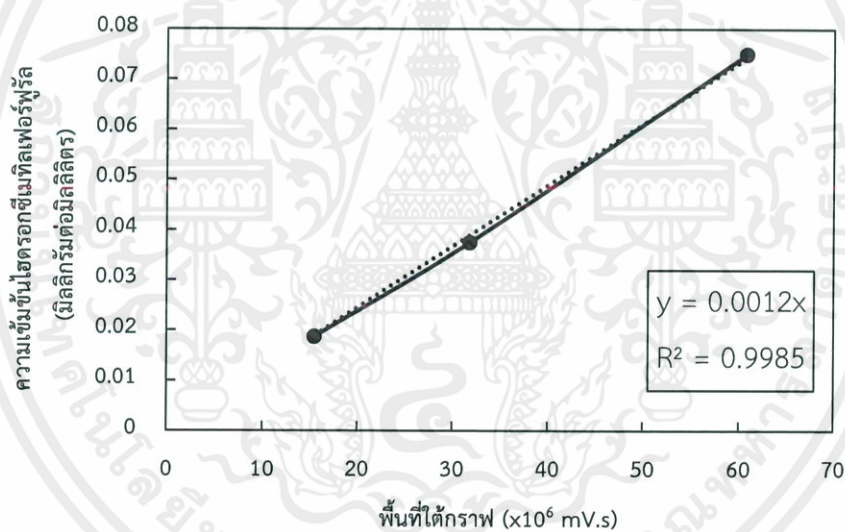
รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของกลูโคส



รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของไซโลส



รูปที่ ค.3 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของเฟอร์รูล



รูปที่ ค.4 กราฟมาตรฐานพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมและความเข้มข้นของไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์รูล

2. พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม

ตารางที่ ค.1 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐาน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรม			
		กลูโคส	ไซโลส	เพอร์ฟูรัล	ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟูรัล
กลูโคส	5.7000	1,956,945	-	-	-
	1.4250	477,218	-	-	-
ไซโลส	5.2500	-	1,677,707	-	-
	1.3125	-	417,685	-	-
เพอร์ฟูรัล	0.1280	-	-	23,824,213	-
	0.0640	-	-	12,048,452	-
	0.0320	-	-	6,022,119	-
ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟูรัล	0.0075	-	-	-	6,077,972
	0.0038	-	-	-	3,179,677
	0.0019	-	-	-	1,544,834

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 พื้นที่ได้กราฟิครวมของกฏุโคสและเซลล์เช็คค่าไรต์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ

	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา											
		0 นาที			30 นาที			60 นาที					
		กฏุโคส	เซลล์เช็คค่าไรต์	กฏุโคส	เซลล์เช็คค่าไรต์	กฏุโคส	เซลล์เช็คค่าไรต์	กฏุโคส	เซลล์เช็คค่าไรต์				
1 ขั้นตอน	190	1,178	955	3,970	1,997	67,341	8,760						
	200	1,244	6,186	30,647	6,938	N/A	N/A						
	210	2,054	3,688	2,181	1,982	112,391	14,573						
	220	12,728	5,343	N/A	N/A	N/A	N/A						
	230	44,771	14,557	135,440	11,154	96,481	8,199						
	250	165,135	15,511	30,675	6,159	18,879	3,151						
	270	163,365	16,032	16,187	2,231	12,456	3,492						
2 ขั้นตอน	290	20,735	1,108	9,919	3,042	N/A	N/A						
	230	81,817	14,870	281,795	29,291	N/A	N/A						
	240	135,838	20,540	N/A	N/A	N/A	N/A						
	250	279,645	32,084	75,748	6,603	N/A	N/A						
	260	558,540	66,440	N/A	N/A	N/A	N/A						
270	477,112	54,360	15,925	1,531	N/A	N/A							

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง

ตารางที่ ค.3 พื้นที่ได้กราฟโปรแกรมของไซโลสและไซโลสเช็กคาร์ไรต์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสของตัวอย่างน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา											
	0 นาที			30 นาที			60 นาที					
	ไซโลส	ไซโลสเช็กคาร์ไรต์	ไซโลส	ไซโลส	ไซโลสเช็กคาร์ไรต์	ไซโลส	ไซโลส	ไซโลสเช็กคาร์ไรต์	ไซโลส	ไซโลส	ไซโลสเช็กคาร์ไรต์	
190	21,755	43,063	33,342	85,384	677,394	60,079						
200	109,289	107,518	62,5471	62,138	N/A	N/A						
210	443,705	133,079	16,782	8,527	48,084	2,874						
220	279,862	53,707	N/A	N/A	N/A	N/A						
230	468,584	63,953	39,916	4,766	42,370	1,072						
250	147,334	8,558	35,261	1,040	19,169	1,106						
270	20,050	1,260	18,633	2,376	13,028	1,959						
290	16,508	516	9,824	520	N/A	N/A						
230	105,483	12,171	15,877	375	N/A	N/A						
240	69,557	7,947	N/A	N/A	N/A	N/A						
250	11,105	427	30,600	1,856	N/A	N/A						
260	41,591	1,987	N/A	N/A	N/A	N/A						
270	36,160	2,906	11,781	1,098	N/A	N/A						

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง

ตารางที่ ค.4 พื้นที่ได้กราฟิโครมาโทแกรมของเพอร์ฟลูโรและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟลูโรที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ

	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา											
		0 นาที			30 นาที			60 นาที					
		เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิล เพอร์ฟลูโร		
ขั้นตอนที่ 1	190	1,611,368	114,280	14,252,747	1,394,862	96,862,315	7,681,189						
	200	9,067,462	123,114,433	468,953	6,971,893	N/A	N/A						
	210	26545,513	1,987,646	9,575,087	695,904	171,389,994	96,863,242						
	230	134,659,258	11,988,836	169,755,375	59,551,710	146,124,898	113,986,413						
	250	147,605,418	35,324,816	138,861,411	117,961,272	117,462,520	63,318,084						
	270	155,269,407	108,163,098	41,327,421	12,340,824	103,178,855	17,780,978						
ขั้นตอนที่ 2	230	21,766,568	114,280	53,750,707	1,394,862	N/A	N/A						
	250	3,460,357	6,101,735	72,004,615	6,101,735	N/A	N/A						
	270	72,801,039	96,863,242	46,359,664	11,988,836	N/A	N/A						

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง

ตารางที่ ค.5 พื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยใน
ขั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

กากของแข็ง	หลอดที่	กลูโคส	ไซโลส
ขานอ้อยปราศจากสารสกัด	1	7,492	6,232
	2	1,532,057	488,029
	3	1,494,133	542,428
กากของแข็งจากการไฮโดรไลซิส ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในขั้นตอนที่ 1	1	0	2,055
	2	7,550,157	600,186
	3	7,923,019	627,811

หมายเหตุ: กากของแข็งจากการไฮโดรไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดันในขั้นตอนที่ 1 ที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส เวลา 0 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปริมาณน้ำสารรีดิวซ์และผลผลิตพลอยได้จากกาโรไฮดรไลซิส

ตารางที่ ค.6 ปริมาณกลูโคสและเซลโลแซ็กคาไรด์ (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา											
	0 นาที			30 นาที			60 นาที					
	กลูโคส	เซลโลโอดี- โกแซ็กคาไรด์	เซลโล- แซ็กคาไรด์	กลูโคส	เซลโลโอดี- โกแซ็กคาไรด์	เซลโล- แซ็กคาไรด์	กลูโคส	เซลโลโอดี- โกแซ็กคาไรด์	เซลโล- แซ็กคาไรด์	กลูโคส	เซลโลโอดี- โกแซ็กคาไรด์	เซลโล- แซ็กคาไรด์
190	0.04	0.28	0.32	0.02	0.68	0.70	2.19	0.52	2.71			
200	0.00	0.44	0.44	0.04	0.46	0.50	N/A	N/A	N/A			
210	0.00	0.57	0.57	0.08	0.61	0.69	4.04	0.95	4.99			
220	0.01	0.76	0.77	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A			
230	0.06	2.44	2.50	4.13	1.13	5.26	2.86	0.67	3.53			
250	1.13	4.23	5.36	0.91	0.83	1.74	0.63	0.42	1.06			
270	3.07	2.95	6.02	0.54	0.21	0.75	0.37	0.67	1.04			
290	0.42	0.36	0.78	0.35	0.73	1.08	N/A	N/A	N/A			
230	0.69	0.56	1.26	2.68	0.11	2.79	N/A	N/A	N/A			
240	1.19	0.61	1.80	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A			
250	2.48	0.37	2.84	0.64	0.09	0.73	N/A	N/A	N/A			
260	4.71	1.32	6.03	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A			
270	5.00	0.69	5.69	0.15	0.00	0.15	N/A	N/A	N/A			

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ทำการทดลอง

ตารางที่ ค.7 ปริมาณไซโลสและไซโตแซ็กคาไรด์ (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา											
	0 นาที			30 นาที			60 นาที					
	ไซโลส	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโลส	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโลส	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโลส	ไซโตแซ็กคาไรด์	ไซโตแซ็กคาไรด์
190	0.81	14.73	15.54	0.01	16.11	16.12	0.23	16.12	19.69	0.23	16.12	19.92
200	0.89	19.12	20.01	0.02	1.04	1.05	N/A	1.05	N/A	N/A	1.05	N/A
210	0.61	21.40	22.01	0.01	3.17	3.17	0.02	3.17	1.04	0.02	3.17	1.05
220	0.67	9.87	10.54	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
230	0.74	9.80	10.54	0.02	1.87	1.89	0.02	1.89	0.38	0.02	1.89	0.40
250	0.54	2.63	3.17	0.01	0.30	0.31	0.40	0.31	0.29	0.40	0.31	0.69
270	0.25	0.15	0.40	0.67	0.18	0.86	0.42	0.86	0.21	0.42	0.86	0.63
290	0.10	0.23	0.33	0.20	0.17	0.37	N/A	0.37	N/A	N/A	0.37	N/A
230	0.12	1.03	1.15	0.02	0.02	0.04	N/A	0.04	N/A	N/A	0.04	N/A
240	0.09	0.69	0.77	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
250	0.01	0.03	0.04	0.04	0.15	0.19	N/A	0.19	N/A	N/A	0.19	N/A
260	0.05	0.15	0.20	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
270	0.05	0.29	0.34	0.01	0.10	0.11	N/A	0.11	N/A	N/A	0.11	N/A

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้นำทำการทดลอง

ตารางที่ ค.8 ปริมาณเพอร์ฟลูโรและไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟลูโร (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขาน้อยด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบบ 2 ชั้นตอน ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	เวลา					
		0 นาที		30 นาที		60 นาที	
		เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟลูโร	เพอร์ฟลูโร	ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟลูโร
ชั้นตอน 1	190	0.05	0.09	0.00	0.01	2.83	0.05
	200	0.00	0.00	0.04	0.00	N/A	N/A
	210	0.75	0.13	0.31	0.01	5.55	0.70
	230	0.98	0.72	5.92	0.46	4.81	0.83
	250	1.92	1.99	3.70	0.70	3.72	0.45
ชั้นตอน 2	270	5.51	6.85	1.31	0.09	2.91	0.11
	230	0.06	0.00	0.97	0.01	N/A	N/A
	250	0.35	0.02	1.31	0.02	N/A	N/A
	270	1.44	0.43	0.83	0.05	N/A	N/A

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้รับการทดลอง

ตารางที่ ค.9 ปริมาณของกลูโคสและไซโลส (ร้อยละโดยมวล) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสขานอ้อย
 ชั้นตอนที่ 2 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

กากของแข็ง	หลอดที่	กลูโคส	ไซโลส
ขานอ้อยปราศจากสารสกัด	1	0.02	0.02
	2	4.76	1.62
	3	4.65	1.81
กากของแข็งจากการไฮโดรไลซิส ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในชั้นตอนที่ 1	1	0.00	0.01
	2	23.34	1.99
	3	24.50	2.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปริมาณกากของแข็งที่เหลืออยู่จากการไฮโดรไลซิส

ตารางที่ ค.10 ปริมาณกากของแข็ง (ร้อยละโดยมวล) ที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา		
		0 นาที	30 นาที	60 นาที
ขั้นตอนที่ 1	190	71.71	59.75	52.98
	200	52.98	36.96	N/A
	210	54.71	46.20	38.86
	220	49.34	N/A	N/A
	230	41.20	23.43	15.84
	250	35.48	6.83	7.04
	270	13.47	15.02	15.48
	290	41.20	13.46	N/A
ขั้นตอนที่ 2	230	41.33	30.61	N/A
	240	39.34	N/A	N/A
	250	29.94	9.68	N/A
	260	26.48	N/A	N/A
	270	13.01	11.92	N/A

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง

ตารางที่ ค.11 ปริมาณกากของแข็ง (ร้อยละโดยมวล) ที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2
ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดันและเอนไซม์เซลลูเลส

กากของแข็ง	หลอดที่	น้ำหนักกากของแข็ง
ขานอ้อยปราศจากสารสกัด	1	89.70
	2	75.59
	3	74.66
กากของแข็งจากการไฮโดร ไลซิสด้วยน้ำร้อนอัดความดัน ในขั้นตอนที่ 1	1	75.86
	2	26.14
	3	25.86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ดัชนีความเป็นผลึก

ตารางที่ ค.12 ดัชนีความเป็นผลึกของกากของแข็งที่เหลือจากการไฮโดรไลซิสขานอ้อยแบบ 2
ขั้นตอน ด้วยน้ำร้อนอัดความดัน

	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา		
		0 นาที	30 นาที	60 นาที
ขั้นตอนที่ 1	190	49.30	56.92	56.95
	200	55.95	58.48	N/A
	210	60.85	64.31	67.29
	230	71.98	70.56	62.18
	250	71.41	32.25	20.77
	270	72.80	29.56	19.33
	290	21.32	15.23	N/A
ขั้นตอนที่ 2	230	70.13	73.29	N/A
	240	73.60	N/A	N/A
	250	75.47	62.02	N/A
	260	76.96	N/A	N/A
	270	67.15	18.44	N/A

หมายเหตุ: N/A หมายถึง ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการทดลอง