การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับผลิตไบโอเอทานอลจากลำต้นหญ้าเนเปียร์

The Study of Effective Method to Enhance Reducing Sugar Content for Bioethanol Production from Napier Grass Stem

วิมลรัตน์ ทองภูธร[1] เฉลิมศรี สีผิวผาก[2] และนิติญา จวบทรัพย์[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีการปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อยลำต้นหญ้าเนเปียร์ด้วยการใช้กรดซัลฟิวริกและ /หรือสารเคมีร่วมกับการนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) สำหรับผลิตไบโอเอทานอล โดยขั้นต้นได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ พบว่าว่าลำต้นหญ้าเนเปียร์มีเซลลูโลสร้อยละ 48.56 ลิกนินร้อยละ 30.18 และเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20.05 โดยน้ำหนัก จากนั้นศึกษา วิธีที่เหมาะสม ของกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อย 2 วิธี ได้แก่ วิธีขั้นตอนเดียวและวิธีสองขั้นตอน พบว่าด้วยวิธีขั้นตอนเดียวคือทำการปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมการย่อยโดย ผสมสารลดแรงตึงผิวชนิด cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) และกรดซัลฟูริกร่วมกับการ นึ่งภายใต้ความดัน จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 86.94 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถกำจัดลิกนินให้ลดลงเหลือเพียงร้อยละ 9.10 โดยน้ำหนัก กล่าวโ ดยสรุปจากการศึกษาองค์ประกอบของวัตถุดิบแสดงให้เห็นว่าลำต้นหญ้าเนเปียร์เป็นวัตถุดิบทางเลือกที่ สามารถ นำมาผลิตไบโอเอทานอล ได้ และวิธีขั้นตอนเดียว เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับการศึกษานี้ ซึ่งวิธีดังกล่าว ไม่เพียง เป็นวิธีที่สะดว กแต่ยังสามารถ ลดขั้นตอนในการผลิตไบโอเอทานอลได้อีกด้วย

คำสำคัญ: การย่อย ลำต้นหญ้าเนเปียร์ การปรับสภาพเบื้องต้น น้ำตาลรีดิวซ์

ABSTRACT

This research aimed to investigate the pretreatment and hydrolysis methods of napier grass stem by using sulfuric acid and/or chemical reagents together with autoclave for bioethanol production. Firstly, the chemical compositions of raw material were studied. The results showed that napier grass stem consisted mainly of cellulose 48.56% (by weight), lignin 30.18% (by weight) and hemicelluloses 20.05% (by weight). Then, pretreatment and hydrolysis processes by one-step and two-step methods were studied. The results presented that via one-step method, pretreatment and hydrolysis were simultaneously performed by mixing cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) and sulfuric acid together with autoclave. Under these conditions, it

---

[1] อาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น

[2] นักศึกษา สาขาวิชาเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น

gave maximum reducing sugar content of 86.94 mg/mL and could be reduced lignin content to 9.10% (by weight). In summary, from the study of the chemical constitution of napier grass stem showed that it could be used as alternative feedstock for bioethanol production. Furthermore, the one-step method was considered as the most effective method to enhance reducing sugar content in this study. This method was not only simple but also reduced the step of bioethanol production.

Keywords: hydrolysis, napier grass stem, pretreatment, reducing sugar

บทนำ

ปัจจุบันการผลิตไบโอเอทานอลส่วนใหญ่ใช้วัตถุดิบหลัก 2 ประเภท คือ น้ำตาล เช่น อ้อย กากน้ำตาล และแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าว และข้าวโพด อย่างไรก็ตามวัตถุดิบดังกล่าวอาจไม่เพียงพอต่อการผลิตไบโอเอทานอลในอนาคต และเป็นการนำพืชอาหารมาใช้ผลิตไบโอเอทานอล ซึ่งในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา และจีน ที่นำเอาข้าวโพดซึ่งเป็นพืชอาหารมาใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลส่งผลให้ราคาสินค้าอาหารภายในประเทศปรับสูงขึ้น ดังนั้นในปัจจุบันการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไบโอเอทานอลในหลายประเทศจึงมุ่งเน้นไปที่วัตถุดิบประเภทอื่น เช่น วัสดุลิก-โน-เซลลูโลส (Lignocelluloses) ที่ได้จากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด และเปลือก ไม้ เป็นต้น วัสดุลิกโนเซลลูโลส เป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภท พอลิแซ็คคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบ ของผนังเซลล์พืชโดยมีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน อย่างไรก็ตามลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส มีโครงสร้างที่ซับซ้อน ทำให้ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ ในขั้นตอนของการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลในกระบวนการผลิต ไบโอ-เอทานอล ฉะนั้นจึงต้องทำการแยกโครงสร้างลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส เสียก่อน (ประมุข, 2555)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีพื้นที่การเพาะปลูกและเลี้ยงสัตว์เป็นจำนวนมากจึงมีความได้เปรียบทางวัตถุดิบที่เป็นผลผลิตจากพืชสำหรับทำปศุสัตว์ จากการสรุปของกองอาหารสัตว์กรมปศุสัตว์พบว่าปริมาณผลผลิตหญ้าอาหารสัตว์ที่เหลือเพิ่มมากขึ้นทุกปีโดยในปี พ.ศ. 2552 มีผลผลิตหญ้าคงเหลือถึง 7,353 ตัน (ฟาริดา และคณะ, 2557) โดยเฉพาะหญ้าเนเปียร์ที่ปัจจุบันนิยมนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์นั้นมีผลผลิตต่อไร่สูงสุด โดยมีผลผลิต ประมาณ 70-80 ตันสด/ไร่/ปี ซึ่งมากกว่าหญ้าชนิดอื่นเกือบ 7 เท่าเพราะเป็นหญ้าที่มีคุณสม บัติในการเจริญเติบโตเร็วกว่าหญ้าชนิดอื่นๆ และปลูกได้ในทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบว่ามีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนสูงกว่าหญ้าชนิดอื่น โดยมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพประมาณ 6,860-7,840 ลบ.ม./ไร่/ปี สามารถ ผลิตเป็นก๊าซไบโอมีเทนอัด (CBG) ได้ประมาณ 3,118-3,563 กก./ปี เหมาะสมต่อการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนมากกว่าหญ้าชนิดอื่นๆ (สำนักพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, 2561) และคาดว่าหญ้าเนเปียร์มีศักยภาพเหมาะสมในการพัฒนาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตพลังงานทดแทนในอนาคต งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะนำหญ้าเนเปียร์ซึ่งเป็นวัตถุดิบ ประเภทลิกโน-เซลลูโลสมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอเอทานอล สำหรับกระบวนการผลิตไบโอเอทานอล ประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ คือ การเตรียมวัตถุดิบ (Sample preparation) การปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment) เพื่อสลายโครงสร้างของวัตถุดิบ การย่อย (Hydrolysis) เพื่อให้ได้น้ำตาลรี ดิวซ์ และการหมัก (Fermentation) เป็นการย่อยสลายน้ำตาลโดยใช้จุลินทรีย์เพื่อให้ได้ ไบโอเอทานอลแล้วจึงผ่านการทำให้บริสุทธิ์ (Purification) ซึ่งเป็นการแยกเอทานอลออกจากน้ำเพื่อให้ ได้เอทานอลที่บริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป สำหรับการปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อ ยเป็นขั้นตอนที่สำคัญโดยเฉพาะวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสจำเป็นต้อง

นำมาผ่านกระบวนการดังกล่าวที่เห มาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลมาก ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอเอทานอลต่อไป ในกระบวน การปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อยนิยมใช้สารเคมีโดยเฉพาะกรดและเบสร่วมกับวิธีทางกายภาพ เช่น การนึ่งภายใต้ความดัน (Autoclave) ในระหว่างการปรับสภาพด้วยกรดเจือจางนั้นจะเกิดการละลายของเฮมิเซลลูโลสและเกิดการแตกหักของ โครงสร้าง ลิกนินซึ่ง จะสามารถ กำจัดลิกนินออกไปและได้น้ำตาลรีดิวซ์ในขั้นตอนนี้ อย่างไรก็ตาม การใช้กรดที่อุณหภูมิสูงในการย่อยอาจทำ ให้เกิดการสลายตัวของน้ำตาลไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นได้ จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยส ารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุ พบว่าสามารถ ลดปริมาณลิกนินและเร่งการย่อยด้วย เอนไซม์ (Qi et al., 2010) ได้งานวิจัย นี้จึงได้ศึกษาการผลิตไบโอเอทานอลจาก ลำต้นหญ้าเนเปียร์โดยใช้กระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมกับการย่อยด้วยกรด เบส และ/หรือ สารลดแรงตึงผิวร่วมกับการนึ่งภายใต้ความดัน ซึ่ง จะเป็นการลดขั้นตอนการผลิตไบโอเอทานอล และคาดว่าวิธีการดังกล่าวจะช่วยให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้น อีกทั้งเป็นการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งมาเป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตพลังงานทดแทนในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำลำต้นหญ้าเนเปียร์มาสับแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ปั่นให้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำผงที่ละเอียดมา คัดให้มีขนาด 0.20-2 มิลลิเมตร จากนั้นปรับสภาพวัตถุดิบ 2 วิธี ได้แก่

1.1 วิธีขั้นตอนเดียว (one-step method) คือ นำลำต้นหญ้าเนเปียร์มาผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อยในขั้นตอนเดียว โดยการชั่งลำต้นหญ้าเนเปียร์บดละเอียดมาเติมสารเคมีแต่ละชนิด ได้แก่ sodium hydroxide (NaOH) หรือ polyoxyethylene 20 (Tween 20) หรือ cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) หรือ sodium dodecyl sulfate (SDS) และกรดซัลฟูริก เข้าด้วยกันในปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร แล้วนำมา autoclave ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นกรอง แล้วนำของเหลวที่ได้มาตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) method (Gusakov et al., 2011) และนำกากของแข็งที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี modified wood analytical method (Styarini et al., 2012)

1.2 วิธีสองขั้นตอน (two-step method) คือ นำลำต้นหญ้าเนเปียร์มาผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารเคมี ต่างๆ ก่อนแล้ว จึง นำไปผ่านกระบวนการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกอีกครั้ง โดยการชั่งลำต้นหญ้าเนเปียร์บดละเอียดมาเติมสารเคมีแต่ละชนิด ได้แก่ NaOH หรือ Tween 20 หรือ CTAB หรือ SDS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำมา autoclave ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน จากนั้นกรองเอาส่วนที่เป็นกากของแข็งล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปอบให้แห้ง นำวัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นแล้วมาผ่านกระบวนการย่อยอีกครั้ง โดยเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 4% (w/w) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำมา autoclave ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นกรองแล้วนำของเหลวที่ได้มาตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS และนำกากของแข็งที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค (ATR-FTIR) และวิธี modified wood analytical method ต่อไป

2. การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่าง

2.1 ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างด้วยเทคนิค ATR-FTIR

นำลำต้นหญ้าเนเปียร์ และลำต้นหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการย่อยด้วยวิธีขั้นตอนเดียว และวิธีสองขั้นตอนมาตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง ATR-FTIR Spectrometer ในช่วง 4000-650 cm^{-1}

2.2 ตรวจสอบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างด้วยวิธี modified wood analytical method

เตรียมตัวอย่างเพื่อ **วิเคราะห์** ด้วยวิธี modified wood analytical โดยชั่งตัวอย่างหญ้าเนเปียร์ที่เตรียมจากวิธี ขั้นตอนเดียว และวิธีสองขั้นตอน อย่างละ 10 กรัม นำมาเติมสารละลายผสมระหว่างเอทานอล

และเบนซีน ในอัตราส่วน 1 : 2 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมา autoclave ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 30 นาที กรองเอากากของแข็งนำไปอบแห้ง จะได้ ได้วัสดุที่ปราศจากสารแทรก เพื่อนำไปวิเคราะห์ ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ของตัวอย่าง ด้วยวิธี modified wood analytical method ต่อไป

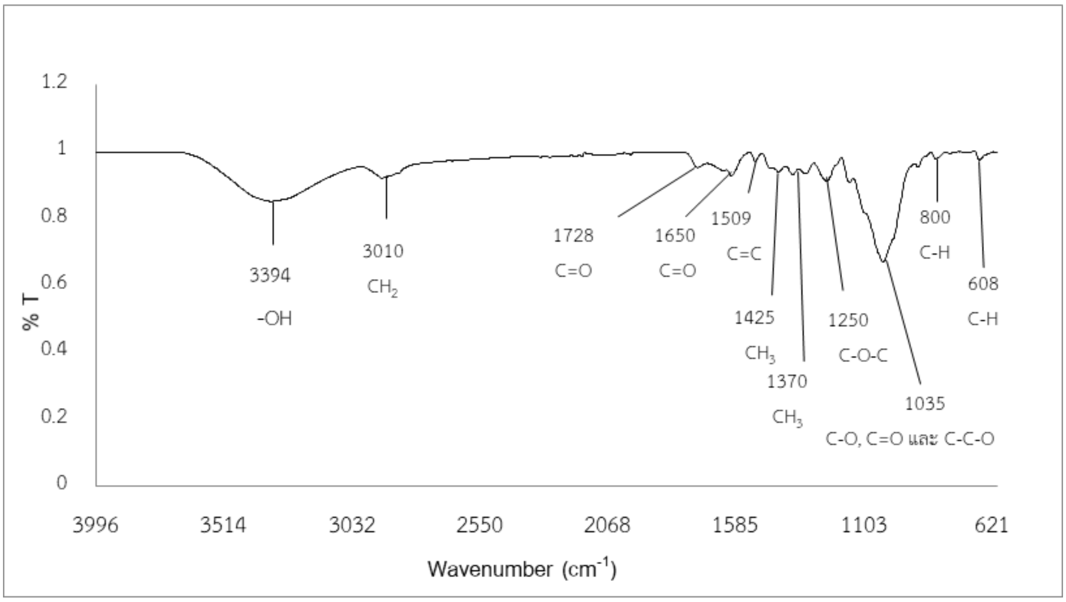
3. ตรวจวัดตรวจปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS โดยใช้เทคนิค UV-VIS spectrophotometry

ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที พร้อมใช้จุกปิดปากหลอดแล้วหยุดปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยการแช่น้ำแข็งทันที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบห าค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นหญ้าเนเปียร์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นหญ้าเนเปียร์ก่อนปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมกับกระบวนการย่อยด้วยเทคนิค ATR-FTIR แสดงผลดังรูปที่ 1 พบว่าที่ตำแหน่ง 3394 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน OH stretching ของเซลลูโลส ที่ตำแหน่ง 3010 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน $–CH_2$ stretching ของเซลลูโลส ที่ตำแหน่ง 1728 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ตำแหน่ง 1650 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=O ในลิกนิน ที่ตำแหน่ง 1509 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=C aromatic ที่มีหมู่แทนที่ในเซลลูโลส ลิก นิน และเฮมิเซลลูโลส ที่ตำแหน่ง 1425 cm^{-1} และ 1370 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน $-CH_3$ ในเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่ตำแหน่ง 1250 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C–O-Caryl-alkyl ในลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ที่ตำแหน่ง 1035 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-O, C=O, C-C-O stretching ในเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ตามลำดับ ที่ตำแหน่ง 608 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-H bending aromatic ในลิกนิน (Mohammed et al., 2015) หมู่ฟังก์ชันดังกล่าวข้างต้นเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Marx et al., 2014) ดังภาพที่ 1



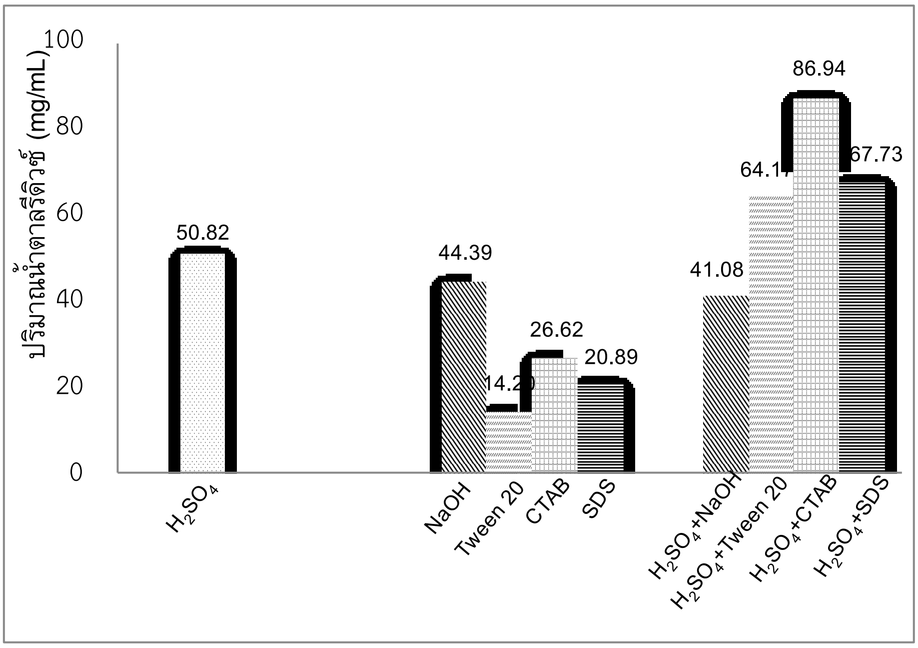
ภาพที่ 1 ATR-FTIR สเปกตรัมของลำต้นหญ้าเนเปียร์

นอกจากนี้จากผลการทดสอบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นหญ้ าเนเปียร์ด้วยวิธี modified wood analytical method แสดงดังตารางที่ 1 พบว่าลำต้นหญ้าเนเปียร์มีองค์ประกอบหลัก คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าลำต้นหญ้าเนเปียร์มีองค์ประกอบของเซลลูโลสอยู่มาก เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยจึงเป็นไปได้ว่าจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากเช่นกัน

ตารางที่ 1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของลำต้นหญ้าเนเปียร์ก่อนปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อย

ตัวอย่าง	ปริมาณ (ร้อยละโดยมวล)			
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	อื่นๆ (คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน, ไขมัน และเถ้า)
วัตถุดิบ	48.56	20.05	30.18	1.21

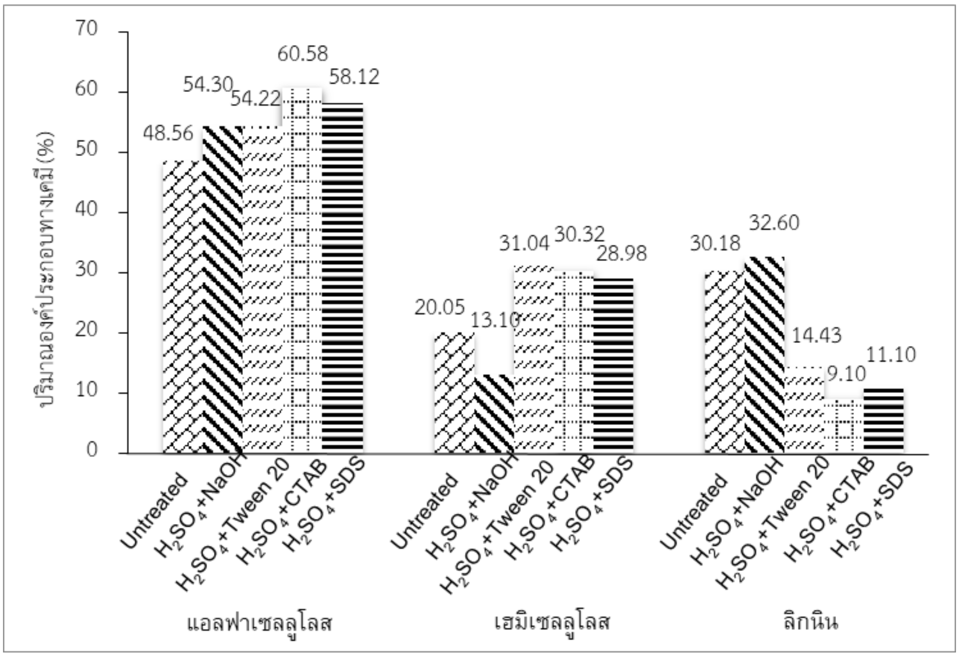
2. ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และองค์ประกอบ ทางเคมีของตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการปรับสภาพ และ การย่อย



ภาพที่ 2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างที่ผ่านวิธีขั้นตอนเดียว

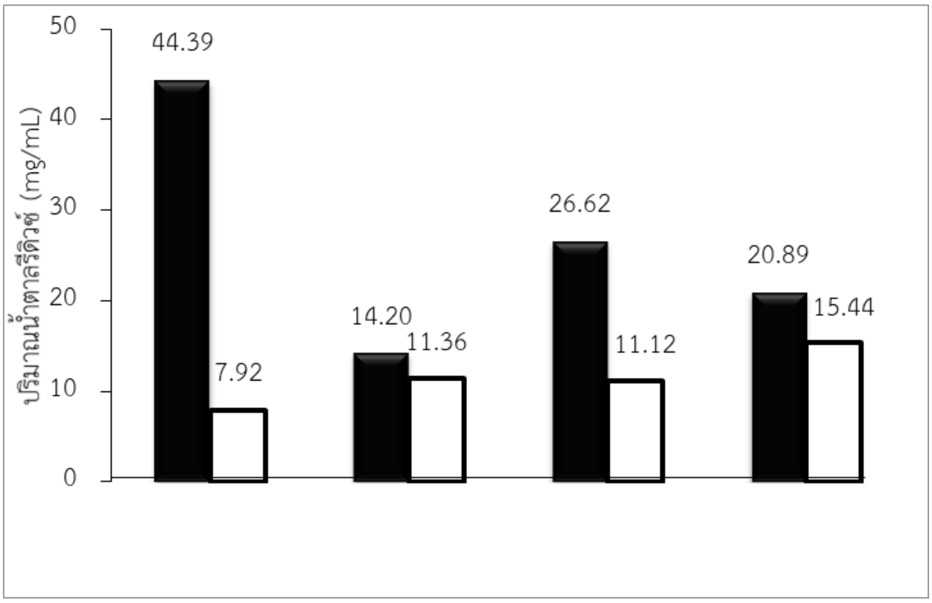
จากภาพที่ 2 ด้วยวิธีขั้นตอนเดียว จะเห็นได้ว่าการใช้กรดซัลฟูริกร่วมกับสารเคมีอื่นๆ พร้อมการ autoclave จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้กรดหรือสารเคมีอื่นเพียงชนิดเดียว และพบว่า เมื่อใช้กรดซัลฟูริกร่วมกับสารลดแรงตึงผิวชนิด CTAB จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดถึง 86.94 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เนื่องจากสารลดแรงตึงผิว ช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส ทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้น สามารถลดแรงตึงผิวของสารที่เป็นของเหลว และเพิ่มความเป็นรูพรุนของวัตถุดิบ และสามารถกำจัดลิกนินได้ดี (Hemmatinejad et al., 2002) ทำให้กรดเข้าไปทำปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะภายในที่เป็นผลึกของลิ กโนเซลลูโลส และเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายโครงสร้างเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ (Wei et al., 2011)

นอกจากนี้การใช้ CTAB ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวกจะเข้าไปช่วยในการทำงานของกรดที่มีการแตกตัวให้ H^+ เช่นกัน ในขณะที่ SDS เป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ อาจเกิดปฏิกิริยาสะเทินกับประจุบวกของกรดจึงทำให้ประสิทธิภาพลดลงมีผลให้ ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง และการใช้ Tween 20 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิด สองประจุ พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่นๆ (Gierer, 1986) ที่ได้กล่าวไว้ว่า ในการใช้ Tween ปรับสภาพเบื้องต้น ถ้าสารละลายมีค่า pH สูงเกินไปจะทำให้เกิดการ neutralized หมู่ฟังก์ชันที่เป็นกรดของวัตถุดิบทำให้บริเวณที่จะเกิดการดูดซับกับสารลดแรงตึงผิว นั้นลดลง โดยจะทำให้ส่วนที่ชอบน้ำของวัตถุดิบลดลงและเหมือนเป็นการเพิ่มส่วนที่ไม่ชอบน้ำด้วย จึงทำให้กำจัดลิกนินได้สูงขึ้น แต่ในงานวิจัยนี้ได้ใช้ Tween 20 ปรับสภาพเบื้องต้นในสภาวะที่เป็นกรด จึงเกิดปรากฏการณ์ตรงกันข้ามกับงานวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้น ดังนั้น Tween 20 จึงสามารถกำจัดลิกนินได้น้อย และส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีปริมาณน้อยด้วยนั่นเอง นอกจากนี้ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้อาจมาจากการ autoclave เนื่องจากการ autoclave ทำให้เกิดแรงดึง (Tensile forces) และความเค้นเฉือน (Shear stress) การ autoclave จึงทำให้โครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสสลายเป็นผลทำให้มีพื้นผิวเพิ่มมากขึ้นช่วยให้สารลดแรงตึงผิวกำจัดลิกนินได้ดี ส่งผลให้มีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย (Chen et al., 2011) และสอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีหลังผ่านกระบวนการปรับสภาพและการย่อย ด้วยวิธีขั้นตอนเดียวเช่นกันดังแสดงในภาพที่ 3



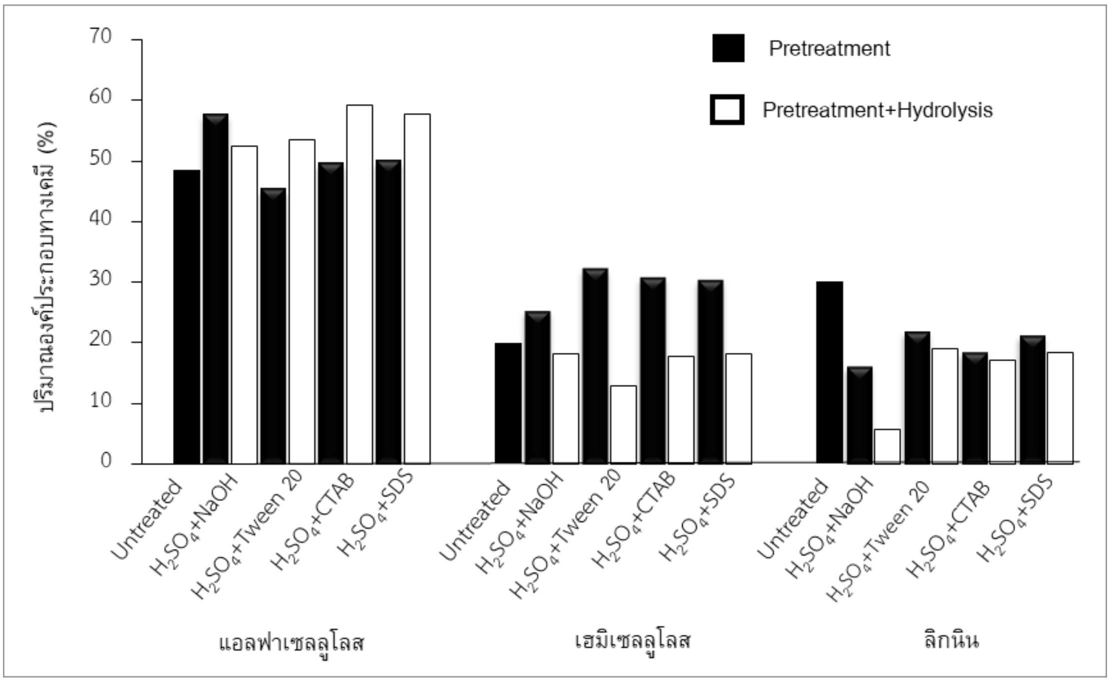
ภาพที่ 3 แสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ปรับผ่านวิธีขั้นตอนเดียว

สำหรับวิธีสองขั้นตอนนั้น นำลำต้นหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพ และการย่อยมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณองค์ประกอบทางเคมีแสดงผลดังภาพที่ 4 และ ภาพที่ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างที่ผ่านวิธีสองขั้นตอน

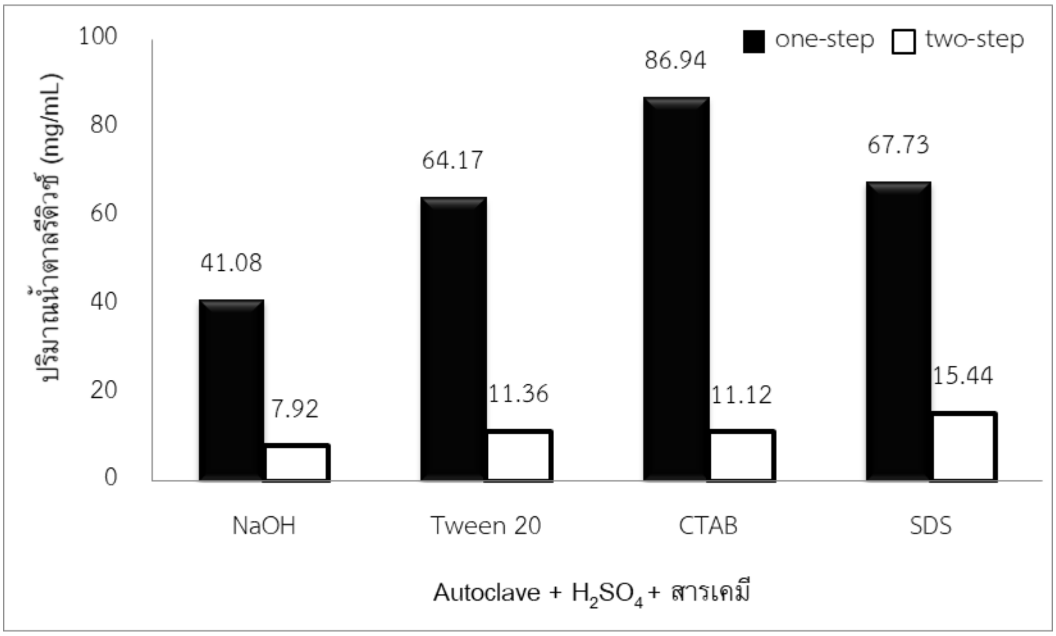
จากภาพที่ 4 จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากวัตถุดิบที่ปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารเคมีทุกชนิดมีปริมาณที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากวิธี ขั้นตอนเดียว แต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของวัตถุดิบที่ผ่านวิธี สองขั้นตอน ไม่ได้แตกต่างกันมากนัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าวัตถุดิบที่ปรับสภาพเบื้องต้นด้วย SDS และย่อยด้วยกรดซัลฟูริกนั้น จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าสารเคมีชนิดอื่นๆ เนื่องจากค่า HLB ของ SDS (40) ที่สูงกว่า Tween 20 (16.7) และ CTAB (10) ที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kurakake และคณะ (Kurakake et al., 1994) ที่ได้กล่าวไว้ว่าเมื่อค่า HLB สูงจะทำให้สารลดแรงตึงผิวสามา รถละลายน้ำได้ดี เมื่อสารลดแรงตึงผิวละลายน้ำแล้วจะเอาส่วนที่เป็น hydrophobic ไปจับกับส่วนที่เป็น hydrophobic ในสายพอลิเมอร์ของลิกนิน ทำให้เกิดการสลายออกมาเป็น hydrophobic degradation products ที่มีโมเลกุลเล็กลง ทำให้สารลดแรงตึงผิวไปล้อมรอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นให้มาอยู่ในชั้นน้ำมากขึ้น จึงกำจัดลิกนินได้ดี นอกจากนี้กรดยังทำหน้าที่ไปย่อยทั้งในโครงสร้างของลิกนินให้แตกออก อีกทั้งทำให้โมเลกุลเล็กๆ อย่างเฮมิเซลลูโลสหลุดออกมา ทำให้พื้นที่ผิวของเซลลูโลสเพิ่มขึ้น (Alvira et al., 2010) เมื่อนำตัวอย่างที่ปรับสภาพเบื้องต้น แล้วมาผ่านกระบวนการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกอีกและวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งผลจะแสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ผ่านวิธีสองขั้นตอน

จากภาพที่ 5 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่มีการปรับสภาพเบื้องต้นด้ว ยสารลดแรงตึงผิวซึ่งสามารถกำจัดลิกนินได้ส่วนหนึ่ง เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกต่อปริมาณลิกนินจะลดลงไม่มากนัก แสดงว่ากระบวนการกำจัดลิกนินจะเป็นผลเนื่องมาจากการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารเคมี แต่วัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารเคมีแต่ละชนิด แล้วย่อยด้วยกรดซัลฟู ริกก็จะกำจัดลิกนินได้ไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นการใช้ NaOH ในกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นที่สามารถกำจัดลิกนินได้ดีที่สุด ซึ่งกลไกการทำงานของด่างนั้นเชื่อว่าจะไปเพิ่มการพองตัวภายในโมเลกุลของการต่อสายพันธะที่เกิดภายในโครงสร้างของไซแลนในเฮ มิเซลลูโลส ความพรุนของวัสดุจะเพิ่มขึ้นได้เมื่อทำการกำจัดสายโซ่ที่เชื่อมต่อภายใน การใช้ด่างเจือจางในวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีผลทำให้เกิดการบวมภายในเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยาทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้นได้ ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส และ สามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นการแยกองค์ประกอบหรือทำลายโครงสร้างของ ลิกนิน (รัช-พล, 2558) อย่างไรก็ตามด้วยวิธี สองขั้นตอนนั้น จะได้เซลลูโลสและน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณน้อย ซึ่งอาจเกิดจากการใช้กรดซัลฟูริกปริมาณมากเกินไปในขั้นตอนการย่อยหลั งจากการปรับสภาพแล้ว อีกทั้งยังมีการทำ autoclave 2 ครั้ง ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง โดยเฉพาะ ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิสูงจะทำให้น้ำตาลสลายตัวทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ข้างเคียงซึ่ งเป็นสารประกอบที่เป็นพิษ (Khawla et al., 2013) เนื่องจากกรด จะทำลายโครงสร้างของน้ำตาลรี ดิวซ์เกิดเป็นสารประกอบที่เป็นพิษ เช่น furfural, 5-hydroxy methyl furfural และสารประกอบฟีนอลิกที่ไปดึงโมเลกุลของไฮโดรเจนและออกซิเจนออกจากโมเลกุลของน้ำตาล จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง (Palmgvist et al., 2002)

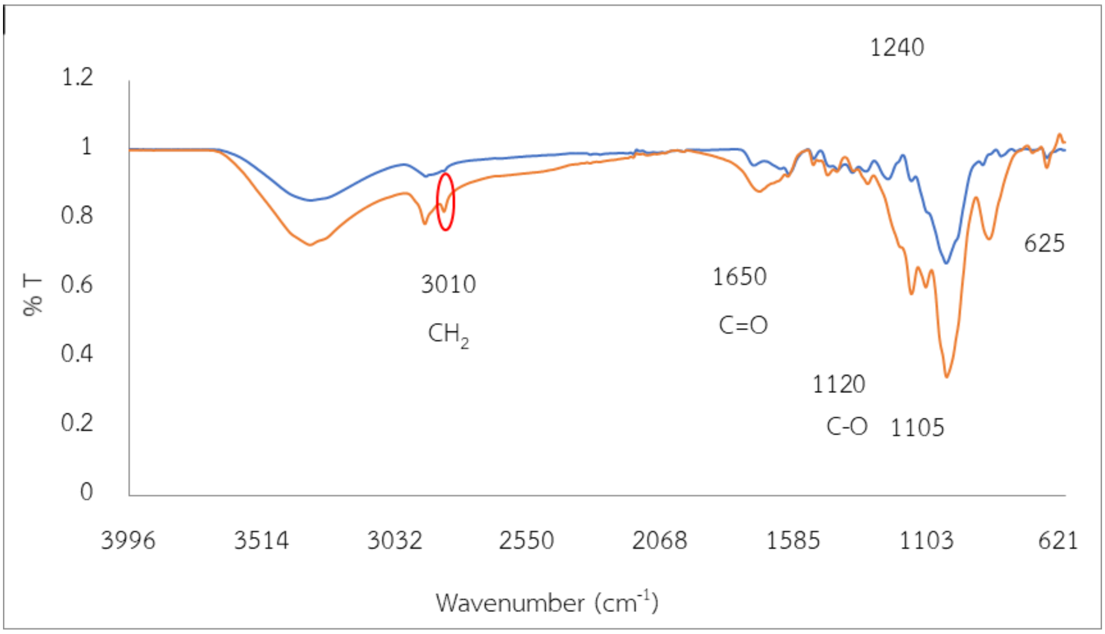
จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของวัตถุดิบที่ปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อยด้วยวิธีขั้นตอนเดียวและวิธี สองขั้นตอนนั้น สามารถสรุปได้ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างที่ผ่านวิธีขั้นตอนเดียวและวิธีสองขั้นตอน

จากภาพที่ 6 จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างที่ปรับสภาพเบื้องต้นด้วยสารเค มีทุกชนิดและการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกของวิธี ขั้นตอนเดียว จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงกว่าวิธี สองขั้นตอน เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของ ตัวอย่าง ที่ปรับสภาพเบื้องต้นด้วย CTAB และการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดอื่นๆซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย ของ Pandey และ Negi ที่ได้ศึกษาผลของการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุบวก สารลดแรงตึงผิวชนิดที่มีประจุลบ และสารลดแรงตึงผิวชนิดที่ไม่มีประจุในการปรับสภาพเบื้องต้นร่วมกับการย่อยด้วยกรดในวัตถุดิบใบ สน พบว่าใบสนที่ปรับสภาพเบื้องต้นด้วย CTAB ร่วมกับการย่อยด้วยกรดจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้ SDS และ Tween 20 ตามลำดับ ซึ่งในโครงสร้างของ CTAB นั้นจะมีส่วนที่เป็น hydrophobic มากกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิด SDS จึงอาจเป็นไปได้ว่าส่วนที่เป็น hydrophobic ของ CTAB นั้น จะสามารถไปจับกับลิกนินได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชนิด SDS จึงกำจัดลิกนินได้ดีกว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จึงมากกว่าเช่นกัน และถึงแม้ว่าในโครงสร้างของ Tween 20 นั้นจะมีส่วน hydrophobic มากกว่า CTAB ก็ตาม แต่โครงสร้างของ Tween 20 จะมีลักษณะเป็นโซ่กิ่งจำนวนมาก จึงทำให้เกิดไมเซลล์ไม่เสถียร ดังนั้น Tween 20 จึงกำจัดลิกนินได้น้อยกว่า CTAB ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ก็จะน้อยกว่า เช่นกัน (Pandey and Negi, 2015) และการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวในการปรับสภาพเบื้องต้นนั้น จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่ สุดทั้งที่มีปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสอยู่มาก ซึ่งอาจเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาสะเทินระหว่าง NaOH และกรดซัลฟิวริก จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงและอาจเกิดจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นน้อยเกินไปและใช้ปริมาณในสัดส่วนที่ไม่เหมาะสมในกระบวนการปรั บสภาพเบื้องต้น (นันทิกา และคณะ, 2554)

เมื่อนำตัวอย่างก่อนและหลังผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นและการย่อยด้วยวิธี ขั้นตอนเดียว ตรวจวัดด้วยเทคนิค ATR-FTIR จะแสดงผลดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดง ATR-FTIR สเปกตราของหญ้าเนเปียร์ก่อน (a) และหลังผ่านวิธีขั้นตอนเดียว (b)

วัตถุดิบหลังจากปรับสภาพเบื้องต้นด้วย CTAB พร้อมการย่อยด้วยกรดซัลฟู ริกร่วมกับการ autoclave จะพบพีคที่ตำแหน่ง 3010 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน $–CH_2$ ที่ตำแหน่ง 1105 cm^{-1} และ 1120 cm^{-1} เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-O stretching ที่เป็นองค์ประกอบของเซล ลูโลสปรากฏขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเซลลูโลสที่ตรวจวัดได้จากวัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมการย่อยแล้วจะเพิ่มมากขึ้น และพบการหายไปอย่างชัดเจนของพีคที่ตำแหน่ง 1650 cm^{-1} ที่เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=O และที่ตำแหน่ง 625 cm^{-1} ที่เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน $-CH_2$ ของลิกนิน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดปริมาณลิกนินที่ลดลงหลังจากวัตถุดิบผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมการย่อยแล้วนอกจากนั้นยังพบการหายไปของพีคที่ตำแหน่ง 1240 cm^{-1} ที่เป็นการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=O ของเฮมิเซลลูโลสที่อาจจะย่อยสลายไปเป็นน้ำตาล

สรุปและวิจารณ์ผล

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีลำต้นของหญ้าเนเปียร์ด้วยเทคนิค ATR-FTIR และวิธี modified wood analytical method แสดงให้เห็นว่าลำต้นหญ้าเนเปียร์มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 48.56 โดยน้ำหนัก ซึ่งเซลลูโลสสามารถเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ และผลิ ตเป็นไบโอเอทานอลได้ ด้วยการปรับสภาพเบื้องต้นพร้อมกับการย่อยลำต้นของหญ้าเนเปียร์โดยการใช้กรดซัลฟูริกและสารลดแรงตึงผิวชนิด CTAB ร่วมกับการทำ autoclave ในขั้นตอนเดียว (one-step method) พบว่าตัวอย่างมีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นและมีปริมาณลิกนินลดลงเป็นร้อยละ 60.58 และ 9.10 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดถึง 86.94 มิลลิกรัม /มิลลิลิตร จึงถือว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดในงานวิจัยนี้ ซึ่งการปรับสภาพพร้อมการย่อยด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย และสามารถลดขั้นตอนในการผลิตไบโอเอทานอลได้ นอกจากนี้จากผลการทดลองข้างต้นยังเป็นข้อมูลที่ช่วยส่งเสริมสนับสนุนให้นำลำต้นหญ้าเนเปียร์มาเป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตไบโอเอทานอลและเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเ ทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ และห้องปฏิบัติการ รวมทั้งทุนสนับสนุนโครงงานจากคณะวิศวกรรมศาสตร์ในการทำการทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ฟาริดา พรหมมา, ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และปราโมทย์ ศิริโรจน์ . 2557. การผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าเนเปียร์ 3 สายพันธุ์ . วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง . ปีที่ 8 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม : 30-40.

ประมุข ภาระกูลสุขสิตย์ . 2555. การผลิตไบโอเอทานอลจากชีวภาพ . ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุ ตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิกา คล้ายชม , เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ และอนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์ . 2554. การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากซางข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด . วารสารวิศวกรรม . ปีที่ 24 ฉบับที่ 75 มกราคม-มีนาคม : 91-102.

รัชพล พะวงศ์รัตน . 2558. กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอล จา ก วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส . วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี . ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน : 2408-1248.

สำนักพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ . หญ้าเนเปียร์พลังงานสีเขียว . [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://webkc.dede.go.th/testmax/node/152 . (20 ธันวาคม 2561).

Alvira, P., Tomas, P.E., Ballesteros, M. and Negro, M.J. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. Bioresour Technol. 101(13): 4581-4861.

Chen, W. H., Pen, B. L, Yu, C.T. and Hwang, W.S. 2011 . Pretreatment efficiency and structural characterization of rice straw by an integrated process of dilute-acid and steam explosion for bioethanol production. Bioresour Technol. 102: 2916-2924.

Gierer, J. 1986. Chemistry of delignification 2. Reactions of lignin during bleaching. Wood Sci. Technol. 20: 1-33.

Gusakov, A.V., Kondratyeva, E. G. and Sinitsyn, A. P. 2011. Comparison of two methods for assaying reducing sugars in the determination of carbohydrate activities. 2011: 1-4.

Hemmatinejad, N., Vahabzadeh, F. and Kordestani, S.S. 2002. Effect of surfactants on enzymatic hydrolysis of cellulosic fabric. Iran Polym J. 11(5): 1026-1265.

Khawla, B.J., Sameh, M., Imen, G., Donyes, F., Dhouha, G., Raoudha, E.G. and Oumema, N.E. 2013. Potato peel as feedstock for bioethanol production: A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. Ind. Crop. Prod. 52: 144–149.

Kurakake, M., Ooshima, H., Kato, J. and Harano, Y. 1994. Pretreatment of bagasse by nonionic surfactant for the enzymatic hydrolysis. Bioresour Technol. 49 (3): 247-251.

Mohammed, I.Y., Abakr, Y.A., Kazi, F.K., Yusup, S., Alshareet, I. and Chin, S.A. 2015. Comprehensive characterization of napier grass as a feedstock for thermo-chemical conversion. Energies. 8: 3403-3417.

Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2002. Fermentation of lignocellulosic hydrolysate: ignition and detoxification. Bioresour Technol. 74: 17-24.

Pandy, A.K. and Negi, S. 2015. Impact of surfactant assisted acid and alkali pretreatment on lignocellulosic structure of pine foliage and optimization of its saccharification parameters using response surface methodology. Bioresour Technol. 192: 115-125.

Qi, B., Chen, X. and Wan, Y. 2010. Pretreatment of wheat straw by nonionic surfactant-assisted dilute acid for enhancing enzymatic hydrolysis and ethanol production. Bioresour Technol. 101: 4875-4883.

Styarini, D., Risanto, L., Aristiawan, Y. and Sudiyani, Y. 2012. Comparison of two analytical methods for compositional analysis of lignocellulosic biomass for bioethanol production. Int. J. Environ Bioenerg. 3(2): 88-97.

Wei, L., Shrestha, A., Tu, M. and Adhikari, S. 2011. Effects of surfactant on biochemical and hydrothermal conversion of softwood hemicellulose to ethanol and furan derivatives. Process Biochem. 46: 1785-1792.