

การศึกษาองค์ประกอบเยื่อใยในผักตบชวาหลังการปรับสภาพ
ด้วยกรดฟอสฟอริก

STUDYING OF FIBER COMPONENTS IN
TREATED WATER HYACINTH WITH PHOSPHORIC ACID



กาญจนาภรณ์ กระจ่างแจ้ง
นลินี นรสิงห์
นุสบา สุขดี

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDYING OF FIBER COMPONENTS IN TREATED WATER HYACINTH WITH PHOSPHORIC ACID



KARNCHANAPORN KRACHANGCHAENG
NALINEE NORASING
NUSSABA SUKDEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การศึกษาองค์ประกอบเยื่อใยในผักตบชวาหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก

Studying of Fiber Components in Treated Water Hyacinth with Phosphoric Acid

ชื่อนักศึกษา

นางสาวกาญจนาภรณ์ กระจ่างแจ้ง รหัสนักศึกษา 58050588

นางสาวนลินี นรสิงห์ รหัสนักศึกษา 58050634

นางสาวนุสบา สุขดี รหัสนักศึกษา 58050641

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)

ภาควิชา

เคมี

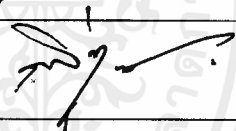
ปีการศึกษา

2561

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ (ประธานกรรมการ)	
ดร.กลินสุคนธ์ สุวรรณรัตน์ (กรรมการ)	
ผศ.พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย (กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา)	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาองค์ประกอบเยื่อใยในผักตบชวาหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกาญจนาภรณ์ กระจ่างแจ้ง รหัสนักศึกษา 58050588 นางสาวนลินี นรสิงห์ รหัสนักศึกษา 58050634 นางสาวนุสบา สุขดี รหัสนักศึกษา 58050641
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ทำการศึกษาองค์ประกอบเยื่อใยในผักตบชวาหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางกายภาพก่อนและหลังการปรับสภาพของผักตบชวา ปริมาณองค์ประกอบเส้นใย และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ผลจากการศึกษา พบว่าองค์ประกอบเยื่อใยก่อนปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลส 36.97% ปริมาณเฮมิเซลลูโลส 35.83% และปริมาณลิกนิน 3.94 % หลังจากการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี คือให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงร่วมกับการใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1% - 1.5% และ 2% (%w/v) ในอัตราส่วน 1:30 โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม พบว่า การปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 2% (%w/v) มีประสิทธิภาพดีที่สุด เนื่องจากมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสลดลงจาก 35.83% เป็น 19.77% ปริมาณเซลลูโลสและลิกนินเพิ่มขึ้นเป็น 60.92% และ 5.72% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ในส่วนที่เป็นของเหลวหลังจากการปรับสภาพผักตบชวด้วยกรดฟอสฟอริก 2% (%w/v) พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 4.49 mg/g (น้ำหนักผักตบชวาแห้ง) ดังนั้นควรปรับสภาพผักตบชวด้วยความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 2% (%w/v) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับสภาพผักตบชวาก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ

คำสำคัญ : กรดฟอสฟอริก การปรับสภาพ น้ำตาลรีดิวซ์ ผักตบชวา องค์ประกอบเยื่อใย

Title	Studying of Fiber Components in Treated Water Hyacinth with Phosphoric Acid		
Students	Miss Karnchanporn	Krachangchaeng	Student ID 58050588
	Miss Nalinee	Norasing	Student ID 58050634
	Miss Nussaba	Sukdee	Student ID 58050641
Degree	Bachelor of Science (Environmental Chemistry)		
Department	Chemistry		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2018		
Advisor	Asst. Prof. Pitsamai Chairat-utai		

Abstract

This special project objective is to study fiber component in treated water hyacinth with phosphoric acid by determining the physical structure of water hyacinth before and after the pretreatment, fiber components and reducing sugar content. Results showed that the fiber component before pretreatment consists of cellulose 36.97%, hemicellulose 35.83% and lignin 3.94%. After pretreated water hyacinth with physiochemical methods by boiling at 90 °c for 1 hour and adding phosphoric acid 1%, 1.5% and 2% (%w/v) in the ratio of water hyacinth to phosphoric acid of 1:30 controlled by distilled water. It was found that the pretreatment with heat and phosphoric acid 2% (%w/v) is most effective, because components of hemicellulose in the pretreated water hyacinth decreased from 35.83% to 19.77%; while cellulose and lignin increased to 60.92% and 5.72% respectively, when compared with the untreated water hyacinth. Moreover, it also shown that the liquid phase filtered from the pretreatment step contained the reducing sugars of 4.49 mg/g dry weight. Therefore, the pretreatment by heat combine with phosphoric acid 2% (%w/v) is most suitable for the pretreatment of water hyacinth before entering biogas fermentation process.

Keyword : phosphoric acid , pretreatment , reducing sugar , water hyacinth , fiber components

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสำเร็จล่วงหน้าได้ดี ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่ายและทางคณะผู้จัดทำต้องขอขอบพระคุณ ผศ.พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ได้กรุณาสละเวลาให้ความรู้และคำแนะนำแนวทางตลอดการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการคุมสอบ รศ.ดร. อุตารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ และ ดร. กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์ รวมถึงผู้ที่เกี่ยวข้องและให้ความอนุเคราะห์กับโครงการพิเศษดังนี้ ตลอดจนการช่วยเหลือต่างๆ คำปรึกษาและคำแนะนำมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกตลอดจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จล่วงหน้าด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมี ในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จล่วงหน้าด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณณัททัย วิจิตรโรทัย และ คุณ จรรยา คงฤทธิ์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตรที่ให้คำปรึกษาในเรื่องการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย ในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จล่วงหน้าด้วยดี

ขอขอบพระคุณ เพื่อนๆในสาขาเคมีสิ่งแวดล้อมทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี และคอยเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ทุกท่านที่คอยให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุกๆเรื่องมาโดยตลอด ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำโครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จล่วงหน้าด้วยดีเสมอมา

กาญจนาภรณ์ กระจำจั่ง

นลินี นรสิงห์

นุสบา สุขดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
สารบัญแผนภาพ.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
1.3 ขอบเขตการศึกษา.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ผักตบชวา.....	3
2.2 ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose).....	6
2.2.1 เซลลูโลส (Cellulose).....	7
2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose).....	8
2.2.3 ลิกนิน (Lignin).....	8
2.3 การปรับสภาพเบื้องต้น (pretreatment).....	9
2.3.1 วิธีการทางกายภาพ (Physical pretreatment).....	11
2.3.2 วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment).....	11
2.3.3 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment).....	13
2.3.4 วิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment).....	13
2.4 การย่อยสลาย (hydrolysis).....	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid).....	17
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	21
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	21
3.2 สารเคมี.....	21
3.3 ที่มาของตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย.....	22
3.4 แผนการดำเนินงานวิจัย	22
3.5 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	26
4.1 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา	26
4.2 ผลการปรับปรุงสภาพผักตบชวาด้วยความร้อนร่วมกับกรด	27
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวจากการไฮโดรไลสผักตบชวา	29
บทที่ 5 ผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	31
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	31
5.2 ข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง.....	32
ภาคผนวก	37
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์.....	38
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการทดลองและการคำนวณ.....	43
ภาคผนวก ค การคำนวณค่าทางสถิติ	52

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา.....	24
4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา.....	26
ข.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย.....	43
ข.2 ผลการวิเคราะห์วิเคราะห์ร้อยละความชื้น.....	48
ข.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า.....	48
ข.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	49
ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพด้วย กรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	52
ค.2 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรด ฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธี Tukey.....	52
ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพ ด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	53
ค.4 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรด ฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธี Tukey.....	53
ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพด้วย กรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	54
ค.6 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรดฟอสฟอริก ที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธีTukey.....	54

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ผักตบชวา.....	3
2.2 การจัดเรียงตัวของเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลส และลิกนินในผนังเซลล์พืช.....	6
2.3 แบบจำลองลงเส้นใยโครงสร้างของพืชที่ประกอบไปด้วย เซลล์โลส เฮมิเซลล์โลส และลิกนิน.....	7
2.4 โครงสร้างทางเคมีของเซลล์โลส.....	7
2.5 โครงสร้างของเฮมิเซลล์โลส	8
2.6 โครงสร้างของลิกนิน.....	9
2.7 โครงสร้างของลิกโนเซลล์โลสหลังการปรับสภาพ.....	10
2.8 แสดงปฏิกิริยาการเกิดการไฮโดรไลซิสด้วยกรด.....	16
2.9 แสดงโครงสร้างทางทางเคมี ก.เฟอร์ฟูรัล ข.ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล.....	16
2.10 โครงสร้างของกรดฟอสฟอริก.....	17
4.1 เปรียบเทียบองค์ประกอบเยื่อใยก่อนและหลังการปรับสภาพ.....	27
4.2 โครงสร้างและพื้นผิวของผักตบชวาก่อนและหลัง การปรับสภาพที่กำลังขยาย 1000 เท่า	28
4.3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น สารละลายมาตรฐานกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร.....	29
4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวจากการไฮโดรไลซิสผักตบชวา ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง	29
ก.1 ส่วนประกอบและการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกำลังขยายสูง	42

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่	หน้า
2.1 วิธีการปรับสภาพ.....	10
3.1 การดำเนินงานวิจัย.....	23



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

จากปัญหาของผักตบชวาในแม่น้ำ ลำคลอง และระบบชลประทานที่มีการขยายพันธุ์โดยการแตกไหลออกจากลำต้นแม่และเมล็ด ส่งผลให้ผักตบชวามีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดปัญหาในการลดประสิทธิภาพในการส่งน้ำลง 45 – 95 เปอร์เซ็นต์ กีดขวางทางเดินของน้ำและการสัญจรทางน้ำ เพิ่มอัตราการสูญเสียในแม่น้ำ ลำคลองสูงกว่าปกติ 5 – 8 เท่า นอกจากนี้ยังทำให้น้ำเน่าเสียหรือเสื่อมคุณภาพอีกด้วย (ฝ่ายวิจัย กรมชลประทาน, มปป.) ซึ่งผักตบชวานั้นสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพ เช่น ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซมีเทนได้ โดยผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยกรดไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟิวริก ซึ่งเป็นการไฮโดรไลซิสลิกโนเซลลูโลส เพื่อกำจัดเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสออกให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ก่อนนำไปใช้ในกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพโดยสามารถทำได้หลายวิธีการ เช่น วิธีการทางกายภาพ วิธีการทางเคมี วิธีการทางชีวภาพ หรือการใช้วิธีการดังกล่าวข้างต้นร่วมกัน (K. Parveen และคณะ, 2009)

ซึ่งในปัจจุบันมีแนวโน้มการใช้พลังงานเชื้อเพลิงเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องแต่ในทางตรงกันข้ามแหล่งผลิตพลังงานกลับลดลง จึงได้มีการคิดค้นหาพลังงานทดแทนจากแหล่งอื่นมาใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ การผลิตก๊าซชีวภาพสามารถทำได้จากหลายวัตถุดิบ แต่การผลิตก๊าซชีวภาพจากชีวมวล (Biomass) ซึ่งเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีมากในประเทศ โดยเฉพาะวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อย เป็นต้น และวัชพืชน้ำ เช่น ผักตบชวา จอก ฐูปาชี เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ภายในโครงสร้างมีองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่สามารถถูกนำมาใช้เพื่อผลิตก๊าซชีวภาพได้ (Zhang, Wei, Wub, Qi, Li, Zuo & Dong, 2014)

ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาหาความเข้มข้นของกรดที่เหมาะสมในการปรับสภาพผักตบชวา โดยเลือกใช้กรดฟอสฟอริกเนื่องจากผลผลิตสุดท้ายที่ได้คือ ธาตุอาหารโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ต่อดินไม่ทำให้เกิดก๊าซพิษดังเช่นกรดชนิดอื่นๆ โดยใช้วิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี คือใช้ความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (w/v) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวาก่อนและหลังการปรับสภาพ
2. ศึกษาความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่เหมาะสมในการใช้ปรับสภาพร่วมกับการให้ความร้อน
3. ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังปรับสภาพ

1.3 ขอบเขตการศึกษา

โครงการนี้ศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีขอบเขตของงานวิจัยดังนี้

1. วัตถุดิบที่นำมาปรับปรุงสภาพ คือ ผักตบชวาที่เก็บบริเวณคลองประเวศบุรีรมย์ข้างโรงเรียนพรตพิทยพยัต และใช้กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) ในการปรับปรุงสภาพ
2. การศึกษาโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยผักตบชวา โดยผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยายสูง หรือ Scanning Electron Microscope (SEM)
3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใย ได้แก่ เซลลูโลส (Cellulose), เฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses) และลิกนิน (Lignin)
4. ความเข้มข้นกรดฟอสฟอริกที่ศึกษา คือ 1% 1.5% และ 2% (%w/v) ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบถึงความเข้มข้นของกรดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการปรับปรุงสภาพผักตบชวาเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด
2. ส่งเสริมการนำวัชพืชที่เป็นปัญหากับสิ่งแวดล้อมมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด
3. สามารถนำงานวิจัยฉบับนี้ไปปรับใช้ให้เกิดประโยชน์แก่งานวิจัยอื่น

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผักตบชวา



รูปที่ 2.1 ผักตบชวา

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eichhornia crassipes* (C. Mart.) Solms

ชื่อสามัญ : Water hyacinth, Floating water hyacinth

ชื่อเรียกอื่น : ผักปอง ผักตบ สะวะ Water hyacinth

ชื่อวงศ์ : pontederiaceae

อาณาจักร : พืช (Plantae)

วงศ์ : Pontederiaceae

สกุล : Eichhornia

สปีชีส์ : E.crassipes

ชั้น : Commelinidae

อันดับ : Commelinales

ส่วน : Liliopsida

ถิ่นกำเนิด : บราซิล

ลักษณะ : พืชลอยน้ำ อายุหลายปี ลำต้นสั้น แตกใบเป็นกอ ใบเดี่ยว รูปไข่ หรือเกือบกลม โคนใบเว้าเข้าหาก้านใบ ก้านใบกลมอวบน้ำ ตรงกลางพองออก ภายในเป็นช่องอากาศคล้ายฟองน้ำช่วยให้ลอยน้ำได้ ดอกออกเป็นช่อแบบช่อเชิงลดที่ปลายยอด ดอกย่อย 3 - 25 ดอก มีกลีบรวม 6 กลีบ กลีบบนสุดขนาดใหญ่กว่ากลีบอื่น และมีแต้มสีเหลืองที่กลางกลีบ เกสรเพศผู้ ๖ อัน ผล แบบผลแห้งแตก รูปทรงกระบอก แบ่งเป็น 3 พู เมื่อแก่แตกกลางพู เมล็ดกลมขนาดเล็ก จำนวนมาก

การขยายพันธุ์ : เมล็ด ไหล

การกระจายพันธุ์ : เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ ในประเทศไทยพบได้ทั่วไปการกระจายพันธุ์

เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ ในประเทศไทยพบได้ทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ : ต้น รสจืด แก้พิษในร่างกาย ขับลม ตำพอกแก้แผลอักเสบ ใช้ทำเครื่องจักสาน ยอดอ่อน ใบอ่อน และดอกอ่อน ลวกให้สุกหรือรับประทานเป็นผักสดร่วมกับน้ำพริกหรือนำไปแกงส้ม (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2554)

ผักตบชวา สามารถอยู่ได้ทุกสภาพน้ำ ทั้งในน้ำสกปรกและน้ำสะอาด เจริญเติบโตได้ดีที่ pH 4-10 และอุณหภูมิของน้ำไม่สูงกว่า 34 องศาเซลเซียส และในต้นพืชจะมีน้ำเฉลี่ยประมาณร้อยละ 95 (ในใบร้อยละ 89 และในก้านใบร้อยละ 96.7) ผักตบชวาช่วยในการบำบัดน้ำเสีย โดยอาศัยคุณสมบัติทำหน้าที่เป็นตัวกรอง ผักตบชวาที่ขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น เปรียบได้กับการบรรจุวัสดุพรุน ซึ่งกรองน้ำที่ไหลผ่านกอผักตบชวาอย่างช้า ๆ จึงทำให้ของแข็งแขวนลอยต่าง ๆ ที่ปนอยู่ในน้ำถูกสกัดกั้น นอกจากนั้น ระบบรากที่มีจำนวนมาก ช่วยกรองสารอินทรีย์ที่ละลาย และจุลินทรีย์ที่อาศัยเกาะอยู่ที่ราก ช่วยดูดสารอินทรีย์ไว้ด้วยอีกทางหนึ่ง รากผักตบชวาจะดูดสารอาหารที่อยู่ในน้ำ ลำเลียงไปยังใบ เพื่อสังเคราะห์แสง ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียจึงถูกกำจัดไป อย่างไรก็ตามไนโตรเจนในน้ำเสียนั้น ส่วนมากจะอยู่ในรูปสารประกอบทางเคมี เช่น สารอินทรีย์ไนโตรเจน แอมโมเนียไนโตรเจน และไนเตรทไนโตรเจน พบว่า ผักตบชวาสามารถดูดไนโตรเจนได้ทั้ง 3 ชนิด แต่ในปริมาณที่แตกต่าง กันคือ ผักตบชวาสามารถดูดอินทรีย์ไนโตรเจนได้สูงกว่าไนโตรเจนในรูปอื่น ๆ คือ ประมาณร้อยละ 95 ขณะที่ไนเตรทไนโตรเจน และแอมโมเนียไนโตรเจนจะลดลงประมาณร้อยละ 80 และร้อยละ 77 ตามลำดับ แต่การใช้ผักตบชวาบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง จะส่งผลให้ ผักตบชวาเจริญเร็วขึ้นและปกคลุมพื้นที่ผิวน้ำมากขึ้น จึงควรมีการดูแลระบบเก็บต้นที่เจริญเต็มที่ขึ้น จากน้ำอย่างสม่ำเสมอ ไมเช่นนั้น เมื่อผักตบชวาตาย จะเน่าอยู่ในน้ำ ทำให้น้ำเสียนั้นมีไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นอีก นอกจากนี้รากของผักตบชวามีแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนแแกรมลบ คือ *Azospirillum spp.* และมีคุณสมบัติพิเศษ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 2.5 กิโลกรัม/เอเคอร์/วัน (ชลประทาน, ม.ป.ป. ; ศุภฤกษ์ และคณะ, ม.ป.ป.)

ปัญหาจากผักตบชวา

1. การชลประทาน

จุดมุ่งหมายสำคัญของงานชลประทานในประเทศไทย คือ การพัฒนาแหล่งน้ำโดยการจัดสรร น้ำเพื่อใช้ประโยชน์หลายๆ อย่าง โดยวิธีการต่างกัน ผักตบชวาทำให้การพัฒนาแหล่งน้ำไม่ได้ผลเต็ม ตามเป้าหมายเนื่องจากสาเหตุดังต่อไปนี้

- ลดการไหลของน้ำลงประมาณ 40%
- ส่วนต่าง ๆ ของผักตบชวาที่จมลงใต้น้ำก่อให้เกิดอุปสรรคกับการระบายน้ำของฝาย ประตู ระบาย และอื่น ๆ ทำให้ทางเดินของน้ำเกิดการตันขึ้นเร็วกว่าปกติ และทำให้เกิดน้ำท่วมในหน้าน้ำ
- การระเหยของน้ำในที่ซึ่งมีผักตบชวาจะสูงกว่าในที่ซึ่งไม่มีผักตบชวา ประมาณ 3-8 เท่า

2. การไฟฟ้าพลังน้ำ ผักตบชวาก่อให้เกิดปัญหาสำคัญในการผลิตไฟฟ้าพลังน้ำดังต่อไปนี้

- ลดปริมาณน้ำจากการที่ผักตบชวาตายทับถมกัน ทำให้อ่างเก็บน้ำตื้นเขิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เพิ่มอัตราการระเหยน้ำ ทำให้น้ำหมดไปโดยเปล่าประโยชน์อย่างรวดเร็ว
- แอ่งเนื้อที่การเก็บกักน้ำของอ่างเก็บน้ำ ทำให้เก็บรักษาน้ำได้น้อยลง

3.การกสิกรรม ปัญหาที่เกิดกับการกสิกรรม คือ

- แอ่งน้ำและอาหารจากพืชปลูก ซึ่งควรจะได้รับมากขึ้นจากการชลประทานหากไม่มีฝักตบขวางอยู่ในแหล่งน้ำ
- ฝักตบขวางที่ลอยมากับกระแสน้ำก่อให้เกิดปัญหาแก่นาข้าวขึ้นน้ำ เพราะฝักตบขวางจะลอยมาทับต้นข้าว ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ต้นข้าว
- แผลฝักตบขวางที่ไหลมาตามน้ำเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ศัตรูพืชนานาชนิด เช่น หนูซึ่งมีปริมาณมาก เมื่อแผลฝักตบขวางไปติดที่ใด หนูและศัตรูอื่นๆ ก็ทำความเสียหายแก่พืชผลของเกษตรกร
- ทำให้การพัฒนาแหล่งน้ำได้ผลไม่เต็มตามเป้าหมาย เป็นเหตุให้เกิดผลกระทบกระเทือนต่อการกสิกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อกสิกรปลูกพืชลงไปแล้ว และหวังว่าจะได้รับน้ำจากการชลประทาน แต่ฝักตบขวางเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้กสิกรไม่ได้รับน้ำตามที่คาดไว้เป็นเหตุให้พืชผลเสียหาย

4.การประมง ปัญหาของฝักตบขวางที่มีต่อการประมง คือ

- ฝักตบขวางที่ขึ้นหนาแน่นเป็นอุปสรรคแก่การเจริญเติบโตของปลาและการจับปลาฝักตบขวางไม่เพียงแต่ลดผลผลิตของปลาเท่านั้น แต่ปลาที่จับได้ยังมีขนาดเล็กลงด้วย
- ปริมาณฝักตบขวางที่ลอยอยู่อย่างหนาแน่นบนผิวน้ำ จะทำให้แสงสว่างในน้ำลดลง เป็นผลให้พืชอาหารปลานขนาดเล็ก (ไฟโตแพลงตอน -Phytoplankton) มีปริมาณน้อยลง ไฟโตแพลงตอนนี้เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดก๊าซออกซิเจนในน้ำ ซึ่งจำเป็นแก่การหายใจของปลาและสัตว์น้ำทุกชนิด
- ทำให้แหล่งน้ำตื้นเขินจึงไปลดที่อยู่อาศัยของปลา
- พื้นน้ำที่มีฝักตบขวางขึ้นอยู่อย่างหนาแน่นและน้ำไม่มีการไหล จะมีปลาหรือสัตว์น้ำอาศัยอยู่น้อยกว่าปกติ

5.การสาธารณสุข ฝักตบขวางมีส่วนก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุข ดังนี้

- เป็นที่อาศัยของสัตว์น้ำซึ่งบางชนิดเป็นพาหะนำโรค เช่น หอยชนิดหนึ่ง (หอยไบธินียา - Bithynia) ซึ่งเป็นพาหะนำโรคพยาธิใบไม้ในตับ
- เป็นที่อาศัยของลูกน้ำของยุงนำโรคเท้าช้าง ลูกน้ำของยุงชนิดนี้สามารถปากเจาะไชรากฝักตบขวางเพื่อใช้เป็นที่พักอาศัย นอกจากนั้น น้ำที่คั่งตามซอกใบก็เป็นที่อยู่อาศัยวางไข่ของยุงอื่น ๆ
- เมื่อขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น ฝักตบขวางเป็นตัวการทำให้การกำจัดหอย (ซึ่งเป็นพาหะสำคัญในการนำโรค) โดยการไถยกกำจัดเป็นไปได้โดยยากและสิ้นเปลืองมาก เนื่องจากฝักตบขวางจะอุดตาไว้ส่วนหนึ่ง ส่วนที่เหลือมีน้อยจนไม่สามารถจะทำอันตรายกับหอยได้ นอกจากนั้น ฝักตบขวางยังเป็นตัวกันไม่ให้ยาถูกพ่นลงใต้น้ำได้สะดวก ดังนั้น การไถยกในการกำจัดหอยจึงต้องเพิ่มปริมาณมากขึ้น ซึ่งจะอันตรายแก่คนและสัตว์อื่น ๆ

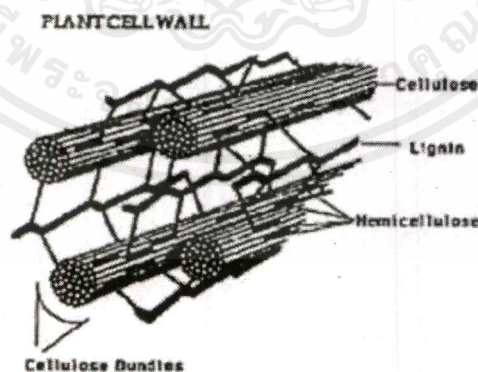
- เป็นที่อาศัยสัตว์ร้าย เช่น งูพิษ ซึ่งเป็นอันตรายต่อราษฎร เมื่อแพผักตบชวาลอยไปติดเรือนแพหรือทำน้ำ นอกจากนั้นหนูที่อาศัยอยู่บนแพผักตบชวา ก็อาจแพร่เชื้อโรคกาฬโรคได้

6.การคมนาคมทางน้ำ

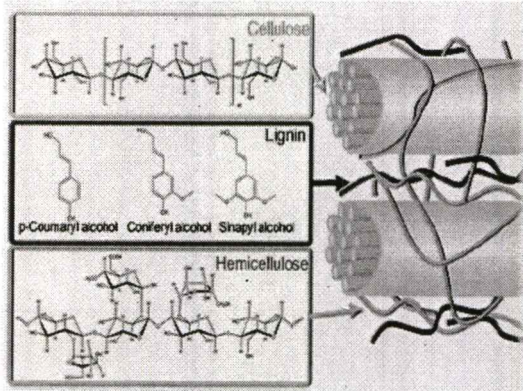
ผักตบชวาเป็นอุปสรรคสำคัญที่เกิดขวางการสัญจรทางน้ำในคลองบางแห่ง เช่น คลองรังสิต เขตที่ติดต่อกับแม่น้ำในและแม่น้ำนอก จังหวัดนครนายก การสัญจรทางน้ำในหน้าน้ำเป็นไปได้ยาก ไม่ว่าจะเป็นเรือที่มีขนาดเล็กหรือขนาดใหญ่ก็ตาม คลองธรรมชาติบางแห่ง เช่น คลองสามจุ่น ในเขตโครงการสามชุก จังหวัดอุทัยธานี มีผักตบชวาชั้นหนาแน่นปะปนกับต้นลำเจียก ปิดกั้นการสัญจรทางน้ำโดยเด็ดขาด แม้แต่ในแม่น้ำใหญ่ๆ บางสาย เช่น แม่น้ำสะแกกรัง จังหวัดอุทัยธานี ในบางฤดูก็มีผักตบชวาลอยอย่างหนาแน่น (จิรศักดิ์, 2559)

2.2 ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose)

ในโครงสร้างของพืชประกอบด้วยองค์ประกอบต่าง ๆ หลายอย่าง เมื่อพิจารณาในส่วนของเส้นใย จะพบว่าลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก จัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) ที่สามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเซลลูโลสและลิกนินจะอยู่รวมกันที่บริเวณผนังเซลล์และเนื้อเยื่อชั้นในของเซลล์ โดยมีเฮมิเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมเซลลูโลสและลิกนินเข้าไว้ด้วยกัน องค์ประกอบแต่ละชนิดจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) และแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals) ทำให้เส้นใยที่อยู่ในผนังเซลล์มีความแข็งแรงสูง โดยทั่วไปจะพบเซลลูโลสร้อยละ 40-60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 15-30 (Lee et al., 2008) ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุลิกโนเซลลูโลส ในผนังเซลล์พืช เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จะมีการจัดเรียงตัวดังรูปที่ 2.2 เซลลูโลสแต่ละโมเลกุลจะเกิดการรวมตัวกันเป็นมัดของเซลลูโลส ซึ่งมีลิกนินล้อมรอบอยู่ (Sjostrom, 1981)



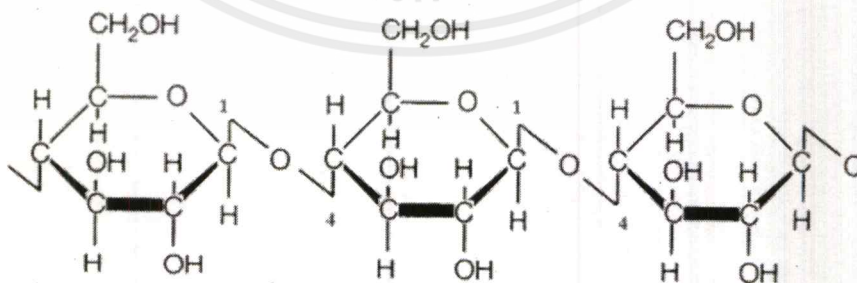
รูปที่ 2.2 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในผนังเซลล์พืช
(Sjostrom, 1981)



รูปที่ 2.3 แบบจำลองเส้นใยในโครงสร้างของพืชที่ประกอบไปด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Sjostrom, 1981)

2.2.1 เซลลูโลส (Cellulose)

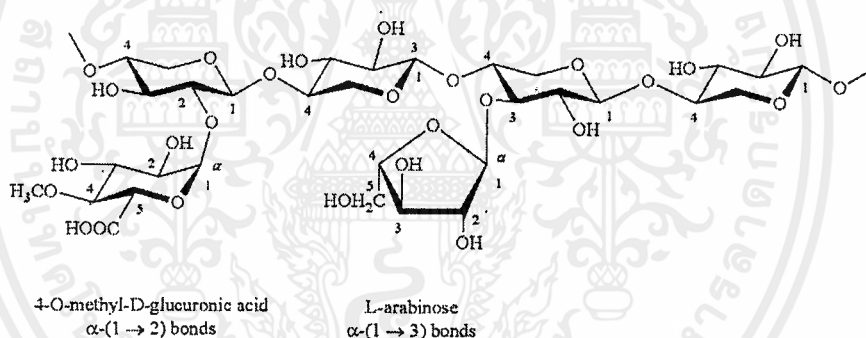
เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่พบมากในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ของพืช อยู่ร่วมกับเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์สายยาว มีมวลโมเลกุลสูง ไม่มีเกลียว ไม่มีกิ่งก้านสาขา และเป็นโฮโมพอลิเมอร์ (Homopolymer) โดยทั่วไปในธรรมชาติจะพบเซลลูโลส 2 แบบ คือ ส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) และส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) เซลลูโลสเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ที่มีน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) จำนวน 1,000-10,000 โมเลกุลประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ เบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (β -D-Glucopyranose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4-ไกลโคซิดิก (β -1,4-glycosidic bond) โดยสูตรเคมีของเซลลูโลสคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เมื่อ n คือ จำนวนหน่วยของน้ำตาลกลูโคสทั้งหมดที่ประกอบกันเป็นโครงสร้างของเซลลูโลส เซลลูโลสเป็นสารอินทรีย์ที่พบมากในธรรมชาติ โดยพบปริมาณ 45% ของสารอินทรีย์ในธรรมชาติทั้งหมด โดยส่วนใหญ่จะพบเซลลูโลสสะสมในบริเวณผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง ภายในโมเลกุลของเซลลูโลสจะมีการเรียงตัวกันอย่างหนาแน่น ส่งผลทำให้เซลลูโลสสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ช้า



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (Colebrook, 2011)

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งเป็นองค์ประกอบชนิดหนึ่งในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส เป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) ของน้ำตาลชนิดต่างๆ หลายชนิดผสมกัน เช่น กลูโคส แมนโนส ไซโลส และอะราบินอส ซึ่งพบอยู่ในรูปโพลิเมอร์ไซแลน แมนแนน กาแลกแตน และอะราบินแนน (Bastawde *et al.*, 1992) องค์ประกอบส่วนใหญ่ในเฮมิเซลลูโลสเป็นไซโลสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 ไกลโคซิดิก (β -1,4-glycosidic bond) (Browning, 1963) พบในไม้เนื้อแข็งมากกว่าไม้เนื้ออ่อน ทั้งนี้ไม่ค่อยพบเฮมิเซลลูโลสที่มีไซโลสเพียงชนิดเดียวในธรรมชาติ จึงมักพบอยู่ร่วมกับน้ำตาลชนิดอื่นๆ อาจมีน้ำตาลแมนโนส (mannose) กาแล็กโทส (galactose) หรือกลูโคส (glucose) มาต่อกันเป็นโซ่หลักและมีน้ำตาลชนิดอื่นมาต่อกันเป็นโซ่สาขา หรือโซ่แขนงได้แก่ น้ำตาลอะราบินอส (arabinose) กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) และมีส่วนของลิกนินจับตัวกันอย่างหนาแน่นด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond) เฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ที่ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว จะย่อยสลายได้ง่ายด้วยสารละลายกรดหรือเบสที่เจือจางหรือเอนไซม์ เพราะเฮมิเซลลูโลสมีรูปร่างไม่แน่นอน ไม่เป็นเส้นตรง และมีลำดับหน่วยย่อยของน้ำตาลเป็นแบบสุม จึงทำให้พันธะที่เชื่อมระหว่างไซโลสถูกทำลายได้ง่าย (Dhepe *et al.*, 2012) มีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

(Dhepe *et al.*, 2012)

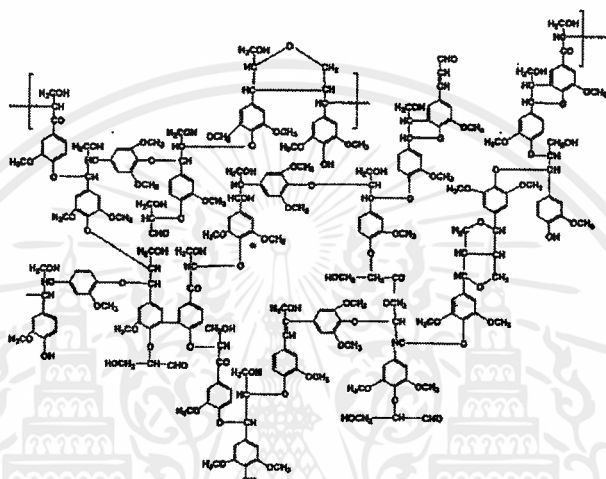
2.2.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อพืช โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง จะอยู่ร่วมกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนป้องกันเซลลูโลสไม่ให้ถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ เป็นส่วนประกอบของเปลือก ชัง หรือส่วนที่เป็นเยื่อใยของราก ลำต้น และจะถูกสร้างจากส่วนโคนต้น ไปสู่ยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นด้วย ลิกนินเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทใยอาหาร (dietary fiber) ที่ไม่ให้พลังงาน เป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติก (Aromatic) ที่มีโครงสร้างซับซ้อน ประกอบด้วยคาร์บอน (Carbon) ไฮโดรเจน (Hydrogen) และออกซิเจน (Oxygen) รวมกันเป็นหน่วยย่อย เรียกว่า ฟีนอลิกโพลิเมอร์ (phenolic polymer) มีมวลโมเลกุลสูง ประกอบด้วยโมเลกุลที่เป็นวงแหวนต่อกันแบบสุมเป็นโครงสร้างสามมิติ โครงสร้างภายในจะเชื่อมต่อดด้วยพันธะอีเธอร์ (Ether) หรือ คาร์บอน ระหว่าง 2 โมเลกุล ทำให้ ลิกนินทนทานต่อการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์มากกว่าพอลิเมอร์ (Polymer) ชนิดอื่นๆ มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติที่สำคัญคือ สามารถละลายในตัวทำละลาย โดยปกติลิกนินจะไม่ละลายน้ำและตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นจึงสามารถสกัดลิกนินได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วสูง ขณะที่บางส่วนในกลุ่มของอัลคาไลน์ลิกนิน (Alkaline Lignin) สามารถละลายได้ในตัวทำละลาย กลุ่มไดออกเซน (Dioxane) ไพริดีน (Pyridine) และสารละลายเบสเจือจางได้ นอกจากนี้ เมื่อมีการเติมหมู่เมทิล (Methylation) และหมู่อะซีทิล (Acetylation) แทนที่ตำแหน่งต่างๆ บนวงแหวนเบนซีน (Benzene) ในโครงสร้างของลิกนิน ทำให้ลิกนินสามารถดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet) ที่มีความยาวคลื่นสูงสุด 280 นาโนเมตร ทั้งนี้การเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ก็เป็นการเพิ่มหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ให้แก่โครงสร้างของลิกนิน ทำให้ลิกนินสามารถดูดกลืนแสงได้เช่นกัน (Floch *et al.*, 2015)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของลิกนิน

(Floch *et al.*, 2015)

2.3 การปรับสภาพเบื้องต้น (pretreatment)

กระบวนการปรับสภาพเป็นการเตรียมวัสดุลิกโนเซลลูโลสให้มีโครงสร้างที่ง่ายต่อการย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้มากขึ้น โดยมีจุดประสงค์เพื่อเป็นการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ทำให้โครงสร้างที่เป็นผลึกหรือโครงสร้างที่เป็นเส้นใยที่ติดอยู่ให้แตกออก ดังรูปที่ 2.6 และเพิ่มความพรุนในวัตถุดิบอีกด้วย (วนิดา, 2553) โดยการปรับสภาพวัตถุดิบจะไปกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางด้านกายภาพคือ ทำให้ชั้นเมทริกซ์ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสถูกทำลายซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถทำงานได้ง่ายขึ้น (รัชพล, 2558) ซึ่งประโยชน์ของการปรับสภาพวัตถุดิบสามารถสรุปได้ ดังนี้

- 1) ทำให้วัสดุหมักสามารถที่จะเปลี่ยนรูปไปเป็นน้ำตาลได้ง่าย
- 2) ลดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรต
- 3) ลดการเกิดผลพลอยได้ (by-products) ซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งในขั้นตอนกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) และกระบวนการหมัก
- 4) ลดปัญหาเรื่องต้นทุนในการผลิต

2.3.1 วิธีการทางกายภาพ (Physical pretreatment)

2.3.1.1 การใช้แรงทางกล (Mechanical commination)

วิธีการทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลงสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทุบ การบด การโม่ การเขย่าวัตถุดิบ เป็นต้น ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการลดผลึก (cellulose crystallinity) และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น ความสามารถในการลดขนาดจะขึ้นอยู่กับขนาดสุดท้ายของวัสดุและคุณสมบัติของวัสดุนั้น ซึ่งปกติขนาดของเศษวัตถุดิบจะทำให้มีขนาดประมาณ 0.2-2 มิลลิเมตร (Sun and Cheng, 2002)

2.3.1.2 การไพโรไลซิส (Pyrolysis)

วิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ให้วัตถุดิบกลายเป็นแก๊สหรือของแข็ง กระบวนการจะทำให้เข้าและการระเหยจะต่ำถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ จากการวิจัยพบว่าการใช้อุณหภูมิสูงมากไปหรือน้อยไปจะไม่เป็นผลดี จึงต้องมีการวิจัยที่เหมาะสม ซึ่งสำหรับงานวิจัยด้านนี้ยังมีข้อมูลที่ยังค่อนข้างน้อย

2.3.1.3 การใช้ความร้อน (Thermal heat treatment)

การปรับสภาพโดยใช้ความร้อนกับวัสดุจำพวกลิโนเซลลูโลส (Lignocellulose) เพื่อช่วยในการสลายผนังเซลล์ที่ยึดติดอยู่กับองค์ประกอบของโมเลกุลเซลลูโลสให้หลุดออกจากกันสามารถช่วยเพิ่มการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และช่วยเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารอินทรีย์ได้ (Appels *et al.*, 2008 ; Assawamongkholsiri *et al.*, 2013) ปัจจัยสำคัญที่ใช้ทำลายพันธะและสลายผนังเซลล์ โดยใช้ความร้อนในการปรับสภาพสารตั้งต้น จะใช้อุณหภูมิในช่วง 150 – 200 องศาเซลเซียส (Appels *et al.*, 2008) จากการพิจารณาเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 160 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการย่อยสลายลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส อย่างไรก็ตามหากอุณหภูมิสูงเกิน (ประมาณ 400 องศาเซลเซียส) สามารถเร่งการก่อตัวของสารยับยั้ง ซึ่งได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbons) สารประกอบฟีนอล (Phenolic) เฟอรัล (Furfurals) และไฮโดรเมทิลเฟอรัล (Hydroxymethylfurfural) เป็นต้น และสารยับยั้งเหล่านี้จะรบกวนการทำงานของจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส การย่อยสลายอาหาร และกระบวนการหมัก ดังนั้น จึงทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตก๊าซชีวภาพได้ (Johnsson *et al.*, 2013; Brebu and Vasile, 2010; Chen *et al.*, 2013)

2.3.2 วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment)

เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้สารละลายกรด สารละลายด่าง ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารละลายออกซิแดนท์ (Oxidant reagent) วัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยเฮมิเซลลูโลสในกรณีของสารละลายกรด หรือเพิ่มปริมาณการละลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินกรณีการใช้สารละลายด่าง นอกจากนี้สารละลายด่างยังช่วยให้เกิดการบวม (swelling) ของโครงสร้าง ซึ่งเชื่อว่าจะช่วยเพิ่มปริมาณการย่อย เนื่องจากเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้น

2.3.2.1 การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis)

โอโซนเป็นตัวออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพ และสามารถทำให้เกิดการแตกตัวของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุพวกฟางข้าวได้ วิธีนี้มีจุดเด่นคือ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเอาลิกนินออกได้ดี ไม่มีสารพิษที่จะไปยับยั้งการทำปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ กระบวนการนี้สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ผลเสียของวิธีนี้คือค่าใช้จ่ายที่สูงมาก (Sun and Cheng, 2002)

สารเคมีที่ใช้ได้แก่ SO_2 และตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ที่สามารถกำจัดลิกนินได้เช่น NaClO_2 , KB_2O_2 , KIO_3 , SO_3 โดยจะมีผลต่อการละลายของลิกนิน วิธีการนี้จะมีปัญหาทางสิ่งแวดล้อมโดยจะเกิดสาร Lignosulphonate ซึ่งไม่สามารถใช้ในการหมักได้จึงถูกกำจัดออกจากระบบซึ่งเป็นปัญหาเดียวในอุตสาหกรรม Sulphite pulping

2.3.2.2 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment)

การใช้ด่างในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบมีผลต่อวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส และผลของด่างที่ใช้ในกระบวนการแปลงสภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในวัตถุดิบด้วย (McMillan, 1994) กลไกการทำงานของด่างนั้นเชื่อว่าจะไปเพิ่มการพองตัวของลิกโนเซลลูโลสในต่อสายพันธะภายในของโซ่แลนในเฮมิเซลลูโลส ความพรุนของวัสดุจะเพิ่มขึ้นได้เมื่อทำการกำจัดสายโซ่ที่เชื่อมต่อกันภายใน การใช้ด่างเจือจางในวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีผลทำให้เกิดการบวมภายในเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยาทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้นได้ ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส ลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ และสามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและคาร์โบไฮเดรต และเป็นการแยกองค์ประกอบหรือทำลายโครงสร้างของลิกนิน อย่างไรก็ตามการใช้ด่างเพื่อปรับสภาพมักจะไม่ค่อยมีผลต่อวัสดุพวกไม้เนื้ออ่อนเท่าไม้เนื้อแข็ง ด่างที่นิยมใช้ในการแยกลิกนินได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Kim *et al.*, 2008) ได้ศึกษาการปรับสภาพข้าวบาร์เลย์ด้วยแอมโมเนียพบว่าแอมโมเนียที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 24-72 ชั่วโมง สามารถสกัดแยกเอาส่วนของลิกนินออกร้อยละ 50-66

2.3.2.3 การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment)

กระบวนการปรับสภาพโดยใช้กรดนั้นมีจุดประสงค์คือเพื่อให้ได้น้ำตาลในปริมาณที่สูงจากวัสดุชีวมวล เนื่องจากสามารถเข้าไปทำลายพันธะของโครงสร้างวัตถุดิบได้ดีและนิ่มกันอย่างแพร่หลาย เพราะราคาไม่สูงมากนัก ซึ่งชนิดของกรดที่นำมาปรับสภาพมีมากมายหลายประเภทได้แก่ กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริก ไนตริก หรือ ฟอสฟอริก ในกระบวนการแปลงสภาพสามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเพิ่มการทำงานของกระบวนการไฮโดรไลซิส (Palmqvist and Hahn-Hagerdal, 2002) แต่การปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงจะมีอันตรายเพราะมีความเป็นพิษสูงเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไปยับยั้งกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ ดังนั้นการใช้กรดเจือจางจึงเป็นวิธีหนึ่งที่มีความนิยมและสนใจที่จะศึกษากันแพร่หลายที่สุด (Ballesteros *et al.*, 2008) การใช้กรดเจือจางเพื่อปรับสภาพวัสดุที่อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยใช้กรดซัลฟิวริกหรือกรดฟอสฟอริกมักจะถูกใช้สำหรับการเปลี่ยนวัสดุพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส ไปเป็นน้ำตาลที่ละลายได้ตามด้วยการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อให้เกิดเป็นกลูโคส (Silverstein *et al.*, 2007) ในการใช้กรดเจือจางจะมีอยู่ 2 รูปแบบที่ใช้ คือ (1) ปริมาณสารตั้งต้นน้อย (ร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิสูง ($T > 433$ องศาเซลเซียส) และ (2) ปริมาณสารตั้งต้นมาก (ร้อยละ 10-40 โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิต่ำ ($T < 433$ องศาเซลเซียส) โดยทั่วไปแล้วพบว่าเมื่อทำการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงและเวลาที่ใช้น้อยกว่าจะมีผลทำให้พบปริมาณไซโลสสูง และการทำงานของเอนไซม์สามารถทำงานได้ดีกว่า ที่อุณหภูมิสูงการใช้กรดเจือจางพบว่ามีผลต่อการเพิ่มการย่อยเซลลูโลส ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารตั้งต้นและความเข้มข้นที่ใช้ โดยส่วนใหญ่ร้อยละ 80 และ 95 ของน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลสสามารถได้คืนมาโดยการใช้กรดเจือจางในการปรับสภาพจากการใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นสารตั้งต้น นอกจากนั้นความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิที่ใช้เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดสารที่เป็นพิษ อุณหภูมิที่เหมาะสม (< 160 องศาเซลเซียส) ได้มีการพิสูจน์ว่าเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเฮมิเซลลูโลส ในอีกด้านหนึ่งเมื่อใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 160 องศาเซลเซียส จะมีผลต่อเซลลูโลส มากกว่าซึ่งพบว่าจะมีการเกิดปริมาณน้ำตาลที่สูงและมีการสลายส่วนประกอบของลิกนิน (McMillan *et al.*, 1994) การทำงานของกรดเจือจางในการแปลงสภาพจะมีผลไปยังกระบวนการไฮโดรไลซิสของ องค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสที่สามารถผลิตเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว การมีอยู่ของเซลลูโลส เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาโดยเอนไซม์โดยที่มีการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและส่วนที่เป็นลิกนิน โดยทั่วไปแล้วการใช้กรดเจือจางผสมกับวัสดุชีวมวลและทำที่อุณหภูมิสูงที่ 160-220 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาสั้นๆไปไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสให้เป็นไซโลสและน้ำตาลตัวอื่นและจากนั้นจะมีการทำลายไซโลสให้เป็นเพอฟูรัล กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยไม่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนพบว่าผลผลิตที่ได้มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 20 ในขณะที่เมื่อผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้วได้ผลผลิตมากกว่าร้อยละ 90 (Hamelinck *et al.*, 2005)

2.3.3 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

การปรับสภาพโดยวิธีทางชีวภาพสำหรับวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic) สามารถใช้จุลินทรีย์ประเภทเชื้อราที่ย่อยเนื้อไม้ได้แก่ ราสีน้ำตาล (Brown-rot Fungi) ราสีขาว (White-rot Fungi) และราย่อยไม้เนื้ออ่อน (soft-rot fungi) ในการปรับสภาพเพื่อย่อยสลายลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส (Sun and Cheng, 2002; Keshwani, 2009) ราสีขาวและราย่อยไม้เนื้ออ่อนจะย่อยสลายทั้งลิกนินและเซลลูโลส ส่วนราสีน้ำตาลจะย่อยสลายเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ (Sun and Cheng, 2002) กระบวนการปรับสภาพทางชีวภาพนอกจากจะช่วยย่อยสลายลิกนิน และเซลลูโลสแล้วยังช่วยทำลายผนังเซลล์ (Appels *et al.*, 2008) นอกจากนี้ การใช้จุลินทรีย์เหล่านี้ในการปรับสภาพยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ และการผลิตพลังงานชีวภาพที่เพิ่มขึ้นได้ ข้อดีของกระบวนการนี้คือใช้พลังงานน้อย ไม่ใช้สารเคมีในกระบวนการทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม อัตราการย่อยสลายที่เกิดขึ้นค่อนข้างต่ำทำให้ต้องใช้เวลานานในการย่อยสลายและใช้พื้นที่ในการผลิตมาก ราสีขาวที่นิยมใช้ในการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercoleris*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus* และ *Pleurotus ostreatus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการปรับสภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Kumar *et al.*, 2011; Sreenath *et al.*, 2001; Slininger *et al.*, 1982)

2.3.4 วิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)

2.3.4.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)

คือการทำให้อุณหภูมิของวัตถุดิบที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ อิ่มตัวด้วยไอน้ำภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูงแล้วลดความดันลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เส้นใยแยกออกจากกัน ความชื้นและอุณหภูมิสูงทำให้พืชปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดอะซิติก ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสให้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ และน้ำตาลเพนโทสบางส่วนจะกลายเป็นเพอฟูรัล (Furfural) รวมทั้งน้ำตาลเฮกโซสบางส่วนก็เปลี่ยนเป็นไฮดรอกซีล เมทิลเพอฟูรัล (Hydroxyl methyl furfural) ดังนั้นการย่อยสลายเซลลูโลสในขั้นต่อไปจึงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

วิธีการระเบิดด้วยไอน้ำหรือที่เรียกว่า ออโตไฮโดรไลซิส (Autohydrolysis) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยม

ความนิยมในการปรับสภาพสารตั้งต้นประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic) (McMillan, 1994) การระเบิดด้วยไอน้ำโดยส่วนใหญ่จะใช้ที่อุณหภูมิในช่วง 160-260 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 0.69-4.82 เมกะปาสคาล ในภาชนะปิดที่อึดด้วยไอน้ำเป็นระยะเวลา 30 วินาที ถึง 20 นาที (Hendriks and Zeeman, 2009; Mosier *et al.*, 2005; Sun and Cheng, 2002; Taherzadeh and Karimi, 2008) หลังจากนั้น ความดันจะปลดปล่อยออกทันที โดยการระบายไอน้ำออกสู่บรรยากาศทำให้สารตั้งต้นที่ผ่านการปรับสภาพสามารถระบายความร้อนได้อย่างรวดเร็ว (Schultz *et al.*, 1983; Sun and Cheng, 2002; Hendriks and Zeeman, 2009) เกิดการย่อยสลายเอมิเซลลูโลสและโครงสร้างของลิกนินจะเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้เอนไซม์สามารถเข้าทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Schultz *et al.*, 1983; Hendriks and Zeeman, 2009; Brodeur *et al.*, 2011; Mosier *et al.*, 2005; Sun and Cheng, 2002) ปัจจัยที่มีผลในกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือ เวลาที่ใช้ อุณหภูมิ ขนาดของวัสดุตั้งต้นที่ใช้และปริมาณความชื้นที่อยู่ในสารตั้งต้น (Duff and Murray, 1996)

2.3.4.2 การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX)

วิธีการระเบิดด้วยแอมโมเนียเป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไปในการปรับสภาพวัสดุจากลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) (Sun and Cheng, 2002) จะใช้แอมโมเนียเหลว (Liquid Ammonia) ที่อุณหภูมิระหว่าง 60-100 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน ในระยะเวลาหนึ่ง แล้วความดันจะถูกปลดปล่อยออกมาทันที ทำให้ความดันอากาศลดลงอย่างรวดเร็ว (Sun and Cheng, 2002; Keshwani and Cheng, 2009; Taherzadeh and Karimi, 2008; Zhang and Shahbazi, 2011; Brodeur *et al.*, 2011) โดยวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีอัตราผลผลิตไฮโดรเจนเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณของเอมิเซลลูโลสไม่เหมาะสมกับพืชที่มีลิกนินอยู่มาก ในกระบวนการนี้สามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ได้ใหม่ และไม่ก่อให้เกิดด้วยยังการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เมื่อเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพด้วยวิธีอื่นเช่น การระเบิดด้วยไอน้ำจะได้ลักษณะของตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (Slurry) สามารถทำการแยกส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลวออกจากกันได้ ในขณะที่ AFEX จะให้ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพเป็นของแข็งเท่านั้น (Alvira *et al.*, 2010)

2.3.4.3 ความร้อนชื้น (Liquid hot water)

วิธีการนี้เป็นอีกกระบวนการที่มีการใช้น้ำร้อนแทนไอน้ำ ซึ่งจะดำเนินการอย่างช้าๆ และไม่ต้องการสารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่ต้องอาศัยความดันเพื่อควบคุมสถานะของน้ำในสถานะของเหลวอุณหภูมิที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 160-240 องศาเซลเซียส เพื่อสลายเอมิเซลลูโลส ทำให้เข้าถึงเซลลูโลสได้ดีขึ้น และทำให้การย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้น 2-5 เท่า (Hendriks and Zeeman, 2009 อ้างถึงใน วนิดา, 2553) ตัวอย่างที่ได้หลังจากการปรับสภาพจะอยู่ในรูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (slurry) โดยส่วนที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลส ส่วนของเหลวส่วนใหญ่เป็นเอมิเซลลูโลส และเกิดน้ำตาลบางส่วน ทั้งนี้ควรมีการปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 4-7 เนื่องจากว่าในช่วงดังกล่าวทำให้เอมิเซลลูโลสยังคงอยู่ในรูปของโอลิโกเมอร์ (oligomer form) ช่วยลดปัญหาการเกิดรวมตัวเกิดเป็นโพลีเมอร์ใหม่อีกครั้ง (Mosier *et al.*, 2005)

2.3.4.4 การย่อยเปียก (Wet oxidation)

วิธีการนี้ใช้ออกซิเจน และอากาศเป็นตัวกลางในการทำปฏิกิริยา นิยมใช้ถังหมักชีวภาพในสถานะที่อุณหภูมิต่ำภายใต้แรงดัน และเวลาสั้น โดยทั่วไปจะใช้เวลา 10-15 นาที อุณหภูมิ 170-200 องศาเซลเซียส และความดันระหว่าง 10-12 บาร์ ของออกซิเจน (Ogbonna *et al.*, 2001) จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Mishima *et al.* (2006) พบว่ามีประสิทธิภาพในการแยกเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ทำให้ปริมาณเซลลูโลสมีค่าเพิ่มขึ้น นิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในกระบวนการหมักแบบการย่อยให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

2.3.4.5 การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment)

วิธีการปรับสภาพโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟจัดเป็นวิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี เนื่องจากว่ามีการใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟ และส่วนที่ใช้สารเคมีเจือจางในการแช่วัสดุ การให้คลื่นไมโครเวฟจะแตกต่างกันไปตามชนิดของวัสดุใช้เวลาระหว่าง 5-20 นาที (Keshwani, 2009) จากการศึกษาเบื้องต้นของ เวสาร์ช และรัชพล (2555) และ Zhu *et al.* (2006) พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายต่างมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟมากกว่าสารละลายกรด

2.3.4.6 การปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์ (Ultrasonic pretreatment)

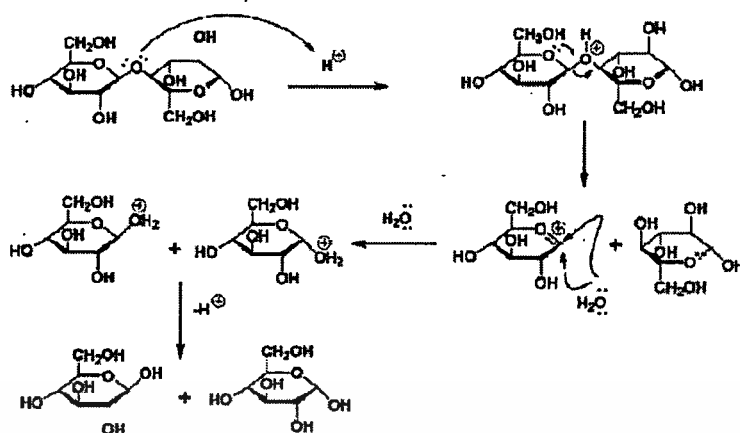
วิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์ยังมีรายงานเกี่ยวกับวิธีดังกล่าวด้วย แต่ผลที่ได้จากการใช้คลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์พบว่าส่งผลให้เกิดการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้มากขึ้น จากงานวิจัยของ Yachmenev *et al.* (2009) พบว่าคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์มีผลทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับพื้นที่ผิวของวัสดุได้มากขึ้น และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย

2.3.4.7 การระเบิดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ explosion)

วิธีการนี้ใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากกรดคาร์บอนิกในการเพิ่มปฏิกิริยาย่อยสลายขั้นต่อไป นิยมใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ร่วมกับ อาทิจ เอทานอล ช่วยในการกำจัดสารประเภทลิกนิน แต่วิธีการนี้ได้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้ไอน้ำหรือแอมโมเนีย แต่ไม่เกิดตัวขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนไฮโดรไลซิสเหมือนวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำ (Ragg and Fields, 1987)

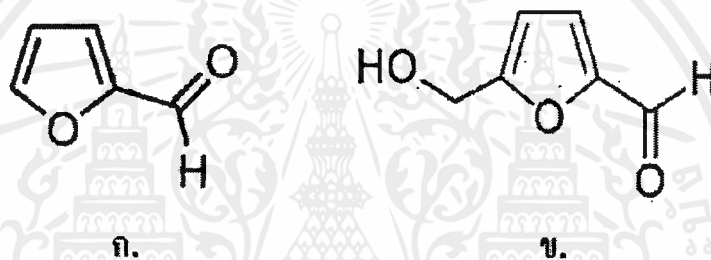
2.4 การย่อยสลาย (hydrolysis)

การย่อยสลาย คือการย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส และการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของน้ำตาลคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม จะได้น้ำตาลไซโลส แมนโนส อะราบิโนส และกลูโคสขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Bosch *et al.*, 2010) ซึ่งการย่อยสลายจะทำให้สายพอลิเมอร์ทั้งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกทำให้สั่นลงกลายเป็นน้ำตาลอิสระก่อนที่จะนำไปหมักเป็นเอทานอล ซึ่งใน 1080 KKU Science Journal การย่อยสลาย มี 2 กระบวนการหลักๆ ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีและการเกิดปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ 2.2.1 การย่อยสลายด้วยกรด (Acid hydrolysis) เป็นการใช้กรดเจือจางภายใต้อุณหภูมิและความดันสูง หรืออาจจะเพิ่มความเข้มข้นของกรดขึ้น เพื่อลดอุณหภูมิและความดันให้ต่ำลง ผลลัพธ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดเจือจางจะต้องนำไปทำปฏิกิริยาสะเทินก่อนกระบวนการหมัก การย่อยสลายด้วยกรดเจือจางมักนิยมใช้กรดซัลฟิวริก (รูปที่ 2.8) ซึ่งเป็นกรดที่นิยมใช้กันมากและมีราคาถูก แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงหลายชนิด เช่น เพอร์ฟิวรัล ไฮดรอกซีเมทิลเพอร์ฟิวรัล (รูปที่ 2.9) ที่เกิดจากการกักน้ำของน้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม ซึ่งในระยะยาวสารเหล่านี้จะมีความเป็นพิษสูง



รูปที่ 2.8 แสดงปฏิกิริยาการเกิดการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

(Iranmahboob et al., 2002)



รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้างทางเคมี ก.เฟอร์ฟูรัล ข.ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล

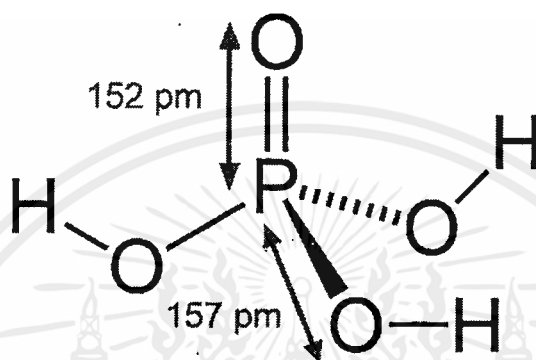
(Wikipedia, 2007)

การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (enzyme hydrolysis) เป็นการใชเอนไซม์ในการย่อยสลายสายของเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลโดยเอนไซม์เซลลูเลส ปกติแล้วปฏิกิริยานี้จะเกิดภายใต้อุณหภูมิร่างกาย ในการย่อยสลายจึงต้องใช้เอนไซม์หลายชนิด สาเหตุที่ต้องใช้หลายชนิดเนื่องจากเอนไซม์นั้นมีความจำเพาะเจาะจง ในการทำปฏิกิริยาสูง เช่น เอนไซม์ endocellulase จะย่อยเซลลูโลสโครงสร้างผลึกให้เป็นเซลลูโลสสายโซ่ ส่วนเอนไซม์ exocellulase จะย่อยเซลลูโลสสายโซ่ให้เป็นเซลลูบิโอสและ β -glucosidase จะย่อยเซลลูบิโอสให้เป็นกลูโคส และขั้นตอนการทำปฏิกิริยาต้องอยู่ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ pH 5 โดยไม่เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งในอนาคตการย่อยสลายแบบนี้ น่าจะเป็นวิธีที่นิยมกันมาก เนื่องจากให้ปริมาณน้ำตาลที่สูงจึงเหมาะแก่การหมักเอทานอล เช่น Arantes and Saddles (2010) ได้ อธิบายกลไกการทำปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ในการย่อยให้ เป็นน้ำตาลของเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างผลึก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดและการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ จะได้น้ำตาลที่มีคาร์บอนอะตอมหรือน้ำตาลเฮกโซส เช่น กลูโคส และน้ำตาลที่มีอะตอมของคาร์บอน 5 อะตอม หรือน้ำตาลเพนโตส เช่น ไซโลส แมนโนส อะราบินโนส เป็นต้น (ชัชพันธ์ และคณะ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid)

ชื่อตามระบบ IUPAC คือ trihydroxidooxidophosphorus phosphoric acid และ ชื่ออื่น Orthophosphoric acid เป็นกรดแร่ มีสูตรเคมี H_3PO_4 กรดฟอสฟอริกบริสุทธิ์จะอยู่ในรูปผลึกใส (มีจุดหลอมละลายที่ 42.35°C) โดย กรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นและอุณหภูมิอื่น ๆ อาจพบในรูปของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น สามารถละลายน้ำและแอลกอฮอล์



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของกรดฟอสฟอริก

(Wikipedia, 2015)

ลักษณะทางกายภาพ white solid or colorless, viscous liquid ($>42^\circ\text{C}$) ความหนาแน่น มีค่า 1.885 g/mL (liquid) 1.685 g/mL (85 % solution) และ 2.030 g/mL (crystal at 25°C) จุดหลอมเหลวมีค่า 42.35°C (anhydrous) และ 29.32°C (hemihydrate) จุดเดือดมีค่า 158°C (decomp) ความสามารถละลายได้ในน้ำมีค่า 5.48 g/mL มีค่า pKa เท่ากับ 2.148, 7.198, 12.375 ความหนืด 2.4–9.4 cP (85% aq. soln.) 147 cP (100 %) กรดฟอสฟอริก เปอร์เซ็นต์จะอยู่ในรูปผลึกใส กระบวนการผลิตเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง กรดซัลฟริกหรือกรด เหลือกับหินฟอสเฟต เราใช้กรดฟอสฟอริกในอุตสาหกรรมหลายประเภทที่สำคัญ ได้แก่ เป็น electrolyte สำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชนิดกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid fuel cells หรือ PAFC) ในอุปกรณ์เกี่ยวข้องกับการขนส่งบางชนิดสารที่ใช้ในการทำทำความสะอาด (cleaning agents) ในกระบวนการแปรรูปกรดฟอสฟอริกจะมีประโยชน์หลายรับกรดชนิดนี้โดยตรงในปริมาณที่มากพอก็สามารถจะก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ กรดฟอสฟอริกนอกจากจะเป็นอันตรายต่อระบบร่างกายเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศโดยถ้ามีกรดฟอสฟอริกในแหล่งน้ำจะทำให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำโดยสารประกอบพวกฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ จะทำให้พืชชั้นน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและทำให้ออกซิเจนไม่สามารถละลายในน้ำได้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มาลินี (2555) ได้ทำการศึกษาศักยภาพของวัชพืชน้ำคือ ผักตบชวา ในการเป็นวัตถุดิบในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อเพิ่มอัตราการไฮโดรไลซิสของมวลชีวภาพโดยเซลล์ลูเลสเอนไซม์ โดยการประยุกต์ใช้กระบวนการปรับสภาพมวลชีวภาพเบื้องต้นด้วยการใช้ไมโครเวฟ และมีการติดตามประสิทธิภาพของการปรับสภาพมวลด้วยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นได้มีการทำการทดลองในถังหมักแบบกะซึ่งได้มีการติดตามผลผลิตและคุณภาพของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพมวลเบื้องต้นแล้ว จากผลการศึกษาพบว่าผักตบชวานั้นสามารถถูกย่อยสลายได้ดีและสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ถึง 290 ลิตรต่อกิโลกรัมมวลผักตบชวา โดยมีปริมาณก๊าซมีเทนประมาณ 55% นอกจากนี้ยังพบว่าผักตบชวาที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นแล้วนั้นมีความสามารถในการผลิตก๊าซที่สูงขึ้นถึงกว่า 36.15% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

รัชพล (2554) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลเสทจากผักตบชวา โดยหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบเส้นใย ปริมาณน้ำตาลและโครงสร้างวัสดุหลังขั้นตอนการปรับสภาพ โดยองค์ประกอบเส้นใยของวัตถุดิบเริ่มต้นประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน คิดเป็น 14.85, 44.71 และ 3.06 %wt ตามลำดับ สำหรับวิธีการปรับสภาพจะใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 1) แช่น้ำเปล่า 2) แช่สารละลายกรด 3) แช่สารละลายด่าง โดยพบว่าการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2. %wt ร่วมกับหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงจะได้ไฮโดรไลเสทที่มีลักษณะของโครงสร้างและองค์ประกอบเส้นใยสุดท้ายโดยมีเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน คิดเป็น 23.16, 47.38 และ 3.71 %wt เมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ

วรารณ และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาหาความเป็นไปได้ในการเตรียมไฮโดรไลเสทจากเปลือกกล้วยน้ำว้า เพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณสูงสุดผลจากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกกล้วย คือการปรับสภาพด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 1.5% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าเปลือกกล้วยที่ผ่านการปรับสภาพมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสลดลงจาก 12.61% เป็น -0.71% เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (untreated) นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพมีปริมาณเซลลูโลสและลิกนินเพิ่มขึ้นจาก 28.81% เป็น 29.60% และ 23.69% เป็น 37.21% ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณของเหลวที่กรองแยกได้จากขั้นตอนการปรับสภาพพบว่ามีน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 73.57 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อนำเปลือกกล้วยที่ผ่านการปรับสภาพไปย่อยเพื่อให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 10.92 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นไฮโดรไลเสทที่เตรียมได้โดยใช้สภาวะดังกล่าว ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุทธิสูงสุดเท่ากับ 373.77 ± 18.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

วิทวัส และกฤษณเวช (2554) ได้ทำการศึกษาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินจากของเหลือทิ้งจากพืชเพื่อใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มพลาสติกชีวภาพ โดยของเหลือทิ้งจากพืชที่นำมาศึกษาคือคือ ต้นกก ชานอ้อย ชังข้าวโพด ฟางข้าว และกาบมะพร้าว โดยวิธี Detergent ในการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จากนั้นทำการเลือกวัตถุดิบที่มีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุดมาทำการขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มพลาสติกชีวภาพ โดยเปลี่ยนเซลลูโลสมาอยู่ในรูปของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส จากการทดลองพบว่า ชานอ้อย ชังข้าวโพด ฟางข้าว ต้นกก กาบมะพร้าว ก้านกล้วย กากปาล์ม ใบค่น้ำ ใบสับปะรด หนุ่ยฉนวนจันทน์ และผักตบชวา มีปริมาณเซลลูโลสคือ

41.255, 39.352, 37.704, 37.276, 35.556, 33.856, 33.082, 26.782, 26.702, 26.476 และ 24.372 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสคือ 19.782, 22.9, 22.06, 7.87, 25.808, 9.38, 20.518, 20.074, 11.9575, 25.734 และ 19.828 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีปริมาณลิกนินคือ 22.912, 17.854, 21.002, 20.43, 15.016, 16.84, 15.0998, 19.372, 14.9, 17.46 และ 25.336 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองขานอ้อยมีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด และจากนั้นนำเซลลูโลสที่ได้จากขานอ้อยไปขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มพลาสติกชีวภาพ

สกุลรัตน์ และคณะ (2559) ได้ทำการปรับปรุงสภาพผักตบชวาเพื่อนำไปผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen) โดยจะทำการปรับปรุงสภาพผักตบชวาทั้งหมด 4 วิธี ได้แก่ การปรับปรุงสภาพด้วยความร้อน การปรับปรุงสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) การปรับปรุงสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) และการปรับปรุงสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) พบว่า วิธีการปรับปรุงสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) และความร้อนร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับปรุงสภาพผักตบชวาก่อนจะเข้าสู่กระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน เนื่องจากให้ค่าซีไอดีละลายหลังการปรับปรุงสภาพสูงสุดคือมีค่าเท่ากับ 6510.13 และ 6992.37 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Cathryn. *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาศักยภาพทางชีวภาพของวัชพืชน้ำ 3 ชนิดคือ ผักตบชวา สาหร่ายคาบอมบ้า และจอกหูหนูเป็นสารตั้งต้นสำหรับการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยชุดการทดลองย่อย 4 ชุดได้รับการประเมินผลผลิตและคุณภาพ (%ก๊าซมีเทน) ของก๊าซชีวภาพจากพืชแต่ละชนิดและอัตราการย่อยสลายของแต่ละชุด การทดสอบศักยภาพทางชีวภาพ (BMP) ขนาดเล็กจำนวน 56 ชุด (100 มล.) ถูกออกแบบมาเพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย และผลกระทบของการอบแห้งและการเติมสารอาหาร ผลของการย่อยสลายแสดงให้เห็นว่าทั้งผักตบชวาและสาหร่ายคาบอมบ้า มีค่าศักยภาพย่อยสลาย 267 L biogas kg⁻¹ VS และ 221 L biogas kg⁻¹ VS ตามลำดับ อยู่ในรูปก๊าซมีเทนประมาณ 50% จอกหูหนูสามารถย่อยสลายได้โดยให้ผลผลิตของก๊าซชีวภาพ 155 ลิตรต่อกิโลกรัม และอยู่ในรูปก๊าซมีเทน 50%

Qiuzhuo. *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการเพิ่มการผลิตเอทานอลด้วยวิธีการปรับปรุงสภาพผักตบชวา โดยศึกษาวิธีการปรับปรุงสภาพของผักตบชวา 3 ชนิด ได้แก่ การปรับปรุงสภาพด้วยจุลินทรีย์ ผลการทดลองพบว่า การปรับปรุงสภาพด้วยกรดเจือจางก่อนจะผสมด้วยจุลินทรีย์ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยทำให้มีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด (39.4 ± 2.8%) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (430.66 มิลลิกรัมต่อกรัม) เมื่อนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนการวิเคราะห์สเปกโตรมิเตอร์แบบอินฟราเรด พบว่าโครงสร้างของเส้นใยผักตบชวาเปิดออกอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆนอกจากนี้สามารถผลิตเอทานอลได้ถึง 1.40 g · L⁻¹

Visva and Ajay (2017) ได้ศึกษาผลของเทคนิคการปรับปรุงสภาพผักตบชวาด้วยวิธีทางกายภาพ 4 แบบ คือ เตอบลร้อน ไมโครเวฟ หม้อนึ่งไอน้ำ และอ่างน้ำร้อน ในกระบวนการไฮโดรไลซิสการวิเคราะห์องค์ประกอบและลักษณะของผักตบชวา เพื่อหาเทคนิคการปรับปรุงสภาพความร้อนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดที่แสดงถึงการละลายที่ดีขึ้น การปรับปรุงสภาพที่สูงที่สุดคือเตอบลร้อน รองลงมาคือไมโครเวฟ อ่างน้ำร้อน และหม้อนึ่งไอน้ำ จากนั้นนำผักตบชวาไปศึกษาศักยภาพทางชีวเคมีในการหมักของก๊าซมีเทน (BMP) ผ่านการปรับปรุงสภาพและไม่ผ่านการปรับปรุงสภาพ พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพมีการผลิตก๊าซมีเทนสะสมได้ 3039 ± 32 มล. $\text{CH}_4/\text{g VS}$ โดยการอบผักตบชวาที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการผลิตก๊าซมีเทนสะสมของผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ 2396 ± 19 mL $\text{CH}_4/\text{g VS}$ ในระยะเวลา 35 วัน



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic Stirrer) Barnstead Thermolyne , USA
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) Helios Gamma , Germany
3. เครื่องชั่งน้ำหนัก รุ่น Adventurer
4. เครื่องเขย่าสาร (Shakers)
5. ตู้ดูดควัน (Hood) Science Technology
6. โถดูดความชื้น (Desiccator)
7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) Daihan Scientific
8. เตาให้ความร้อน (Hot plate) Thermo Scientific™, U.S.A
9. ชุดกรองสุญญากาศ Pyrex, Germany
10. พรอทวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
11. เครื่องแก้วต่างๆ เช่น กระจกบดทวง กรวยแก้ว ขวดปริมาตร ขวดรูปชมพูปีกเกอร์ปิเปต แท่งแก้ว หลอดทดลอง เป็นต้น
12. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ข้อนดักสาร ตะแกรงวางหลอดทดลอง ฟลอยด์อลูมิเนียม ภาควัตถุ หลอดหยดสาร เป็นต้น

3.2 สารเคมี

- 3.3.1 กรดซัลฟิวริก 96% (H_2SO_4), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.2 อะซิโตน ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.3 แอนไฮไดรส์โซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3 anhydrous), AR grade, Rankem
- 3.3.4 โซเดียมลอร์ลิซัลเฟต, AR grade, Carlo Erba
- 3.3.5 ไดโซเดียมเอทิลีนไดอามีนเตตระอะซิเตต (EDTA), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.6 โซเดียมบอเรตเตตราไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.7 แอนไฮไดรส์ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4 anhydrous), AR grade, Rankem
- 3.3.8 เซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (CTAB), AR grade, Acros
- 3.3.9 ดี-กลูโคส ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.10 กรดไดไนโตรซาลิซิลิกแอซิด (3,5-dinitrosalicylic acid), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.11 โพแทสเซียมโซเดียมทราเทรต ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$), AR grade, Carlo Erba
- 3.3.12 ไตรเอทิลีนไกลคอล ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$), AR grade, Acros

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ที่มาของตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา คือ ผักตบชวา ซึ่งเก็บจากคลองข้างโรงเรียนพรตพิทยนำมาตัดรากล้างน้ำเปล่าให้สะอาด ตากแดดให้แห้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันและบดให้ละเอียด จากนั้นร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20 เมช โดยตัวอย่างจะมีขนาด 1 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างในถุงพลาสติกซิปล็อคปิดให้มิดชิด และเอาใส่ไว้ในเดซิเคเตอร์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 แผนการดำเนินงานวิจัย

ทำการทดลองโดยใส่ผักตบชวาและสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1% 1.5% 2% (%w/v) ในอัตราส่วน 1:30 ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าสารที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรองแบบลดความดัน จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้พีเอชของสารละลายเท่ากับ 7 เก็บตะกอนใส่ขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:30 จากนั้นนำไปวางบนเตาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการกรองแยกส่วนที่เป็นของแข็งออกจากของเหลว โดยในส่วนของแข็งจะนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมี ส่วนที่เป็นของเหลวจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และในส่วนของชุดควบคุม ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายกรดฟอสฟอริก ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ดังแผนภาพที่ 3.1



แผนภาพที่ 3.1 การดำเนินงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา

ผักตบชวาที่เตรียมตามหัวข้อที่ 3.3 และ 3.4 จะนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมี ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของผักตบชวา

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น (Moisture)	Gravimetric Method
เถ้า (Ash)	เผาในเตาเผาอุณหภูมิ 750 องศาเซลเซียส
ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างผักตบชวาในสภาวะกลาง	การวิเคราะห์หาเยื่อใยใน สารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral Detergent Fiber : NDF) (Forage Fiber Analyses, 1967)
ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างผักตบชวาในสภาวะกรด	การวิเคราะห์หาเยื่อใยใน สารฟอกที่เป็นกรด (Acid Detergent Fiber : ADF) (Forage Fiber Analyses, 1967)
ปริมาณลิกนิน	การวิเคราะห์หาลิกนิน (Acid Detergent Lignin : ADL) (Forage Fiber Analyses, 1967)
การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์	3,5-Dinitrosalicylic acid Method : DNS (Miller, 1959)
โครงสร้างทางกายภาพ	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนอิเล็กตรอนกำลังขยายสูง (Scanning electron microscope : SEM)

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย

เป็นการนำส่วนของแข็งที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว มาวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใยด้วยวิธี Forage Fiber Analyses ของ Goering และ Van Soest (1970) ซึ่งจะวิเคราะห์หาเยื่อใยในสารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral Detergent Fiber : NDF) โดยการต้มตัวอย่างในสารฟอกเพื่อให้ส่วนประกอบอื่นๆในเซลล์ถูกละลายออกมา ในขณะที่ส่วนที่เป็นเยื่อใยจะไม่ถูกละลาย การวิเคราะห์หาเยื่อใยในสารฟอกที่เป็นกรด (Acid Detergent Fiber : ADF) เป็นการย่อย NDF ออก โดยเอมิเชลลูโลสจะถูกละลายออกมาอยู่ในสารละลายที่เป็นกรด และการวิเคราะห์หาลิกนิน (Acid Detergent Lignin : ADL) เป็นการหาปริมาณลิกนินใน ADF โดยการใช้กรดซัลฟูริกละลายเซลลูโลสออกจากลิกนิน

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

ทำการการเจือจาง $C_6H_{12}O_6$ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 % ต้มในน้ำอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำหลอดทดลองแช่ในน้ำเย็น 5 นาทีเพื่อทำการหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรต่อไป

2.2 การวิเคราะห์ในส่วนที่เป็นของเหลว

โดยการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชั่ง $C_6H_{12}O_6$ จำนวน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรพร้อมการเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 % 1 ปีเปตตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 % จำนวน 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นแช่ในน้ำเย็น 5 นาที เติมน้ำกลั่น จำนวน 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา

ผักตบชวาที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้เก็บจากบริเวณคลองประเวศบุรีรมย์ข้างโรงเรียนพรตพิทยัต์ นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ ความชื้น (Moisture content), เถ้า (Ash), ปริมาณเซลลูโลส (Cellulose), เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose), ลิกนิน (Lignin) และ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ผลของการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวา

องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมี	ผลการวิเคราะห์				
	ก่อนการปรับสภาพ *	กิตติยาและคณะ (2559)	เวสารัตน์และคณะ (2555)	รัชพล (2554)	Anjanabha B. and <i>et.al.</i> (2010)
ความชื้น (%)	79.61	ND	ND	ND	ND
เถ้า (%)	9.04	ND	ND	ND	ND
องค์ประกอบเยื่อใย					
- เซลลูโลส (%)	36.97±17.63	30.85	75.25±2.21	44.71	18.20
- เฮมิเซลลูโลส (%)	35.83±21.56	25.10	20.05±1.70	14.85	48.70
- ลิกนิน (%)	3.94±1.84	2.81	3.07±0.40	3.06	3.50
รวม	76.74	58.76	98.37	62.62	70.40

* วิเคราะห์โดยผู้ทำการวิจัย

ND : Not determined

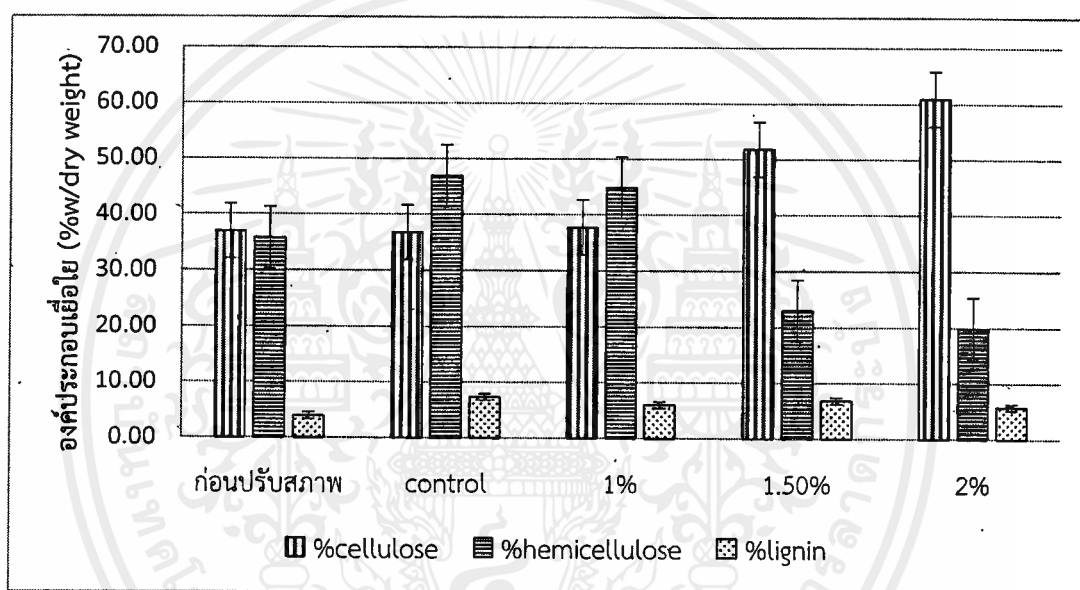
จากตารางที่ 4.1 พบว่า องค์ประกอบเยื่อใยของผักตบชวาก่อนปรับสภาพที่เก็บมานี้มีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด คือ 36.97% รองลงมาคือปริมาณเฮมิเซลลูโลส 35.83% และปริมาณลิกนิน 3.94 % ปริมาณความชื้น 79.61 % และเถ้า 9.04 % ในส่วนของอื่นๆที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้จะจัดอยู่ในรูปคาร์โบไฮเดรต (Structure carbohydrate) 23.26% เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับงานวิจัยฉบับอื่น พบว่า ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ แต่ในการศึกษางานวิจัยของ Anjanabha B. and *et.al.* พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบของเส้นใยผักตบชวามีปริมาณเฮมิเซลลูโลสมากที่สุด รองลงมาคือ เซลลูโลส และลิกนิน คือ 18.20% 48.70% และ 3.50% ตามลำดับ

4.2 ผลการปรับสภาพผักตบชวด้วยความร้อนร่วมกับกรด

จากการปรับสภาพผักตบชวด้วยความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริก โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ใช้คือ 1% 1.5% และ 2% (%w/v) โดยมีชุดควบคุม (control) คือ น้ำกลั่น เมื่อทำการปรับสภาพครบตามระยะเวลาที่กำหนด นำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพแล้วมาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ผลการทดลองเป็นดังนี้



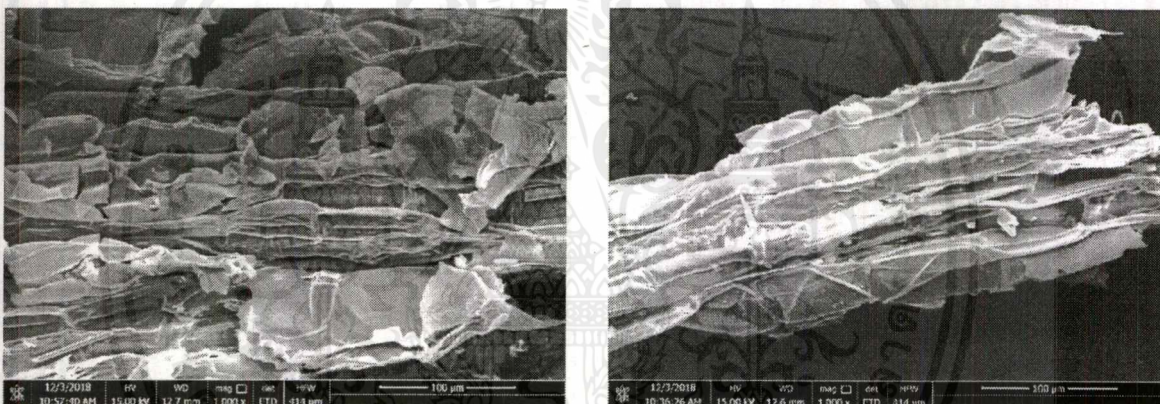
รูปที่ 4.1 เปรียบเทียบองค์ประกอบเยื่อใยก่อนและหลังการปรับสภาพ

จากรูปที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเซลลูโลสของผักตบชวหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (%w/v) พบว่ามีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับผักตบชวาก่อนปรับสภาพ โดยที่ความเข้มข้น 2% 1.5% และ 1%(%w/v) จะมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 60.92% 51.84% และ 37.74% ตามลำดับและที่ชุดควบคุม จะมีปริมาณเซลลูโลส 36.78% ทั้งนี้ปริมาณเซลลูโลสในผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกจะมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับปริมาณเซลลูโลสในผักตบชวาที่เป็นชุดควบคุมด้วยน้ำกลั่นและผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (รายละเอียดผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังแสดงในภาคผนวกกราฟที่ ค.1)

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเฮมิเซลลูโลสของผักตบชวหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (%w/v) พบว่ายิ่งความเข้มข้นกรดสูงปริมาณเฮมิเซลลูโลสจะลดลงตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 2% 1.5% และ 1%(%w/v) จะมีปริมาณ

เฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 19.77% 22.93% และ 44.86% ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณเฮมิเซลลูโลสในผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกนั้นจะมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับปริมาณเฮมิเซลลูโลสของผักตบชวาในชุดควบคุม และผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (รายละเอียดผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังแสดงในภาคผนวกกราฟที่ ค.2) แสดงให้เห็นว่ากรดฟอสฟอริกนั้นสามารถเข้าไปทำลายผนังเซลล์ของผักตบชวาได้ดีทำให้เยื่อใยบริเวณนั้นเกิดการแตกออก

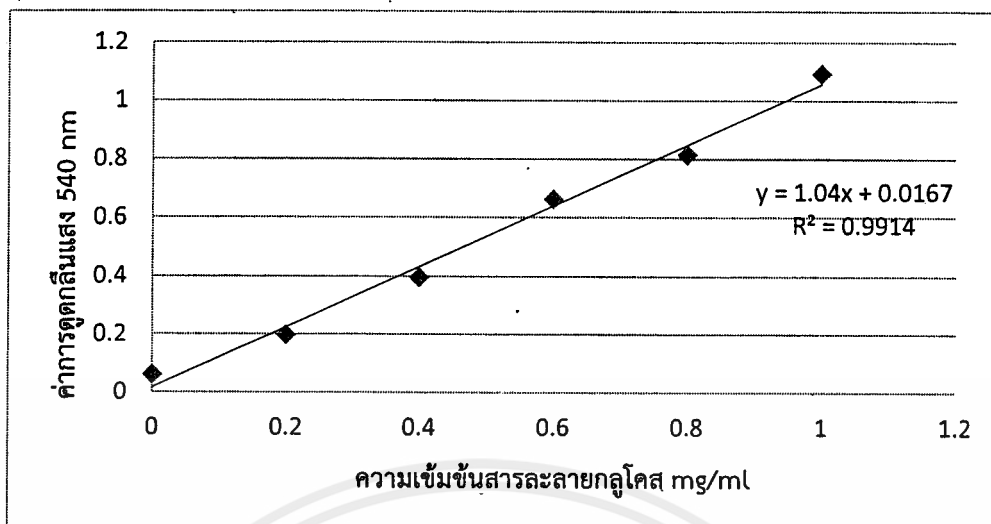
เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์องค์ประกอบลิกนินของผักตบชวาหลังการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (%w/v) พบว่าที่ความเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (%w/v) จะมีปริมาณลิกนิน 5.98% 6.79% และ 5.72% ตามลำดับเมื่อเทียบกับปริมาณลิกนินของผักตบชวาในชุดควบคุม และผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพนั้นจะมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (รายละเอียดผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังแสดงในภาคผนวกกราฟที่ ค.3)



รูปที่ 4.2 โครงสร้างและพื้นผิวของผักตบชวาก่อนและหลังการปรับสภาพที่กำลังขยาย 1000 เท่า

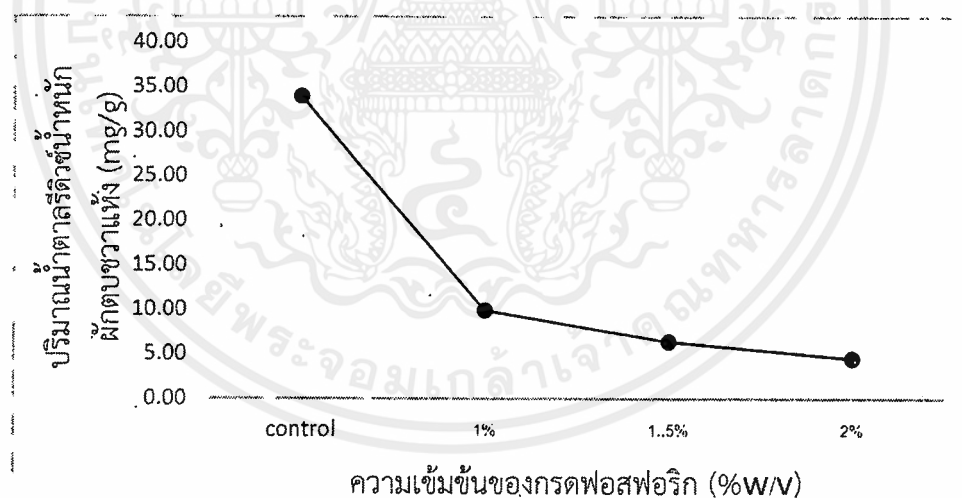
จากรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าผักตบชวาก่อนการปรับสภาพจะมีลักษณะพื้นผิวที่เรียบ โครงสร้างมีความเป็นระเบียบ เมื่อเทียบกับผักตบชวาหลังการปรับสภาพ จะเห็นได้ว่าลักษณะพื้นผิวจะมีการแตกออกและจัดเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ โครงสร้างบางส่วนของเส้นใยถูกทำลายด้วยกรดฟอสฟอริก ทำให้สังเกตเห็นได้ชัดว่ามีช่องว่างเกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวของผักตบชวา

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวจากการไฮโดรไลสผักตบชวา



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกลูโคส และค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm.

จากผลการทดลองนี้จะได้ค่าเส้นแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงซึ่งแสดงด้วยสมการ $y = 1.04x + 0.0167$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9914 ซึ่งเป็นค่าแสดงที่แสดงถึงความเชื่อมั่นที่สูงในเกณฑ์วิธีมาตรฐาน



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวจากการไฮโดรไลสผักตบชวา ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าในชุดควบคุม นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดคือ 33.91% รองลงมาคือการปรับสภาพด้วยกรดพอสฟอริกเข้มข้น 1% 1.5% และ 2% (%w/v) มีค่า 9.92 6.36 และ 4.49 mg/g(น้ำหนักผักตบชวาแห้ง) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากการที่ชุดควบคุม นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เนื่องจากผักตบชวาถูกให้ความร้อนทำให้น้ำตาลที่สะสมอยู่บริเวณพื้นผิวของ

ผักตบชวาหลุดออกมา และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงตามความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่เพิ่มขึ้น นั้นอาจเกิดจากขั้นตอนการใช้กรดฟอสฟอริกไปปรับสภาพแล้วนำมาปรับพีเอชโดยการล้างตะกอน ผักตบชวาทันทีกลับล้างประมาณ 10-15 ครั้งก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสทำให้น้ำตาลที่ต้องการวิเคราะห์หลุดออกไปในขั้นตอนนี้ ดังแผนภาพที่ 3.1 สำหรับการใช้กรดเข้มข้น 2% (%w/v) ต้องทำการล้างมากกว่าการปรับสภาพด้วยกรด 1% (%w/v) จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบมีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อใช้กรดฟอสฟอริกเข้มข้น 2% (%w/v) ปรับสภาพ ดังนั้นในการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ต้องรวบรวมน้ำที่ชะล้างออกมาทั้งหมดและนำไปหาวิธีการที่เหมาะสมที่จะหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น



บทที่ 5

ผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาการปรับสภาพผักตบชวา โดยปัจจัยที่ศึกษาในโครงการพิเศษนี้คือ เยื่อใยของผักตบชวาและน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น ก่อนและหลังการปรับสภาพผักตบชวาด้วยกรดฟอสฟอริกโดยใช้ความร้อนร่วมด้วยการต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. จากการปรับสภาพผักตบชวาโดยใช้ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกที่ต่างกันที่ 1% 1.5% และ 2% (%w/v) จากผลการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าการปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 2% (%w/v) มีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ดังนั้นการปรับสภาพผักตบชวาด้วยความร้อนร่วมกับกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 2% (%w/v) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับสภาพผักตบชวาก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ

2. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในส่วนที่เป็นของเหลวที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DNS Method พบว่าการใช้กรดฟอสฟอริก 2% (%w/v) ไปปรับสภาพผักตบชวาทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในของเหลวน้อยที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาผลการปรับสภาพโดยนำไปหมักแบบกะ (batch fermentation) และวัดปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น
2. ควรวิเคราะห์น้ำตาลรูปอื่น ๆ และสารประกอบอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นจากการปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดด้วยวิธี HPLC
3. ควรศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสม ระหว่างผักตบชวากับปริมาณกรด

เอกสารอ้างอิง

- กรมชลประทาน. ม.ป.ป. **ชีววิทยาของผักตบชวา**. [Online]. เข้าถึงได้จาก :<http://irrigation.rid.go.th/rid15/ppn/om/Water%20Hyacinth.htm>.
- กิตติยา ป้อมเงิน, ประภา โส๊ะสลาม และรัชพล พะวงศ์รัตน์. 2559. “การผลิตแก๊สชีวภาพจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการนึ่ง ร่วมกับมูลวัวโดยกระบวนการหมักแบบกะ.” วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. ปีที่ 8 (ฉบับที่ 3) : 129-139.
- ชัชชนันท์ นิवासวงษ์ และเฉลิม เรื่องวิริยะชัย. 2555. “การผลิตเซลล์ลูโลสในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตภาควิชาเคมี, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปัญหาจากผักตบชวา. ม.ป.ป. [Online]. เข้าถึงได้จาก :<https://sites.google.com/site/rugbymind/water-hyacinth>.
- มาลินี ศรีอรียนันท์. 2556. “การศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการปรับสภาพชีวมวลเพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวา.” หน้า 1-68. ใน รายงานการวิจัย ทนสนับสนุนนักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2555. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2554. “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลสผักตบชวาโดยหมอนึ่งไอน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล.” *Veridian E-Journal SU*. ปีที่ 4 (ฉบับที่ 1) : 891-900.
- รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2558. “กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส.” *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*. ปีที่ 2 (ฉบับที่ 1) : 143-157.
- วนิดา ปานอุทัย. 2553. “การผลิตเอทานอลจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลสโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วราภรณ์ มงคลเคหา, วริศรา เผือกผาสุก และวริษฐา ศูนย์ปาน. 2556. “การผลิตน้ำตาลรีดิวส์จากเปลือกกล้วยด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับวิธีทางเคมี.” *ปริญญาวิทยาสตรบัณฑิต สาขาเคมี สิ่งแวดล้อม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง*.
- วิทวัส จิรัฐพงศ์ และกฤษณเวช ทรงธนศักดิ์. 2554. “การศึกษาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินจากของเหลือทิ้งจากพืชเพื่อใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มพลาสติกชีวภาพ.” หน้า 1-4. ใน การประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 21. สงขลา : ม.ป.ท.
- เวสารัช สุนทรชัยบูรณ์ และ รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2555. “การปรับสภาพผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) และ จอก (*Pistia stratiotes* L.) ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่าง และกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวส์.” *Sakonnakon graduate studies Journal*, Vol:10 No. 45: 173-184.
- ศุภฤกษ์ ดวงขวัญ, จันทรหอม แก่นพินิจ และปัทมินี อุ่มทอง. ม.ป.ป. **การจัดการผักตบชวา**. [Online]. เข้าถึงได้จาก :<http://reo06.mnre.go.th/home/images/upload/file/report/work2554/supareak01.pdf>.
- สกุลรัตน์ เอียดนุ้ย, ธัญญลักษณ์ หนูสงค์, สุวัฒน์ พงษ์กลิ่น และเนรัชชา คาม่วง. 2559.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

“การศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาเพื่อการผลิตไฮโดรเจนชีวภาพ.” ปริญญาวิทยาสตร
บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

องค์การสวนพฤกษศาสตร์. 2554. ผักตบชวา. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://www.qsbg.org/Database/Botanic_Book%20full%20option/search_detail.asp?botbota_id=2356.

Alvira., P.E. Tomas-Pejo., M. Ballesteros. and M.J. Nergro. 2010. “Pretreatment Technology for an Efficient Bioethanol Production Process Based on Enzymatic Hydrolysis: A review.” *Bioresour Technol.* 101(13) : 4851-4861.

Anjanabha B. and Pawan K. 2010. “Water hyacinth as a potential biofuel crop.” *EJEAFChe.* 9(1) : 112-122.

AOAC. 1990. **Standard method for examination of water and waste water.** Washington, DC : American Public Health Association.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J. and Dewil, R. 2008. “Principles and Potential of the Anaerobic Digestion of Waste-activated Sludge.” *Prog Energy Combust Sci.* 34 : 755-781.

Assawamongkholsiri, T. Reungsang, A. Pattra, S. 2013. “Effect of Acid, Heat and Combined Acid-Heat Pretreatments of Anaerobic Sludge on Hydrogen Production by Anaerobic Mixed Cultures.” *Int. J. Hydrog Energy.* 38 : 6146-6153.

Ballesteros, M. Oliva, J.M. Negro, M.J. and Manzanares, P. 2004. “Ethanol from Lignocellulosic Materials by a Simultaneous Saccharification and Fermentation Process (SFS) with *Kluveromycesmarxianus* CECT 10875.” *Process Biochemistry.* 39: 1843-1848.

Bastawdeet, K.B. 1992. “Xylan Structure, Microbial Xylanases and their Mode of Action.” *World J. of Microbiol and Biotechnol.* 8 : 355-368.

Bosch, P. Wallberg, O. Joelsson, E. Galbe, M. and Zacchi, G. 2010. “Impact of Dual Temperature Profile in Dilute Acid Hydrolysis of Spruce for Ethanol Production.” *Biotechnology for Biofuels.* 3 : 15.

Brebu, M. and Vasile, C. 2010. “Thermal Degradation of Lignin-a Review.” *Cellul Chem Technol.* 44 (9) : 353-363.

Browning, B.L. 1963. “Method in Wood Chemistry, P. 389-407. New York : Interscience Publishers.

Cathryn, O'Sullivan. Beth, Rounsefell. Alistair, Grinham. William, Clarke. and James, Udy. 2010. “Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*).” 36(10) : 1459-1468..

Chen, R. Wang, Y.Z. Liao, Q. Zhu, X. and Xu, T.F. 2013. “Hydrolysates of Lignocellulosic Materials for Biohydrogen Production.” *BMP Reports.* 46 (5) :

244-251.

- Colebrook, M. 2011. **Cellulose Structure**. [Online]. Available Source: [http://www.greenspirit.org.uk/resource/Life Chemistry. Shtml](http://www.greenspirit.org.uk/resource/Life%20Chemistry.html), April 1, 2017.
- Dhepe, P.L. And Sahu, R. 2012. "One Pot and Single Step Hydrolytic Process for the Conversion of Lignocellulose into Value Added Chemicals." *Carbohydrate Research*. 9 : 375-378.
- Duff, S. J. B. and Murray, W. D. 1996. "Bioconversion of Forest Products Industry Waste Cellulosics to Fuel Ethanol : a review." *Bioresource Technology*. 55 : 1-33.
- Flochet, A.L. Jourdes M. and Teissedre P.L. 2015. "Polysaccharides and Lignin from Oak Wood Used in Cooperage: Composition, Interest, Assays: A review." *Carbohydrate Research*. 417 : 94 – 102.
- Goering, H.K. and Van Soest P.J. 1970. **Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagent, Producers and Some Applications)**. Agriculture Handbook No.379. United States Department of Agriculture. Washington, D.C. 20402, U.S.A. 20 p.
- Hamelinck, C. N. van, Hooijdonk G. and Faaij, A. P. 2005. "Ethanol from Lignocellulosic Biomass: Techno-Economic Performance in Short, Middle, and Long Term." *Biomass and Bioenergy*. 28(4) : 384-410.
- Hendriks, A.T.W.M. and Zeeman, G. 2009. "Pretreatments to Enhance the Digestibility of Lignocellulosic Biomass." *Bioresour Technol.* 100 : 10-18.
- Johnsson, L.J. Alriksson, B. Nilvebrant, N.O. 2013. "Bioconversion of Lignocellulose: Inhibitors and Detoxification." *Biotechnol Biofuels*. 6 (16) : 1e10.
- Keshwani, D.R. 2009. "Microwave Pretreatment of Switchgrass for Bioethanol Production." Thesis Dissertation. North Carolina State University.
- Kim, T.H. F., Taylor and K.B. Hicks. 2008. "Bioethanol Production from Barley Hull Using SSA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment." *Bioresource Technology*. 99 : 5694-5702.
- Kumar, P. Barrett, D.M. Delwiche, M.J. and Stroeve, P. 2009. "Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production." *Industrial & Engineering Chemical Research*. 48 : 3713-3729.
- Kumar S, Singh, S.P. Mishra, I.M. and Adhikari, D.K. 2011. "Continuous Ethanol Production by *Kluyveromyces* sp. IIPE453 Immobilized on Bagasse Chips in Packed Bed Reactor." *Journal of Petroleum Technology and Alternative Fuels*. 2(1) : 1-6.
- Lee, J.S. Parameswaran, B. Lee, J.P. and Park, S.C. 2008. "Recent Developments of Key Technologies on Cellulosic Ethanol Production." *Journal of Scientific & Industrial Research*. 67 : 865-873.

- McMillan, J.D. 1994. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. In: Himmel, M.E. Baker, J.O. and Overend, R.P. (Eds.) *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, Washington, DC : American Chemical Society, P. 292–324.
- Miller G. 1959. “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar.” *Anal Chem.* 31(3) : 426-428.
- Mosier, N. C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. and Ladisch. 2005. “Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass.” *Bioresource Technology.* 96 : 673-686.
- Ogbonna, J. C. H., Mashima and H., Tanaka. 2001. “Scale Up of Fuel Ethanol Production from Sugar Beet Juice Using Loofa Sponge Immobilized Bioreactor.” *Bioresources Technology.* 76 : 1-8.
- Qiuzhuo, Zhang. Yan, Wei. Hui, Han. and Chen, Weng. 2018. “Enhancing Bioethanol Production from *Water Hyacinth* by New Combined Pretreatment Methods.” *Bioresource Technology.* 251 : 358-363.
- Ragg, P. L. and Fields P. R. 1987. “The Development of a Process for the Hydrolysis of Lignocellulosic Waste.” *Phil Trans R Soc Lond.* A321 : 537-547.
- Silverstein, R.A. Chen, Y. Sharma-Shivappa, R.R. Boyette, M.D. and Osborne, J. 2007. “A Comparison of Chemical Pre-treatment Methods for Improving Saccharification of Cotton Stalks.” *Bioresource Technology.* 98 : 3000-3011.
- Sjostrom, E. 1981. **Wood chemistry fundamentals and applications.** London : Academic press Inc.
- Slininger, P.J. R.J. Bothast, J.E. van Cauwenberge and C.P. Kurtzman. 1982. “Conversion of D-xylose to Ethanol by the Yeast *Pachysolen tannophilus*.” *Biotechnol Bioeng.* 24 : 371- 384.
- Sreenath, H.K. R.G. Koegel. A.B. Moldes. T.W. Jeffrie and R.J. Straub. 2001. “Ethanol Production from Alfalfa Fiber Fraction by Saccharification and Fermentation.” *Proc. Biochem.* 36.: 1199-1204.
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. “Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Bioethanol Production: review.” *Bioresour Technol.* 83 : 1-11.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2008. “Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: a review.” *Int. J. Mol. Sci.* 9 : 1621-1651.
- Visva, Bharati Baruaa. and Ajay, S.Kalamdhadb. 2017. “Effect of Various Types of Thermal Pretreatment Techniques on the Hydrolysis, Compositional Analysis and Characterization of *Water Hyacinth*.” *Bioresource Technology.* 227 : 147- 154.
- Yachmenev, V. Condon, B. Klasson, T. and Lambert, A. 2009. “Accerelation of Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover and Sugar Cane Baggasse by Low

- Intensity Uniform Ultrasound.” *J. Biobased Mater Bioenergy*. 3 : 25-31.
- Zhang, B. and Shahbazi, A. 2011. “Recent Developments in Pretreatment Technologies for Production of Lignocellulosic Biofuels.” *J. Pet. Environ. Biotechnol.* 2(2) : 1-8.
- Zhu, S. Wu, Y. Yu, Z. Wang, C. Yu, F. Jin, S. Ding, Y. Chi, R. Liao, J. and Zhang, Y. 2006. “Comparition of Three Microwave / Chemical Pretreatment Process for Enzymatic Hydrolysis of Rice Straw.” *Biosyt. Eng.* 93 : 279-283.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral Detergent Fiber : NDF)

1.1 การเตรียมสารละลาย Neutral Detergent Fiber (NDF)

1.1.1 ชั่ง EDTA จำนวน 37.22 กรัม และ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 9.12 กรัม โดยใส่กระจกนาฬิกาและนำน้ำกลั่นเติมลงไปจำนวน 200 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 600 ml นำไปให้ความร้อนเพื่อการละลายที่เร็วขึ้น

1.1.2 ชั่ง Sodium Laury Sulphate 60 กรัม และ Triethylene glycol 20 มิลลิลิตร เติมน้ำ H_2O 400 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร นำไปปั่นกวนโดยเครื่อง Magnetic Stirrer

1.1.3 ชั่ง Na_2HPO_4 จำนวน 9.12 กรัม และเติมน้ำกลั่น จำนวน 250 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนเพื่อละลายเร็วขึ้น

1.1.4 นำสารละลายจากข้อ 1.1.2, 1.1.3 และ 1.1.4 รวมกันในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 ลิตร พร้อมตรวจวัด pH ให้อยู่ในช่วง 6.9- 7.1

1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Neutral Detergent Fiber (NDF)

1.2.1 อบ Gooch crucible ขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 อัน ในตู้อบอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง รอให้เย็นในโถดูดความชื้นและนำไปชั่งบนเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง (ทำซ้ำจนน้ำหนักคงที่)

1.2.2 ชั่งผักตบชวาอบแห้ง 0.5 กรัม และ Sodium Sulphite 0.5 กรัม ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร

1.2.3 เติมน้ำ Neutral Detergent Solution 100 มิลลิลิตร ลงไปในขวดก้นกลม

1.2.4 ต้มให้เดือด 5- 10 นาที ทำการ Reflux เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.2.5 กรองสารละลายผ่าน Gooch crucible โดยใช้ความร้อนล้างเพียงเล็กน้อย (ทำในตู้อบควีน)

1.2.6 ล้าง Gooch crucible ด้วย Acetone ครั้งละ 15 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง

1.2.7 นำ Gooch crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ตลอดคืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

1.2.8 คำนวณหา % NDF

2. การวิเคราะห์หาเยื่อใยที่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (Acid Detergent Fiber : ADF)

2.1 การเตรียมสารละลาย Acid Detergent Fiber (ADF)

2.1.1 ปิเปต conc. H_2SO_4 มา 27.8 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร ที่ได้เติมน้ำกลั่นไว้แล้วบางส่วน

2.1.2 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้ H_2SO_4 1 N

2.1.3 ผสม H_2SO_4 1 N ปริมาตร 1 ลิตรกับ CTAB 20 กรัม ให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นกวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 วิธีการวิเคราะห์ Acid Detergent Fiber (ADF)

2.2.1 ออบ Gooch crucible ขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 อัน ในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง รอให้เย็นในโถดูดความชื้นและนำไปชั่งบนเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

2.2.2 ชั่งผักตบชวาอบแห้ง 0.5 กรัม และเติม Acid Detergent Fiber 100 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร และเขย่งกระเบื้อง

2.2.3 ต้มให้เดือด 5 - 10 นาที ทำการ Reflux เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2.4 กรองสารละลายผ่าน Gooch crucible โดยเครื่องกรองสุญญากาศ ใช้น้ำร้อนล้าง เพียงเล็กน้อย (ทำในตู้ดูดควัน)

2.2.5 นำ Gooch crucible ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสตลอดคืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

2.2.6 คำนวณหา %ADL พร้อมเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์หา lignin ต่อไป

3. การวิเคราะห์หาลิกนิน (Acid Detergent Lignin : ADL)

3.1 การเตรียมกรด H_2SO_4 72%

3.1.1 เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ตวง conc. H_2SO_4 มา 666.30 มิลลิลิตร ใส่ลงไป และเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.2 รอให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรอีกครั้ง ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาแล้วแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ acid detergent fiber

3.2.1 นำ Gooch crucible ที่วิเคราะห์หา ADF แล้วมาทำการวิเคราะห์

3.2.2 เติม H_2SO_4 72% ที่แช่เย็นลงไปครึ่ง Gooch crucible โดยวาง Gooch crucible ไว้บนถาด คนด้วยแท่งแก้วเป็นครั้งคราว (แท่งแก้วจะต้องแช่ค้างอยู่ใน Gooch crucible ห้ามนำออก)

3.2.3 เติม H_2SO_4 72% ลงไปอีกครึ่งหนึ่งของการเติมครั้งแรก คนเป็นครั้งคราว 1 ชั่วโมง

3.2.4 จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20 - 23 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง

3.2.5 นำไปกรองโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด (ทดสอบโดยใช้กระดาษลิตมัสสีน้ำเงิน)

3.2.6 นำ Gooch crucible ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสตลอดคืน จากนั้นนำไปใส่ในโถดูดความชื้นที่เย็นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

3.2.7 นำ Gooch crucible ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง รอให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำออกมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

3.2.8 คำนวณหา %ADL

4. การปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment)

- สภาวะในการทดลอง (ไม่ปรับสภาพและปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก)
- ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการปรับสภาพ (1.0% 1.5% และ 2.0%)
- อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา (อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส)
- กำหนดให้ระยะเวลาปรับสภาพ 1 ชั่วโมง

4.1 ขั้นตอนการทำ

4.1 นำสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 % 1.5 % และ 2 % อย่างละ 3 ขวด) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งฝักตบขาวอบแห้ง 2 กรัม

4.2 นำขวดรูปชมพู่ที่ใส่สารเสร็จแล้วไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยง (Shakers) จำนวน 100 รอบต่อนาที ใช้เวลาเขย่า 24 ชั่วโมง

4.3 นำไปให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที จากนั้นนำสารละลายไปกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้วด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ

4.4 เก็บส่วนใสนำไปวิเคราะห์ DNS ต่อไป

5. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

5.1 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.1.1 ชั่ง $C_6H_{12}O_6$ จำนวน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5.1.2 การเตรียมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 %

5.1.3 ชั่งสาร DNS จำนวน 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

5.1.4 เติมน้ำ NaOH 2 M จำนวน 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

5.1.5 อุ่นใน water bath จนสารละลายใส เติมน้ำ $KNaC_4H_4O_6$ ลงไปที่ละน้อยจนครบ 300 กรัม

5.1.6 ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

5.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

5.2.1 เจือจาง $C_6H_{12}O_6$ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในหลอดทดลอง

5.2.2 เติมน้ำสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 % ต้มในน้ำเดือด 5 นาที ในอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

5.2.3 นำหลอดทดลอง แช่น้ำเย็น เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อทำการหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5.2.4 นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

5.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

5.3.1 ปิเปตตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid เข้มข้น 1 % จำนวน 1 มิลลิลิตร

5.3.2 ต้มในน้ำเดือด 5 นาที แช่น้ำเย็น 5 นาที เติมน้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

6. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture)

- 6.1 อบภาชนะใส่ตัวอย่างที่อุณหภูมิ ที่ 105 องศาเซลเซียส จำนวน 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่
- 6.2 ชั่งน้ำหนักของภาชนะชั่งน้ำหนักของผักตบชวาใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้ ชั่งและบันทึกน้ำหนักรวมผักตบชวาและภาชนะ เป็นน้ำหนักก่อนอบ
- 6.3 .อบที่อุณหภูมิ ที่ 105 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง
- 6.4 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

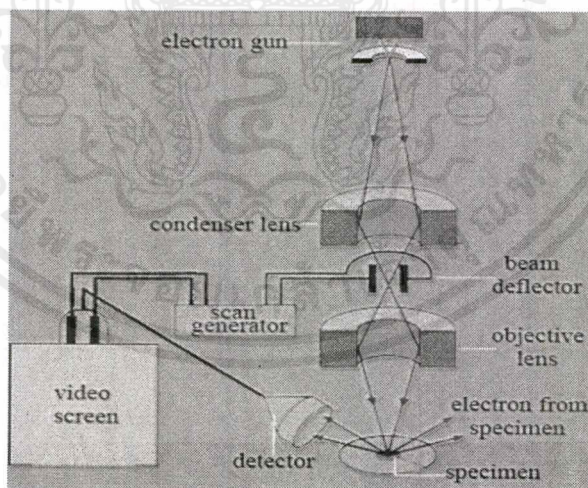
7.การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash)

- 7.1 เเผ Gooch Crucible ที่อุณหภูมิ 750 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่
- 7.2 ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 7.3 ชั่งน้ำหนักของ Gooch Crucible (กรัม)
- 7.4 ชั่งผักตบชวาประมาณ 1 กรัมใส่ใน Gooch Crucible
- 7.5 ชั่งและบันทึกน้ำหนักรวมเป็นน้ำหนักก่อนอบ (กรัม)
- 7.6 เเผ Gooch Crucible ที่อุณหภูมิ 750 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง
- 7.7 ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 7.8 ชั่งและบันทึกน้ำหนักรวม เป็นน้ำหนักหลังเผ (กรัม)
- 7.9 เเผ Gooch Crucible ต่อที่อุณหภูมิ 750 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง
- 7.10 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณเถ้า

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกำลังขยายสูง Scanning Electron Microscope (SEM)

เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายไม่สูงมีกำลังขยายสูงสุดประมาณ 10 นาโนเมตร การสร้างภาพทำได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่สะท้อนจากพื้นผิวหน้าของตัวอย่างที่ทำการสำรวจ ซึ่งภาพที่ได้จากเครื่อง SEM นี้จะเป็นภาพลักษณะของ 3 มิติ จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษา สัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง เช่น ลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเนื้อเยื่อและ เซลล์ งานวิเคราะห์ประเภทการวิเคราะห์ความเสียหายต่างๆ (Failure Analysis) โดยตัวอย่างจะต้อง มีการฉาบเคลือบผิวให้หน้าไฟฟ้าก่อนนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกำลังขยายสูง

หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกำลังขยายสูงจะประกอบด้วย แหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จาก แหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอน ใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ หากต้องการภาพที่มีความคมชัดจะปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบน ผิวชิ้นงานที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนชิ้นงานจะทำให้เกิดอิเล็กตรอน ทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้น ซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึกและแปลงไป เป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอนิกส์และถูกนำไปสร้างเป็นภาพบนจอโทรทัศน์ต่อไปและสามารถ บันทึกภาพจากหน้าจอโทรทัศน์ได้เลย



รูปที่ ก.1 ส่วนประกอบและการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกำลังขยายสูง
(สถาบันนวัตกรรมและพัฒนาระบบการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล, ม.ป.ป.)

ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการทดลองและการคำนวณ

ตารางข.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย

ตัวอย่าง ผักตบชวา	ซ้ำที่	การหาค่า Neutral Detergent Fiber		%NDF	การหาค่า Acid Detergent Fiber		%ADF	การหาค่า Acid Detergent Lignin		%ADL
		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible หลังเผา (กรัม)	
ไม่ผ่านการปรับสภาพ	1	29.7705	30.1946	84.82	22.485	22.8817	39.67	22.5148	22.4864	2.84
	2	30.3782	30.7724	78.84	25.427	25.6165	18.95	25.3032	25.2442	5.90
	3	29.7993	30.2293	86.00	21.8332	22.2155	38.23	21.8574	21.8351	2.23
	4	29.4095	29.7845	75.26	21.0672	21.8114	74.42	21.1430	21.0784	6.46
	5	22.2281	22.6188	78.14	23.5297	23.8977	36.8	23.8563	23.8173	3.90
	6	25.2349	25.5228	57.58	21.9617	22.3353	37.36	21.6939	21.6709	2.30
ชุดควบคุม	1	28.8519	29.2997	89.56	29.6293	30.1021	47.25	21.7225	21.6454	7.71
	2	29.3290	29.8011	94.42	29.2541	29.8590	60.49	24.6958	24.5948	10.10
	3	29.4012	29.8332	86.40	29.3214	29.6759	35.46	21.3489	21.2716	7.73
	4	24.9049	25.3612	91.26	21.227	21.5521	32.51	21.2972	21.2277	6.95
	5	22.4915	22.9507	91.84	22.8338	23.2991	46.53	21.8640	21.8074	5.66
	6	22.0879	22.5526	92.94	22.0282	22.4525	42.43	23.1470	23.088	5.90

ตารางข.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย (ต่อ)

ตัวอย่างผักตบชวา	ซ้ำที่	การหาค่า Neutral Detergent Fiber		%NDF	การหาค่า Acid Detergent Fiber		%ADF	การหาค่า Acid Detergent lignin		%ADL
		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible หลังเผา (กรัม)	
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1%	1	29.6451	29.2001	89.00	29.6683	30.1360	46.56	24.9054	24.7993	10.61
	2	29.4650	29.9221	91.42	29.0843	29.8410	75.67	23.1744	23.1144	6.00
	3	29.2013	29.6541	90.56	30.1253	30.3771	25.18	23.1144	23.0542	6.02
	4	29.3102	29.7349	84.94	22.2766	22.5378	26.12	22.3367	22.277	5.97
	5	23.5859	24.0085	84.52	22.2189	22.6491	43.02	22.2367	22.1879	4.88
	6	29.8450	30.2950	90.00	24.2374	24.6926	45.52	24.2722	24.2374	3.48
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1.5%	1	29.4224	29.8550	86.52	29.0311	29.9889	95.78	21.7885	21.7320	5.65
	2	29.3580	29.7350	75.40	29.3085	30.2110	90.25	23.9645	23.8926	7.19
	3	29.2045	29.6540	89.90	29.3025	30.012	86.02	22.3489	22.2227	12.62
	4	29.2509	29.6540	80.62	20.1557	20.4038	24.81	20.1922	20.1554	3.68
	5	21.8631	22.2252	72.42	19.539	19.7824	24.34	19.6126	19.539	7.36
	6	28.4773	28.9146	87.46	22.0456	22.5019	45.63	22.0871	22.0446	4.25

ตารางข.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย(ต่อ)

ตัวอย่างผักตบชวา	ซ้ำที่	การหาค่า Neutral Detergent Fiber		%NDF	การหาค่า Acid Detergent Fiber		%ADF	การหาค่า Acid Detergent lignin		%ADL
		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible หลังเผา (กรัม)	
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1%	1	29.6451	29.2001	89.00	29.6683	30.1360	46.56	24.9054	24.7993	10.61
	2	29.4650	29.9221	91.42	29.0843	29.8410	75.67	23.1744	23.1144	6.00
	3	29.2013	29.6541	90.56	30.1253	30.3771	25.18	23.1144	23.0542	6.02
	4	29.3102	29.7349	84.94	22.2766	22.5378	26.12	22.3367	22.277	5.97
	5	23.5859	24.0085	84.52	22.2189	22.6491	43.02	22.2367	22.1879	4.88
	6	29.8450	30.2950	90.00	24.2374	24.6926	45.52	24.2722	24.2374	3.48
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1.5%	1	29.4224	29.8550	86.52	29.0311	29.9889	95.78	21.7885	21.7320	5.65
	2	29.3580	29.7350	75.40	29.3085	30.2110	90.25	23.9645	23.8926	7.19
	3	29.2045	29.6540	89.90	29.3025	30.012	86.02	22.3489	22.2227	12.62
	4	29.2509	29.6540	80.62	20.1557	20.4038	24.81	20.1922	20.1554	3.68
	5	21.8631	22.2252	72.42	19.539	19.7824	24.34	19.6126	19.539	7.36
	6	28.4773	28.9146	87.46	22.0456	22.5019	45.63	22.0871	22.0446	4.25

ตารางข.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย(ต่อ)

ตัวอย่างผักตบชวา	ซ้ำที่	การหาค่า Neutral Detergent Fiber		%NDF	การหาค่า Acid Detergent Fiber		%ADF	การหาค่า Acid Detergent lignin		%ADL
		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible เปล่า (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible ที่มี ตะกอน (กรัม)		น้ำหนัก Gooch crucible หลังอบ (กรัม)	น้ำหนัก Gooch crucible หลังเผา (กรัม)	
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 2%	1	29.3395	29.8184	95.78	28.8989	29.7995	90.06	23.6356	23.5051	13.05
	2	29.3390	29.8032	92.84	29.0429	29.9541	91.12	25.2646	25.1865	7.81
	3	29.4521	29.8220	73.98	29.0021	29.8954	89.33	22.3080	22.2288	7.92
	4	26.5794	27.0781	99.74	23.0711	23.5121	44.10	23.0857	23.0708	1.49
	5	21.9615	22.3402	75.74	21.9225	22.3201	39.76	21.9432	21.9228	2.04
	6	29.4521	29.8540	80.38	24.6223	25.0769	45.46	24.6428	24.6228	2.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ Neutral Detergent Fiber (%NDF)

$$\%NDF = [(W_0 - W_t)/W] \times 100$$

W_0 = น้ำหนักGooch crucibleก่อนอบ

W_t = น้ำหนักGooch crucibleหลังอบ

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ acid detergent fiber (%ADF)

$$\%ADF = [(W_0 - W_t)/W] \times 100$$

W_0 = น้ำหนักGooch crucibleก่อนอบ

W_t = น้ำหนักGooch crucibleหลังอบ

W = น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ Acid Detergent Lignin (%ADL)

$$\%ADL = [(W_t - W_a)/W] \times 100$$

W_t = น้ำหนักGooch crucibleหลังอบ

W_a = น้ำหนักGooch crucibleหลังเผา

W = น้ำหนักตัวอย่าง(จากขั้นตอนADF)

การคำนวณองค์ประกอบเยื่อใย

$$\%Cellulose = \%ADF - \%ADL$$

$$\%Hemicellulose = \%NDF - \%ADF$$

$$\%Lignin = \%ADL$$

ตารางข.2 ผลการวิเคราะห์ร้อยละความชื้น (% Moisture)

ตัวอย่าง	น้ำหนักผักตบชวาก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักผักตบชวาลังอบที่คงที่ (กรัม)	% Moisture
1 .	31.4819	29.3697	91.3423
2.	29.7573	28.2059	59.9505
3.	32.7413	30.4590	87.5316
ค่าเฉลี่ย			79.61

ตารางข.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (% Ash)

ตัวอย่าง	น้ำหนักผักตบชวาก่อนเผา (กรัม)	น้ำหนักผักตบชวาลังเผา (กรัม)	% Ash
1 .	27.2008	27.2914	9.06
2.	26.4854	26.5760	9.06
3.	28.8471	28.9371	9.00
ค่าเฉลี่ย			9.04

$$\% \text{Moisture} = [(W_1 - W_2)/W_1] \times 100$$

$$W_1 = \text{น้ำหนักผักตบชวาก่อนอบ (กรัม)}$$

$$W_2 = \text{น้ำหนักผักตบชวาลังอบที่คงที่ (กรัม)}$$

$$\% \text{Ash} = (W_3/W_4) \times 100$$

$$W_3 = \text{น้ำหนักผักตบชวาก่อนเผา (กรัม)}$$

$$W_4 = \text{น้ำหนักผักตบชวาลังเผา (กรัม)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางข.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตัวอย่าง	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm.	ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/g.น้ำหนักแห้ง)
ชุดควบคุม	1	0.722	0.6782	33.91
	2	0.616	0.5763	28.81
	3	0.849	0.8002	40.01
	4	0.649	0.6079	30.40
	5	0.735	0.6907	34.53
	6	0.690	0.6474	32.37
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1%	1	0.223	0.1984	9.92
	2	0.228	0.2032	10.16
	3	0.200	0.1763	8.81
	4	0.267	0.2407	12.03
	5	0.268	0.2416	12.08
	6	0.251	0.2253	11.26
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1.5%	1	0.149	0.1272	6.36
	2	0.116	0.0980	4.77

ตารางข.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาคลอรีน (ต่อ)

ตัวอย่าง	ซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm.	ความเข้มข้นของน้ำตาคลอรีน (mg/ml)	ปริมาณน้ำตาคลอรีน (mg/g.น้ำหนักแห้ง)
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 1.5%	3	0.157	0.1349	6.75
	4	0.189	0.1657	8.28
	5	0.210	0.1859	9.29
	6	0.074	0.0551	2.75
ปรับสภาพ H ₃ PO ₄ 2%	1	0.110	0.0897	4.49
	2	0.067	0.0484	2.42
	3	0.111	0.0907	4.53
	4	0.095	0.0753	3.76
	5	0.157	0.1349	6.75
	6	0.129	0.1080	2.40

Calibration curve : $y = 1.04x + 0.01$

การเปลี่ยนหน่วยน้ำตาลรีตีวซ์จาก มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักแห้ง

สารละลายน้ำตาล 1 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ 0.6782 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สารละลายน้ำตาล 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ $(0.6782 \times 100) / 1$ มิลลิกรัม
 $= 67.82$ มิลลิกรัม

ผักตบชวา 2 กรัม มีปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ 67.82 มิลลิกรัม

ถ้าผักตบชวา 1 กรัม มีปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ $(67.82 \times 1) / 2$ มิลลิกรัม
 $= 33.91$ มิลลิกรัม

ดังนั้น ผักตบชวาแห้ง 1 กรัม จะมีปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ 33.91 มิลลิกรัม

การคำนวณการเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริก 85%

การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 1 % ต้องใช้กรดฟอสฟอริก 85%

ความหนาแน่นของกรดฟอสฟอริก = 1.685 กรัม/โมล ที่ 25 °C

น้ำหนักโมเลกุล = 98 กรัม/โมล

คำนวณจาก

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1 = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก 85% (นอร์มัล)

V_1 = ปริมาณที่ใช้ (มิลลิลิตร)

C_2 = ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก 1% (นอร์มัล)

V_2 = ปริมาณที่เตรียม (มิลลิลิตร)

$$(14.615) V_1 = [(100 \times 10^3)(500)] / [(1.655)(98)]$$

$$V_1 = 5.8809 \text{ มิลลิลิตร}$$

ภาคผนวก ค การคำนวณค่าทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One-Way ANOVA

ตารางที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณเซลล์โลสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Squares	F	Sig.
Sample	2910	4	727.4	1.693	0.183
Residuals	10739	25	429.6		
total	13649	29			

ตารางที่ ค.2 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณเซลล์โลสที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธี Tukey

Multiple comparison						
(I) sample	(J) sample	Mean difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
before	control	-0.1883	11.9660	1.000	-35.3365	34.959
	1%	-0.7683	11.9660	1.000	-35.9165	34.3799
	1.5%	-14.8683	11.9660	0.727	-50.0165	20.2799
	2%	-23.9533	11.9660	0.294	-59.1015	11.1949
control	before	0.1883	11.9660	1.000	-34.959	35.3365
	1%	-0.9567	11.9660	1.000	-36.1049	34.1915
	1.5%	-15.0567	11.9660	0.718	-50.2049	20.0915
	2%	-24.1417	11.9660	0.287	-59.2899	11.0065
1%	before	0.7683	11.9660	1.000	-.3799	35.9165
	1.5%	-14.1000	11.9660	0.763	-49.2482	21.0482
	2%	-23.1850	11.9660	0.325	-58.3332	11.9632
	control	0.9567	11.9660	1.000	-34.1915	36.1049
1.5%	control	15.0567	11.9660	0.718	-11.0065	59.2899
	before	14.8683	11.9660	0.727	20.2799	50.0165
	1%	14.1000	11.9660	0.763	-21.0482	49.2482
	2%	-9.0850	11.9660	0.940	-44.2332	26.0632
2%	control	24.1417	11.9660	0.287	-11.0065	59.2899
	before	23.9533	11.9660	0.294	11.1949	59.1015
	1%	23.1850	11.9660	0.325	-11.9632	58.3332
	1.5%	9.0850	11.9660	0.940	-26.0632	44.2332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากทางผู้จัดทำ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณเอมิเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Squares	F	Sig.
Sample	18518	4	4629	10.81	0.0000316
Residuals	10706	25	428		
total	29224	29			

ตารางที่ ค.4 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณเอมิเซลลูโลสที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธี Tukey

Multiple comparison						
(I) sample	(J) sample	Mean difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
before	control	-11.125	11.948	0.88207	-46.2173	23.9673
	1%	-52.7483	11.948	0.00147	-87.8406	-17.6560
	1.5%	12.898	11.948	0.81517	-11.0690	59.1156
	2%	16.0533	11.948	0.66751	-19.0390	51.1456
control	before	11.125	11.948	0.88207	-23.9673	46.2173
	1%	-41.623	11.948	0.01449	-76.7156	-6.5310
	1.5%	24.0233	11.948	0.29006	-11.0690	59.1156
	2%	27.178	11.948	0.18637	-7.9140	62.2706
1%	before	52.7483	11.948	0.00147	17.6560	87.8406
	1.5%	65.6467	11.948	< 0.001	30.5544	100.7390
	2%	68.802	11.948	< 0.001	33.7094	103.8940
	control	41.6233	11.948	0.01449	6.5310	76.7156
1.5%	control	-24.0233	11.948	0.29006	-59.1156	11.0690
	before	-12.898	11.948	0.81517	-59.1156	11.0690
	1%	-65.6467	11.948	< 0.001	-100.7390	-30.5544
	2%	3.155	11.948	0.99885	-31.9373	38.2473
2%	control	-27.178	11.948	0.18637	-62.2706	7.9140
	before	-16.0533	11.948	0.66751	-51.1456	19.0390
	1%	-68.802	11.948	< 0.001	-103.8940	-33.7094
	1.5%	-3.155	11.948	0.99885	-38.2473	31.9373

ตารางที่ ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวของปริมาณลิกลินที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Squares	F	Sig
Sample	40.48	4	10.120	1.149	0.357
Residuals	220.19	25	8.808		
total	260.67	29			

ตารางที่ ค.6 ผลการเปรียบเทียบพหุคูณของปริมาณลิกลินที่ได้จากการปรับสภาพตัวอย่างด้วยกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบเป็นรายคู่ด้วยวิธีTukey

Multiple comparison						
(I) sample	(J) sample	Mean difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
before	control	-3.4033	1.7134	0.301	1.6299	-8.4365
	1%	-2.0400	1.7134	0.757	-7.0732	2.9932
	1.5%	-2.8533	1.7134	0.472	-7.8865	2.1799
	2%	-1.7800	1.7134	0.835	-6.8132	3.2532
control	before	3.4033	1.7134	0.301	8.4365	-1.6299
	1%	1.3633	1.7134	0.929	-3.6699	6.3965
	1.5%	0.5500	1.7134	0.998	-4.4832	5.5832
	2%	1.6233	1.7134	0.875	-3.4099	6.6565
1%	before	2.0400	1.7134	0.757	-2.9932	7.0732
	1.5%	-0.8133	1.7134	0.989	-5.8465	4.2199
	2%	0.2600	1.7134	1.000	-4.7732	5.2932
	control	-1.3633	1.7134	0.929	-6.3965	3.6699
1.5%	control	-0.5500	1.7134	0.998	-5.5832	4.4832
	before	2.8533	1.7134	0.472	-2.1799	7.8865
	1%	0.8133	1.7134	0.989	-4.2199	5.8465
	2%	1.0733	1.7134	0.969	-3.9599	6.1065
2%	control	-1.6233	1.7134	0.875	-6.6565	3.4099
	before	1.7800	1.7134	0.835	-3.2532	6.8132
	1%	-0.2600	1.7134	1.000	-5.2932	4.7732
	1.5%	-1.0733	1.7134	0.969	-6.1065	3.9599