การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น เพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับการหมักเอทานอล

The Study on the Optimum Conditions of Concentrated Sulfuric Acid Hydrolysis of Rice Straws for Producing Reducing Sugar for Ethanol Fermentation

ผ่องศรี ศิวราศักดิ์ *

บทคัดย่อ:

การศึกษานี้ใช้วิธีการซิมเพล็กซ์สำหรับหาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อกำหนดตัวแปรคงที่ คือ อัตราส่วนของฟางข้าวต่อกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) ให้มีค่าเท่ากับ 1 ต่อ 30 (กรัมต่อมิลลิลิตร) และตัวแปรแปรผันที่ใช้ คือ เวลา อุณหภูมิ และน้ำหนักกรดซัลฟิวริก พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ ต้องการกรดซัลฟิวริกหนักประมาณ 63 มิลลิกรัม และใช้เวลาย่อยสลายด้วยกรดนาน 38 นาทีที่อุณหภูมิ 147°C ซึ่งทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดสูงสุดประมาณ 8% โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้วิธีการซิมเพล็กซ์หาน้ำหนักของกรดซัลฟิวริกและเวลาย่อยสลายที่อุณหภูมิคงที่เท่ากับ 147°C ต่อไปอีก พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ ต้องการกรดซัลฟิวริกและเวลาย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าและน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าด้วยเช่นกันซึ่งมีค่าประมาณ 16% โดยน้ำหนัก จากการนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้นี้ไปทำการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 เข้มข้น 15% โดยปริมาตร ใช้เวลาหมักนาน 40 ชั่วโมง พบว่า เอทานอลที่ได้มีค่าประมาณ 2.5 % โดยน้ำหนัก

คำสำคัญ : วิธีการซิมพลิกซ์ ฟางข้าวและการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น

Abstract:

The simplex method was applied to find the optimum conditions of concentrated sulfuric acid hydrolysis of rice straws for producing reducing sugar in this study. This method was conducted by using specified ratio of rice straws to 98% (w/w) sulfuric acid of 1:30 (g : mL) as constant parameter and variable parameters were weight of sulfuric acid, hydrolysis time and temperature. It was found that the optimum conditions were required 63 mg sulfuric acid and used hydrolysis time for 37 minutes at 147°C which maximum total reducing sugar obtained of about 8% (w/w). However simplex method was further applied to find weight of sulfuric acid required and hydrolysis time at constant temperature of 147°C. It was found that the optimum conditions were double increased required sulfuric acid weight and hydrolysis time and also double total reducing sugar obtained of about 16 % by weight. This reducing sugar was fermented with 15% by volume *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 for 40 hours to produce ethanol. Obtained ethanol from fermentation was 2.5 % by weight.

Keyword : simplex method, rice straws and concentrated sulfuric acid hydrolysis

*ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

1.บทนำ

วิกฤตพลังงานเกิดขึ้นในสถานการณ์ปัจจุบัน เนื่องจากพลังงานหลักที่ใช้ตั้งแต่อดีตอาศัยปิโตรเลียมซึ่งกำลังจะหมดไปในเวลาไม่นานนักมนุษยชาติจึงจำเป็นต้องค้นคว้าและวิจัยพลังงานทดแทน ประเทศไทยมีศักยภาพที่จะนำพืชผลทางด้านการเกษตรมาแปรรูปให้เป็นพลังงานทดแทน ได้แก่ การผลิตเอทานอลจากการหมักกากน้ำตาล มันสำปะหลัง และอ้อย เพื่อนำมาผสมกับน้ำมันเบนซินที่เรียกว่าแกสโซฮอล์ นอกจากนี้ยังมีของเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกมากมายที่มีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการหมักสำหรับผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนได้เช่นเดียวกัน ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย และกากมันสำปะหลัง เป็นต้น เพียงแต่ทำอย่างไรที่เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในของเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ถูกย่อยสลายให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสหรือเฮกโซสมีคาร์บอนหกอะตอมซึ่งสามารถนำไปหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* หรือจะเป็นน้ำตาลอื่นๆ ได้แก่ เพนโตสซึ่งประกอบด้วยห้าคาร์บอนอะตอมในโมเลกุล การหมักน้ำตาลเพนโตสเพื่อให้ได้เอทานอลต้องใช้ยีสต์สายพันธ์เฉพาะได้แก่ *Zymomonas mobilis* ATCC 31821 (pZB5) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการตัดแต่งยีนส์ ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลที่มีทั้งหกคาร์บอนและห้าคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดให้เป็นเอทานอลจากกระบวนการหมักได้ [1] น้ำตาลหกคาร์บอนและห้าคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายสิ่งเหลือทิ้งทางการเกษตรอาจเรียกอีกอย่างว่าน้ำตาลรีดิวซ์ กระบวนการที่ใช้ผลิตน้ำตาลรีดิวซ์อาจจะใช้กระบวนการหมักหรือการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์จำพวกเชื้อรา ได้แก่ การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากฟางข้าวด้วยการย่อยสลายด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา [2-4] และการบวนการย่อยสลายด้วยกรดซึ่งอาจจะใช้กรดอ่อน [5] หรือกรดแก่เจือจางหรือเข้มข้น โดยอาศัยอุณหภูมิ ความดันและเวลาในการย่อยสลาย [6-9]

เนื่องจากวิธีการซิมเพล็กซ์เป็นวิธีการทางเรขาคณิตวิธีหนึ่งที่ใช้ในการหาจุดสภาวะที่เหมาะสมซึ่งได้จากกระบวนการทำซ้ำเพื่อเข้าหาจุดที่เหมาะสมโดยจะดำเนินการอย่างมีระบบแบบแผนทุกครั้งของการทำซ้ำ คำตอบที่ได้รับจะให้ค่าของฟังก์ชันจุดประสงค์ที่ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับคำตอบครั้งก่อน ทำให้ลดจำนวนของการทดลอง จึงเหมาะสำหรับในกรณีที่มีตัวแปรแปรผันจำนวนมาก [10] การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ต้องการใช้ในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริก (98 % โดยน้ำหนัก) สภาวะเหมาะสมที่ต้องการดังกล่าว คือ น้ำหนักของกรด เวลาที่ต้องการใช้ในการย่อยสลาย และอุณหภูมิ ซึ่งเป็นตัวแปรแปรผัน ผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการทดลองโดยแปรผันตัวแปรทั้ง 3 ค่าไปพร้อมๆ กันในแต่ละการทดลอง จนกว่าจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดและมีค่าคงที่และหาปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้กับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 เมื่อใช้เวลาหมักนาน 40 ชั่วโมง

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 วัสดุ

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ฟางข้าว ขนาดความยาวประมาณ 0.5-1.0 เซนติเมตร และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 ในหลอดอาหารวุ้นเอียงซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก สถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์

อาหารแข็งวายเอ็มเอ (Yeast-Malt-Agar) มีส่วนประกอบ ดังต่อไปนี้ (กรัม) ยีสต์ แอ็กซ์แทรค 3.0, มอลต์ แอ็กซ์แทรค 3.0, เบคโต-เปปโตน 5.0, กลูโคส 20.0, วุ้น 20.0, และปรับปริมาตรให้เป็น 1.0 ลิตรด้วยน้ำอาร์โอ นำสารละลายไปนึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเหลววายเอ็ม (Yeast-Malt) ใช้ส่วนประกอบเหมือนวายเอ็มเอ ยกเว้นไม่ใส่วุ้นและนึ่งฆ่าเชื้อที่สภาวะเหมือนกับข้างต้น

2.3 สารเคมี

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50% และ 17.5% โดยน้ำหนัก สารละลายโพแตสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.5 N และ 0.1 N สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.1 N สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 N, 98 % โดยน้ำหนัก และ 72 % โดยน้ำหนัก สารละลาย 1, 10 ฟีนานโธรลีนโมโนไฮเดรต กลูโคสบริสุทธิ์ ไซโลสบริสุทธิ์ สารละลายฟีนอลเข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก โซเดียมไฮดรอกไซด์เม็ด กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 12 โมลาร์ และ 0.5 นอร์มัล แอลกอฮอล์บริสุทธิ์

2.4 อุปกรณ์

เครื่องชั่งสาร (Analytical balance) บริษัท Sartorius, เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) บริษัท Heidolph รุ่น MR 3001 K, ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, YCO-NO1) บริษัท Gemmy Industrial Corp., ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อผลิตในประเทศไทย, หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) บริษัท Wisconsil Aluminum Foundry Co., Inc. รุ่น 1925 X, เครื่องเขย่า ผลิตในประเทศไทย, เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) บริษัท Shimadzu รุ่น UV-1601, และเครื่องวัดพีเอช (pH meter) บริษัท Utech Instruments รุ่น Cyber scan PC 510

2.5 วิธีการทดลอง

วิเคราะห์องค์ประกอบของฟางข้าวเริ่มต้นก่อนทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟิวริกเข้มข้น และตะกอนฟางหลังจากถูกย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก คือ ปริมาณเซลลูโลส ปริมาณเฮมิเซลลูโลส ตามวิธีของ TAPPI 203 om-88 ปริมาณลิกนินตามวิธีของ TAPPI 222 om-88 และปริมาณเถ้า ตามวิธีของ TAPPI 211 om-85 [11]

วิธีการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นด้วยวิธีการซิมเพล็กซ์ที่มีตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร เริ่มจากกำหนดขอบเขตของตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร คือ น้ำหนักกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) ตั้งแต่ 50-80 มิลลิกรัม ช่วงเวลาที่ใช้สำหรับการทำปฏิกิริยาย่อยสลาย 10-40 นาที และช่วงของอุณหภูมิ 100-150°C โดยที่ให้อัตราส่วนของฟางข้าวต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 1:30 (กรัม/มิลลิลิตร) เป็นตัวแปรคงที่ตลอดการทดลอง จากข้อมูลดังกล่าวนำไปสร้างแผ่นงานโดยใช้สูตรคำนวณตามวิธีการซิมเพล็กซ์ ซึ่งจะให้ค่าของตัวแปรผันได้แก่ น้ำหนักกรด เวลา และอุณหภูมิ เป็นชุดการทดลองทั้งหมด 4 การทดลอง ทำการทดลองโดยแปรผันตัวแปรทั้ง 3 ค่าไปพร้อมๆ กันในแต่ละการทดลอง นำผลที่ได้คือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดของ 4 การทดลองไปเข้าแผ่นงานเพื่อคำนวณและเลือกสภาวะใหม่ซึ่งคือสภาวะของการทดลองที่ 5 จากนั้นใช้วิธีการทำซ้ำจนกว่าจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดและมีค่าคงที่ เป็นอันสิ้นสุดการทำซ้ำ

วิธีการทดลองทำตามลำดับต่อไปนี้ นำฟางข้าว 1 กรัมน้ำหนักแห้งใส่ลงในกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) ตามน้ำหนักกรดซัลฟิวริกที่ต้องการใช้ในแต่ละการทดลองลงขวดทำปฏิกิริยาขนาด 250 มิลลิลิตรจำนวน 3 ขวด แล้วปรับให้เป็นสารละลายน้ำมีปริมาตรเท่ากับ 30 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้แน่นสนิท นำไปใส่ในตู้ลมร้อนซึ่งถูกปรับอุณหภูมิและเวลาตามที่ต้องการเพื่อทำการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรด เมื่อครบกำหนดเวลานำออกจากตู้อบลมร้อน ทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ทำการแยกตะกอนฟางออกจากสารละลายที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และนำตะกอนฟางไปหาองค์ประกอบของฟางข้าวหลังการทำปฏิกิริยา ส่วนสารละลายที่ได้นำมาวัดพีเอชก่อนแล้วปรับพีเอชให้เป็นเบสซึ่งมีค่าพีเอชประมาณ 10-12 จึงนำสารละลายที่ได้นี้ไปเติมกรดซัลฟิวริก (72% โดยน้ำหนัก) จนกระทั่งมีตะกอนเกิดขึ้น วัดพีเอชของสารละลายและทำการแยกตะกอนออกจากสารละลายอีกครั้งหนึ่งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นจึงนำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณไซโลสและกลูโคสตามวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก โดยวัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของไซโลสและกลูโคสในสารละลาย [12] ผลรวมความเข้มข้นของไซโลสและกลูโคสคือน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด นำข้อมูล

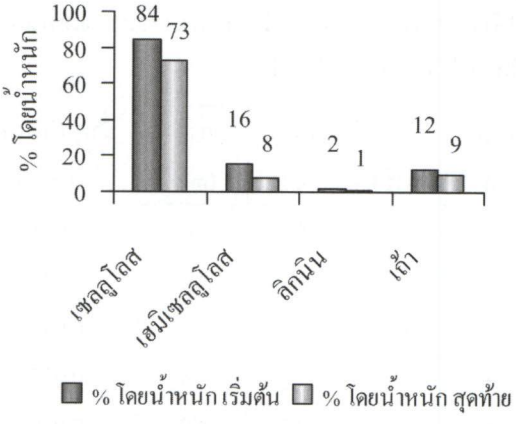
ของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จาก 4 การทดลองไปใส่ในแผ่นงานซึ่งจะคำนวณตามวิธีการซิมเพล็กซ์เพื่อเลือกสภาวะใหม่ น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากสภาวะใหม่นำไปใส่ในแผ่นงานอีกครั้งซึ่งเป็นการเริ่มกระบวนการทำซ้ำของการทดลองถัดไป ทำการทดลองตามสภาวะต่างๆ ที่ได้จนกระทั่งค่าของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดจากการทดลองครั้งสุดท้ายมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการทดลองครั้งรองสุดท้าย ดังนั้น กระบวนการทำซ้ำถือเป็นอันสิ้นสุด เงื่อนไขที่ได้ครั้งสุดท้ายคือสภาวะที่เหมาะสมตามต้องการ

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมจากวิธีการซิมเพล็กซ์สำหรับตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ทำทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นด้วยวิธีการซิมเพล็กซ์สำหรับตัวแปรแปรผัน 2 ตัวแปร โดยที่ขั้นตอนการทดลองเหมือนข้างต้นทุกอย่าง ยกเว้นกำหนดเงื่อนไขขอบเขตของตัวแปรแปรผันใหม่เพียง 2 ตัวแปร คือ ช่วงเวลาที่ใช้สำหรับการทำปฏิกิริยา 40-90 นาที และน้ำหนักกรดซัลฟิวริก (98 % โดยน้ำหนัก) ตั้งแต่ 70-140 มิลลิกรัม และกำหนดให้อัตราส่วนของฟางข้าวต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 1:30 (กรัม/มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิ 147°C เป็นตัวแปรคงที่ตลอดการทดลอง

วิธีการทดลองกระบวนการหมักน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดซึ่งได้มาจากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่สภาวะเหมาะสมด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 เพื่อผลิตเอทานอล มีดังนี้ นำสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ปริมาตร 85 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด มาเติมสารอาหาร (กรัมต่อลิตรของสารละลายน้ำตาล) ดังนี้คือ 0.5 ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต, 0.5 แอมโมเนียมซัลเฟต และ 0.1 แมกนีเซียมซัลเฟต เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน แล้วปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.0 จากนั้นจึงนำไปทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ทำการเพิ่มปริมาณเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 ที่ต้องการใช้ในกระบวนการหมัก โดยการเขี่ยยีสต์จำนวน 1 โคโลนีจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อวายเอ็มเอลงในอาหารวายเอ็มที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อแล้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการหมักนาน 24 ชั่วโมง จึงนำยีสต์ในอาหารวายเอ็มนี้ใส่ลงในสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่เตรียมไว้แล้วข้างต้นขวดละ 15 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยสำลีนำไปเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บสารละลายตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลตามวิธี flash distillation [13] และวัดค่าพีเอชเมื่อผ่านการหมักนาน 40 ชั่วโมง

3 ผลการทดลอง

องค์ประกอบของฟางข้าวก่อนทำปฏิกิริยา และตะกอนฟางหลังจากถูกย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 98% โดยน้ำหนัก พบว่า เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, ลิกนิน และเถ้า ที่ลดลงมีค่าประมาณ 11, 8, 1 และ 3 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ดังแสดงในรูป 1



รูปที่ 1 องค์ประกอบของฟางข้าวเริ่มต้นและตะกอนฟางหลังจากถูกย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 98% โดยน้ำหนัก

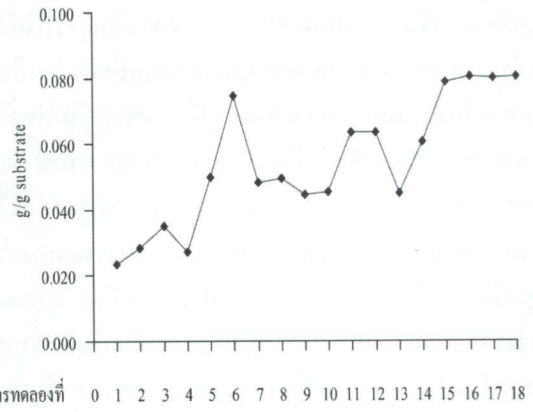
ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริก (98 % โดยน้ำหนัก) โดยน้ำหนัก ด้วยวิธีการซิมเพล็กซ์ที่มีตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร ได้ทำการทดลองตามแบบแผนของวิธีซิมเพล็กซ์ตามสภาวะต่างๆ ทั้งหมด 18 การทดลอง ดังแสดงในตาราง 1 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือการทดลองที่ 17 สำหรับการย่อยสลายฟางข้าวหนัก 1 กรัมน้ำหนักแห้งด้วยกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) หนัก 63 มิลลิกรัม ใช้เวลานาน 38 นาที ที่อุณหภูมิ 147°C น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้คิดเป็น 8% โดยน้ำหนัก ดังแสดงในรูป 2 และ

พีเอชของการทดลองลำดับต่างๆ แสดงในรูป 3

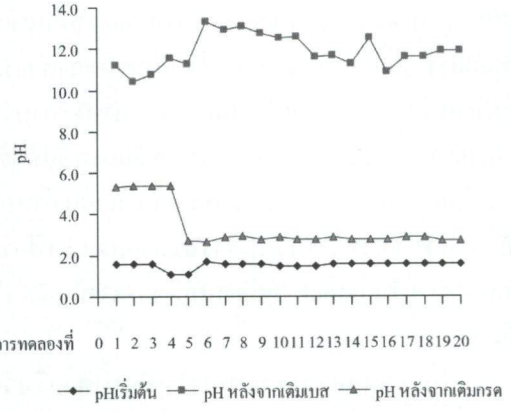
ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นด้วยวิธีการซิมเพล็กซ์ที่ใช้ตัวแปรแปรผัน 2 ตัวแปร ได้ทำการทดลองตามแบบแผนของวิธีซิมเพล็กซ์ตามสภาวะต่างๆ ทั้งหมด 8 การทดลอง ดังแสดงในตาราง 2 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือการทดลองที่ 7 เมื่อใช้ฟางข้าวหนัก 1 กรัม น้ำหนักแห้งถูกย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) หนัก 130 มิลลิกรัม ใช้เวลานาน 80 นาที ที่อุณหภูมิ 147°C น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้คิดเป็น 16.1 % โดยน้ำหนัก ดังแสดงในรูป 4

ตารางที่ 1 สภาวะของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) และน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้ของการทดลองลำดับต่างๆ ตามวิธีการซิมเพล็กซ์ที่ใช้ตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°C)	กรด (mg)	น้ำตาลรีดิวซ์ % (w/w)
1	10	100	50	0.023
2	38	112	57	0.029
3	17	147	57	0.035
4	17	112	78	0.027
5	40	148	80	0.050
6	40	148	59	0.075
7	36	130	62	0.048
8	28	145	63	0.050
9	36	139	65	0.045
10	36	143	66	0.045
11	36	145	67	0.064
12	33	146	66	0.064
13	35	146	56	0.045
14	36	146	60	0.060
15	40	147	60	0.079
16	37	147	63	0.080
17	38	147	63	0.080
18	38	147	63	0.080



รูปที่ 2 น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (98% โดยน้ำหนัก) ที่สภาวะการทดลองลำดับต่างๆตามวิธีการซิมเพล็กซ์ที่ใช้ตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปร

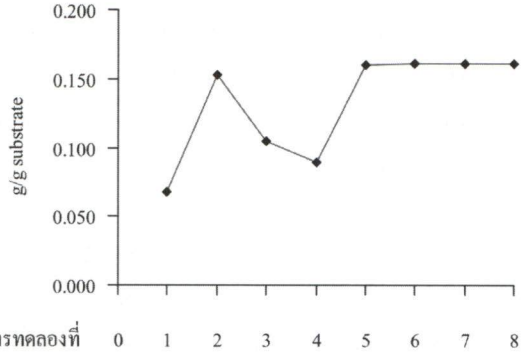


รูปที่ 3 พีเอชของสารละลายสำหรับการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (98% โดยน้ำหนัก) ที่สภาวะการทดลองลำดับต่างๆ

การศึกษานี้ใช้วิธีการซิมเพล็กซ์หาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นสองครั้ง คือ การใช้ตัวแปรแปรผัน 3 ตัวแปรก่อน พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้สูงสุดเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงสุดที่อยู่ในเงื่อนไขขอบเขตคือ 147°C ดังนั้น จึงทำการทดลองใหม่ด้วยวิธีซิมเพล็กซ์ครั้งที่สองโดยให้อุณหภูมิคงที่เท่ากับ 147°C พบว่า น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้สูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า โดยที่ใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น และเวลาที่ใช้สำหรับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่าด้วยเช่นกัน

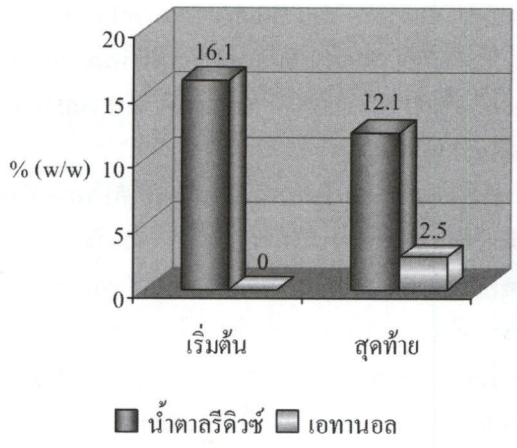
ตาราง 2 สภาวะของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริก (98% โดยน้ำหนัก) และน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้ของการทดลองลำดับต่างๆ ตามวิธีการซิมเพล็กซ์ที่ใช้ตัวแปรแปรผัน 2 ตัวแปร

ลำดับที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°C)	กรด (mg)	น้ำตาลรีดิวซ์ % (w/w)
1	40	147	70	0.067
2	88	147	88	0.152
3	53	147	138	0.105
4	53	147	88	0.089
5	89	147	140	0.160
6	88	147	139	0.161
7	80	147	130	0.161
8	80	147	130	0.161



รูปที่ 4 น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้จากการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (98% โดยน้ำหนัก) ที่สภาวะการทดลองลำดับต่างๆตามวิธีการซิมเพล็กซ์ที่ใช้ตัวแปรแปรผัน 2 ตัวแปร

ผลการทดลองกระบวนการหมักเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดซึ่งได้จากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 ใช้เวลาหมักนาน 40 ชั่วโมง พบว่า เอทานอลที่ได้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.5% (w/w) จากน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดเริ่มต้นประมาณ 16.1% (w/w) และมีน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดเหลืออยู่ประมาณ 12.1% (w/w) ดังแสดงในรูปที่ 5 และพีเอชที่วัดได้มีค่าเฉลี่ยประมาณ 5.3



รูปที่ 5 เอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 นาน 40 ชั่วโมง

3 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

กระบวนการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดจากการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (98% โดยน้ำหนัก) ฟางข้าวซึ่งมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดมีค่ามากกว่าค่าที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ได้จากกระบวนการหมักอย่างมีนัยสำคัญ [2-4] เพราะในกระบวนการหมักที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์ที่ใช้สับสเตรทเป็นเซลลูโลสเพียงอย่างเดียว และกิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากการเจริญเติบโตของเชื้อราถูกยับยั้งด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ ปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกนี้ใช้สภาวะที่ค่อนข้างรุนแรงและเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงมากจึงสามารถทำลายผนังเซลล์ของฟางข้าวและสลายพันธะไกลโคสิดิกระหว่างคาร์บอนตัวที่หนึ่งของกลูโคสกับคาร์บอนตัวที่สี่ของกลูโคสตัวถัดไปในสายโซ่ของเซลลูโลส ระหว่างสายโซ่ของเซลลูโลสจะจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนจึงมีความแข็งแรงและไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในสารละลายกรดแก่หรือสารละลายด่างแก่ ผลที่ได้จากการย่อยสลายคือน้ำตาลเฮกโซส และอื่นๆ สำหรับเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วย เพนโตแซน เฮกโซเซน และโพลียูโรไนด์ จึงถูกย่อยได้ด้วยสารละลายกรดเจือจางและสามารถละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5% สายพอลิเมอร์ของเฮมิเซลลูโลส

มีลักษณะเป็นกิ่งก้านมากกว่าและความยาวสั้นกว่าเซลลูโลส ผลที่ได้จากการย่อยสลายคือน้ำตาลเพนโตส และอื่นๆ อย่างไรก็ตาม เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายในสารละลายกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส

ถึงแม้ว่าการย่อยสลายด้วยกรดจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดมากกว่าที่ได้จากการหมักด้วยวิธีทางชีวภาพก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดนอกจากน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดแล้วยังมีสารอื่นๆ อีกได้แก่ กรดอะซิติก, เฟอร์ฟูรอล และ ไฮดรอกซีเมทธิล-เฟอร์ฟูรอล (hydroxymethyl-furfural) ซึ่งเป็นสารพิษ พิจารณาจากการศึกษานี้ ปริมาณเถ้าของฟางข้าวที่ลดลงประมาณ 3 % โดยน้ำหนัก ได้เปลี่ยนไปอยู่ในสารละลายผสมซึ่งอาจจะเป็นสารใดสารหนึ่งดังกล่าว แต่การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้วิเคราะห์ สารละลายผสมที่ได้ดังกล่าวมีความเป็นกรดมาก จำเป็นต้องมีการปรับพีเอช สิ่งเหล่านี้ทำให้มีปัญหาเมื่อนำน้ำตาลรีดิวซ์ไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ซึ่งต้องการยีสต์ที่มีความทนทานต่อสับสเตรทข้างต้นได้อย่างดี [15]

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดขึ้นกับความเข้มข้นของกรด เวลา และอุณหภูมิ อย่างมีนัยสำคัญ ความคลาดเคลื่อนของการทดลองจึงอยู่ที่การควบคุมอุณหภูมิและเวลาให้มีความแน่นอนมากที่สุด [14] การศึกษานี้ให้ใช้ตู้อบลมร้อนแบบธรรมชาติสำหรับการให้ความร้อนในการย่อยสลาย และไม่มีระบบการกวนในขวดทำปฏิกิริยาทำให้น้ำตาลรีดิวซ์ได้มีค่าน้อย เมื่อเปรียบเทียบน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่ได้กับการศึกษาที่ผ่านมาของ A. Pessoa JR. et al. [9] จะมีค่าน้อยกว่าประมาณ 5% โดยน้ำหนัก เนื่องจากการศึกษาที่อ้างถึงนี้ได้ทำการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกโดยใช้ความร้อนจากหม้อไอน้ำภายใต้ความดัน และมีระบบการกวนเพื่อให้สารละลายผสมและสัมผัสกับฟางข้าวได้อย่างดี

จากการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีในสับสเตรทที่เป็นน้ำตาลคาร์บอนหกในหนึ่งโมเลกุล มาทำการหมักสารละลายน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรดซึ่งเป็นของผสมระหว่างกลูโคส (คาร์บอนหก) และไซโลส (คาร์บอนห้า) และไม่ได้แยกสารพิษออกไป จึงทำให้เอทานอลที่ได้มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับการหมักเอทานอลจากสับสเตรทอื่นๆ ได้แก่ กากน้ำตาล เป็นต้น [16]

วิธีการซิมเพล็กซ์สามารถถูกนำไปใช้หาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายฟางข้าวด้วยกรดซัลฟิวริกได้ดีกว่าการศึกษานี้ ถ้าการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดสามารถทำได้ละเอียดกว่า คือ วิเคราะห์น้ำตาลแยกออกเป็นตัวๆ ได้แก่กลูโคส เพนโตสหรือไซโลส และองค์ประกอบอื่นๆ อย่างไรก็ตาม ผลดีของวิธีการนี้นำไปใช้หาสภาวะที่เหมาะสมได้อย่างมีระบบแบบแผนและรวดเร็ว จึงสามารถลดเวลา การใช้สารเคมีและพลังงานลงได้มาก

เอกสารอ้างอิง

[1] Nhuan P. Nghiem et. al. "Ethanol Production from Rice Straws Hydrolysate by Immboilized Recombination *Zymomonas mobilis* in Fluidized-Bed Reactor" **Pacific Chemical 2000** Honolulu. Hawaii. December 15-19, 2000.

[2] Pongsri Siwarasak and Wattana Wirivutthikorn. 2002. "Experimental Research of Ethanol Fermentation from Rice Straws and Bagasse." **ISAF XIV International Symposium on Alcohol Fuels The Role of Alcohol Fuels in Meeting the Energy, Environmental and Economic Needs of the 21st Century.** Phuket, Thailand: National Metal and Materials Technology Center (MTEC). Session (3) 2002-FT-17

[3] ผ่องศรี ศิวราศักดิ์. 2546. "การศึกษาการหมักเอทานอลจากน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายฟางข้าวด้วยเอนไซม์เชื้อรา *T.reesei.*" **การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมี และเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13 เทคโนโลยีกับการพัฒนาประเทศแบบยั่งยืน.** นครนายก: ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. หน้า B-01 (1-9).

[4] Pongsri Siwarasak 2004. "The Study Cellulose of Rice Straws Enzymatic Hydrolysis Condition with *T. reeseei.*" **Regional Symposium on Chemical Engineering 2004 in conjunction with Enhanchement of ASEAN Chemical Engineering Cooperation.** Bangkok. Faculty of Engineering. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. Abstracts KM-203, p.124.

[5] Qian Xiang, Jun Seok Kim and Y.Y. Lee. 2003. "A Comprehensive Kinetic Model for Dilute-Acid Hydrolysis of Cellulose". **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Vol. 106 no. 1-3:337-352.

[6] Qian Xiang, Y.Y. Lee, Par O. Pettersson and Robert W. Torget. 2003. "Heterogeneous Aspects of Acid Hydrolysis of α- Cellulose". **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Vol. 107 no. 1-3:505-514.

[7] Nurdan EKEN-SARACOGLU and Ferda MUTLU. 1997. "Kinetics of Dilute Acid Catalzed Hydrolysis of Corn Cob Hemicellulose at 98°C". **Journal of Qafqaz University**. Vol. 1. no. 1: 92-96.

[8] Byung-Hwan Um, M. Nazmul Karim and Linda L. Henk. 2003. "Effect of Sulfuric and Phosphoric Acid Pretreatments on Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover". **Applied Biochemistry and Biotechnology**. Vol. 105 no. 1-3:115-126.

[9] A. Pessoa LR. , I.M. Mancilha and S. Sato. 1997. "Acid Hydrolysis of Hemicellulose from Sugarcane bagasse". **Brazilian Journal of Chemical Engineering. Vol. 14 no. 3.**

[10] H. Walters and Parker. 2000. **Sequential Simplex Optimization**. CRC Press LLC. Florida.

[11] Technical Association of Pulp and Paper Industry. Test Method for Determination of Alpha-Beta and Gamma-Cellulose in Pulp. Tappi 203 om-88, 1988.
Test Method for Determination of Moisture in Pulp. Tappi 211 om-86, 1986.
Test Method for Determination of Ash in Pulp. Tappi 211 om-85, 1985.
Test Method for Determination of Acid-Insoluble Lignin in Pulp. Tappi 222 om-88, 1988.

[12] สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, วรสิทธิ์ โทจำปา และประวิทย์ วงศ์คงคาเทพ. 2544. **วิศวกรรมชีวภาพพื้นฐาน** 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[13] สิรินทรเทพ เต้าประยูร และสุรัลักษณ์ รอดทอง. 2530. **บทปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.** สาขาจุลชีววิทยา. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[14] Morjanoff, P.J. and Gray, P.P. 1987 "Optimization of steam Explosion as a Method for Increasing Susceptibility of Sugarcane Bagasse to Enzymatic Saccharification." **Biotechnol. Bioeng.,** 29, 733.

[15] Hespell, R.B.; O'Bryan, P.J.; Moniruzzaman, M. and Bothast, R.J., 1997. "Hydrolysis by Commercial Enzym Mixtures of AFEX-Treated Corn Fiber and Isolate Xylans." **Appl. Biochem. Biotechnol., 62, 87.**

[16] ผ่องศรี ศิวราศักดิ์. 2548. "การศึกษาการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลด้วยเอนไซม์เชื้อรา *Saccharomyces cerevisiae* RIT 02 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339" **วารสารวิจัยและฝึกอบรม.** ปีที่ 8, ฉบับที่ 3 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2548) : 63-70.