การสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ชัชชุมา มั่นคงกิจการ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ชัชชุมา มั่นคงกิจการ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

Synthesis of Glucose and Xylose from Spent Coffee Grounds by Hydrolysis using p-TSA as a Catalyst

CHATCHUMA MONKONGKIJAKAN

THE THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
BACHELOR IN CHEMICAL ENGINEERING
FACULTY OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2017

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	การสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
โดย	นางสาวชัชชุมา มั่นคงกิจการ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญานิพนธ์

ธนวรรณ พิณรัตน์.....ประธานกรรมการ

(ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์.....กรรมการ

(ผศ.ดร.พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์)

.....กรรมการ

(อ.บุญชัย โชติวิริยวาณิชย์)

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	การสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา
โดย	นางสาวชัชชุมา มั่นคงกิจการ
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากการวิจัยพบว่าในกากกาแฟประกอบด้วยองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งก่อนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จะทำการปรับสภาพกากกาแฟด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อกำจัดลิกนิน โดยมีตัวแปรที่สำคัญคือความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.0-2.0 โดยมวลต่อปริมาตร และระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ 60-120 นาที ซึ่งภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 60 นาที พบว่าสามารถกำจัดลิกนินออกร้อยละ 10.71 โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นนำกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพแล้วทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟ ซึ่งสัดส่วนของกากกาแฟต่อสารละลายกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิส จากการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นเวลา 120 นาที จะได้ปริมาณร้อยละผลผลิตไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ 4.83 โดยมวล และคิดเป็นร้อยละผลผลิตไซโลส เท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์

Report	Synthesis of Glucose and Xylose from Spent Coffee Grounds by Hydrolysis Using p-TSA as a Catalyst
By	Ms.Chatchuma Monkongkijakan
Degree	Bachelor of Engineering
Programme	Chemical Engineering
Year	2017
Advisor	Asst.Prof.Dr. Tanawan Pinnarat

ABSTRACT

This work studied the synthesis of glucose and xylose from spent coffee grounds (SCG) as raw materials by hydrolysis using p-Toluenesulfonic acid as a catalyst. Spent coffee ground contained cellulose, hemicellulose and lignin, which is intermediate substance to valuable-chemicals. This work studied the important parameters, which will affect the pretreatment of spent coffee grounds, which are concentration of NaOH and reaction time. The concentration of NaOH in range of 1 to 2 %w/v and retention time of 60 to 120 minutes were used. The appropriate condition is 1.5%w/v NaOH for 60 min to remove 10.71% lignin from spent coffee grounds. Then spent coffee grounds was hydrolyzed with p-toluenesulfonic acid (p-TSA) at different parameters which are temperature, concentration of p-TSA, and retention time. Using the ratio of spent coffee grounds to solvent 1:10. Then the appropriate conditions, that obtained the highest xylose yield of 4.83 % and % recovery of 41 was at 5%v/v p-TSA for 120 min.

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ คำสอน และให้ข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำปริญญานิพนธ์ อีกทั้งท่านยังมีส่วนช่วยในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน

ขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจปริญญานิพนธ์ ผศ.ดร.พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์ และ อ.บุญชัย โชติวิริยวาณิชย์ ที่ได้ให้ความคิดเห็นอันเป็นประโยชน์

ขอขอบคุณ รศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม คณบดี ผศ. ดร. ธงชัย พุฒทองศิริ รองคณบดี คณะอุตสาหกรรมเกษตร และคุณอัสนี วิจิตระกะ เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง Autoclave สำหรับใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ

ขอขอบคุณ บริษัท เขาช่องอุตสาหกรรม 1979 จำกัด ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านวัตถุดิบมอบกากกาแฟพันธุ์โรบัสต้าที่เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการทดลองในปริญญานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ คุณพิมใจ ภู่ชนะกิจ เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไปของภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการดำเนินเอกสารเพื่อขอความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมืออุปกรณ์ในการดำเนินการปริญญานิพนธ์ และ คุณพิสันต์ ผลโพธิ์ เจ้าหน้าที่วิจัยของภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่กรุณาช่วยเหลือและแก้ไขปัญหาอุปกรณ์ในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมเคมี

ขอขอบคุณ อาจารย์ ผศ.ดร. ณัฐนนท์ ไพบูลย์ศิลป์ อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับขั้นตอนการดำเนินงานในการทดลอง ตลอดจนให้ข้อคิดเห็นในการทำปริญญานิพนธ์

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมอาจารย์ที่ปรึกษา และขอขอบคุณเพื่อนร่วมวิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณการสนับสนุนทางการเงินจากภาควิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่สนับสนุนทางด้านการศึกษามาโดยตลอด คอยอยู่เคียงข้างเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดี

ชัชชุมา มั่นคงกิจการ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vi
สารบัญรูปภาพ	vii
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์	1
1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์	2
1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์	2
บทที่ 2 ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับกาแฟ	3
2.1.1. เมล็ดกาแฟ (Coffee bean)	3
2.1.2 กากกาแฟ	5
2.2 การปรับสภาพวัตถุดิบเบื้องต้น (Pretreatment)	8
2.2.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (Physical pretreatment)	9
2.2.2 การปรับสภาพทางเคมี (Chemical pretreatment)	9
2.2.3 การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physicochemical pretreatment)	9
2.2.3.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)	9
2.2.3.2 การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX)	10
2.2.4 การปรับสภาพทางชีวภาพ (Biodegradation pretreatment)	10
2.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	10
2.3.1 การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ (Enzymatic hydrolysis)	10
2.3.2 การย่อยสลายด้วยสารเคมี (Chemical hydrolysis)	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 การดำเนินงาน	15
3.1 การเตรียมกากกาแฟก่อนนำไปใช้ทดลอง	15
3.1.1 การลดขนาดและคัดขนาด	16
3.1.2 การสกัดด้วยอะซิโตน (Acetone extraction)	16
3.1.3 การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot-water extraction	16
3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ	17
3.3 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยเคมี	18
3.4 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส	19
3.5 การวิเคราะห์สารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์	20
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานและการวิเคราะห์ผล	23
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ	23
4.2 การปรับสภาพของกากกาแฟ	23
4.2.1. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์	24
4.2.2. ระยะเวลาในการปรับสภาพวัตถุดิบ	24
4.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดของกากกาแฟ	26
4.3.1 อิทธิพลของอุณหภูมิ	27
4.3.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก	29
4.3.3 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา	32
บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ	35
5.1 สรุปผลการดำเนินงาน	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	36
บรรณานุกรม	37
ภาคผนวก	39
ภาคผนวก ก. การคำนวณสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์	40
ภาคผนวก ข. ข้อมูลดิบการทดลอง	46
ภาคผนวก ค. การใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของของเหลวสมรรถนะสูง	49
ภาคผนวก ง. มาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ	57

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส 6
ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบภาวะในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในการผลิตน้ำตาล 13
ตารางที่ 3.1 ภาวะตัวแปรที่ต้องการศึกษาสำหรับการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยเคมี 19
ตารางที่ 3.2 ภาวะตัวแปรที่ต้องการศึกษาสำหรับการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟ 20
ตารางที่ 3.3 ภาวการณ์วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์กลูโคสและไซโลสด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง 20
ตารางที่ 4.1 ร้อยละองค์ประกอบทางเคมีในกากกาแฟตั้งต้นที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและผ่านการสกัดด้วยน้ำร้อน 23
ตารางที่ 5.1 ตัวแปรที่ศึกษา ขอบเขต และภาวะที่เหมาะสม 36
ตารางที่ ก.1 คำนวณร้อยละโดยมวลของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในสารตั้งต้น 44
ตารางที่ ข.1 ร้อยละองค์ประกอบในกากกาแฟตั้งต้นที่นำไปปรับสภาพก่อนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 46
ตารางที่ ข.2.1 อิทธิพลจากอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา 5 โดยปริมาตร 46
ตารางที่ ข.2.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 5 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 47
ตารางที่ ข.2.3 อิทธิพลของความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 120 นาทีที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 47
ตารางที่ ข.2.4 ปริมาณผลผลิตของกลูโคสจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ภาวะต่างๆ 47
ตารางที่ ข.2.5 ปริมาณผลผลิตของไซโลสจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ภาวะต่างๆ 48

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 เมล็ดกาแฟพันธุ์ (ก) อะราบิกา และ (ข) โรบัสต้า 4

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส 6

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (ก) ไซโลส (ข) อะราบิโนส (ค) แมนโนส (ง) กาแล็กโตส (จ) กลูโคส 7

รูปที่ 2.4 โครงสร้างของลิกนิน (ก) p-coumaryl alcohol (ข) Coniferyl alcohol และ (ค) Sinapyl alcohol 8

รูปที่ 2.5 การปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส 9

รูปที่ 4.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากกาแฟที่มีผลต่อปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในกากกาแฟตั้งต้นในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร และระยะเวลาในปรับสภาพ 60 นาที 24

รูปที่ 4.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากกาแฟที่มีผลต่อปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในกากกาแฟหลังจากผ่านการสกัดในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 60 ถึง 120 นาที 25

รูปที่ 4.3 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่เหลือในกากกาแฟตัวอย่างของแต่ละอิทธิพลที่ศึกษา โดย (1) 1.0% NaOH, 60 นาที (2) 1.0% NaOH, 90 นาที (3) 1.0% NaOH, 120 นาที (4) 1.5% NaOH, 60 นาที (5) 1.5% NaOH, 90 นาที (6) 1.5% NaOH, 120 นาที (7) 2.0% NaOH, 60 นาที (8) 2.0% NaOH, 90 นาที และ (9) 2.0% NaOH, 120 นาที 26

รูปที่ 4.4 ร้อยละของกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับกากกาแฟที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร 27

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.5 อิทธิพลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 120 นาที ในการทำปฏิกิริยา 28

รูปที่ 4.6 อิทธิพลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 150 นาที ในการทำปฏิกิริยา 29

รูปที่ 4.7 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผล(ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 120 นาที ในการทำปฏิกิริยา 30

รูปที่ 4.8 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผล(ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 150 นาที ในการทำปฏิกิริยา 31

รูปที่ 4.9 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ และ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 32

รูปที่ 4.10 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 34

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง HPLC 41
รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไซโลสด้วยเครื่อง HPLC 42
รูปที่ ค.1 สวิตช์ในการเปิด-ปิด YL9112 Isocratic pump YL9131 column compartment และ YL9170 RI detector 50
รูปที่ ค.2 การเปิดโปรแกรม YL-Clarity 51
รูปที่ ค.3 การเปิดโปรแกรม YL-Clarity (ต่อ) 51
รูปที่ ค.4 หน้าต่างของโปรแกรม YL-Clarity 52
รูปที่ ค.5 วาล์วในส่วนของ YL9112 Isocratic pump 53
รูปที่ ค.6 หน้าต่างในส่วน Method setup ของโปรแกรม YL-Clarity 53
รูปที่ ค.7 การฉีดสารตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ 54
รูปที่ ค.8 ผลวิเคราะห์ HPLC – chromatograph 55
รูปที่ ค.9 โครมาโทแกรมที่ได้จากสารตัวอย่าง 56
รูปที่ ค.10 หน้าต่าง Device monitor เพื่อลดอุณหภูมิ 56

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์

กาแฟ (Coffea sp.) เป็นพืชเศรษฐกิจและสินค้าที่มีมูลค่าต่อการค้าขายที่สำคัญของโลก จากข้อมูลขององค์กรกาแฟนานาชาติ (The International Coffee Organization : ICO) ในปี พ.ศ. 2560 มีปริมาณผลผลิตกาแฟอยู่ที่ 159 พันกระสอบ ซึ่งหนึ่งกระสอบบรรจุ 60 กิโลกรัม เพิ่มขึ้นร้อยละ 1.2 จากปีก่อน [1] โดยกาแฟจัดเป็นพืชเขตร้อนในแถบเอเชียใต้และแอฟริกา ส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นกาแฟได้ดีในเขตร้อนชื้นตามเส้นศูนย์สูตรของโลก ในปัจจุบัน 5 อันดับแรกของผู้ผลิตกาแฟรายใหญ่ทั่วโลก ได้แก่ บราซิล เวียดนาม โคลัมเบีย อินโดนีเซีย และเอธิโอเปีย ตามลำดับ ซึ่งในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศไทยมีการผลิตกาแฟเป็นอันดับที่ 3 รองจากเวียดนามและอินโดนีเซีย ตามลำดับ ปัจจุบันกาแฟมีหลากหลายสายพันธุ์มากกว่า 100 พันธุ์ แต่ในทางเศรษฐกิจสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อะราบิกา (Coffea arabica) และพันธุ์โรบัสต้า (Coffea canephora)

ในประเทศไทยมีอัตราการบริโภคกาแฟเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากกระแสความนิยมของการบริโภคกาแฟของคนไทยมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม นิยมบริโภคกาแฟสดกันมากขึ้น จากผลการสำรวจของศูนย์วิจัยกสิกรไทย พ.ศ.2560 พฤติกรรมการบริโภคกาแฟโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 200 แก้วต่อคนต่อปี [2] และยังมีแนวโน้มการบริโภคกาแฟสดที่มากขึ้น เช่นเดียวกับในภาคอุตสาหกรรมกาแฟจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในปัจจุบันมีการเพาะปลูกกาแฟในหลายพื้นที่ในประเทศไทยขึ้นอยู่กับพันธุ์ของกาแฟ ส่วนใหญ่จะอยู่ที่ภาคเหนือหรือภาคใต้ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการทางอุตสาหกรรมก่อนผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ จึงทำให้มีกากกาแฟเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากจากภาคอุตสาหกรรมการผลิต แม้จะมีการนำกากที่เหลือมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ยกตัวอย่างเช่น การนำไปผสมปุ๋ย แต่ก็ยังมีกากกาแฟเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้แก่สิ่งแวดล้อมทำให้เกิดปัญหาในเรื่องของเชื้อรา กลิ่น น้ำเน่าเสีย และแก๊สเรือนกระจกที่เกิดจากการหมักของกากกาแฟที่ทับถม ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการลดปริมาณกากกาแฟที่เหลือทิ้งและทำการศึกษาวิเคราะห์หาองค์ประกอบของกากกาแฟเพื่อสังเคราะห์น้ำตาลไซโลส ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารเคมีเบื้องต้น

กากกาแฟ (Spent coffee grounds, SCG) เป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากการชงกาแฟสด หรือส่วนที่เหลือจากกระบวนการผลิตกาแฟไม่ว่าจะเป็นการผลิตกาแฟคั่วหรือการผลิตกาแฟสำเร็จรูป ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าการใช้ประโยชน์จากกากกาแฟเพื่อเพิ่มมูลค่า ในด้านของการพัฒนาเป็นเชื้อเพลิงด้วยการอัดให้เป็นแท่ง การรีไซเคิลเป็นวัสดุเฟอร์นิเจอร์ หรือการนำกากกาแฟมาสกัดน้ำมันเพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงไบโอดีเซลและเชื้อเพลิงแข็งด้วยการหมัก ซึ่งกากกาแฟเป็นวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสที่มีประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน [3] ซึ่งในองค์ประกอบข้างต้น

เหล่านี้ เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์น้ำตาลไซโลสเพื่อเพิ่มมูลค่าและทำให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อกากกาแฟ

กระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเป็นวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดจะแบ่งวิธีเป็น 2 วิธี ซึ่งวิธีแรก คือ การไฮโดรไลซิสด้วยกรดเข้มข้น และอีกวิธีหนึ่ง คือ การไฮโดรไลซิสด้วยกรดเจือจางโดยจะใช้อุณหภูมิสูง ด้วยภาวะในการไฮโดรไลซิสจะทำให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวเป็นไฮโดรเนียมไอออนเข้าทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างโมเลกุลของเซลลูโลสสลายตัวได้กลูโลส และเฮมิเซลลูโลสจะสลายตัวได้ไซโลส ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สามารถเพิ่มมูลค่าเพิ่มด้วยการนำไปผลิตสารเคมี

ดังนั้นปริญญานิพนธ์นี้จึงสนใจที่จะศึกษาและหาภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกากกาแฟ เพื่อการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสในปริมาณที่มากที่สุด เพื่อเพิ่มมูลค่าและลดปริมาณกากกาแฟที่เหลือทิ้งในอุตสาหกรรม

1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์

1. เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพกากกาแฟก่อนนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส
2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากกากกาแฟโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดกรด และเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสสูงที่สุด

1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์

1. การปรับสภาพกากกาแฟตั้งต้นด้วยวิธีการปรับสภาพด้วยเบส จะทำการศึกษาตัวแปรและภาวะ ภายใต้คลื่นอัตราโซนิก
   - ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ : 1.0 1.5 2.0 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
   - ระยะเวลาการปรับสภาพ : 60 90 120 นาที
2. การสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟ โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก (p-Toluenesulfonic acid, p-TSA) ตัวแปรที่ต้องการศึกษาเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์น้ำตาลไซโลส
   - อุณหภูมิ : 70 100 องศาเซลเซียส
   - ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา p-TSA : 3.0 4.0 5.0 ร้อยละโดยปริมาตร
   - ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา : 60 90 120 นาที

บทที่ 2

ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

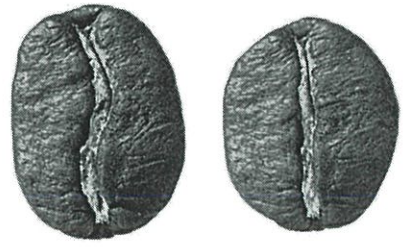
2.1 ข้อมูลเกี่ยวกับกาแฟ

กาแฟ (Coffee) ในทางพฤษศาสตร์จัดอยู่ในตระกูล Rubiaceae โดยทั่วไปมีรูปร่างเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 3-5 เมตร โดยลำต้นจะมีใบอยู่ตามข้อ เมื่อต้นเจริญเติบโตตาบนของโคนใบจะแตกออกเป็นกิ่งแขนงที่ 1 (Primary branch) มีข้อและปล้องลักษณะจะอยู่ขนานกับพื้นดินหรือห้อยลงมา ส่วนตาล่างจะแตกออกเป็นกิ่งตั้ง (Sucker) มีลักษณะตั้งต้นขึ้นเหมือนลำต้นแต่ไม่มีดอกผลเหมือนกับตาบน แต่สามารถสร้างกิ่งแขนงที่ 1 หรือกิ่งที่ให้ดอกผลได้ โดยกิ่งแขนงที่ 1 จะแตกกิ่งแขนงต่อไปเป็นกิ่งแขนงที่ 2 ได้อีก ซึ่งกิ่งแขนงเหล่านี้จะเกิดเป็นลักษณะคู่สลับเยื้องกันบนลำต้น โดยมีส่วนตาดอกที่เจริญเติบโตไปเป็นผลกาแฟต่อไป โดยสายพันธุ์กาแฟในปัจจุบันมีหลากหลายชนิดมากกว่า 100 พันธุ์ แต่ที่นิยมปลูกมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์อะราบิกา (Coffea arabica) ซึ่งคิดเป็นร้อยละผลผลิตประมาณ 70 ของกาแฟในโลก และพันธุ์โรบัสต้า (Coffea canephora หรือ Coffee robusta) [4]

2.1.1 เมล็ดกาแฟ (Coffee bean)

ผลของกาแฟมีผลดิบสีเขียว รูปร่างกลมรีลักษณะคล้ายลูกหว้า เมื่อผลสุกจะมีสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง โดยจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วนหลัก ได้แก่ เปลือก (Skin) เนื้อ (Pulp) และกะลา (Parchment) ซึ่งเป็นชั้นในสุดของผลกาแฟจะห่อหุ้มเมล็ด และมีเยื่อบางๆ ห่อหุ้มเมล็ดอยู่ภายในกะลาเรียกว่า เยื่อหุ้มเมล็ด (Sliver skin) โดยผลของกาแฟจะมี 2 ส่วนประกบกัน ซึ่งส่วนด้านในที่ประกบเข้าหากันจะมีลักษณะแบนและมีร่องตรงกลางเมล็ด ส่วนด้านนอกจะมีลักษณะโค้ง โดยจะมีเมือก (Mucilage) เป็นชั้นเนื้อเยื่อหุ้มกะลาไว้อีกที มีรสหวานซึ่งประกอบด้วยสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น โปรตีน และน้ำตาล ซึ่งเป็นอาหารให้จุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก ทำให้เกิดสารอินทรีย์ตัวอื่นที่ส่งผลต่อรสชาติของกาแฟ [5] ทั้งนี้ลักษณะของเมล็ดกาแฟแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่นสายพันธุ์อะราบิกาและพันธุ์โรบัสต้า สายพันธุ์อะราบิกานั้นจะมีรูปร่างเรียวรีตรงกลางคด แต่พันธุ์โรบัสต้าจะมีรูปร่างกลมรีและตรงกลางเป็นเส้นตรง โดยทั่วไปส่วนประกอบทางเคมีของสารกาแฟ มีน้ำ 12% โปรตีน 13% ไขมัน 12% น้ำตาล 9% สารคาเฟอีน 1-1.5% กรดคาเฟทานิค 9% สารอื่นๆ ที่ละลายน้ำ 5% เซลลูโลสและสารประกอบ 35% เถ้า 4% ซึ่งความแตกต่างระหว่างกาแฟทั้งสองสายพันธุ์นี้คือ ลักษณะเมล็ดของพันธุ์อะราบิกาจะมีทรงเรียว

มีกลิ่นหอม มีสารคาเฟอีนประมาณ 1–1.6 ร้อยละโดยน้ำหนัก ซึ่งต่ำกว่าพันธุ์โรบัสต้าที่มีประมาณ 2–3 ร้อยละโดยน้ำหนัก ที่มีลักษณะเมล็ดอ้วนกลมและให้รสชาติที่เข้มข้นกว่าพันธุ์อะราบิกา [6]



(ก) (ข)

รูปที่ 2.1 เมล็ดกาแฟพันธุ์ (ก) อะราบิกา และ (ข) โรบัสต้า [7]

การคั่วกาแฟจะมีผลต่อคุณภาพและองค์ประกอบของกาแฟ ซึ่งจะผ่านกระบวนการให้ความร้อนกับเมล็ดกาแฟดิบจนมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและองค์ประกอบในเมล็ดกาแฟดิบ ซึ่งมีระดับของการคั่วกาแฟ 3 ระดับ ดังนี้

2.1.1.1 เมล็ดกาแฟคั่วระดับอ่อน (Light roast)

การคั่วระดับอ่อน หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Cinnamon roast หรือ American roast การคั่วระดับนี้ทำให้สีเปลี่ยนเป็นน้ำตาลอ่อนหรือเหลืองซีดคล้ายซินนามอน ไม่มีความมันที่ผิวเมล็ด เนื่องจากใช้อุณหภูมิความร้อนประมาณ 170-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ซึ่งจะคงรสของเมล็ดกาแฟดั้งเดิมไว้ได้มากที่สุด และมีความเป็นกรดลงเหลืออยู่มาก ส่งผลให้มีรสชาติอมเปรี้ยว

2.1.1.2 เมล็ดกาแฟคั่วระดับอ่อน (Medium roast)

การคั่วระดับนี้ ทำให้ได้กาแฟที่มีความเข้มข้นกว่าการคั่วระดับอ่อน เมล็ดกาแฟเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีน้ำมันเคลือบอยู่บนผิวของเมล็ด ใช้อุณหภูมิประมาณ 200–222 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 15–20 นาที จะได้กาแฟที่มีความกลมกล่อม แต่ความเปรี้ยวจะลดลง เนื่องจากการสลายตัวของกรดภายในเมล็ด

2.1.1.3 เมล็ดกาแฟคั่วระดับเข้ม (Dark roast)

การคั่วระดับเข้ม เมื่อใช้อุณหภูมิประมาณ 230 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที จะได้เมล็ดกาแฟคั่วสด (Roasted coffee bean) สีเข้มที่มีกลิ่นหอมและรสชาติที่เข้มข้น แต่อาจทำให้เซลลูโลสสลายตัวกลายเป็นน้ำมันที่เคลือบบนผิวของเมล็ด ซึ่งกระบวนการคั่วนี้เป็นขั้นตอนการผลิตกาแฟสำเร็จรูปโดยเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ในเซลล์ของเมล็ดกาแฟ ทำให้ผนังเซลล์มีความหนาขึ้นเกิดการสลายตัวของกรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) ได้โมเลกุลเล็กระเหยง่ายที่มีกลิ่นหอมและมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีอย่างรุนแรง ในขั้นตอนนี้จะทำให้ปริมาณน้ำตาลและโปรตีนลดลงอย่างมาก เป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นระหว่างหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลและหมู่อะมิโนของโปรตีน สารตัวกลางที่ไม่คงตัวจะสลายตัวกลายเป็นโมเลกุลเล็กๆ จำนวนมากที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (Polymerization) พร้อมปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และสารระเหยง่ายออกมาจำนวนมาก [8] โดยพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาพอ

ลิเมอร์ไรเซชันนี้จะเรียกว่า มาลาโนยดิน (Malanoidin) ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ จะมีสีน้ำตาลและมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งทำหน้าที่เป็นเม็ดสี (Pigment) ที่ทำให้เกิดสีในกาแฟสำเร็จรูปซึ่งขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ของกาแฟ และบดละเอียดเพื่อใช้ในการชงกาแฟสดที่นิยมใช้เครื่องชงแบบเอสเปรสโซด้วยการผ่านไอน้ำอุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-20 วินาที เพื่อสกัดน้ำกาแฟไปใช้ ส่วนกากกาแฟ (spent coffee ground) ที่เหลือจะนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

2.1.2 กากกาแฟ

ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1.2.1 เซลลูโลส

เป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดเป็นส่วนสำคัญของผนังเซลล์มีหน้าที่ช่วยเสริมโครงสร้างความแข็งแรงให้แก่พืช ในธรรมชาติจะพบเซลลูโลส (Cellulose) รวมกับลิกนิน (Lignin) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เพนโตแซน (Pentosan) กัม (Gum) แทนนิน (Tannin) ไขมัน (Lipid) และสารเกิดสี (Colouring matter) ซึ่งมีสูตรเคมีทั่วไป คือ $-(C_6H_{10}O_5)_n-$ เมื่อ n คือจำนวนหน่วยของดี-กลูโคส (D-glucose) ทั้งหมดที่ต่อกันเป็นโครงสร้างซึ่งเกิดจากกลูโคสประมาณ 50,000 โมเลกุลเชื่อมกันเป็นสายยาวซึ่งเซลลูโลสมีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ สารอินทรีย์ใดๆ และสารละลายด่างอ่อนหรือกรดอ่อน แต่จะละลายได้ดีในกรดแก่หรือด่างแก่ [9] สามารถแบ่งชนิดเซลลูโลสตามลักษณะการละลายได้ดีในกรดแก่หรือด่างแก่ได้เป็น 3 ชนิด คือ

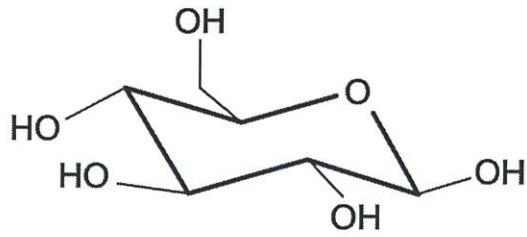
- แอลฟา-เซลลูโลส (α-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ไม่สามารถละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นที่อุณหภูมิห้อง

- เบต้า -เซลลูโลส (β-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น แต่สามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด

- แกมมา-เซลลูโลส (γ-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นที่อุณหภูมิห้อง และละลายได้ในสารละลายกรด แต่สามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์

เมื่อเซลลูโลสถูกย่อยจะสลายตัวเป็นน้ำตาลกลูโคส เพราะลักษณะโครงสร้างโมเลกุลโดยทั่วไปเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส 1,000 ถึง 10,000 โมเลกุล มีหน่วยย่อยพื้นฐาน คือ เซลโลไบโอส ประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (β-(1,4)-) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 ของกลูโคสกับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 ของกลูโคสโมเลกุลถัดไป โดยรูปแบบการจัดเรียงตัวของหน่วยดี-กลูโคส (D-glucose) มีลักษณะเป็นรูปเก้าอี้ (Chair form) ในแต่ละโมเลกุลของสายเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group, -OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวน (Ring) ของโมเลกุลถัดไป และเชื่อมต่อระหว่างสายเซลลูโลสที่ขนานกันด้วยพันธะ

ไฮโดรเจนระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลดี-กลูโคส (D-glucose) อีกสายหนึ่ง [9]



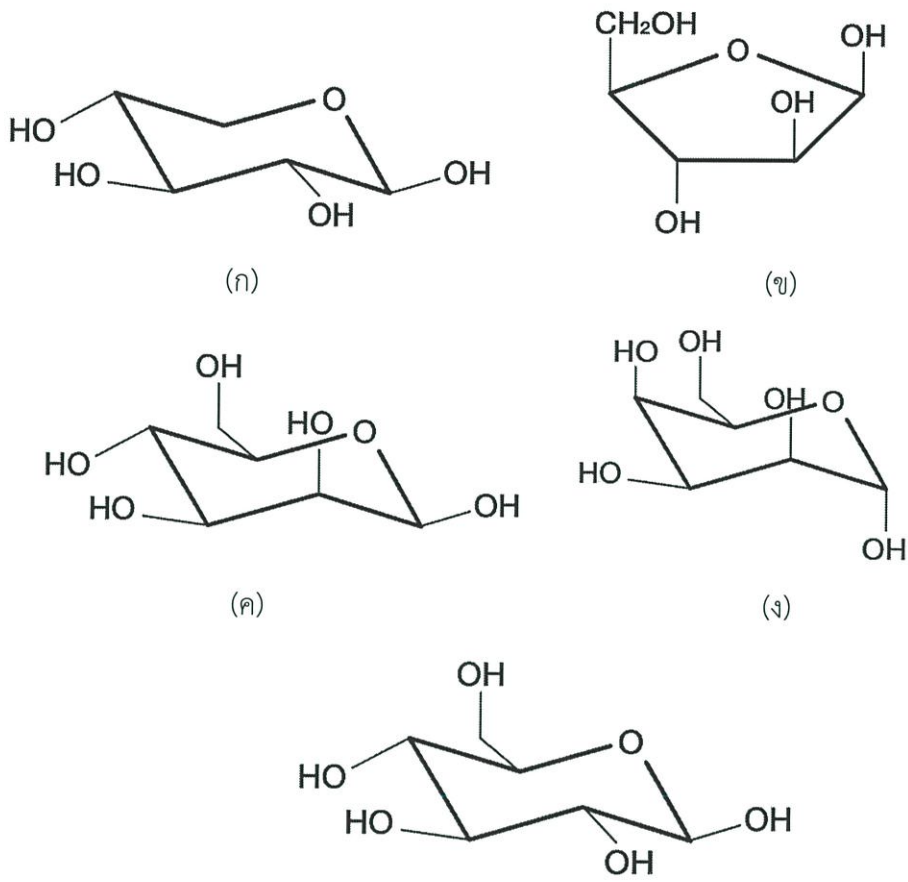
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส

2.1.2.2 **เฮมิเซลลูโลส**

เฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสที่พบมากรองจากเซลลูโลสมักรวมตัวอยู่กับลิกนิน สามารถแยกออกจากเนื้อเยื่อพืชได้ง่ายย่อยสลายด้วยสารละลายกรดเจือจางที่อุณหภูมิสูงและสามารถละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น โดยเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโทส (Pentose) ที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่คือ ดีไซแลน (D-xylan) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส (Xylose) หลายโมเลกุลต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (β-(1,4)-) ซึ่งสายพอลิเมอร์เป็นเฮทเทอโรจีนัส (Heterogeneous) ที่ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์หลายชนิดรวมกันตามตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส

ชนิดของเฮมิเซลลูโลส	องค์ประกอบ	ย่อยสลายจะได้
เพนโตแซน (Pentosan)	- ไซลาน (Xylan) - อะราบิแนน (Arabainan)	- ไซโลส (Xylose) - อะราบิโนส (Arabinose)
เฮกโซแซน (Hexoxan)	- แมนแนน (Mannan) - กาแล็กแทน (Galactan) - กลูแคน (Glucan)	- แมนโนส (Mannose) - กาแล็กโตส (Galactose) - กลูโคส (Glucose)
พอลิยูโรไนด์ (Ployuronides)	- กรดพอลิยูโรนิค (Polyurinic acid) - กรดยูโรนิค (Uronic acid)	

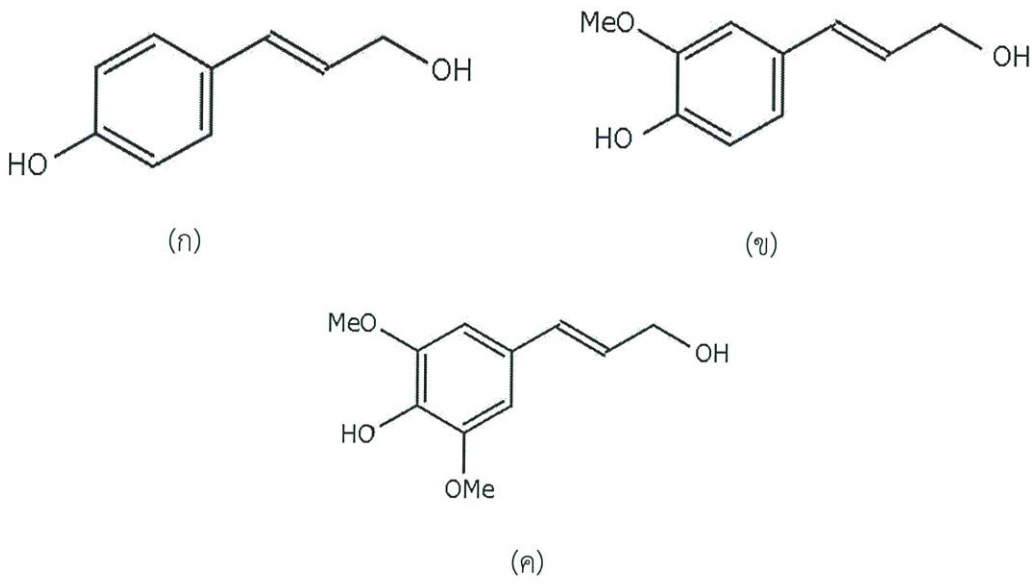


รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (ก) ไซโลส (ข) อะราบิโนส (ค) แมนโนส (ง) กาแล็กโตส (จ) กลูโคส [10]

2.1.2.3 ลิกนิน

ลิกนินเป็นองค์ประกอบที่สามารถพบได้ในส่วนผนังเซลล์ชั้นที่สอง และ Middle lamella ของพืชชั้นสูง โดยโมเลกุลของลิกนินจะแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่าง Cellulose fibrils และสายของเฮมิเซลลูโลส ทำหน้าที่ในการเสริมสร้างความแข็งแรงโดยการเชื่อมเส้นใยผนังเซลล์ไว้ด้วยกัน ช่วยลดการผ่านเข้าออกของน้ำที่ผ่านผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อไซเลม (Xylem) ช่วยต้านทานการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ โดยในพืชอ่อนจะมีลิกนินเพียงเล็กน้อยและจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อพืชเจริญเติบโต ซึ่งลักษณะโครงสร้างโมเลกุลโดยทั่วไปของลิกนินประกอบด้วยพอลิเมอร์ของสารประกอบอะโรมาติก (Aromatic compound) ที่มีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน รวมกันเป็นหน่วยย่อยเรียกว่า ฟีนอลิกพอลิเมอร์ (Phenolic polymer) ซึ่งหน่วยย่อยของโครงสร้างนี้คือ ฟีนิลโพรเพน (Phenylpropane unit) มีลักษณะเป็นมอนอเมอร์ (Monomer) ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ C-O-C หรือ C-C ต่อกันเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ที่ตำแหน่งแอลฟาและเบต้าของโมเลกุลลิกนิน จะเกิดการเชื่อมกันระหว่างโมเลกุลหรือคาร์บอนในหน่วยฟีนอลเกิดพันธะกับคาร์บอนในอีกหน่วยหนึ่งภายในสายพอลิเมอร์ที่ประกอบกันเป็นโมเลกุลลิกนิน ทำให้ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรง ไม่มีสมบัติการยืดหยุ่นและไม่ละลายน้ำ จึงเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลายเซลลูโลสในการผลิตน้ำตาล แต่ลิกนิน

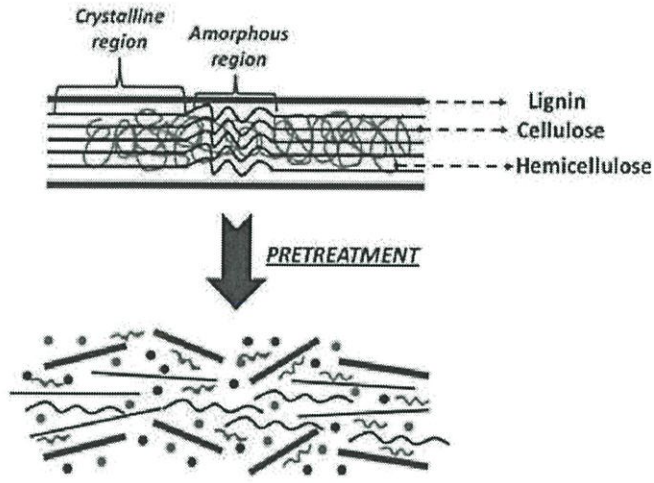
สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น เอทานอล เมทานอลที่ร้อน และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ [9]



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของลิกนิน (ก) *p*-coumaryl alcohol (ข) Coniferyl alcohol และ (ค) Sinapyl alcohol

2.2 การปรับสภาพวัตถุดิบเบื้องต้น (Pretreatment)

การปรับสภาพวัตถุดิบเป็นขั้นตอนแรกก่อนนำสารตั้งต้นไปใช้ในขั้นตอนต่อไป ซึ่งในขั้นตอนนี้จะส่งผลต่อการย่อยสลายองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและแข็งแกร่ง วัตถุประสงค์เพื่อแยกลิกนินออก เนื่องจากลิกนินนั้นเป็นส่วนที่เชื่อมโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเข้าด้วยกันทำให้โครงสร้างแข็งแรง ซึ่งลิกนินจะแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างทั้งสองสาย และยังมีความต้านทานต่อจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้ามาทำปฏิกิริยากับพันธะในโครงสร้างได้ จึงส่งผลให้การย่อยสลายของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสลดลง และเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของวัตถุดิบและลดโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส (Crystalline) ซึ่งเมื่อทำการปรับสภาพแล้วจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับวัตถุดิบได้ง่ายขึ้น โดยกระบวนการการปรับสภาพวัตถุดิบนั้นแบ่งออกเป็น 4 วิธี คือ การปรับสภาพทางกายภาพ การปรับสภาพทางเคมี การปรับสภาพทางภายภาพร่วมกับเคมี และการปรับสภาพทางชีวภาพ



รูปที่ 2.5 การปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส [11]

2.2.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (Physical pretreatment)

ลดขนาดของอนุภาคด้วยการบด ตัด สับและหั่น (Mechanical comminution) ทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสลดลง และเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของวัตถุดิบ ส่วนพลังงานที่ใช้ในการทำการบดนั้นจะขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคในขั้นสุดท้ายที่ต้องการ โดยส่วนใหญ่แล้ววิธีการปรับสภาพทางกายภาพนิยมทำร่วมกับการปรับสภาพวิธีอื่น

2.2.2 การปรับสภาพทางเคมี (Chemical pretreatment)

ใช้สารละลายเคมีในการปรับสภาพวัตถุดิบ สามารถแบ่งได้ 4 แบบ คือ การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organosolv) การสกัดด้วยสารออกซิไดซิ่ง การใช้สารละลายกรด และการใช้สารละลายด่างในการเข้าทำปฏิกิริยา ซึ่งวิธีการใช้สารละลายกรดและสารละลายด่าง สามารถแบ่งย่อยได้เป็นการใช้สารละลายความเข้มข้นและเจือจาง โดยการใช้สารละลายกรดในการปรับสภาพจะทำให้เกิดการสลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากวัตถุดิบ เนื่องจากในสารละลายกรดนั้นเฮมิเซลลูโลสสามารถละลายได้ดีกว่าเซลลูโลสในกรณีที่เราต้องการให้ในวัตถุดิบเราเหลือเพียงเซลลูโลส ส่วนการใช้สารละลายด่างนั้น เพื่อการกำจัดลิกนินออกเป็นหลัก ซึ่งจะมีเฮมิเซลลูโลสสลายออกมาด้วยบางส่วน

2.2.3 การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (Physicochemical pretreatment)

การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับการปรับร่วมกับการใช้เคมี ซึ่งจะมีวิธีการต่างๆ ได้ดังนี้

2.2.3.1 การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)

วัตถุดิบที่เป็นสารชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพทางกายภาพแล้วจะถูกปรับต่อด้วยการใช้ไอน้ำอิ่มตัวที่ความดันสูง จากนั้นจะลดความดันลงมา โดยควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 160-260 องศาเซลเซียส ความดัน 0.69-4.83 เมกะปาสคาล ไว้ช่วงหนึ่ง ก่อนจะลดความดันให้เหลือเท่ากับความดันบรรยากาศ ทำให้เกิดการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของลิกนิน

เนื่องจากใช้อุณหภูมิสูงและเพิ่มศักยภาพในการย่อยเซลลูโลสอีกด้วย ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือ ระยะเวลา อุณหภูมิ และขนาดของชิ้นชีวมวล [12] มีข้อดีในการใช้พลังงานที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการปรับสภาพด้วยวิธีการบดเพียงอย่างเดียว แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างลิกนินที่ไม่สมบูรณ์และยังเกิดสารยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในการเข้าทำปฏิกิริยาอีกด้วย

2.2.3.2 การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX)

คล้ายกับการระเบิดด้วยน้ำ แต่วิธีการนี้จะทำให้ชีวมวลสัมผัสกับแอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูงในระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นลดความดันลง ซึ่งมีปัจจัยที่สำคัญคือ ภาระบรรทุกแอมโมเนีย ภาระบรรทุกน้ำ อุณหภูมิและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา โดยกระบวนการนี้สามารถเพิ่มอัตราการเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นน้ำตาลได้ แต่จะมีประสิทธิภาพต่ำเมื่อองค์ประกอบของวัตถุดิบมีลิกนินอยู่มากและยังมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการระเบิดด้วยไอน้ำ [12]

2.2.4 การปรับสภาพทางชีวภาพ (Biodegradation pretreatment)

การปรับสภาพด้วยวิธีนี้เป็นการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์มาใช้ในการย่อยสลายลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส เพื่อกำจัดโครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสและช่วยลดความเป็นผลึก ทำให้สามารสลายเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคสได้

2.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

การไฮโดรไลซิสเป็นการย่อยสลายพอลิเมอร์ของสารประกอบน้ำตาลหรือโมโนแซคคาไรด์ให้เล็กลง สามารถทำได้ 2 วิธีคือ การไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมีซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นไฮโดรไลซิสด้วยกรดและด่าง ในงานวิจัยส่วนมากนิยมใช้กรดในการไฮโดรไลซิสมากกว่า เนื่องจากทำได้ง่ายและใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาสั้น ส่วนการใช้ด่างในการไฮโดรไลซิสเป็นที่ยอมรับในการใช้กำจัดลิกนิกออก ช่วยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของลิกนินและเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยา [6] ส่วนวิธีที่สองคือการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ โดยเลือกใช้จุลินทรีย์เข้าทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เนื่องจากกากกาแฟเป็นสารประกอบลิกโนเซลลูโลสที่มีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบทำการย่อยสลายจะได้น้ำตาลออกมา เมื่อย่อยสลายเซลลูโลสอย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์คือกลูโคส เช่นเดียวกันกับเฮมิเซลลูโลสเมื่อย่อยสลายแล้วจะได้น้ำตาลหลายชนิดปนกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลส

2.3.1 การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ (Enzymatic hydrolysis)

ใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีกว่าการย่อยสลายด้วยกรด แต่การย่อยสลายด้วยวิธีนี้จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ เนื่องจากลิกนินมีความต้านทานการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ พื้นที่ผิวของวัตถุดิบรวมไปถึงความเป็นผลึกของเซลลูโลสอีกด้วย แต่จะมีต้นทุนที่ต่ำกว่าการย่อยที่ใช้กรดหรือด่าง เนื่องจากการย่อยสลายด้วยวิธีนี้ใช้ภาวะที่ไม่รุนแรงและอุณหภูมิไม่สูงมากนัก โดยประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส และไม่มีปัญหาเรื่องการกัดกร่อนอุปกรณ์

จากงานวิจัยของ พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์ [13] ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง ซึ่งในงานวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกคือการปรับสภาพด้วยสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ จากผลการทดลองพบว่าการแช่เหง้ามันสำปะหลังในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.0 โมลาร์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง ซึ่งจะได้ตะกอนเหง้ามันสำปะหลังที่มีเซลลูโลสประกอบอยู่ร้อยละ 96.46 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 1.85 และลิกนินร้อยละ 1.69 โดยส่วนประกอบแรกเริ่มจะมีเซลลูโลสร้อยละ 82.14 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 11.41 และลิกนินร้อยละ 6.45 จากนั้นนำตะกอนเหง้ามันสำปะหลังย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูบริกซ์ โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อกรัมเซลลูโลสเท่ากับ 4.079 หน่วย FPU ต่อกรัมเหง้ามันสำปะหลัง ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.8 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าภาวะดังกล่าวเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 8.30 กรัมต่อลิตร และคิดเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 21.62 สุดท้ายจะนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มาเลี้ยงเชื้อ *Z. mobilis* TISTR 405 เพื่อผลิตเอทานอลต่อไป

2.3.2 การย่อยสลายด้วยสารเคมี (Chemical hydrolysis)

เป็นการย่อยสลายด้วยกรด จะไปทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจน ส่วนใหญ่การย่อยสลายแบบนี้ต้องการภาวะที่รุนแรง การย่อยสลายด้วยกรด (Acid Hydrolysis) แบ่งได้เป็น 2 กระบวนการคือ

1. การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบเอกพันธุ์ เป็นกระบวนการที่ใช้กรดแก่ เช่น กรดซัลฟูริกเข้มข้นหรือกรดไฮโดรคลอริก จะได้ผลิตภัณฑ์คือน้ำตาลกลูโคส แต่ข้อเสียคือต้องแยกกรดออกจากน้ำตาลก่อนนำไปใช้และการนำกรดกลับมาใช้ใหม่ (Recycle) ทำได้ยาก รวมทั้งปัญหาการสูญเสียกรดไปกับส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลายและการผุกร่อนของเครื่องจากการใช้กรดแก่
2. การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาแบบวิวิธพันธุ์ เป็นกระบวนการที่ใช้กรดอ่อน ใช้อุณหภูมิสูงกว่า 180 องศาเซลเซียส จะมีเซลลูโลสที่โครงสร้างเป็นเส้นใยอยู่ (Fiber structure) วิธีนี้ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่จะถูกทำให้เป็นกลางด้วยปูนขาวหรือแคลเซียมคาร์บอเนต

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

A.W. Go และคณะ [14] ได้ทำการศึกษาค้นคว้าหาแนวทางในการผลิตน้ำตาลจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสร้อยละ 3-5 โดยปริมาตร และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาตั้งแต่ 30 ถึง 180 นาที เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาในช่วง 30 ถึง 120 นาทีพบว่าปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดก่อนปริมาณจะลดลง เนื่องจากน้ำตาลสลายกลายเป็นผลิตภัณฑ์อื่น เช่น ฟูแรน และพิจารณาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกพบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาเนื่องจากกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นสูงเป็นผลทำให้เกิดการสลายตัวของน้ำตาล ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยความ

เข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 4 ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที ซึ่งจะได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดร้อยละ 31

P. Thongmitr และคณะ [15] ได้ทำการศึกษาเพิ่มผลผลิตของน้ำตาลจากชานอ้อย โดยการย่อยสลายด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำร่วมกับกรดอะซิติก ก่อนนำไปหมักเพื่อผลิตกรดเอทานอล โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อผลผลิตของน้ำตาล ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของกรดอะซิติก และระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิดด้วยไอน้ำ เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของกรดอะซิติก พบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิที่ 120 องศาเซลเซียส ร่วมกับความเข้มข้นของกรดอะซิติกร้อยละ 0-5 กรัมต่อปริมาตร เป็นเวลา 5 นาที จะได้ผลผลิตของน้ำตาลรวมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะซิติก เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส แต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย หลังจากนั้นพิจารณาระยะเวลาที่ใช้ในการระเบิดด้วยไอน้ำ เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำตาลรวมลดลง แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 180 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำตาลรวมที่ได้จะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าที่ภาวะอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ร่วมกับกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 5 นาที จะได้ผลผลิตน้ำตาลรวมเท่ากับ 16.91 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 24.91 ซึ่งผลการวิเคราะห์ผลผลิตน้ำตาลรวมมีปริมาณน้ำตาล 4 ประเภท คือ กลูโคส ไซโลส ฟรักโทส และซูโครส

S.H.A. Rahman และคณะ [16] ได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์ของไซโลสจากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้กรดซัลฟิวริก ด้วยการนำทะลายปาล์มเปล่ามาบดเพื่อลดขนาดลงเหลือ 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก โดยกำหนดปัจจัยที่ต้องการจะศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 2-6 โดยมวลและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 0 ถึง 90 นาที ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาพบว่าที่เวลา 20 นาทีแรก ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 6 โดยมวล จะมีปริมาณไซโลสมากที่สุด รองลงมาคือร้อยละ 4 โดยมวลและร้อยละ 2 โดยมวล ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณไซโลสที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยมวลและ 6 โดยมวล จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดเท่ากับ 30.7 และ 30.27 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วปริมาณไซโลสจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งระยะเวลา 120 นาที พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 2 โดยมวล ได้ปริมาณไซโลสสูงสุดเท่ากับ 31.1 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 2 4 และ 6 โดยมวล ได้ปริมาณกลูโคสเท่ากับ 1.8 3.2 และ 4.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ทำการศึกษาพบว่าภาวะที่เหมาะสมเพื่อผลิตน้ำตาลไซโลส คือที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 6 โดยมวล ทำปฏิกิริยาเป็นระยะเวลา 15 นาที ได้กลูโคสและไซโลสร้อยละ 29.4 และ 2.34 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่จะมีผลิตภัณฑ์พลอยได้เกิดขึ้น ได้แก่ เฟอร์ฟูรัล และกรดอะซิติก

I.C. Roberto และคณะ [17] ได้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเจือจาง เพื่อผลิตไซโลสจากฟางข้าวในเครื่องปฏิกรณ์สำหรับการทดลอง โดยปัจจัยที่ต้องการศึกษา คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1.0-1.6 โดยมวลต่อปริมาตร และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 10 ถึง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกและระยะเวลาปฏิกิริยาที่เพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณกลูโคสและไซโลสจะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งได้กลูโลส

และไซโลสความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 6.3 และ 20.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ภายใต้ภาวะความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1.6 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตรและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 27 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา ซึ่งได้ร้อยละของไซโลสเท่ากับ 77

X. Liu และคณะ [18] ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์แบบจำลองจลน์ศาสตร์ของผลิตภัณฑ์ไซโลสจากซางข้าวฟ่างหวานด้วยตัวเร่งกรดซัลฟิวริกเจือจาง โดยศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิตั้งแต่ 110 ถึง 150 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 0 ถึง 120 นาที จากการทดลองเมื่อพิจารณาการเพิ่มอุณหภูมิที่ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาต่างๆ พบว่าปริมาณไซโลสจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดแล้วจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณไซโลสที่หายไปนั้นจะสลายกลายเป็นผลิตภัณฑ์อื่น เช่น เฟอร์ฟูรัล เมื่อใช้อุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยานาน ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าภาวะที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 50 นาที จะได้ร้อยละผลผลิตของไซโลสเท่ากับ 60 โดยมวล

Ansanay, Y. O และคณะ [19] ได้ทำการศึกษาการปรับสภาพและการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดกรดซัลโฟนิก โดยปัจจัยที่ต้องการจะศึกษาคือ ชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดกรดซัลโฟนิก อุณหภูมิตั้งแต่ 30-90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 90 และ 120 นาที โดยใช้หญ้าสวิตช์แกรสเป็นสารตั้งต้น เมื่อพิจารณาผลของการเพิ่มอุณหภูมิพบว่าที่ในขณะที่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาจะส่งผลต่อปริมาณกลูโคสที่ได้เพิ่มมากขึ้น จะได้ร้อยละกลูโคสที่ได้หลังการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสอยู่ระหว่าง 31.5 และ 61.5 โดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบภาวะในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในการผลิตน้ำตาล

สารตั้งต้น	ชนิดตัวเร่งปฏิกิริยา	ความเข้มข้นของตัวเร่ง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ผลิตภัณฑ์	ร้อยละผลผลิต	อ้างอิง
กากกาแฟ	ซัลฟิวริก	4	95	120	น้ำตาล	31.00	[14]
ชานอ้อย	อะซิติก	4	180	5	น้ำตาล	24.91	[15]
ทะลายปาล์มเปล่า	ซัลฟิวริก	6	120	15	กลูโคส ไซโลส	29.40 2.34	[16]
ฟางข้าว	ซัลฟิวริก	1	121	27	ไซโลส	77.00	[17]
ซางข้าวฟ่างหวาน	ซัลฟิวริก	3	140	50	ไซโลส	60.00	[18]
หญ้าสวิตช์แกรส	p-TSA	n.d.	90	120	กลูโคส	61.5	[19]

จากการศึกษางานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดของของเหลือทางการเกษตรในการผลิตน้ำตาล พบว่าส่วนใหญ่ใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ปริมาณผลผลิตของน้ำตาลร้อยละ 77 แต่เนื่องจากเมื่อคำนึงถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและการกัดกร่อนของกรดชนิดนี้ จึงได้ศึกษาเพิ่มเติมในการเลือกใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาตัวอื่นในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยในงานวิจัยของ Ananda S. [20] เมื่อใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกและกรดซัลฟิวริกในการปรับสภาพให้กลายเป็นน้ำตาลของซังข้าวโพดพบว่ากรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ดีกว่ากรดซัลฟิวริกสำหรับการแตกตัวครั้งแรกเป็นไฮโดรเนียมไอออนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ดังนั้นในปริญญานิพนธ์นี้จึงเลือกใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

-

บทที่ 3

การดำเนินงาน

ปริญญานิพนธ์นี้ศึกษาการสังเคราะห์น้ำตาลกลูโคสและไซโลสด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลส ซึ่งปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ซึ่งก่อนการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกากกาแฟจะนำไปลดขนาดและปรับสภาพด้วยสารละลายเบสก่อน

3.1 การเตรียมกากกาแฟก่อนนำไปใช้ทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. ตู้อบสาร
2. เครื่องปั่นอาหารแบบโถแห้ง
3. ชุดตะแกรงร่อนคัดขนาด (Sizing classification) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 150 425 และ 600 ไมโครเมตร
4. บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. เครื่องให้ความร้อน
6. ตู้ดูดควัน
7. กระดาษกรอง
8. กรวยบุชเนอร์
9. ปั๊มสุญญากาศ
10. กล่องบรรจุซิลิกาเจล

สารเคมี

1. กากกาแฟ
2. อะซิโตนบริสุทธิ์
3. น้ำกลั่น

3.1.1 การลดขนาดและคัดขนาด

1. นำกากกาแฟไปอบไล่ความชื้น เพื่อป้องกันการเน่าเสียที่เกิดจากการเจริญเติบโตของเชื้อราในตู้อบสารที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้อง
2. ลดขนาดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ชนิดโถแห้ง และคัดขนาดด้วยชุดตะแกรงร่อน
3. คัดขนาดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 150 425 และ 600 ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยเลือกใช้ขนาดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 125-150 ไมโครเมตร

3.1.2 การสกัดด้วยอะซิโตน (Acetone extraction)

1. การสกัดกากกาแฟด้วยอะซิโตน เพื่อกำจัดสารไม่มีขั้วที่อยู่ในกากกาแฟที่ได้จาก ข้อ 3.1.1 มาสกัดด้วย โดยเติมอะซิโตนลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ท่วมกากกาแฟแล้ววางบนอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง
2. จากนั้นนำไปกรองแยกด้วยชุดกรองสุญญากาศ ซึ่งประกอบไปด้วยกระดาษกรอง กรวยบุชเนอร์และปั๊มสุญญากาศแล้วเกลี่ยกากกาแฟใส่ถาดตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อระเหยอะซิโตน
3. นำกากกาแฟอบในตู้อบสารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อระเหยอะซิโตนที่เหลือจนหมด

3.1.3 การสกัดด้วยน้ำร้อน (Hot-water extraction)

1. การสกัดด้วยน้ำร้อน เพื่อกำจัดสารมีขั้วที่อยู่ในกากกาแฟ โดยเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร
2. ต้มด้วยอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิจนได้ 60 องศาเซลเซียส
3. นำกากกาแฟที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนจากข้อที่ 3.1.2 สกัดด้วยน้ำร้อน ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส ใช้แท่งแก้วคนให้กระจายตัว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. ปิดเครื่องให้ความร้อน ปล่อยให้เย็นตัวจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำไปกรองแยกด้วยชุดกรองสุญญากาศ
5. อบกากกาแฟที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นตัวลงและบรรจุในกล่องซิลิกาเจลเพื่อดูดซับความชื้น

3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ

วัสดุและอุปกรณ์

1. ตู้อบสาร
2. กล่องบรรจุซิลิกาเจล
3. แท่งแก้ว
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
5. ปิเปต ขนาด 2 และ 10 มิลลิลิตร
6. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
7. ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
8. อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (Sonicated bath)
9. หม้อต้มความดันสูง (Autoclave)
10. กรวยกรองบุชเนอร์
11. ปั๊มสุญญากาศ
12. กระดาษกรอง
13. ถุงมือกันความร้อน

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้นร้อยละ 98 โดยน้ำหนัก
2. น้ำกลั่น

ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน

การวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน เป็นไปตามมาตรฐาน TAPPI T222-om-98 (รายละเอียดตามภาคผนวก ง.) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งกากกาแฟที่ได้จากข้อ 3.1.3 อย่างละ 0.2 กรัม
2. เตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก ใช้ปริมาตรกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 98 โดยน้ำหนัก 66 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วใช้น้ำกลั่นในการปรับปริมาตร ขณะเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นควรทำในอ่างที่มีน้ำแข็ง เนื่องจากจะเกิดความร้อนจากการผสมขึ้นสูงมาก
3. นำกากกาแฟที่ได้จากข้อที่ 2 ใส่ลงในบีกเกอร์ แล้วปิเปตกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ก่อนวางบีกเกอร์ในอ่างส่งคลื่นความถี่สูงเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง ตวงน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร แล้วเทบางส่วนลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารตัวอย่างเพื่อหยุดปฏิกิริยา

5. ถ่ายสารตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นที่เหลือล้างบีกเกอร์หลายๆ ครั้ง จากนั้นเทใส่บีกเกอร์ด้วยความระมัดระวังแล้วปิดปากแก้วด้วยฟอยล์ก่อนมัดขอบปากแก้วด้วยหนังยาง
6. นำบีกเกอร์ที่บรรจุสารตัวอย่างไปให้ความร้อนในหม้อต้มความดันสูงควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
7. เมื่อครบ 1 ชั่วโมง ปล่อยให้หม้อต้มความดันสูงลดอุณหภูมิลงก่อนเปิดฝาหม้อต้ม จากนั้นกรองของผสมที่ได้จากข้อที่ 7 ด้วยชุดกรองสุญญากาศ แยกส่วนที่เป็นผลิตภัณฑ์ของเหลวจากอนุภาคของแข็ง
8. อบกระดาษกรองที่มีอนุภาคของแข็งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นตัวลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วบรรจุลงกล่องซิลิกาเจล เพื่อดูดซับความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักอนุภาคของแข็งที่เหลืออยู่ เพื่อคำนวณหาปริมาณเคลซอนลิกนินในกากกาแฟ
9. นำของเหลวที่กรองได้มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ

3.3 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยเคมี

วัสดุและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร
2. ขวดเก็บสารตัวอย่าง ขนาด 20 มิลลิลิตร
3. อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (Sonicated bath)

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
2. กากกาแฟ

ขั้นตอนการปรับสภาพ

1. ผสมกากกาแฟกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามความเข้มข้นที่ต้องการศึกษา (ตารางที่ 3.1) ด้วยอัตราส่วนของกากกาแฟต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1 ต่อ 20 มวลต่อมิลลิลิตรใส่ขวดเก็บสารตัวอย่าง
2. วางขวดเก็บสารตัวอย่างในอ่างส่งคลื่นความถี่สูง จับเวลาตามที่ต้องการศึกษา (ตารางที่ 3.1)
3. เก็บสารตัวอย่างแยกส่วนของแข็งกับของเหลวไฮโดรไลเซท โดยของเหลวเก็บในขวดเก็บสารตัวอย่าง ส่วนของแข็งนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปทำการทดลองต่อ

ตารางที่ 3.1 ภาวะตัวแปรที่ต้องการศึกษาสำหรับการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยเคมี

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ต้องการศึกษา
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยกรัมต่อปริมาตร)	1.0 1.5 2.0
ระยะเวลาในการปรับสภาพ (นาที)	60 90 120

3.4 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

วัสดุและอุปกรณ์

1. ขวดก้นกลมพร้อมข้อต่อ ขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร
2. เวสต์คอนเดนเซอร์ (West condenser)
3. ปั๊มขนาดเล็ก
4. ขาตั้งและแคลมป์จับ
5. ช้อนตักสาร
6. แท่งแก้ว
7. แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
8. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
9. ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร
10. สายยาง
11. บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
12. อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ (Oil bath)

สารเคมี

1. กากกาแฟ
2. ตัวเร่งปฏิกิริยากรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก
3. น้ำกลั่น

ขั้นตอนการไฮโดรไลซิส

1. เปิดอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิที่ต้องการศึกษา
2. ประกอบอุปกรณ์การทดลองโดยนำสายยางต่อเข้าที่ด้านล่างของเวสต์คอนเดนเซอร์กับด้านบนของปั๊มขนาดเล็กที่อยู่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร บรรจุน้ำปริมาณ 350-400 มิลลิลิตร ส่วนสายยางอีกเส้นหนึ่งต่อเข้าด้านบนของเวสต์คอนเดนเซอร์กับด้านข้างของปั๊มขนาดเล็กตัวเดิม

3. ผสมกากกาแฟกับตัวเร่งปฏิกิริยาพาราโทลูอีนซัลโฟนิกในอัตราส่วน 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตรลงในขวดก้นกลมพร้อมทั้งใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารลงในขวดประกอบอุปกรณ์การทดลองในข้อที่ 2 กับขวดก้นกลมโดยยึดด้วยแคลมป์จับและชุดขาตั้ง จากนั้นวางขวดก้นกลมลงในอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ
4. จับเวลาตามเวลาที่ต้องการศึกษา (ตารางที่ 3.2) หลังจากวางขวดก้นกลมลงในอ่างควบคุมอุณหภูมิทันที ทิ้งไว้สักพักก่อนปิดฝาด้านบน (Reflux) เพื่อป้องกันการกระเด็นของแท่งแม่เหล็ก
5. ปรับลดค่าอุณหภูมิที่ตั้งไว้ของอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิจนเหลือศูนย์และหยุดการหมุนกวนสาร เก็บสารละลายตัวอย่างในขวดเก็บสารตัวอย่าง

ตารางที่ 3.2 ภาวะตัวแปรที่ต้องการศึกษาสำหรับการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟ

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ต้องการศึกษา
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	70 100
ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา (ร้อยละโดยปริมาตร)	3.0 4.0 5.0
เวลา (นาที)	90 120 150

3.5 การวิเคราะห์สารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์

โดยทั่วไปการวัดปริมาณองค์ประกอบของสารตั้งต้นและปริมาณสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ซึ่งใช้ชนิดของคอลัมน์และภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ภาวการณ์วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์กลูโคสและไซโลสด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

อุปกรณ์	ภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถสูง
ชนิดของคอลัมน์	Phenomenex Rezex RHM-Monosaccharide H+(8%) ขนาด 300 x 7.8 มิลลิเมตร
วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase)	น้ำปราศจากไอออน อัตราการไหล 0.7 ต่อนาที
การตรวจวัด	ตรวจจับสัญญาณความแตกต่างของดัชนีหักเหแสงระหว่างสารตัวอย่างกับวัฏภาคเคลื่อนที่
อุณหภูมิคอลัมน์	80 องศาเซลเซียส

วัสดุและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร
2. ขวดเก็บสารตัวอย่าง ขนาด 20 มิลลิลิตร
3. ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
5. ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร
6. ปิเปตทิป
7. ตัวกรองหลอดฉีดสาร
8. กระบอกฉีดสาร
9. หลอดหยด
10. แท่งแก้ว
11. ช้อนตักสาร
12. กระดาษกรอง ขนาด 110 มิลลิเมตร
13. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

สารเคมี

1. สารละลายไซโลสมาตรฐาน
2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
3. ตัวอย่างกากกาแฟที่ผ่านการไฮโดรไลซ์
4. น้ำปราศจากไอออน

ขั้นตอนการปฏิบัติของวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1. เปิดเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและเครื่องคอมพิวเตอร์เข้าโปรแกรม YL-Clarity ซึ่งเป็นโปรแกรมควบคุมของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
2. ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยหลอดฉีดสารผ่านตัวกรอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ ทำความสะอาดเข็มฉีดด้วยการดูดสารละลายตัวอย่างแล้วฉีดทิ้งจำนวน 2-3 ครั้ง จากนั้นใช้เข็มฉีดขนาดเล็กดูดสารละลายตัวอย่างปริมาณ 10 ไมโครลิตร
3. ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าที่แป้นฉีด สับแป้นฉีดลง กดปุ่มแดง นับเวลาประมาณ 10 วินาที จากนั้นสับแป้นฉีดขึ้น แล้วนำเข็มฉีดออกจากแป้นฉีด
4. หน้าจอคอมพิวเตอร์จะแสดงผลเป็นโครมาโทรแกรม แสดงพีคพร้อมทั้งพื้นที่พีคของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์หาได้จากการเทียบกับกราฟสอบเทียบมาตรฐาน (Calibration curve) ของสารดังกล่าว คำนวณร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟมวล และผลผลิตไซโลส ตามสมการ

$$\%\text{Yield} = \frac{C_{product} \times V}{W_{substrate}} \times 100 \qquad (3.1)$$

โดย

$C_{product}$ คือ ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$W_{substrate}$ คือ ปริมาณของสารตั้งต้นที่ใช้ทำการทดลอง (กรัม)

V คือ ปริมาตรของสารละลายก่อนการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{\text{Sugar yield}}{\text{Sugar content}} \times 100 \qquad (3.2)$$

โดย

Sugar yield คือ ร้อยละผลผลิตของน้ำตาลที่ได้ต่อน้ำหนักกากกาแฟ

Sugar content คือ ปริมาณร้อยละน้ำตาลในสารตั้งต้นก่อนทำปฏิกิริยา

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานและการวิเคราะห์ผล

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ

การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของกากกาแฟตั้งต้นนั้นทำด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน เพื่อศึกษาปริมาณองค์ประกอบของกากกาแฟตั้งต้นที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตน และการสกัดด้วยน้ำร้อน แสดงดังตาราง 4.1 การสกัดอะซิโตน เพื่อกำจัดสารประกอบไม่มีขั้วและการสกัดด้วยน้ำร้อนเพื่อกำจัดสารประกอบที่มีขั้วออก ในทางทฤษฎีองค์ประกอบรวมของกากกาแฟตั้งต้นควรมีค่าเท่ากับร้อยละ 100 ซึ่งจากการทดลองขององค์ประกอบรวมของกากกาแฟ มีค่าไม่เท่ากับร้อยละ 100 เนื่องจากอาจมีองค์ประกอบอื่น ที่นอกเหนือจากเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

ตารางที่ 4.1 ร้อยละองค์ประกอบทางเคมีในกากกาแฟตั้งต้นที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและผ่านการสกัดด้วยน้ำร้อน

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ
เซลลูโลส	13.91
เฮมิเซลลูโลส	12.74
ลิกนิน	45.88

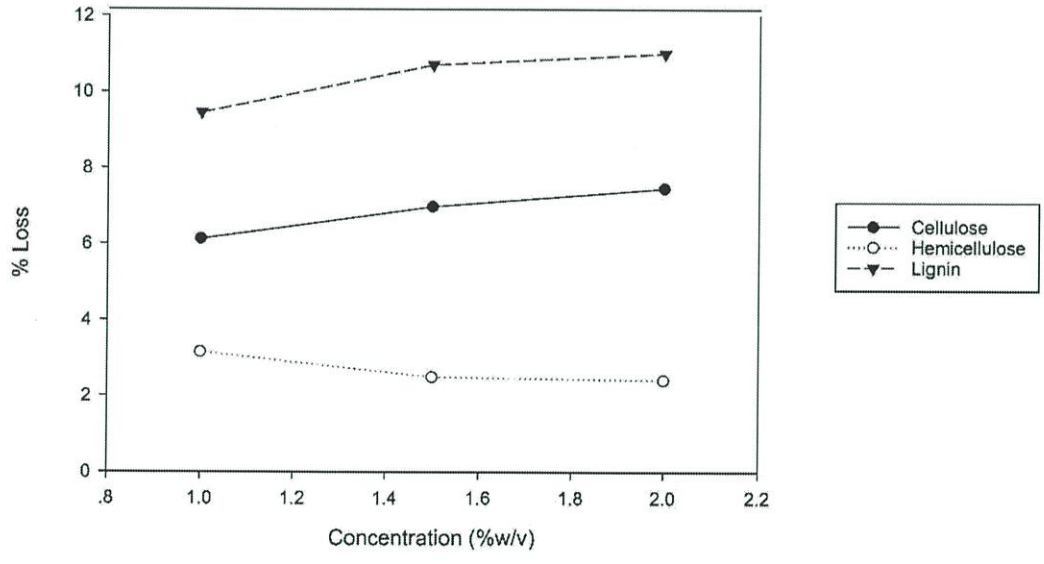
จากผลการทดลองในตาราง 4.1 จะเห็นว่ากากกาแฟจะมีร้อยละองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งคิดเป็นปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 13.91 และเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 12.74 ตามลำดับ ซึ่งทั้งสององค์ประกอบนี้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารเคมีอื่นได้ จากนั้นทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลส

4.2 การปรับสภาพของกากกาแฟ

จากการศึกษาการปรับสภาพของกากกาแฟด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งปัจจัยที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และระยะเวลาในการปรับสภาพวัตถุดิบ โดยกำหนดอัตราส่วนของกากกาแฟต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1 ต่อ 20 มวลต่อมิลลิลิตร ซึ่งในการทดลองจะทำ การเปลี่ยนแปลงปัจจัยที่ต้องการ และกำหนดปัจจัยอื่นคงที่

4.2.1. อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบ ซึ่งมีผลต่อปริมาณร้อยละของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน กำหนดความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งใช้ความเข้มข้นเบสเจือจางเพื่อคงปริมาณเฮมิเซลลูโลสเหลือในองค์ประกอบหลังจากการปรับสภาพวัตถุดิบ เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยไซโลสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ต้องการ เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ดังผลการทดลองที่แสดงในรูป 4.1 เมื่อพิจารณาร้อยละลิกนินหลังจากผ่านการปรับสภาพ พบว่ามีลิกนินที่ถูกกำจัดไปประมาณร้อยละ 10 และปริมาณของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสยังคงอยู่ในโครงสร้าง (ร้อยละการถูกกำจัดน้อย) ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตร เปรียบเทียบกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าปริมาณร้อยละของเซลลูโลส ร้อยละเฮมิเซลลูโลสไม่ต่างกันมาก เมื่อพิจารณาทั้งสองความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตรเหมาะสำหรับการปรับสภาพก่อนนำกากกาแฟตั้งต้นไปทำปฏิกิริยาต่อ จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตรก่อนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

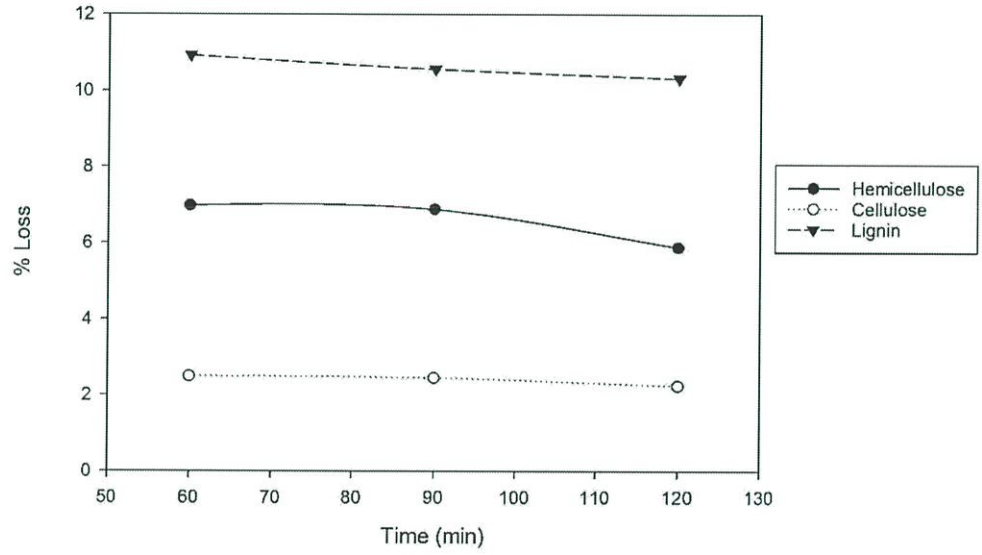


รูปที่ 4.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากกาแฟที่มีผลต่อปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในกากกาแฟตั้งต้นในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร และระยะเวลาในปรับสภาพ 60 นาที

4.2.2. ระยะเวลาในการปรับสภาพวัตถุดิบ

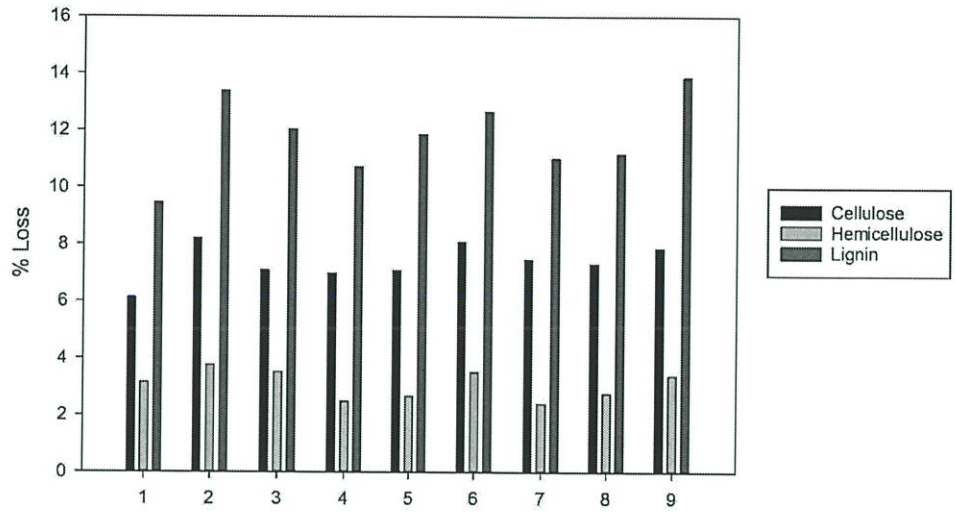
ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการปรับสภาพวัตถุดิบที่ 60 90 และ 120 นาที เนื่องจากผลงานวิจัยของ Go, A. W. และคณะ [15] ได้ศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยเบสในอ่างส่งความถี่สูง

และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ในการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเมื่อปรับสภาพสารชีวมวลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยใช้อ่างส่งคลื่นความถี่สูงในระยะเวลาดังกล่าว ซึ่งที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 2 โดนมวลต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 90 นาที ได้ปริมาณของผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดร้อยละ 36.21 โดยมวล และลิกนินในสารชีวมวลหลังจากผ่านการปรับสภาพพบว่ามีปริมาณลดลง จึงเลือกพิจารณาระยะเวลาดังกล่าวในการปรับสภาพกากกาแฟหลังจากผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและการสกัดน้ำร้อนแล้ว พบว่าเวลาในการปรับสภาพไม่มีนัยสำคัญต่อความแตกต่างของปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่หายไปหลังจากผ่านการปรับสภาพ ดังแสดงในรูป 4.2 จึงเลือกระยะเวลา 60 นาที ในการปรับสภาพกากกาแฟ



รูปที่ 4.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากกาแฟที่มีผลต่อปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในกากกาแฟหลังจากผ่านการสกัดในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 60 ถึง 120 นาที

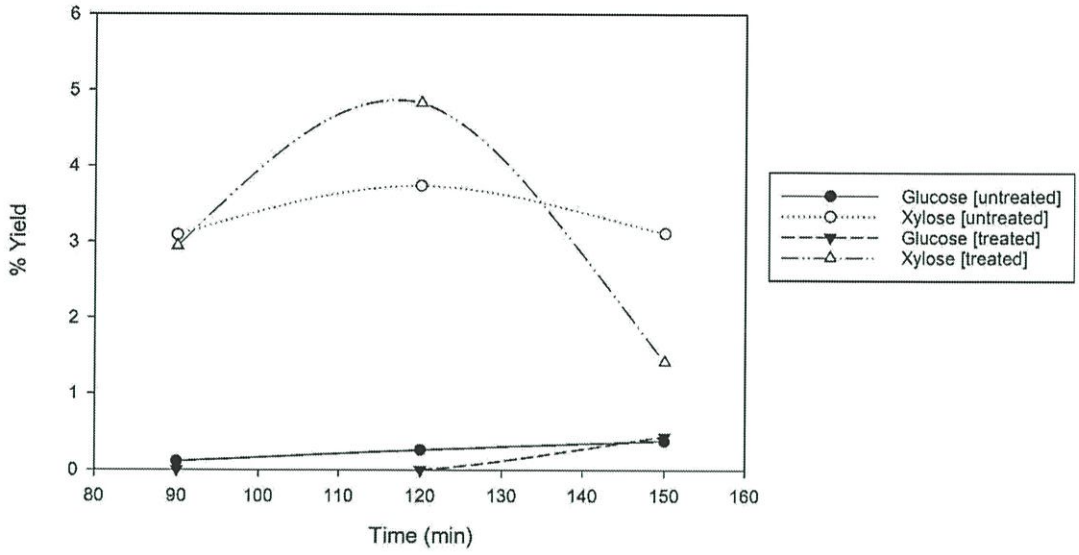
จากผลการทดลองการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และระยะเวลาในการปรับสภาพ เพื่อกำจัดลิกนินซึ่งเป็นส่วนที่ยับยั้งการเข้าทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ในที่นี้เราได้ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 โดยมวลต่อปริมาตรและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา 60 ถึง 120 นาที ซึ่งแบ่งเป็นช่วงเวลาละ 30 นาที วิเคราะห์ผลด้วยวิธีการเคลซอนลิกนิน เพื่อหาองค์ประกอบในกากกาแฟที่เหลืออยู่หลังจากการปรับสภาพ ดังแสดงในรูป 4.3 ซึ่งพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.5 โดยมวลต่อปริมาตร เป็นเวลา 60 นาที พบว่าเหลือปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินร้อยละ 6.93 10.25 และ 35.16 โดยมวลตามลำดับ



รูปที่ 4.3 ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่เหลือในกากกาแฟตัวอย่างของแต่ละอิทธิพลที่ศึกษา โดย (1) 1.0% NaOH, 60 นาที (2) 1.0% NaOH, 90 นาที (3) 1.0% NaOH, 120 นาที (4) 1.5% NaOH, 60 นาที (5) 1.5% NaOH, 90 นาที (6) 1.5% NaOH, 120 นาที (7) 2.0% NaOH, 60 นาที (8) 2.0% NaOH, 90 นาที และ (9) 2.0% NaOH, 120 นาที

4.3 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดของกากกาแฟ

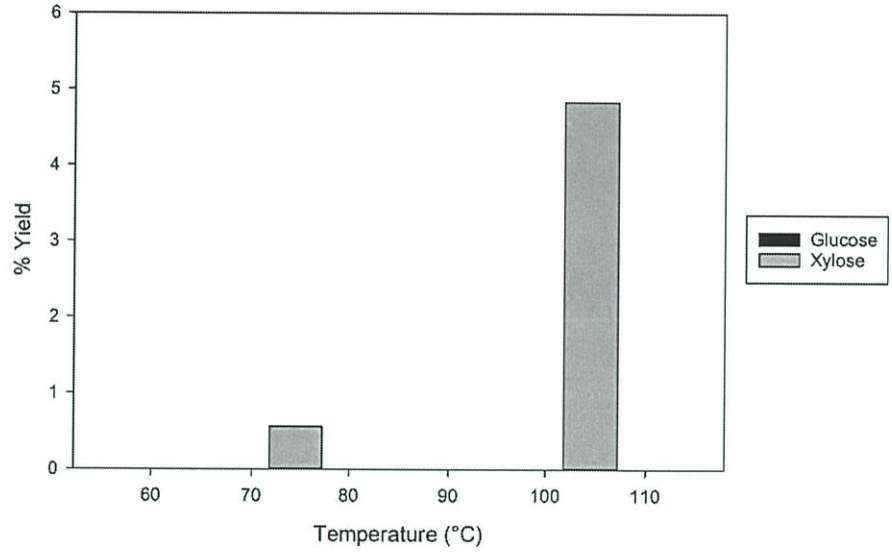
การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกของกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบแล้ว ซึ่งอ้างอิงจากงานวิจัย A.W. Go และคณะ [14] ในการกำหนดตัวแปรที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เมื่อพิจารณาผลการทดลองของกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วกับกากกาแฟที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ ที่ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที พบว่าปริมาณร้อยละของกลูโคสในกากกาแฟมีค่าไม่แตกต่างกันมากทั้งสองการทดลอง แต่ปริมาณร้อยละของไซโลสในกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว จะได้ปริมาณของไซโลสมากกว่ากากกาแฟที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพ แสดงในรูป 4.4 แต่ที่เวลาเพิ่มมากขึ้นจาก 120 นาทีเป็น 150 นาทีนั้นปริมาณไซโลสมีค่าลดลงเนื่องจากอาจกลายเป็นสารผลิตภัณฑ์ตัวอื่น ในการศึกษานี้จึงเลือกกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบแล้วในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่อไป



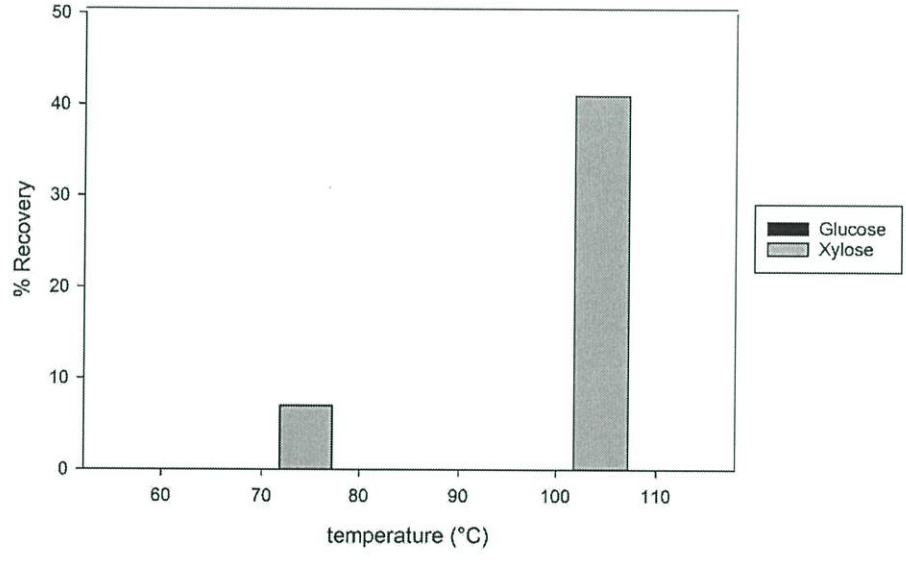
รูปที่ 4.4 ร้อยละของกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับกากกาแฟที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ ที่ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร

4.3.1. อิทธิพลของอุณหภูมิ

การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ 70 และ 100 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 นาที ได้ร้อยละผลผลิตของไซโลสเท่ากับ 0.56 โดยมวล แต่ไม่มีกลูโคสเกิดขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 100 องศาเซลเซียส ได้ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 4.83 โดยมวล แต่ไม่เกิดกลูโคสเช่นกัน ซึ่งจากผลการทดลองเมื่อทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูงจะได้ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำนั้นน้ำยังมีการแตกตัวเป็นไฮดรอกเซียมไอออนเพียงเล็กน้อย ทำให้มีความสามารถในการทำลายพันธะในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสไม่ดีพอ ดังแสดงในรูป 4.5 ซึ่งในการทำปริญญานิพนธ์นี้เลือกทำปฏิกิริยาที่ 100 องศาเซลเซียส เพื่อหาร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟที่เหมาะสม



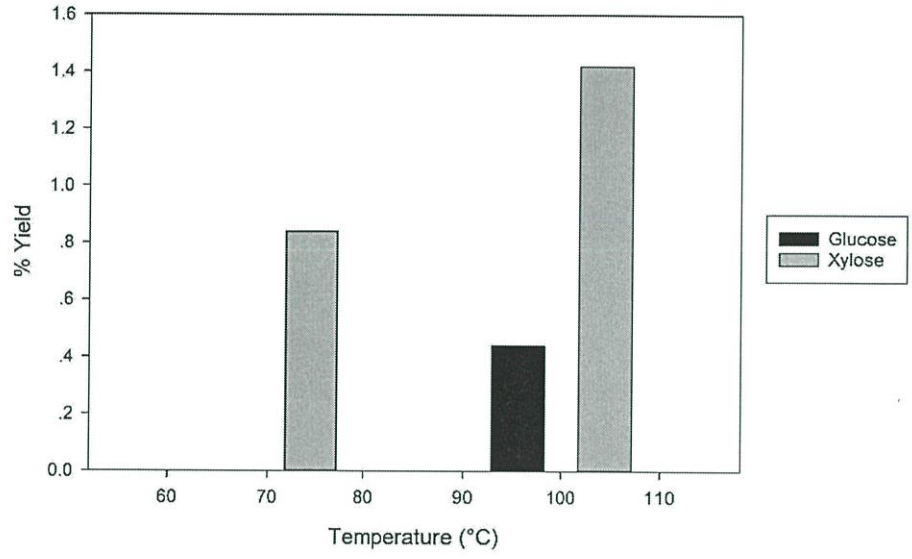
(ก)



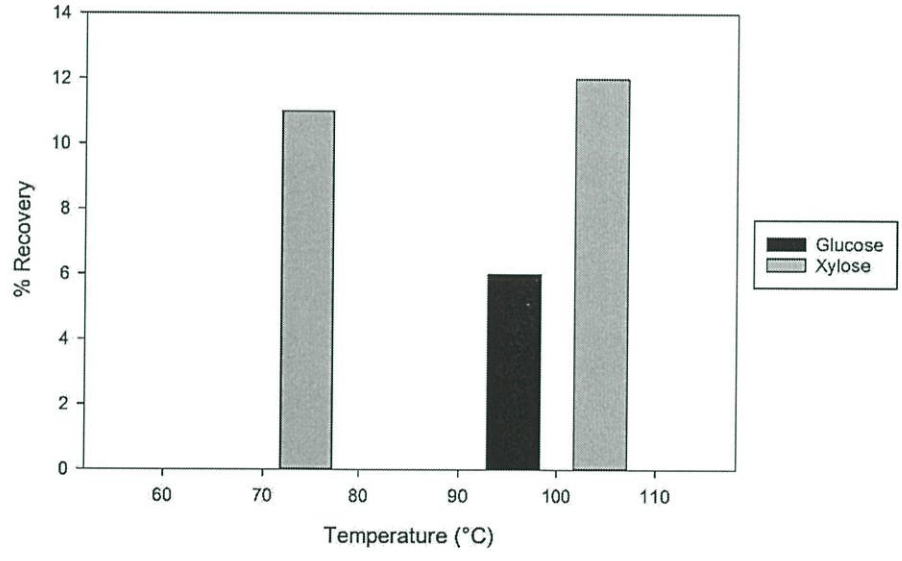
(ข)

รูปที่ 4.5 อิทธิพลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 120 นาที ในการทำปฏิกิริยา

ผลการทดลองที่ได้ที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 150 นาทีมีลักษณะเดียวกันกับที่ 120 นาที แต่ที่ระยะเวลานี้มีผลผลิตกลูโคสเกิดขึ้น แต่กลูโคสที่เกิดขึ้นนี้อาจเกิดจากกลูโคแมนแมนและไซลานซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลูโลสที่อยู่ในสารชีวมวล [3] ซึ่งจะสลายตัวให้กลูโคสและไซโลส แต่โครงสร้างเซลลูโลสที่ภาวะนี้ยังอาจไม่สลายตัวเนื่องจากเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรง



(ก)



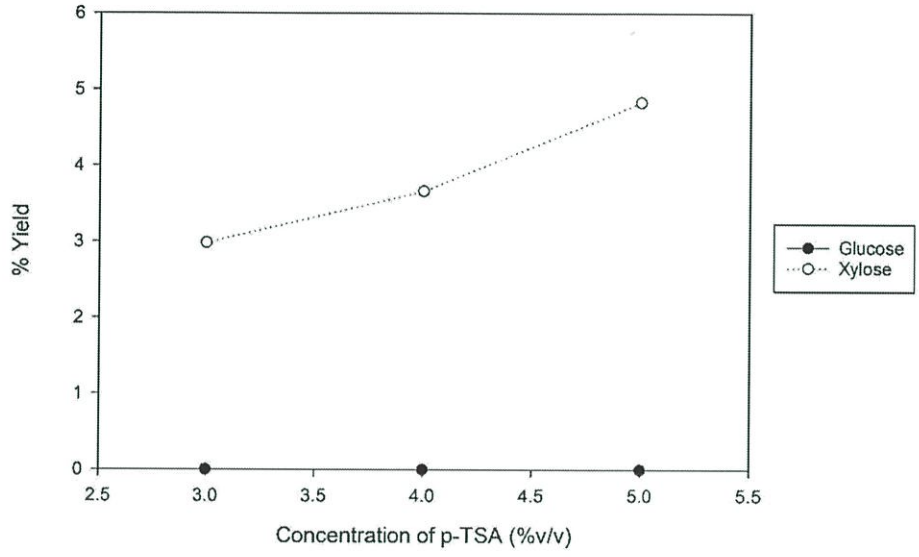
(ข)

รูปที่ 4.6 อิทธิพลของอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 150 นาที ในการทำปฏิกิริยา

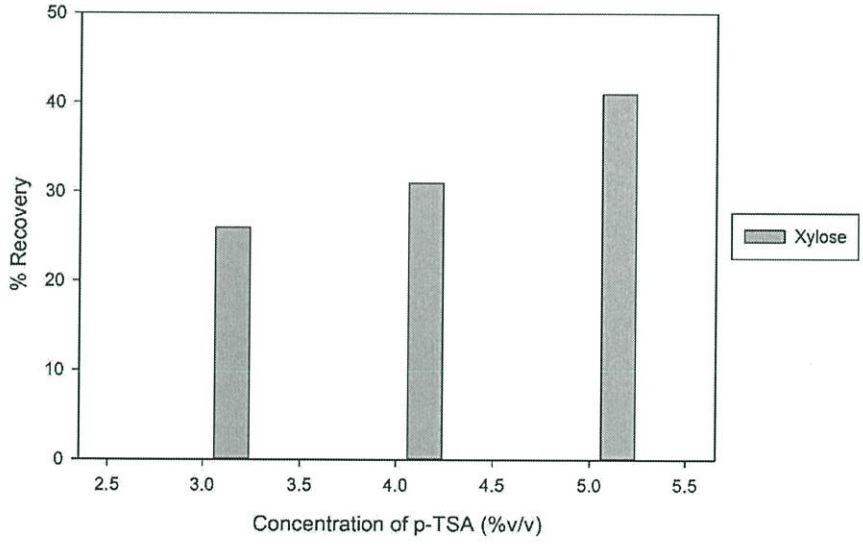
4.3.2. อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ พบว่า

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในระยะเวลา 120 นาที ปริมาณร้อยละของไซโลสเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่เกิดกลูโคส ดังแสดงในรูป 4.7 ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลส



(ก)

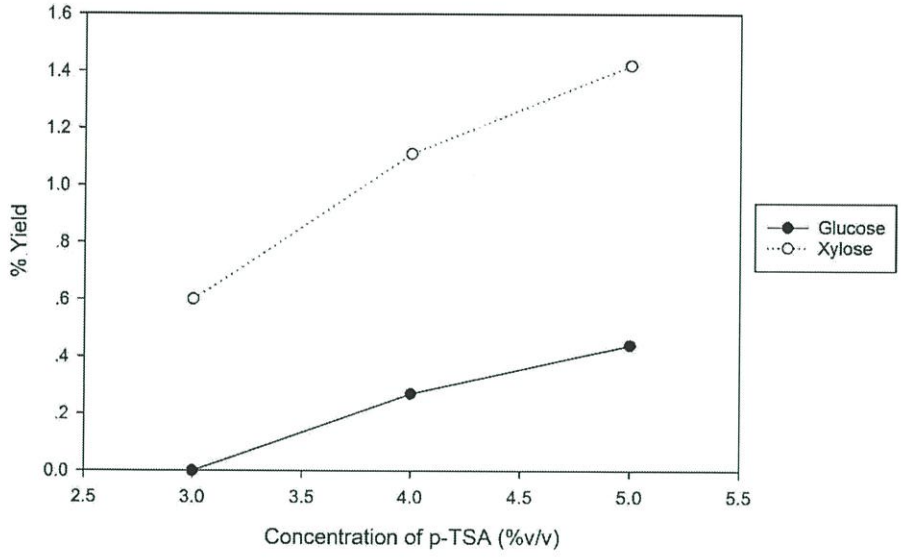


(ข)

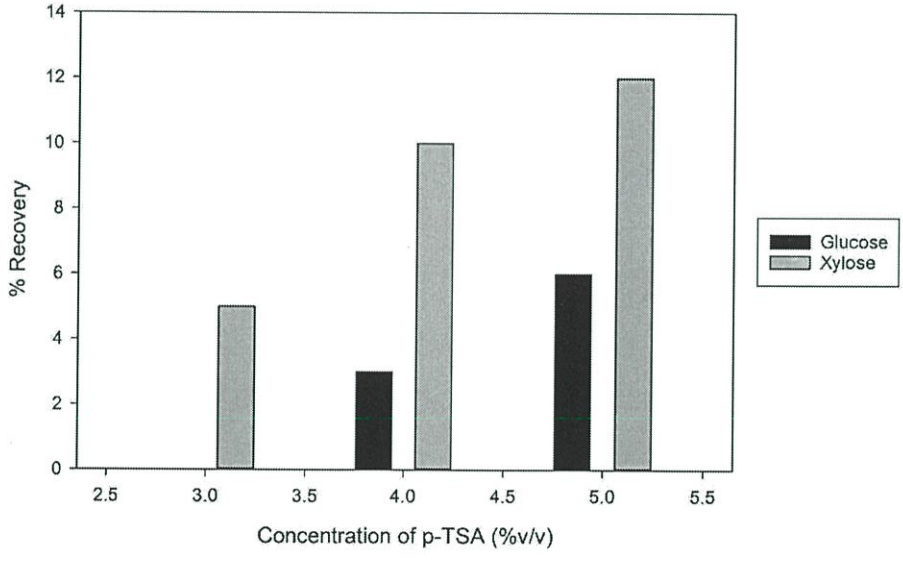
รูปที่ 4.7 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผล(ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 120 นาที ในการทำปฏิกิริยา

ผลการทดลองความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ได้ที่ระยะเวลาการทำปฏิกิริยา 150 นาทีมีลักษณะเดียวกันกับที่ 120 นาที แต่ที่ระยะเวลานี้มีผลผลิตกลูโคสเกิดขึ้น ซึ่งอาจเกิด

จากกลูโคแมนแมนและไซลานซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในสารชีวมวล ซึ่งจะสลายตัวให้กลูโคสและไซโลส แต่โครงสร้างเซลลูโลสที่ภาวะนี้ยังอาจไม่สลายตัวเนื่องจากเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรง



(ก)

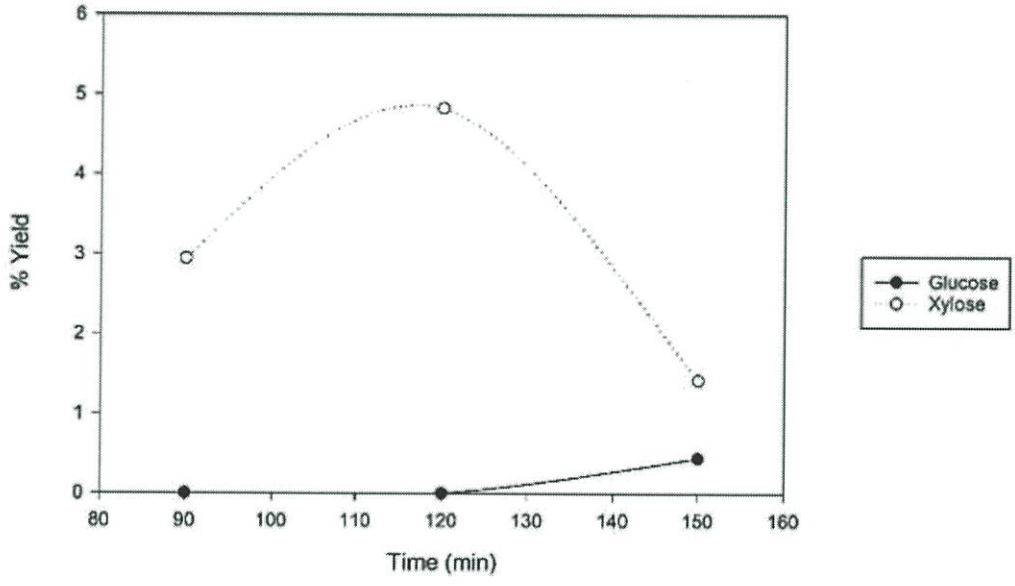


(ข)

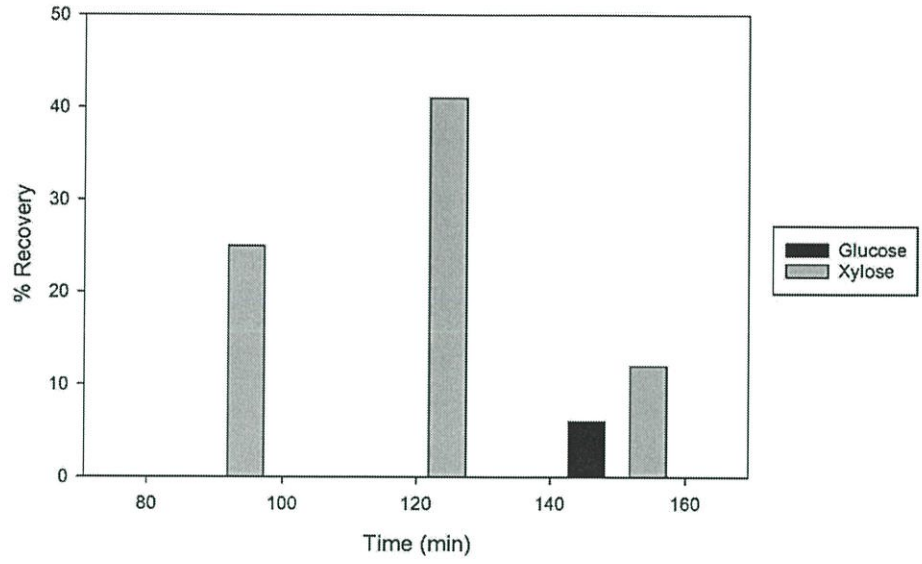
รูปที่ 4.8 อิทธิพลของความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผล(ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนมวลต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 150 นาที ในการทำปฏิกิริยา

4.3.3. อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา

ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ในการทำปฏิกิริยาสำหรับการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ในระยะเวลาการทำปฏิกิริยาที่ 90 120 และ 150 นาที จากผลการทดลองที่แสดงในรูป 4.7 พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้น ปริมาณร้อยละผลผลิตโดยมวลของไซโลสที่จะเพิ่มขึ้นจนถึงเวลาที่ 120 นาที ปริมาณร้อยละโดยมวลของไซโลสสูงสุดก่อนจะลดลงที่ระยะเวลา 150 นาที แต่จะเกิดกลูโคสขึ้น เนื่องจากเมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจนถึงจุดหนึ่งระบบจะเข้าสู่สมดุล ทำให้สารผลิตภัณฑ์สลายตัวเกิดเป็นสารชนิดอื่นได้ ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 120 นาที เป็นภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส



(ก)

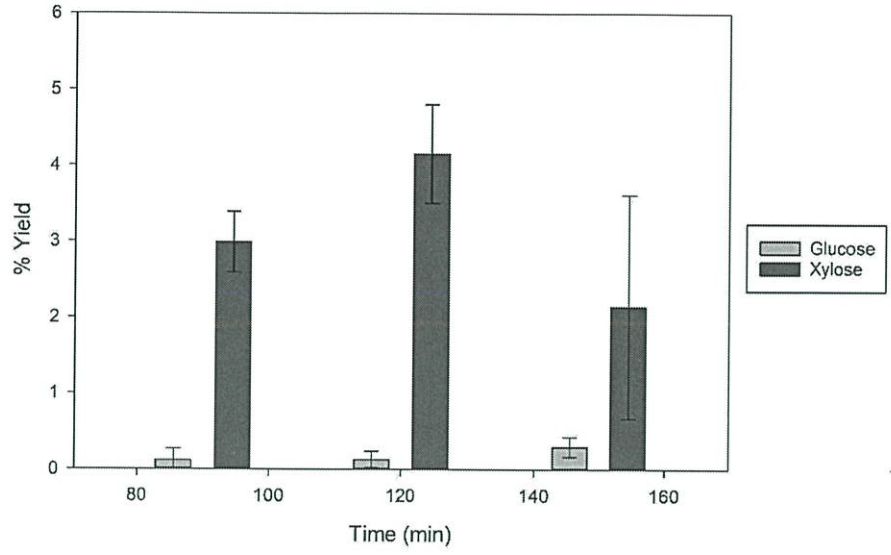


(ข)

รูปที่ 4.9 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่มีผลต่อ (ก) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ และ (ข) ร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซส ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

หลังจากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกากกาแฟหลังจากผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้ว ปริมาณร้อยละโดยมวลของกลูโคสและไซโลสที่ภาวะต่างๆ ดังที่กล่าวไปข้างต้น ซึ่งได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นที่ใช้ในทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.2) และเมื่อคำนวณร้อยละโดยมวลของกลูโคสและไซโลสเทียบกับปริมาณร้อยละกลูโคสและไซโลสที่ได้จากการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ในกากกาแฟตั้งต้นหลังจากปรับสภาพวัตถุดิบ จากผลการทดลองตอนที่ 4.3 พบว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟ โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยากรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกของการศึกษานี้คือ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5 โดยปริมาตร และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 120 นาที จะได้ปริมาณร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟเท่ากับ 4.83 โดยมวล ซึ่งคิดเป็นร้อยละผลผลิตไซโลสเท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์

เมื่อทำการทดลองซ้ำเพื่อหาค่าความแม่นยำของผลการทดลองที่ภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ดังแสดงในรูป 4.9 พบว่ามีความคลาดเคลื่อนสูง อาจเนื่องมาจากการควบคุมอุณหภูมิของอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิหรือการควบคุมอุณหภูมิในการควบแน่นกลายเป็นไอของคอนเดนเซอร์ไม่ดี ทำให้ผลการทดลองในแต่ละครั้งมีความคลาดเคลื่อนไปจากค่าที่ควรจะเป็น



รูปที่ 4.10 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยปริมาตร เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนโดยมวลต่อปริมาตรของกากกาแฟต่อตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

บทที่ 5

สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน

ปริญญานิพนธ์นี้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสที่เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารเคมีพื้นฐานด้วยการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรด โดยมีสารตั้งต้นคือ กากกาแฟที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตน และผ่านการสกัดน้ำร้อนแล้ว โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาคือ กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก (p-Toluenesulfonic acid, p-TSA) ซึ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส และก่อนทำปฏิกิริยาต้องมีการปรับสภาพด้วยเบสโดยศึกษาภาวะที่เหมาะสม

จากผลการทดลองพบว่า กากกาแฟมีปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินร้อยละ 13.91 12.74 และ 45.88 โดยมวล ตามลำดับ ซึ่งหลังจากการปรับสภาพกากกาแฟด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณลิกนินที่ได้หลังจากการปรับสภาพมีค่าลดลง แต่ปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในกากกาแฟหลังผ่านการปรับสภาพจะลดลงเช่นกัน ซึ่งคิดเป็นร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินที่หายไปเท่ากับ 6.98 2.49 และ 10.71 โดยมวล ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับระยะเวลาในการปรับสภาพ ซึ่งภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1.50 เป็นเวลา 60 นาที ได้ปริมาณร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน 6.93 10.25 และ 35.16 ตามลำดับ หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กากกาแฟเป็นสารตั้งต้น ศึกษาอิทธิพลที่มีผลต่อการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา จะทำให้ร้อยละผลผลิตของไซโลสเพิ่มมากขึ้น โดยในปริญญานิพนธ์นี้จะมีขอบเขตของอุณหภูมิที่จะศึกษาอยู่ที่ 70 และ 100 องศาเซลเซียส และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาจะทำให้ร้อยละผลผลิตโดยมวลของไซโลสเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไปจนถึงจุดหนึ่ง ผลิตภัณฑ์จะสลายตัวกลายเป็นสารอินทรีย์ตัวอื่นได้ ดังนั้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยานานเกินไป จะไม่ทำให้เกิดร้อยละผลผลิตของไซโลสมากขึ้น ภาวะที่เหมาะสมคืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกร้อยละ 5.0 เป็นเวลา 120 นาที จะได้ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟเท่ากับ 4.83 โดยมวล และคิดเป็นร้อยละผลผลิตไซโลสเท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5.1 ตัวแปรที่ศึกษา ขอบเขต และภาวะที่เหมาะสม

อิทธิพลที่ผลต่อปฏิกิริยา	ขอบเขตที่ศึกษา	ภาวะที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	1.0 1.5 2.0	1.5
ระยะเวลาในการปรับสภาพ (นาที)	60 90 120	60
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	70 100	100
ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	3.0 4.0 5.0	5.0
ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	90 120 150	120

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1. ภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในปริญญานิพนธ์เกิดจากการทดลองเมื่อใช้กากกาแฟเป็นสารตั้งต้น

5.2.2. การปรับสภาพวัตถุดิบมีด้วยกันหลายวิธี จากการศึกษาเพิ่มเติมทำให้ทราบว่า การปรับสภาพด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organosolv) เป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากวิธีนี้สามารถกำจัดลิกนินออกไปได้ แล้วยังทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสได้

บรรณานุกรม

[1] International Coffee Organization. "Trade Statistics Tables." [Online]. Available: http://www. ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics

[2] เมธี มณีงาม. 2556. "ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการบริโภคกาแฟของนักศึกษามหาวิทยาลัยเชียงใหม่." มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[3] Mussatto, S. I., Carneiro, L.M., Silva, J. P. A., Roberto, I. C., & Teixeira,J. A. (2011). "A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds." Carbohydrate Polymers 83(2): 368-374.

[4] สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์กรมหาชน). "ลักษณะทางพันธุศาสตร์." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/coffee/controller/index.php

[5] SIRICHAI. 2559. "ส่วนประกอบของเชอรี่กาแฟ (Coffee Cherry Physiology)." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://beanshere.com/posts/coffee-cherry-physiology-3/

[6] มานพ หาญเทวี. 2548. เทคโนโลยีการผลิตอาราบิก้าม. [ม.ป.ท.]: กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชสวน สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่.

[7] GreenCoffee.Center. "Arabica and Robusta Coffee Plant." [Online]. Avaliable: https://greenco ffes.org/green-coffee-information/arabica-robusta-coffee-plant/ Retrieved November 30, 2017.

[8] คมกริช ภูเมืองปาน, ทพกฤต ปัญญาวงศ์, นิกร สลีอ่อน. 2554. "การศึกษาคุณสมบัติของถ่านจากกากกาแฟ." เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

[9] Chemistry "การผลิตเอทานอลจากจอกแหน." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://chemistrykruboy.files .wordpress.com/2016/02/6e0b89ae0b897e0b897e0b8b5e0b988-2.pdf สืบค้น 29 พฤศจิกายน 2560.

[10] John A. Dutton. "Hemicellulose." [Online]. Avaliable: https://www.e-education.psu.edu/egee 439/node/664 Retrieved December 2, 2017.

[11] Hussin, M. H. (2014). Extraction, Modification and Characterization of Lignin from Oil Palm Fronds as Corrosion Inhibitors for Mild Steel in Acidic Solution, Universiti Sains Malaysia.

[12] สุภาวดี ผลประเสริฐ. (2557). "การปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล." วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22(5(พิเศษ)): 641-649.

[13] พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2519-. 2545. "การผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง." กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[14] Alchris Woo Go, A. T. C., Dan Elmer Sadaya Cuizon (2016). "Recovery of Sugars and Lipids from Spent Coffee Grounds: A New Approach." Waste Biomass Valor(7): 1047–1053.

[15] พรวิภา ทองมิตร และคนอื่นๆ. (2555). การเพิ่มผลผลิตน้ำตาลจากชานอ้อยโดยการย่อยสลายด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำร่วมกับกรดอะซิติก. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

[16] S.H.A. Rahman, J. P. C., A.L. Ahmad (2006). "Production of xylose from oil palm empty fruit bunch fiber using sulfuric acid." Biochemical Engineering Journal **30**(1): 97-103.

[17] Inês C Roberto, S. I. M., Rita C.L.B Rodrigues (2003). "Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor." Industrial Crops and Products **17**(3): 171-176.

[18] Xuejun Liu, M. L., Ning Ai, Fengwen Yu, Jianbing Ji (2012). "Kinetic model analysis of dilute sulfuric acid-catalyzed hemicellulose hydrolysis in sweet sorghum bagasse for xylose production." Industrial Crops and Products **38**: 81-86.

[19] Ansanay, Y. O. (2015). Sulfonic Acid Solid Catalytic Pretreatment and Hydrolysis of Biomass., North Carolina State University. **Doctor of Philosophy**.

[20] Ananda S. Amarasekara, B. W. (2012). "A comparison of dilute aqueous p-toluenesulfonic and sulfuric acid pretreatments and saccharification of corn stover at moderate temperatures and pressures." Bioresource Technology **125**: 114-118.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การคำนวณสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์

ปริญญานิพนธ์นี้ได้ศึกษาการสังเคราะห์กลูโคสและไซโลสจากกากกาแฟด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้กรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิก (p-Toluenesulfonic acid, p-TSA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในชุดเครื่องแก้วการทดลองขนาดเล็ก (Small lab kit) โดยในแต่ละการทดลองกำหนดปริมาณของสารตั้งต้นต่อปริมาตรของสารละลายตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ภายในชุดเครื่องแก้วขนาดเล็ก และใช้การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในกากกาแฟตั้งต้นด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน

ก.1 การคำนวณปริมาณองค์ประกอบในสารตั้งต้น

การคำนวณปริมาณองค์ประกอบในกากกาแฟตั้งต้นด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน จะใช้ปริมาณของกากกาแฟตั้งต้น 0.2 กรัม และมีปริมาตรรวมของสารละลายตัวอย่างเท่ากับ 77 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 72 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเป็นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก หลังจากกรองแยกสารตัวอย่างวิเคราะห์ส่วนที่เป็นของเหลวด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เพื่อหาปริมาณของกลูโคสและไซโลส เพื่อคำนวณหาปริมาณเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ และวิเคราะห์ส่วนที่เป็นของแข็งด้วยการหาปริมาณลิกนิน โดยมีผลการดำเนินงานในแต่ละขั้นตอนดังต่อไปนี้

หมายเหตุ : การแสดงวิธีการคำนวณปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในสารตั้งต้นที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและการสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว

ก.1.1 การคำนวณปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในวิธีการเคลซอนลิกนิน

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

ต้องการเตรียมกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 72 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรจากกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 98 โดยกำหนดให้ความหนาแน่นของกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 72 และ 98 เท่ากับ 1.64 และ 1.84 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งในการหาปริมาตรที่ใช้ต้องคำนึงถึงความหนาแน่นของความเข้มข้น เนื่องจากแต่ละความเข้มข้นมีค่าความหนาแน่นไม่เท่ากัน

$$\text{Density} \times N_1 \times V_1 = \text{Density} \times N_2 \times V_2$$

$$1.84 \times 98 \times V_1 = 1.64 \times 72 \times 100$$

$$V_1 = \frac{1.64 \times 72 \times 100}{1.84 \times 98}$$

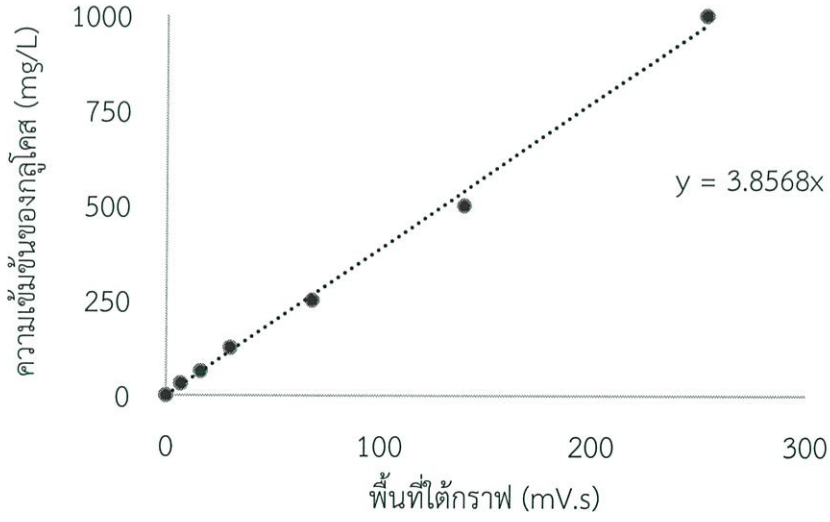
V_1 = 66 มิลลิลิตร

ก.1.2 การคำนวณร้อยละโดยมวลของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและเคลซอนลิกนิน

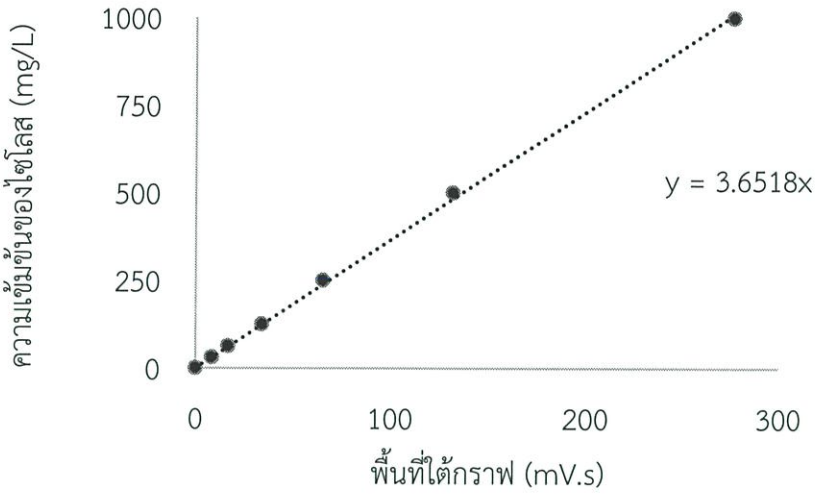
เมื่อวิเคราะห์สารตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวด้วย HPLC จะได้โครมาโทแกรม กราฟแสดงพื้นที่พีคของกลูโคสและไซโลส จากนั้นคำนวณพื้นที่พีคเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสและไซโลสในหน่วยหนึ่งส่วนในล้านส่วน (ppm) หรือมิลลิกรัมต่อลิตร โดยการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จากการแสดงในตัวอย่างการคำนวณต่อไปนี้

ความเข้มข้นของกลูโคสในสารตัวอย่าง (mg/L) = (3.8568 x พื้นที่พีคของกลูโคส)

ความเข้มข้นของไซโลสในสารตัวอย่าง (mg/L) = (3.6518 x พื้นที่พีคของไซโลส)



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสด้วยเครื่อง HPLC



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไซโลสด้วยเครื่อง HPLC

ก.1.2.1 การคำนวณร้อยละโดยมวลของเซลลูโลส

สามารถคำนวณร้อยละโดยมวลของเซลลูโลสจากร้อยละโดยมวลของกลูโคสในสารตัวอย่าง ซึ่งมีวิธีการคำนวณดังต่อไปนี้

น้ำหนักกลูโคสในสารตัวอย่าง (g) =

$$\frac{\text{ความเข้มข้นกลูโคสในสารตัวอย่าง (mg/L) x ปริมาตรสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (mL)}}{1{,}000{,}000}$$

$$\text{ร้อยละโดยมวลกลูโคส} = \frac{\text{น้ำหนักกลูโคสในสารตัวอย่าง (g)}}{\text{น้ำหนักสารตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (g)}} \times 100$$

ร้อยละโดยมวลเซลลูโลส = (0.9)(ร้อยละโดยมวลกลูโคส)

ซึ่งคำนวณจากกลูโคส 1 โมเลกุล มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 180 กรัม เมื่อกลูโคส 2 โมเลกุลเชื่อมต่อกัน เพื่อสลายเซลลูโลสเป็นกลูโคสจะมีน้ำหลุดออกไป 1 โมเลกุล ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 18 กรัม โดย 180 – 18 เท่ากับ 162 กรัม ดังนั้นสัดส่วนในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นเซลลูโลสคือ 162/180 เท่ากับ 0.9

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

น้ำหนักกากกาแฟ 0.2 กรัม พื้นที่พีคของกลูโคส 101.642 mV.s และสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนินปริมาตร 77 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของกลูโคสในสารตัวอย่าง = (3.8307x101.642) = 392.013 mg/L

น้ำหนักกลูโคสในสารตัวอย่าง = (392.013 x 77)/1,000,000 = 0.030 g

ร้อยละโดยมวลกลูโคส	= (0.030/0.200) x 100	= 15.09
ร้อยละโดยมวลเซลลูโลส	= 0.9 x 15.09	= 13.58

ก.1.2.2 การคำนวณร้อยละโดยมวลของเฮมิเซลลูโลส

สามารถคำนวณร้อยละโดยมวลของเฮมิเซลลูโลสจากร้อยละโดยมวลของไซโลสในสารตัวอย่าง ซึ่งมีวิธีการคำนวณดังต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง (g)} = \frac{\text{ความเข้มข้นไซโลสในสารตัวอย่าง (mg/L)} \times \text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (mL)}}{1{,}000{,}000}$$

$$\text{ร้อยละโดยมวลไซโลส} = \frac{\text{น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง (g)}}{\text{น้ำหนักสารตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (g)}} \times 100$$

ร้อยละโดยมวลเฮมิเซลลูโลส = (0.88)(ร้อยละโดยมวลกลูโคส)

ซึ่งคำนวณจากไซโลส 1 โมเลกุล มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 150 กรัม เมื่อไซโลสเชื่อมต่อกันเพื่อเปลี่ยนเป็นเฮมิเซลลูโลสจะมีน้ำหลุดออกไป 1 โมเลกุล ซึ่งมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 18 กรัม โดย 150 – 18 เท่ากับ 132 กรัม ดังนั้นสัดส่วนในการเปลี่ยนไซโลสเป็นเฮมิเซลลูโลสคือ 132/180 เท่ากับ 0.88

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

น้ำหนักกากกาแฟ 0.2 กรัม พื้นที่พีคของกลูโคส 1000.735 mV.s และตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนินปริมาตร 77 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของไซโลสในสารตัวอย่าง	= (3.6518 x 100.735)	= 367.864 mg/L
น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง	= (367.864 x 77)/1,000,000	= 0.028 g
ร้อยละโดยมวลไซโลส	= (0.028/0.200) x 100	= 14.16
ร้อยละโดยมวลเฮมิเซลลูโลส	= 0.88 x 14.16	= 12.46

ตารางที่ ก.1 คำนวณร้อยละโดยมวลของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในสารตั้งต้น

	กากกาแฟ (สารตั้งต้น)
น้ำหนักสารตั้งต้นที่ใช้ (g)	0.200
พื้นที่พีคของกลูโคส (mV·s)	101.642
พื้นที่พีคของไซโลส (mV·s)	100.735
ความเข้มข้นกลูโคส (mg/L)	392.013
ความเข้มข้นไซโลส (mg/L)	367.864
น้ำหนักกลูโคส (g)	0.030
น้ำหนักไซโลส (g)	0.028
ร้อยละโดยมวลของกลูโคส	15.09
ร้อยละโดยมวลของไซโลส	14.16
ร้อยละโดยมวลของเซลลูโลส	13.58
ร้อยละโดยมวลของเฮมิเซลลูโลส	12.46

ก.1.2.3 การคำนวณร้อยละโดยมวลของเคลซอนลิกนิน

ในส่วนที่เป็นของแข็ง หรือส่วนที่เรียกว่า คอลซอนลิกนิน ที่ติดอยู่บนกระดาษกรองในขั้นตอนการกรองสารตัวอย่างจากการวิเคราะห์องค์ประกอบเคลซอนลิกนิน สามารถคำนวณหาน้ำหนักของ เคลซอนลิกนินได้จากการลบน้ำหนักของกระดาษกรองออก จากนั้นนำน้ำหนักของเคลซอนลิกนินที่ได้คำนวณหาร้อยละโดยมวลของเคลซอนลิกนินเมื่อเทียบกับน้ำหนักสารตั้งต้นได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละโดยมวลเคลซอนลิกนิน} = \frac{\text{น้ำหนักเคลซอนลิกนิน (g)}}{\text{น้ำหนักสารตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (g)}} \times 100$$

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

น้ำหนักกากกาแฟ 0.2 กรัม และน้ำหนักของเคลซอนลิกนิน 0.0594 กรัม

ร้อยละโดยมวลเคลซอนลิกนิน = (0.0594/0.200) x 100 = 32.48

ก.2 การคำนวณร้อยละผลผลิตของไซโลส

การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเพื่อสังเคราะห์ไซโลส จะคำนวณร้อยละผลผลิตของไซโลส โดยการเตรียมสารตัวอย่างหลังจากผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรดสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC จะถูกเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นลง 5 เท่า เมื่อคำนวณได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไซโลสในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรแล้วต้องด้วยคูณ 5 จากการเจือจางความเข้มข้นด้วย ดังแสดงในตัวอย่างการคำนวณต่อไปนี้

น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง (g) =

$$\frac{\text{ความเข้มข้นไซโลสในสารตัวอย่าง (mg/L)} \times \text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (mL)}}{1{,}000{,}000}$$

$$\text{ร้อยละโดยมวลไซโลส} = \frac{\text{น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง (g)}}{\text{น้ำหนักสารตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลซอนลิกนิน (g)}} \times 100$$

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

การคำนวณร้อยละผลผลิตของไซโลสที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดจากอัตราส่วนของกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้เท่ากับ 1:10 ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 3 น้ำหนักโดยมวล ระยะการทำปฏิกิริยา 120 นาที ที่ภาวะอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จากกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไซโลสจะได้ว่า

ความเข้มข้นของไซโลสในสารตัวอย่าง	= (3.6518 x 163.38) x 5	= 2,983 mg/L
น้ำหนักไซโลสในสารตัวอย่าง	= (2,983 x 2)/1,000,000	= 0.0030 g
ร้อยละโดยมวลไซโลส	= (0.0030/0.0093) x 100	= 32.01

ภาคผนวก ข.

ข้อมูลดิบการทดลอง

ข.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ

การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีเคลซอนลิกนินของกากกาแฟ จะได้ร้อยละขององค์ประกอบในกากกาแฟตั้งต้นที่ผ่านการสกัดด้วยอะซิโตนและการสกัดด้วยน้ำร้อน แสดงดังตาราง ข.1.1

ตารางที่ ข.1 ร้อยละองค์ประกอบในกากกาแฟตั้งต้นที่นำไปปรับสภาพก่อนทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

ร้อยละเซลลูโลส	ร้อยละเฮมิเซลลูโลส	ร้อยละเคลซอนลิกนิน
6.93	10.25	35.16

ข.2 การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

การทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเพื่อผลิตไซโลสโดยใช้กากกาแฟเป็นสารตั้งต้นในการศึกษาอิทธิพลจากอุณหภูมิ ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ซึ่งร้อยละผลผลิตของกลูโคสและไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟที่ได้จากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดพาราโทลูอีนซัลโฟนิกจากกากกาแฟโดยศึกษาอิทธิพลต่างๆ จะแสดงได้ดังนี้

ตารางที่ ข.2.1 อิทธิพลจากอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา 5 โดยปริมาตร

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ		
	ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)		
	90	120	150
70	0.42	0.56	0.84
100	2.94	4.83	1.42

ตารางที่ ข.2.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาร้อยละ 5 โดยปริมาตร อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ
90	2.94
120	4.83
150	1.42

ตารางที่ ข.2.3 อิทธิพลของความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดที่มีผลต่อร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ ในอัตราส่วนกากกาแฟต่อปริมาตรของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 120 นาทีที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา (ร้อยละโดยปริมาตร)	ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ
3.0	2.98
4.0	3.66
5.0	4.83

ตารางที่ ข.2.4 ปริมาณผลผลิตของกลูโคสจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ภาวะต่างๆ

ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา (ร้อยละโดยปริมาตร)	ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ร้อยละผลผลิตของกลูโคสต่อน้ำหนักกากกาแฟ		ร้อยละผลผลิตกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)	
		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
		70	100	70	100
3.0	90	0	0	0	0
	120	0	0	0	0
	150	0	0	0	0
4.0	90	0	0	0	0
	120	0	0	0	0
	150	0	0.27	0	3
5.0	90	0	0	0	0
	120	0	0	0	0
	150	0	0.44	0	6

ตารางที่ ข.2.5 ปริมาณผลผลิตของไซโลสจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ภาวะต่างๆ

ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยา (ร้อยละโดยปริมาตร)	ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที)	ร้อยละผลผลิตของไซโลสต่อน้ำหนักกากกาแฟ		ร้อยละผลผลิตไซโลส (เปอร์เซ็นต์)	
		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
		70	100	70	100
3.0	90	0	1.35	0	12
	120	0	2.98	5	26
	150	0	0.60	7	5
4.0	90	0	1.72	4	15
	120	0	3.66	5	31
	150	0.27	1.11	10	10
5.0	90	0	2.94	5	25
	120	0	4.83	7	41
	150	0.44	1.42	11	12

ภาคผนวก ค.

การใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของของเหลวสมรรถนะสูง

การวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลงสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ในปริญญานิพนธ์นี้ใช้คอลัมน์ Phenomenex Rezex RHM-Chromatography H+(8) % ขนาด 300 x 7.8 มิลลิเมตร โดยจะทำการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสในองค์ประกอบของกากกาแฟ และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งมีขั้นตอนในการทดลองดังต่อไปนี้

1. การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase)

    1. นำสารละลายที่ใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่เทใส่ขวดใสขนาด 1 ลิตร ไล่ฟองอากาศในสารละลายวัฏภาคเคลื่อนที่ด้วยอ่างสั่นความถี่สูง ที่อุณหภูมิคงที่เป็นเวลา 30 นาที

2. การเตรียมสารตัวอย่างที่ต้องการทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

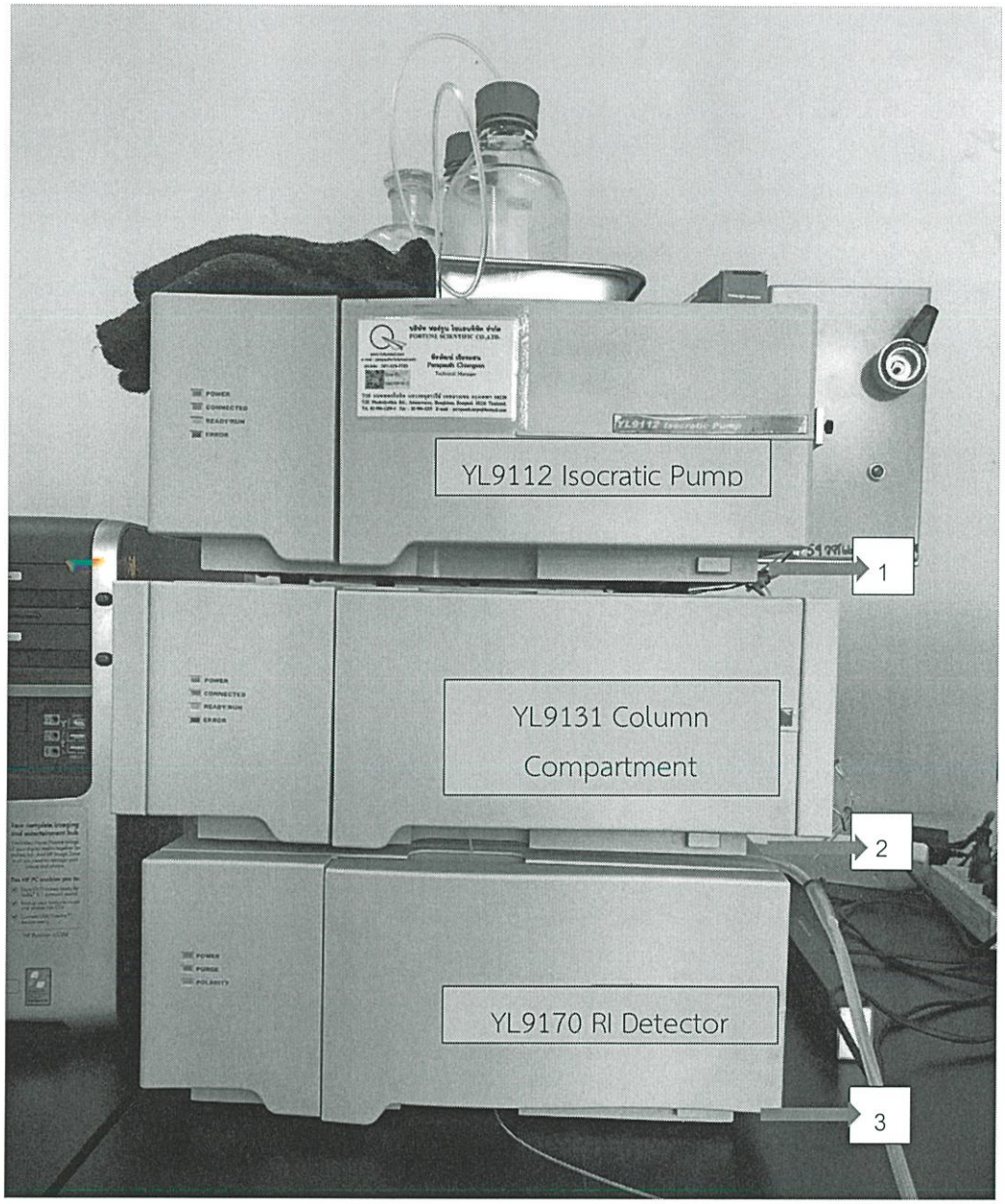
    1. ดูดสารตัวอย่างด้วยหลอดฉีดสารปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
    2. นำหลอดฉีดสารต่อเข้ากับตัวกรอง (Syringe filter) ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วฉีดสารตัวอย่างผ่านตัวกรองใส่ขวดเก็บตัวอย่างอีกขวดที่เตรียมไว้

3. การเปิดระบบเครื่อง HPLC

เปิดระบบเครื่อง HPLC ที่เป็นส่วนประกอบที่ต้องเปิดก่อนการใช้งาน

1. YL9112 Isocratic pump กดสวิตช์ (1) ดังรูปที่ ค.3
2. YL9131 Column compartment กดสวิตช์ (2) ดังรูปที่ ค.3
3. YL9170 RI detector กดสวิตช์ (3) ดังรูปที่ ค.3

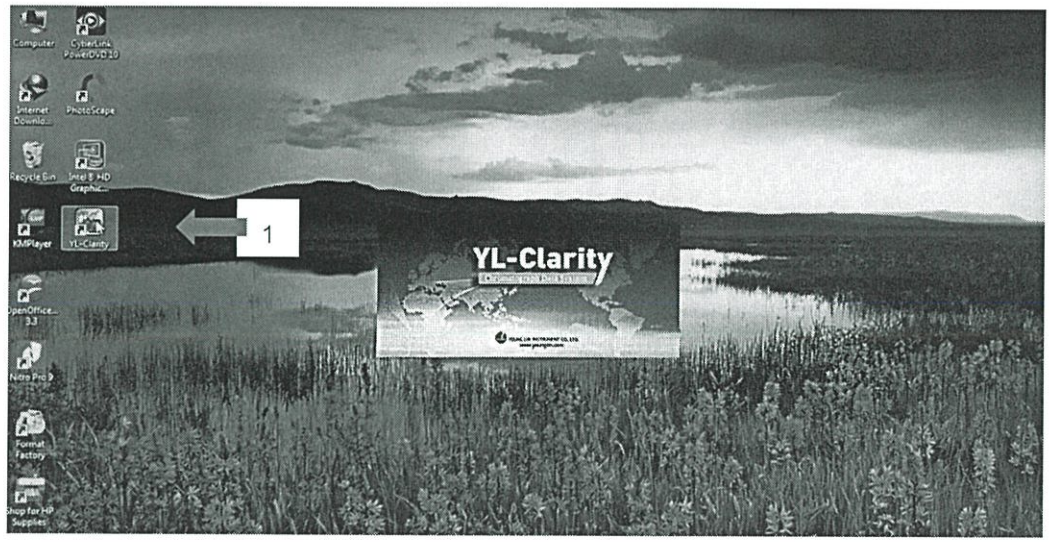
เมื่อเปิดสวิตช์เรียบร้อยแล้ว รอจนไฟของ YL9112 Isocratic pump และ YL9131 column compartment ขึ้นไฟสีเหลือง (Ready) พร้อมใช้งาน จากนั้นเปิดคอมพิวเตอร์



รูปที่ ค.1 สวิตช์ในการเปิด-ปิด YL9112 Isocratic pump YL9131 column compartment และ YL9170 RI detector

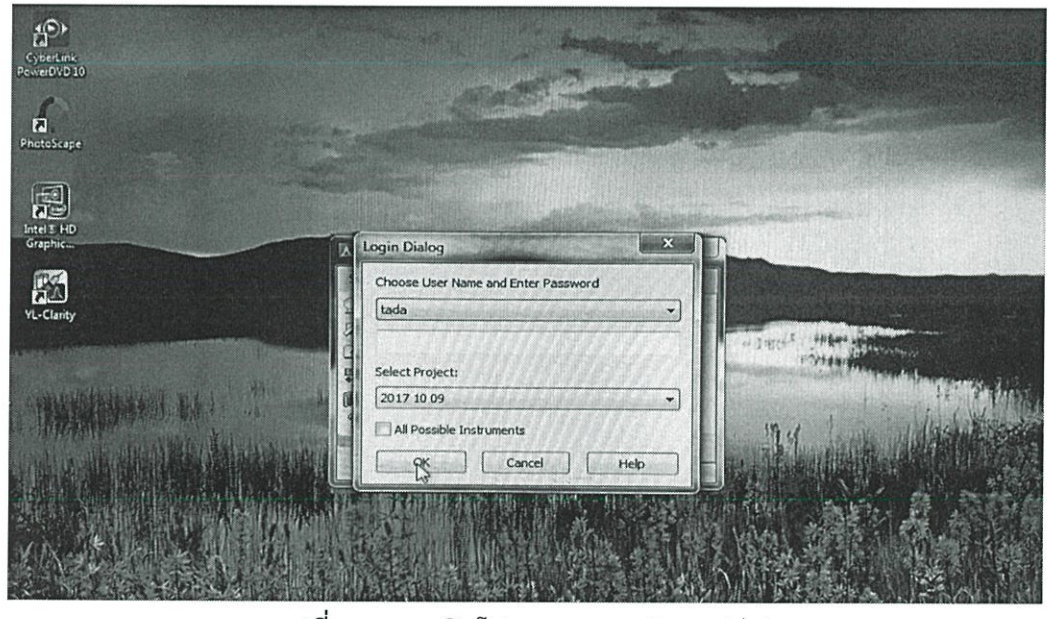
4. การเปิดโปรแกรม YL-Clarity

1. เมื่อคอมพิวเตอร์พร้อมใช้งาน เปิดโปรแกรม YL-Clarity โดยการดับเบิลคลิกที่ไอคอนของ YL-Clarity (1) ดังแสดงในรูป ค.4



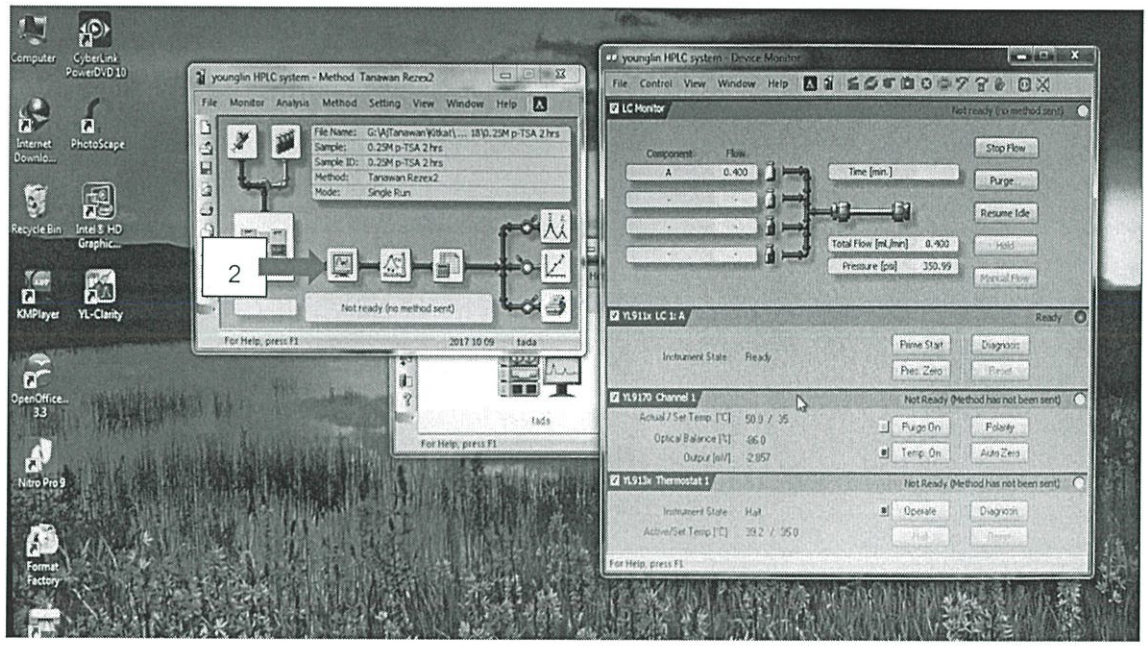
รูปที่ ค.2 การเปิดโปรแกรม YL-Clarity

2. เมื่อหน้าต่างชื่อ YL-Clarity ขึ้นมา ดังแสดงในรูป ค.5 จากนั้นกดปุ่ม Login แล้วกด OK



รูปที่ ค.3 การเปิดโปรแกรม YL-Clarity (ต่อ)

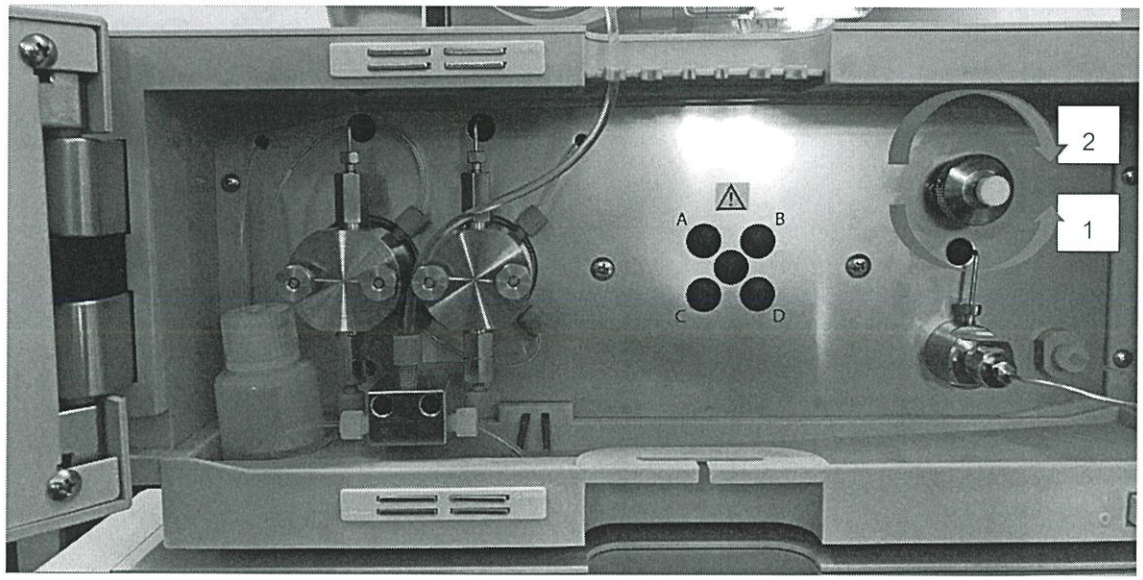
3. เมื่อหน้าต่างของ Younglin HPLC system แสดงขึ้นมาที่หน้าจอ ให้คลิกที่ Device monitor (2) ดังแสดงในรูป ค.6



รูปที่ ค.4 หน้าต่างของโปรแกรม YL-Clarity

5. การเตรียมระบบของวัฏภาคเคลื่อนที่

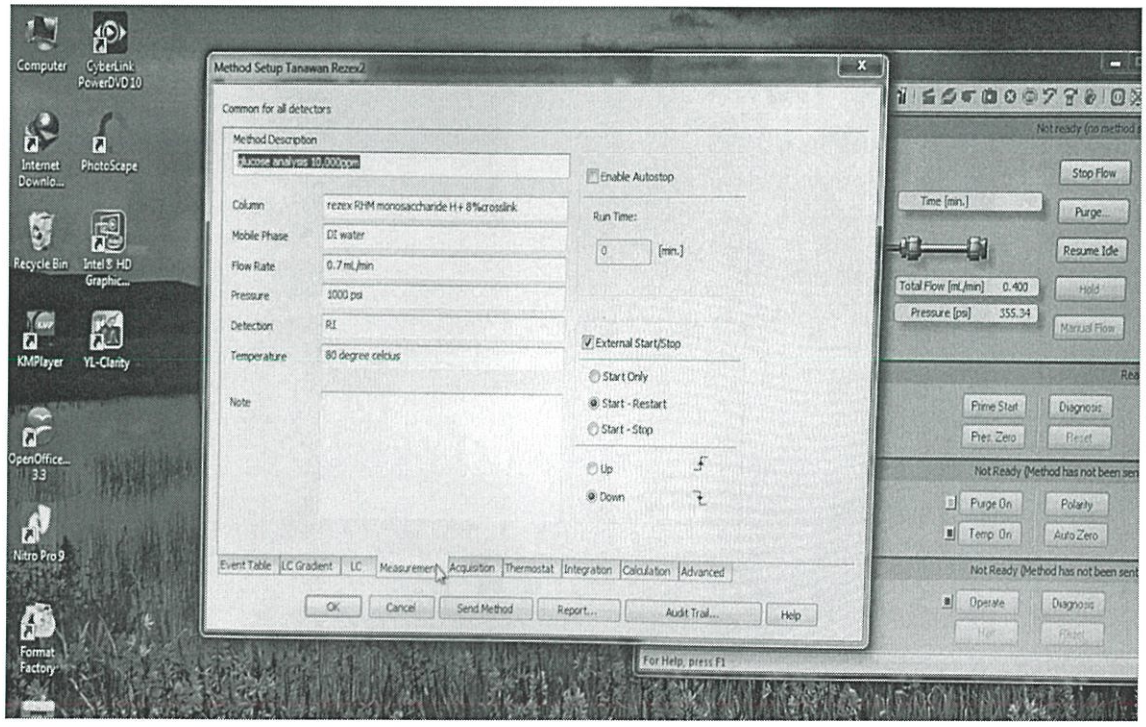
1. นำสารละลายวัฏภาคเคลื่อนที่นำไปไล่ฟองอากาศ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง
2. นำหัวดูดวัฏภาคเคลื่อนที่จากขวดวัฏภาคเคลื่อนที่ใส่ลงในขวดที่บรรจุวัฏภาคเคลื่อนที่
3. หมุนวาล์ว (1) ทวนเข็มนาฬิกาจนสุด แสดงในรูป ค.7 เพื่อให้วัฏภาคเคลื่อนที่ไหลไปไล่สารละลายที่ตกค้างภายใน กดปุ่ม PURGE โดยตั้งค่า flow เท่ากับ 1 และความดันสูงสุดที่ยอมรับได้เท่ากับ 1,000 psi ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที
4. กด Stop flow แล้วหมุนวาล์ว (2) ตามเข็มนาฬิกาจนสุด



รูปที่ ค.5 วาล์วในส่วนของ YL9112 Isocratic Pump

6. การตั้งค่า Method

การตั้งค่า Method กดปุ่มในหน้าต่าง Younglin HPLC system จากนั้นกด Method Setupแล้วไปที่ Measurement



รูปที่ ค.6 หน้าต่างในส่วน Method setup ของโปรแกรม YL-Clarity

7. การดูดวัฏภาคเคลื่อนที่เข้า Column และ Detector

7.1 กด LC Gradient ปรับ Flow เป็น 0.2 mL/min

7.2 กดปุ่ม Send Method จากนั้นค่อยๆปรับ Flow ขึ้นไปถึง 0.7 mL/min

7.3 ปั๊มจะดูดวัฏภาคเคลื่อนที่เข้า Column และ Detector จากนั้นออกไปยังขวด WASTE

8. การฉีดสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เข้าระบบ

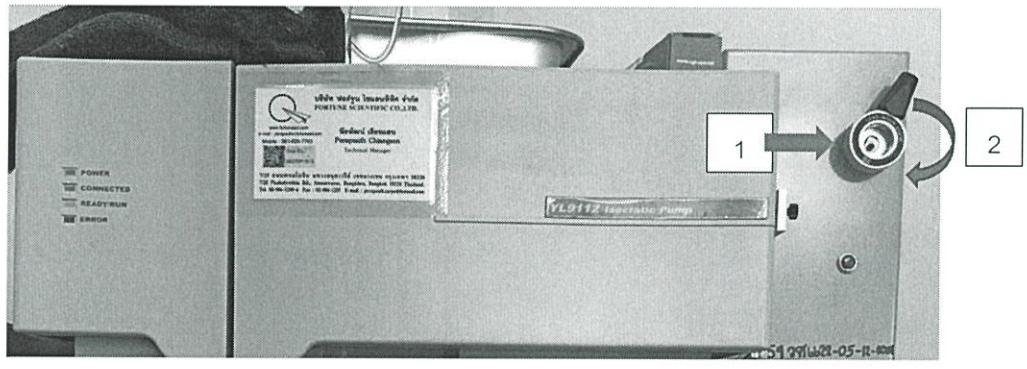
8.1 ล้างเข็มฉีดสารขนาดเล็กด้วยสารตัวอย่างน้อย 2 ครั้งก่อนทำการฉีดสารตัวอย่าง

8.2 ดูดสารตัวอย่างปริมาณ 100 ไมโครลิตร โดยต้องไม่มีฟองอากาศภายในเข็มฉีดสารขนาดเล็ก

8.3 เสียบเข็มฉีดสารขนาดเล็กเข้าที่แป้นหัวฉีด (1) ค้างไว้

8.4 สับก้านฉีด (2) ที่แป้นฉีดสารลง จากนั้นฉีดสารและค้างไว้ประมาณ 10 วินาที จากนั้นสับก้านฉีดขึ้นและดึงเข็มฉีดสารขนาดเล็กออกจากแป้น

8.5 เปิดหน้าต่าง HPLC – Data Acquisition ขึ้นมา เพื่อแสดงกราฟโครมาโทแกรมของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป



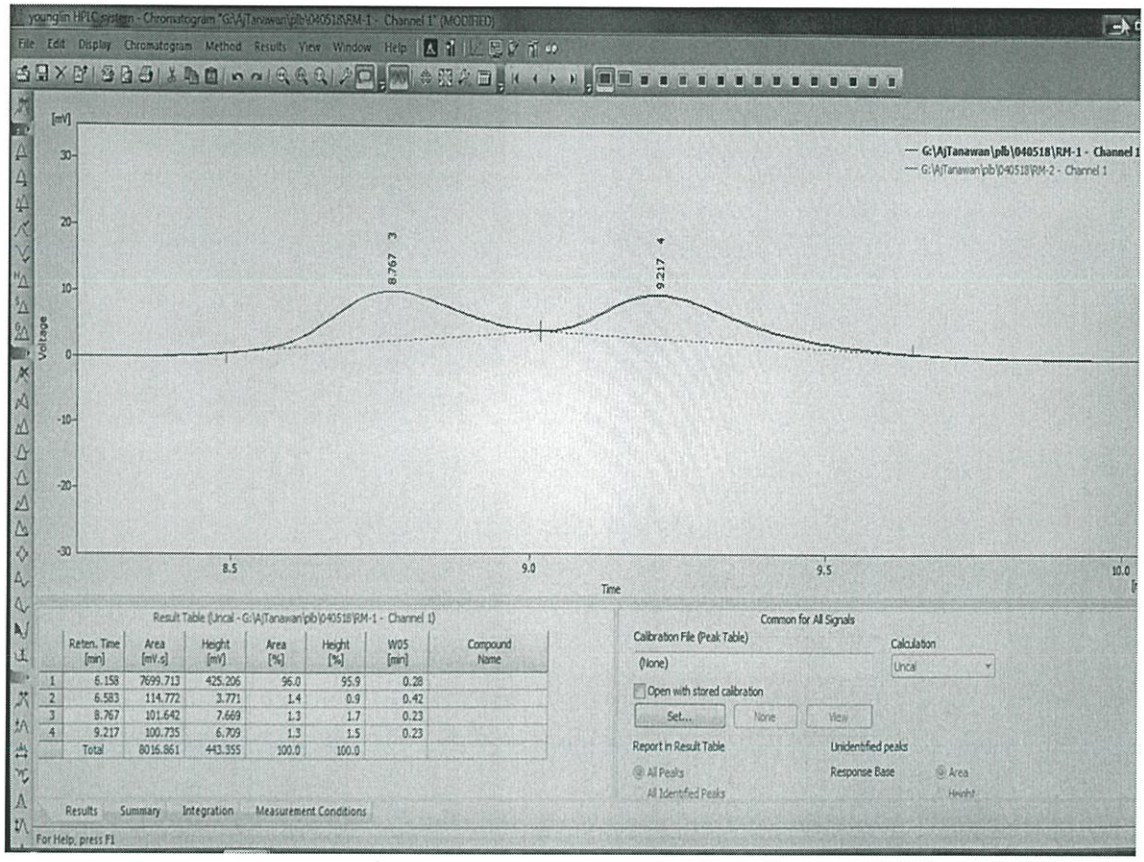
รูปที่ ค.7 การฉีดสารตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์

9. โครมาโทแกรม

9.1 ปรับเปลี่ยนแกนค่าต่างศักย์ (แกนY) และแกนเวลาในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง (แกนX) บนหน้าจอ

9.2 เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้ ให้กด STOP บนหน้าจอคอมพิวเตอร์

9.3 จากนั้นหน้าจอคอมพิวเตอร์จะปรากฏผลวิเคราะห์ HPLC – Chromatograph



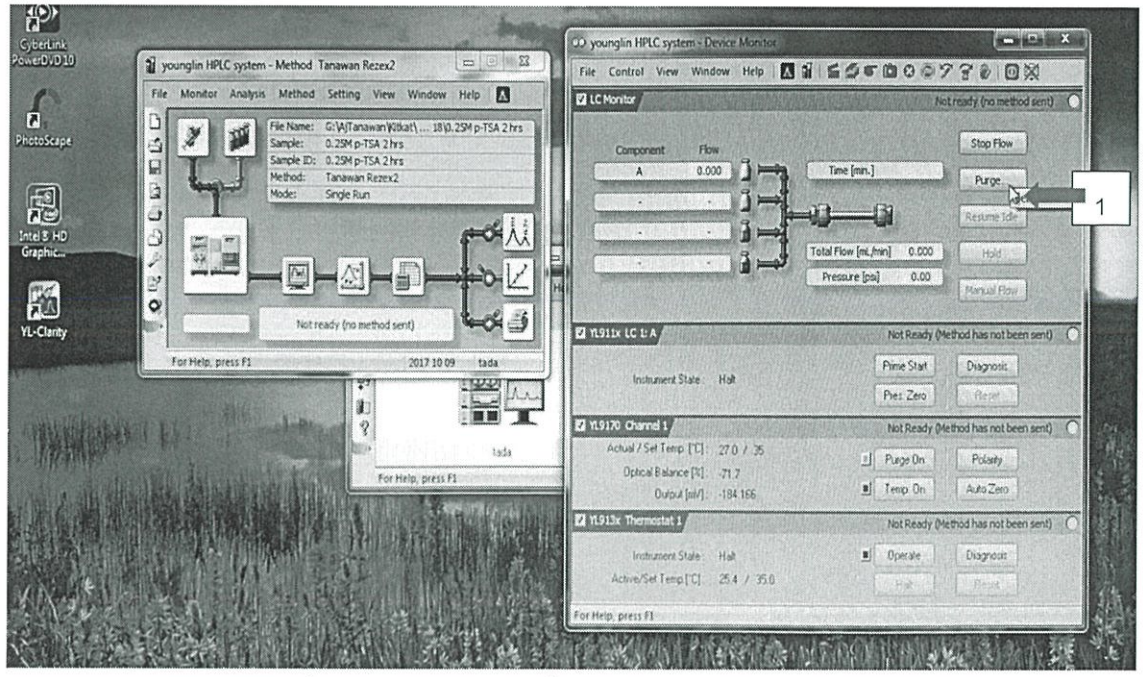
รูปที่ ค.8 ผลวิเคราะห์ HPLC – Chromatograph

9.4 ฉีดสารตัวอย่างต่อไปที่ต้องการวิเคราะห์ โดยเริ่มทำข้อที่ 8 ซ้ำอีกครั้ง

9.5 เมื่อฉีดสารตัวอย่างเสร็จแล้ว ให้หยุดการทำงานของปั๊ม โดยกดปุ่ม STOP

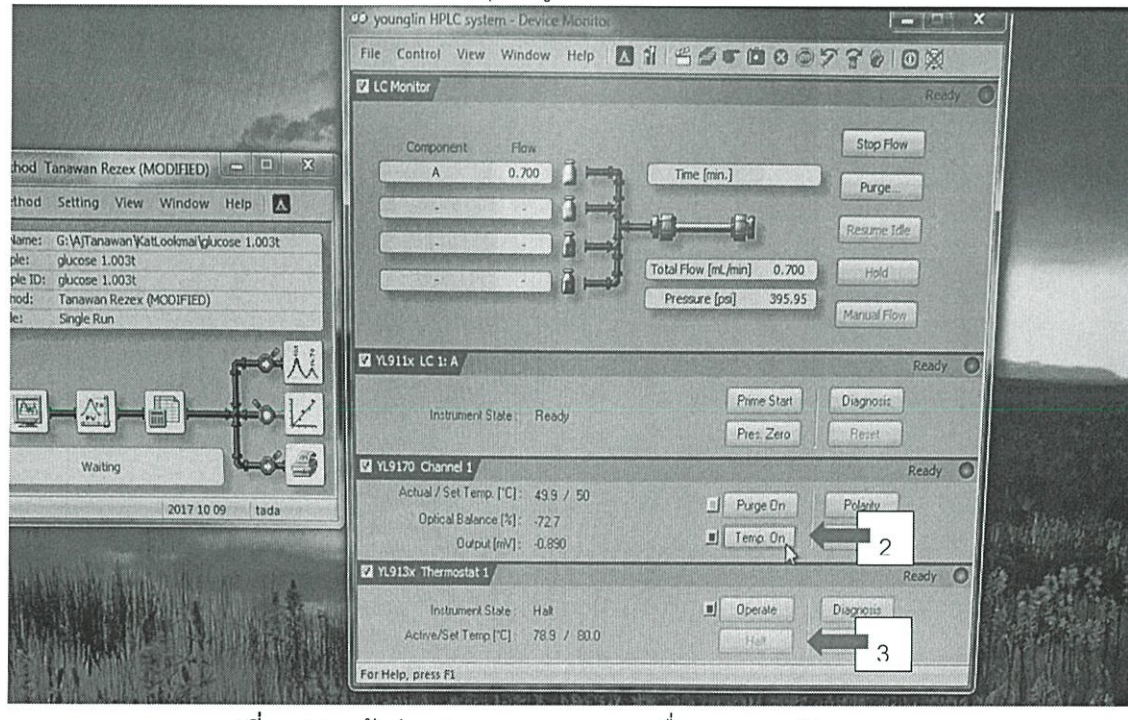
10. การปิดระบบการทำงานของเครื่อง

10.1 ล้าง Column และ Detector โดยปล่อยให้วัฏภาคเคลื่อนที่ผ่าน Column และ Detector โดยกด Purge (1) ใช้ Flow 1 mL/min เป็นเวลา 30 นาที



รูปที่ ค.9 โครมาโทแกรมที่ได้จากสารตัวอย่าง

10.2 กด Temp off (2) ในส่วนของ YL9170 Channel 1 และกด Halt (3) ในส่วนของ VL913x Thermostat 1 เพื่อลดอุณหภูมิลงมาเหลือ 35 องศาเซลเซียส



รูปที่ ค.10 หน้าต่าง Device monitor เพื่อลดอุณหภูมิ

10.3 ปิดคอมพิวเตอร์

10.4 กดปิดสวิตช์ YL9112 Isocratic Pump YL9131 column compartment และ YL9170 RI detector

ภาคผนวก ง.

มาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของกากกาแฟ

การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารตั้งต้น หรือก็คือ กากกาแฟ ทำโดยใช้วิธี เคลซอนลิกนิน ซึ่งวิเคราะห์ตามวิธีการมาตรฐานของ The Technical Association of The Pulp and Paper Industry (TAPPI) ซึ่งมาตรฐาน TAPPI มีรายละเอียดดังนี้

- เคลซอนลิกนิน (Klason) วิเคราะห์ตาม TAPPI T222 om-98
- การวิเคราะห์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และสารละลายเฮมิเซลลูโลส วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีการของ Daniel Montane และคณะ (Daniel, 1997)