

สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวเพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีบ็อกซ์-เบห์นเคน*

Optimization of Pretreatment of Rice straw for Reducing Sugar Production by Box-Behnken method

เวสราช์ สุนทรชัยบุรณ์ (Waesarat Soontornchai boon)**

รัชพล พะวงค์รัตน์ (Ratchapol Pawongrat)**

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้ศึกษาผลของการปรับสภาพโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากฟางข้าวหลังจากไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพทำได้โดยใช้วิธีบ็อกซ์-เบห์นเคนออกแบบการทดลอง ปัจจัยที่ทำการศึกษามีอยู่ 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณตัวอย่าง (2.5-7.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ระยะเวลาในการปรับสภาพ (1-3 ชั่วโมง) และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.5-2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้แบบจำลองแบบ quadratic มีนัยสำคัญและรูปจำลองการถดถอยมีความเหมาะสม สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพฟางข้าวคือปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.12 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา 2.08 ชั่วโมง และใช้ปริมาณตัวอย่าง 4.62 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 31.24 กรัม/100 กรัมฟางข้าว ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่คำนวณได้จากสมการแบบจำลองพบว่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าน้อยกว่าค่าจากสมการเท่ากับ 2.98 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: การออกแบบวิธีบ็อกซ์-เบห์นเคน การปรับสภาพ น้ำตาลรีดิวซ์ ฟางข้าว

* บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์เรื่อง การผลิตเอทานอลจากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

** ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

จ. นครปฐม 73140 E-mail address: faasrpp@ku.ac.th

Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, 73140 E-mail address: faasrpp@ku.ac.th

Abstract

The effect of NaOH pretreatment for the conversion of rice straw to reducing sugars by an enzymatic hydrolysis was evaluated. The optimization of pretreatment was performed using a three factors Box-Behnken design. The solid loading (2.5-7.5% (w/v)), pretreatment duration (1-3 h), and NaOH concentration (1-3% (w/v)) were thoroughly evaluated. The results revealed that a quadratic model for the optimization of NaOH pretreatment was significant with insignificant lack of fit. The optimal condition for rice straw pretreatment was 1.12% (w/v) NaOH, at 2.08 h, and 4.62% (w/v) solid loading which was able to provide a reducing sugar yield of 31.24 g/100 g biomass. The statistical aberration value between predicted model and the experiment result was 2.98%.

Keyword: Box-Behnken Design, Pretreatment, Reducing sugar, Rice straw

บทนำ

เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นพลังงานทดแทนอีกหนึ่งทางเลือกที่จะนำมาใช้แทนพลังงานสิ้นเปลืองในอนาคต โดยในปัจจุบันเชื้อเพลิงชีวภาพที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ ไบโอดีเซลและไบโอเอทานอล ไบโอเอทานอลสามารถผลิตได้จากอ้อย ข้าวโพด หัวบีท เป็นต้น (Quintero et al., 2008) แต่วัตถุดิบดังกล่าวถือว่าเป็นอาหาร จึงมีการเปลี่ยนเป้าหมายไปสู่ชีวมวลลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีส่วนประกอบของเซลลูโลสที่สามารถนำมาย่อยให้กลายเป็นน้ำตาล เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอลได้ ดังนั้นวัสดุลิกโนเซลลูโลสจึงเป็นที่น่าสนใจ อีกทั้งยังพบได้เป็นจำนวนมาก ราคาถูก ยกตัวอย่างเช่น ชานอ้อย ชังข้าวโพด ใบตอง เป็นต้น (รัชพล, 2554; รัชพล, มาลินี และสุทธิเดช, 2556)

ประชากรส่วนใหญ่ในประเทศไทยประกอบอาชีพเกษตรกรรมโดยเฉพาะการปลูกข้าว ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวถึง 65 ล้านไร่ โดยเป็นที่แน่นอนว่าวัสดุที่เหลือจากภาคเกษตรกรรมที่พบมากคือฟางข้าว ฟางข้าวเป็นวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีจำนวนมากและราคาต่ำ โดยมีปริมาณถึง 25.45 ล้านตันต่อปี (สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน, 2553) วัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลสประกอบไปด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ฟางข้าวมีองค์ประกอบของเซลลูโลสสูง ซึ่งสามารถนำมาเปลี่ยนเป็นกลูโคสเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล แต่อย่างไรก็ตาม วัสดุพวกลิกโนเซลลูโลสจะมีลิกนินอยู่ในผนังชั้นที่สองของผนังเซลล์และในลามาเลลาชั้นกลางห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสของพืช ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าไปย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้ง่าย ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องมีการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส เพื่อให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสอยู่ในสภาพที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสต่อไป

การปรับสภาพด้วยต่างเป็นวิธีที่ช่วยกำจัดลิกนินและทำให้โครงสร้างของเซลลูโลสอ่อนตัวลงเพื่อให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิส (Mcintosh และ Vancov, 2010) ซึ่งถ้ามีการปรับสภาพในสภาวะที่รุนแรงเกินไป อาจเกิดผลเสียต่อโครงสร้างวัสดุลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ปัญหาดังกล่าว การหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือก โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface

Methodology, RSM) และออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken design (BBD) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในการหาสถานะที่เหมาะสมในกระบวนการทางกายภาพ ชีวภาพ และเคมี (Gao และ Gu, 2007) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเงื่อนไขในการผลิตที่เหมาะสม การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนมีจำนวนการทดลองที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับวิธี Central Composite Design (CCD) (สมเกียรติและภูมิรินทร์, 2554) และ Full factorial (Montgomery, 2001) จึงทำให้มีต้นทุนในการทดลองที่ต่ำกว่า วัสดุที่ผ่านการปรับสภาพแล้วจะถูกนำไปย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลด้วยวิธีต่างๆ เช่น ด้วยสารเคมี และเอนไซม์ โดยสารเคมีที่ฤทธิ์เป็นกรดหรือด่างสามารถกัดกร่อนวัสดุต่าง ๆ ตลอดจนเนื้อเยื่อของร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ได้ อีกทั้งยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย ส่วนการใช้เอนไซม์ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพการย่อยที่ดี ให้ปริมาณน้ำตาลที่สูงกว่า ดังนั้นจึงเหมาะแก่กระบวนการผลิตน้ำตาลเพื่อการผลิตเอทานอล (กุสุมาวดี, 2557)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการปรับสภาพฟางข้าวและหาสมการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น โดยวางแผนการทดลองด้วยวิธีบ็อกซ์-เบห์นเคน มี 3 ปัจจัยคือ เวลาในการปรับสภาพ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และปริมาณตัวอย่าง

วิธีการวิจัย

1. วัสดุ

ฟางข้าวที่นำมาศึกษาได้รับความอนุเคราะห์จากคณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (พ.ศ. 2557) ได้มาหลังจากการเก็บเกี่ยวของนิสิตในแปลงนาทดลอง นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาบดเพื่อลดขนาดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (Lab Use Grinder RT-04, ประเทศจีน) โดยขนาดตัวอย่างโดยเฉลี่ยคือ 2 มิลลิเมตร เก็บไว้ในถุงซิปล็อคในโถดูดความชื้น ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำมาใช้ทดลอง

2. วิธีการทดลอง

2.1. ศึกษาการปรับสภาพเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยทำการออกแบบด้วยวิธีบ็อกซ์-เบห์นเคน

การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการย่อยฟางข้าวได้ใช้แผนการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน ด้วยโปรแกรม Design Expert version 7.1.3 (Stat-Ease, MN, USA) โดยปัจจัยที่ศึกษามีทั้งหมด 3 ปัจจัย ได้แก่ X_1 X_2 และ X_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เวลา (นาทีก) และ ปริมาณตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักฟางข้าวต่อปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์) โดยแปรผันค่า X_1 X_2 และ X_3 ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 การทดลอง รวมทั้ง 15 การทดลอง ทำการทดลองทริทเมนต์ละ 3 ซ้ำ ทำการทดลองโดยแช่ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ผลเพื่อการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นฟังก์ชันกับตัวแปรต้น (X_1 X_2 และ X_3) ในรูปแบบของสมการกำลังสอง (Quadratic equation)

ตารางที่ 1 รหัสและสัดส่วนของค่าจริงของปัจจัยใช้ในการทดลอง

ค่าโคด	ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	เวลา (นาที)	ปริมาณตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อ ปริมาตร)
-1	0.5	60	2.5
0	1.25	120	5
1	2	180	7.5

2.2. การไฮโดรไลซิสและวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

นำตัวอย่างแต่ละทริทเมนต์ที่ได้ในข้อ 2.1 มากรองผ่านกระดาษกรองหมายเลข 1 ล้างน้ำกลั่นจน pH เหลือประมาณ 7 จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำตัวอย่างแห้งมาเติมด้วยซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 4.8 ในอัตราส่วน 1:10 นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า iKnowzyme (Reach Bio Technology, ประเทศไทย) ที่ความเข้มข้น 20 FPU/g หรือ 0.4 มิลลิลิตรต่อกรัมตัวอย่าง บ่มไว้ในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

ผลการวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

การหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองโดยวิธีบ็อกซ์-เบห์นเคน ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ เวลา ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณตัวอย่าง จากผลการทดลองพบว่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้อยู่ในช่วง 22.51 ถึง 32.16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสภาวะที่ดีที่สุดได้จากการปรับสภาพด้วยความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ด้วยระยะเวลา 2 ชั่วโมง และปริมาณตัวอย่าง 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงถึง 32.16 กรัมต่อฟางข้าวอบแห้งผง 100 กรัม การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ต้องการศึกษากับค่าการตอบสนองของปัจจัย สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้แบบจำลองการถดถอยที่ระดับนัยสำคัญ $\alpha=0.05$ พบว่าแบบจำลองมีค่า R^2 เท่ากับร้อยละ 98.73 ค่า adjust R^2 เท่ากับร้อยละ 96.44 และค่า Lack of fit มี P-value เท่ากับ 0.0796 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองนี้สามารถใช้ทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้โดยการคำนวณผลผลิตของน้ำตาลรีดิวซ์ สามารถคำนวณได้จากสมการนี้

$$Y = -6.12 + 20.72X_1 + 14.89X_2 + 4.55X_3 - 2.08 X_1X_2 - 0.47X_1X_3 + 0.13X_2X_3 - 6.29X_1^2 - 3.02X_2^2 - 0.46X_3^2 \quad (1)$$

เมื่อ Y คือ ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการทำนาย (กรัมต่อฟางข้าว 100 กรัม); X_1 คือความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร); X_2 คือระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ (ชั่วโมง); X_3 คือปริมาณตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

เมื่อทำการทดลองตามสภาวะที่เหมาะสมซึ่งใช้โปรแกรม Design Expert โดยปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.12 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เวลา 2.08 ชั่วโมง และปริมาณตัวอย่าง 4.62 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 31.24 กรัมต่อฟางข้าว 100 กรัม ซึ่งจากการคำนวณจากแบบจำลองพบว่าได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 32.17 กรัม/100 กรัมฟางข้าว โดยจะเห็นได้ว่ามีผลจากการทดลองและการทำนายมีค่าใกล้เคียง มีความคลาดเคลื่อน 2.98 เปอร์เซ็นต์ จึงถือว่าแบบจำลองดังสมการที่ 1 สามารถใช้ในการทำนายปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ปัจจัยที่มีอิทธิพลทำให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ได้แก่ X_1 คือความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร), X_2 คือระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพ (ชั่วโมง), X_3 คือปริมาณตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร), อิทธิพลร่วมระหว่าง X_1X_2 และ X_1X_3 , อิทธิพลกำลังสองของ X_1 , X_2 และ X_3 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพที่สภาวะต่างๆและย่อยด้วยเอนไซม์

Run	X_1 : ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	X_2 : เวลา (ชั่วโมง)	X_3 : ปริมาณตัวอย่าง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	Y: ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อฟางข้าว 100 กรัม)
1	0.5 (-1)	1 (-1)	5 (0)	23.62 ± 0.44
2	2 (1)	1 (-1)	5 (0)	24.94 ± 0.56
3	0.5 (-1)	3 (1)	5 (0)	28.96 ± 0.17
4	2 (1)	3 (1)	5 (0)	24.05 ± 0.45
5	0.5 (-1)	2 (0)	2.5 (-1)	26.77 ± 0.21
6	2 (1)	2 (0)	2.5 (-1)	25.80 ± 0.51
7	0.5 (-1)	2 (0)	7.5 (1)	27.02 ± 0.16
8	2 (1)	2 (0)	7.5 (1)	22.51 ± 0.55
9	1.25 (0)	1 (-1)	2.5 (-1)	27.09 ± 0.16
10	1.25 (0)	3 (1)	2.5 (-1)	27.61 ± 0.36
11	1.25 (0)	1 (-1)	7.5 (1)	23.84 ± 0.66
12	1.25 (0)	3 (1)	7.5 (1)	25.62 ± 0.52
13	1.25 (0)	2 (0)	5 (0)	31.73 ± 0.26
14	1.25 (0)	2 (0)	5 (0)	32.16 ± 0.47
15	1.25 (0)	2 (0)	5 (0)	31.96 ± 0.42

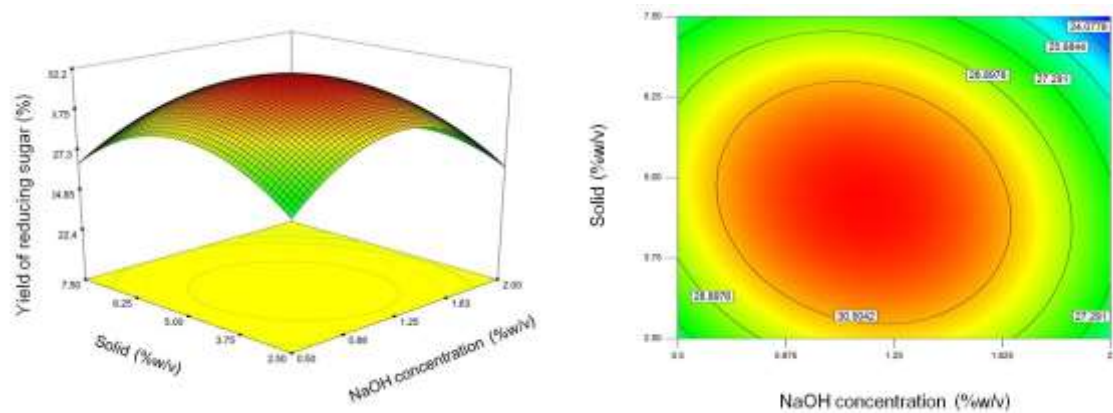
ตารางที่ 3 ตารางแสดงค่าความแปรปรวนของผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังจากการปรับสภาพและไฮโดรไลซิส

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F-value	Prob > F	
Model	133.90	9	14.88	43.20	0.0003	significant
X ₁	10.28	1	10.28	29.86	0.0028	
X ₂	5.70	1	5.70	16.54	0.0097	
X ₃	8.57	1	8.57	24.88	0.0041	
X ₁ X ₂	9.70	1	9.70	28.18	0.0032	
X ₁ X ₃	3.13	1	3.13	9.10	0.0295	
X ₂ X ₃	0.40	1	0.40	1.15	0.3321	
X ₁ ²	46.17	1	46.17	134.07	< 0.0001	
X ₂ ²	33.70	1	33.70	97.86	0.0002	
X ₃ ²	30.81	1	30.81	89.47	0.0002	
Residual	1.72	5	0.34			not significant
Lack of Fit	1.63	3	0.54	11.73	0.0796	
Pure Error	0.09	2	0.05			
Cor Total	135.62	14				

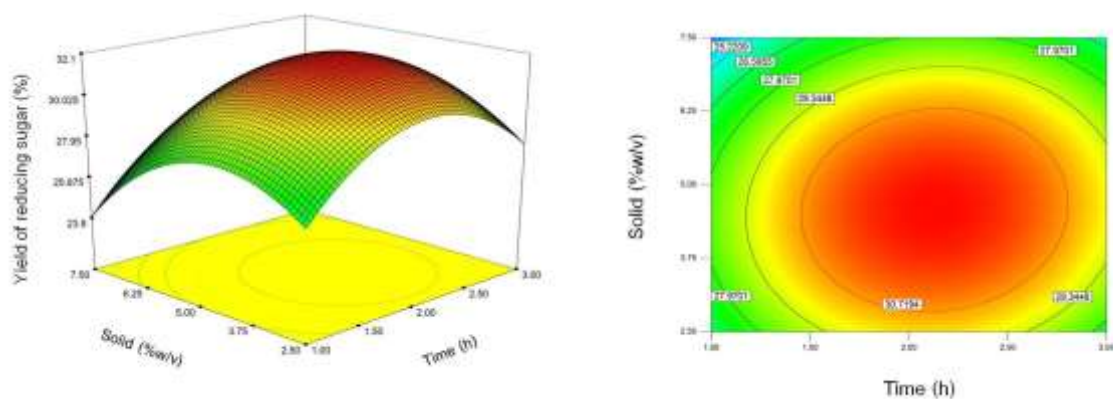
2. ผลการวิเคราะห์อิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

จากภาพที่ 1 ถึง 3 แสดงถึงอิทธิพลของตัวแปรอิสระต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งสามารถแสดงให้อยู่ในรูปกราฟสามมิติและสองมิติ บริเวณที่เป็นสีส้มแดงแสดงว่ามีผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูง เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 1 และ 3 พบว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในช่วง 0.68 ไปถึง 1.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะทำให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูง จากภาพที่ 2 และ 3 ระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพในช่วง 1.5 ถึง 2.5 ชั่วโมง จะทำให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สูง ซึ่งถ้าหากการปรับสภาพในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นสูงหรือต่ำมากเกินไป และระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพมากหรือน้อยเกินไป จะมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ถึงแม้ว่าการปรับสภาพด้วยค่าที่ความเข้มข้นสูง อุณหภูมิสูงและระยะเวลานาน จะช่วยทำให้กำจัดลิกนินได้มากและช่วยในการย่อยได้ดี แต่ถ้าหากมากเกินไปจะทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสบางส่วนถูกทำลาย จึงมีผลต่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลงในกระบวนการไฮโดรไลซิส (Han et al., 2012; Chen et

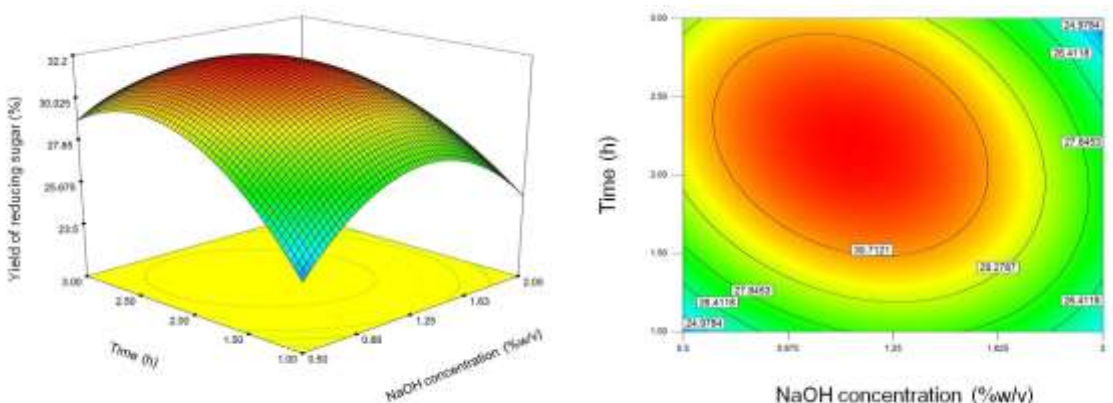
al., 2013) ส่วนปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในช่วง 2.8 ถึง 6.25เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูง



ภาพที่ 1 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) กับปริมาณตัวอย่าง(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)ที่ใช้ในการปรับสภาพฟางข้าวต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์



ภาพที่ 2 อิทธิพลของเวลา(ชั่วโมง)กับปริมาณตัวอย่าง(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)ที่ใช้ในการปรับสภาพฟางข้าวต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์



ภาพที่ 3 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)กับเวลา(ชั่วโมง)ที่ใช้ในการปรับสภาพฟางข้าวต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อทำการทดลองโดยการย่อยฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ พบว่าได้ผลผลิตน้ำตาล 7.74 ± 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลผลิตน้ำตาลน้อยกว่าฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ ฟางข้าวซึ่งเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสจึงมีความจำเป็นที่จะต้องปรับสภาพก่อนการไฮโดรไลซิส จุดประสงค์ของการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลสเพื่อให้โครงสร้างลิกนินแตกหัก กำจัดลิกนินและช่วยให้โครงสร้างของเซลลูโลสอ่อนลง การปรับสภาพที่ดีจะต้องกำจัดลิกนินโดยการทำลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้น้อยที่สุด การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างพบว่าช่วยในการกำจัดลิกนินโดยการทำลายพันธะเอสเทอร์ที่เชื่อมกันระหว่างลิกนินและไซแลน ทำให้เซลลูโลสเกิดบวมตัว และยังช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส (Mcintosh และ Vancov, 2010) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้วัสดุลิกโนเซลลูโลสที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว เมื่อนำไปไฮโดรไลซิสด้วยกรดหรือเอนไซม์จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงกว่าวัสดุที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ เนื่องจากกรดและเอนไซม์สามารถเข้าถึงเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสได้อย่างเต็มที่

งานวิจัยของ Vlasenko และคณะ, 1997 ได้ทำการปรับสภาพฟางข้าวด้วยกรดเจือจาง 0.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสทางการค้า ได้แก่ Speczyme CP (Genencor, USA), Celluclast 1.5L (Novo, Denmark) และ Cellulase 100L (logen, Canada) พบว่าได้ผลผลิตน้ำตาลเท่ากับ 31.04, 24.54, 36.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลองนี้มีค่ามากกว่าฟางข้าวปรับสภาพที่ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Speczyme CP และ Celluclast 1.5L แต่มีค่าน้อยกว่าฟางข้าวปรับสภาพที่ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ Cellulase 100L

สรุปผล

1. การออกแบบการทดลองด้วยวิธี BBD ช่วยในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพฟางข้าว ซึ่งให้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูง โดยสภาวะที่เหมาะสมคือ ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.12 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เวลา 2.08 ชั่วโมง และปริมาณตัวอย่าง 4.62 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะได้ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 31.24 กรัม/100 กรัมฟางข้าว
2. แบบจำลองที่ได้จากการทดลองสามารถนำมาคาดคะเนผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้แม่นยำ
3. เวลา ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และปริมาณตัวอย่าง มีอิทธิพลต่อผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนการศึกษาและงบการทำวิจัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2554 และทุนสนับสนุนงานวิจัย หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

- กุสุมาวดี ฐานเจริญ. (2557). “การใช้ประโยชน์จากผักตบชวาในการผลิตเซลล์จากแบคทีเรียทนร้อนและการนำมาผลิตไบโอเอทานอล” **วารสารเกษตรพระวรุณ** 11(2): 159-166.
- รัชพล พวงศรีรัตน์. (2554). “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลสผักตบชวาโดยหมักน้ำแรงดันสูงเพื่อผลิตเอทานอล.” **Veridian E-Journal, SU** 4(1): 891-901.
- รัชพล พวงศรีรัตน์, มალიณี อ้นภักดี และสุทธิเดช ปรีชารัมย์. (2556). “การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลจากใบตองโดยใช้เทคนิคการตรึงรูปที่แตกต่างกัน.” **Veridian E-Journal, SU** 6(2): 1025-1036.
- สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และภูมินทร์ แจ่มเชื้อ. (2554). “การลดฟองอากาศในกระบวนการผลิตบรรจุภัณฑ์พลาสติกโดยการประยุกต์ใช้การออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์เบ้หันแกน.” ใน: การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม 20-21 ตุลาคม 2554. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จ. ปทุมธานี. 171-175.
- สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน. (2553). เข้าถึงเมื่อ 28 มิถุนายน 2558. เข้าถึงได้จาก <http://www.rmutt.ac.th/?p=27908>.

ภาษาต่างประเทศ

- Chen, Y., M.A. Stevens, Y. Zhu, J. Holmes and H. Xu. (2013). “Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification.” **Biotechnology for Biofuels** 6(8): 1-10.
- Gao H. and W. Y. Gu. (2007). “Optimization of polysaccharide and ergosterol production from *agaricus brasiliensis* by fermentation process.” **Biochemical Engineering Journal** 33: 202-210.
- Han, L., J. Feng, S. Zhang, Z. Ma, Y. Wang and X. Zhang X. (2012). “Alkali pretreated of wheat straw and its enzymatic hydrolysis.” **Brazilian Journal of Microbiology** 43(1): 53-61.
- Mcintosh, S. and T. Vancov. (2010). “Enhanced enzyme saccharification of sorghum bicolor straw using dilute alkali pretreatment.” **Bioresource Technology** 101: 6718-6727.
- Miller, G. (1959). “Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of reducing sugar.” **Analytical Chemistry** 31: 426-29.
- Montgomery, D.C. (2001). “Design and Analysis of Experiments. 17th ed.” **Wiley** New York. USA.
- Quintero, J.A., M.I. Montoya, O.J. Sanchez, O.H. Giraldo and C.A. Cardona. (2008). “Fuelethanolproduction from sugarcane and corn: comparative analysis for a Colombian case.” **Energy (Oxford)** 33: 385-399.
- Vlasenko, E.Y., H. Ding, J.M. Labavitch and S.P. Shoemaker. (1997). “Enzymatic hydrolysis of pretreated rice straw.” **Bioresource Technology** 59:109-119.