

การปรับปรุงฉบับเบื้องต้นของฟางข้าวโดยอโตไฮโดรไลซิส



นายปุณณวิทย์ หาญไพบูลย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

CONTINUOUS PRETREATMENT OF RICE STRAW BY AUTOHYDROLYSIS

Mr. Poonnawit Hanphaiboon



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Chemical Technology

Department of Chemical Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การปรับปรุงแบบเบื้องต้นของฟางข้าวโดยอโตไฮโดรไลซิส

โดย

นายปุณณวิทย์ หาญไพบูลย์

สาขาวิชา

เคมีเทคนิค

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เก็จวดี พุกษาทร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ คูชลธารา)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ดร.ณชพัฒน์ บุญวิทยา)

บุญฉวีวิทย์ หาญไพบุลย์ : การปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่องของฟางข้าวโดยอโตไฮโดรไลซิส. (CONTINUOUS PRETREATMENT OF RICE STRAW BY AUTOHYDROLYSIS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์, 145 หน้า.

ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นแหล่งของวัตถุดิบที่น่าสนใจสำหรับการผลิตเอทานอล เนื่องจากหาง่ายและเกิดทดแทนใหม่ได้ แต่ปัจจัยทางด้านองค์ประกอบและลักษณะโครงสร้างทางกายภาพและเคมีเป็นตัวขัดขวางการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของเซลลูโลสในชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นชีวมวลประเภทนี้จึงต้องผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นเพื่อเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวลโดยอโตไฮโดรไลซิสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์และแบบต่อเนื่อง ชีวมวลหลักที่ใช้ในงานวิจัยคือฟางข้าวแต่เพื่อให้สารป้อนสามารถไหลผ่านเครื่องปฏิกรณ์ได้อย่างต่อเนื่องจึงต้องเติมกากมันสำปะหลังลงไปในการป้อนด้วย ตัวแปรที่ศึกษาในการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่อง ได้แก่ อุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้น (120 และ 140 องศาเซลเซียส) และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ให้กับมอเตอร์ของปั๊ม (5 และ 10 เฮิร์ต) ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการไหลของสารป้อน ภายหลังจากการปรับสภาพเบื้องต้นตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพทั้งหมดจะนำไปเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เซลลูเลส หากภาวะการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากระยะเวลาการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (0 – 144 ชั่วโมง) และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ (0 – 1,200 ไมโครลิตรต่อ 1.2 กรัมชีวมวลแห้ง) พบว่าการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลสามารถเกิดได้สมบูรณ์ที่ระยะเวลาการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเท่ากับ 24 ชั่วโมงและปริมาณเอนไซม์ 1,000 ไมโครลิตรต่อ 1.2 กรัมชีวมวลแห้ง ผลการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อประสิทธิภาพของการปรับสภาพเบื้องต้น ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงมาเปลี่ยนเป็นน้ำตาล การย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดสูงกว่าการย่อยฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและการย่อยชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการปรับสภาพประมาณ 2.5 และ 1.5 เท่า ตามลำดับ ในอีกทางหนึ่งการศึกษากิจกรรมของอุณหภูมิการปรับสภาพ (120 - 200 องศาเซลเซียส) เพิ่มเติมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ สรุปได้ว่าเมื่อพิจารณาจากร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดและปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นร่วมกัน อุณหภูมิการปรับสภาพชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่เหมาะสม คือ 160 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ร้อยละผลได้กลูโคสทั้งหมดเป็น 39.64

ภาควิชา เคมีเทคนิค

ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เคมีเทคนิค

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556



# # 5472256023 : MAJOR CHEMICAL TECHNOLOGY

KEYWORDS: LIGNOCELLULOSIC BIOMASS / AUTOHYDROLYSIS / CELLULASE /  
PRETREATMENT / RICE STRAW / CASSAVA WASTE

POONNAWIT HANPHAIBOON: CONTINUOUS PRETREATMENT OF RICE STRAW  
BY AUTOHYDROLYSIS. ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMKIAT  
NGAMPRASERTSITH, Ph.D., 145 pp.

Lignocellulosic biomasses are interesting feedstocks for ethanol production due to their abundance and renewability. But physico-chemical structural and compositional factors of them hinder the saccharification of cellulose in the lignocellulosic biomasses. Thus, the biomasses must be pretreated to enhance the enzymatic saccharification of cellulose. This research studied the pretreatment of lignocellulosic biomasses by autohydrolysis in batch and continuous plug-flow reactors. Feed in this work was rice straw mixed with cassava waste to make the slurry be continuously fed into the continuous reactor. In continuous pretreatment step, the effects of pretreatment temperatures (120 and 140 °C) and motor utility frequencies (5 and 10 Hz), relating to feed rate, were experimentally investigated. After the pretreatment, the entire pretreated sample was subjected to enzymatic saccharification by cellulase. The suitable conditions for enzymatic saccharification were also examined within the saccharification time of 0 – 144 hr and enzyme loading of 0 – 1,200 ul/1.2 g dry solid. It was found that the enzymatic saccharification is complete at 24 hr of saccharification time and 1,000 ul of enzyme loading/1.2 g dry solid. The results from continuous pretreatment revealed that the temperature is the most important factor on pretreatment efficiency. The overall glucose yield was increased when saccharified biomass pretreated at high temperature. When pretreatment temperature was 140 °C and motor utility frequency was 10 Hz, the overall glucose yield was increased approximately 2.5-fold and 1.5-fold over untreated rice straw and untreated slurry, respectively. On the other hand, further study about the effects of temperatures (120 - 200 °C) on pretreatment process in a batch reactor was performed. It was concluded that when considering both overall glucose yield and inhibitor formation, the optimum temperature to pretreat rice straw mixed with cassava waste was 160 °C, providing the overall glucose yield of 39.64%

Department: Chemical Technology      Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Technology      Advisor's Signature .....

Academic Year: 2013

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ งามประเสริฐสิทธิ์ และดร. เรืองวิทย์ สว่างแก้ว ที่กรุณาเสียสละเวลาในการให้ความรู้และคำแนะนำที่ดีตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเคมีเทคนิคที่ให้ความเห็นเพื่อปรับปรุงแก้ไขทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เก่งวลี พฤกษาทร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประพันธ์ คูชลธारा กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และดร. ณัฏพัฒน์ บุญวิทยา กรรมการจากภายนอก ที่กรุณารับเชิญเป็นกรรมการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีปิโตรเคมีและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและเทคโนโลยี บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)

ขอขอบคุณบุคลากรของภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ รวมถึงความรู้ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆ ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ในภาควิชาเคมีเทคนิค นายชิตพล ชำนาญสิทธิ์ และ นางสาวอภิษฎา สังข์ทอง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และผู้อยู่เบื้องหลังทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ และสนับสนุนเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูป.....	ฎ
สารบัญตาราง.....	ด
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ชีวมวล.....	6
2.2 ชีวมวลที่ใช้ในงานวิจัย.....	9
2.2.1 ฟางข้าว.....	9
2.2.2 กากมันสำปะหลัง.....	10
2.3 ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	11
2.3.1 เซลลูโลส.....	12
2.3.2 เฮมิเซลลูโลส.....	14
2.3.3 ลิกนิน.....	15
2.4 กระบวนการผลิตเอทานอล.....	16
2.5 การผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	18
2.5.1 ปัจจัยที่เป็นข้อจำกัดสำหรับการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	18
2.5.1.1 ความเป็นผลึกของเซลลูโลส (Crystallinity of cellulose).....	19
2.5.1.2 พื้นที่ผิวที่เอนไซม์สามารถเข้าถึงได้ (Enzymatic accessible area).....	19
2.5.1.3 อิทธิพลของลิกนิน.....	20

2.5.1.4 อิทธิพลของเฮมิเซลลูโลส .....	21
2.5.2 การปรับสภาพชีวมวลเบื้องต้น .....	22
2.5.2.1 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ .....	24
2.5.2.2 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางความร้อน .....	25
2.5.2.3 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี .....	27
2.5.2.4 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ .....	29
2.5.3 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาล .....	30
2.5.3.1 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรด .....	30
2.5.3.2 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ .....	31
2.5.4 การหมักเอทานอล .....	35
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	36
บทที่ 3 เครื่องมือและวิธีการดำเนินงานวิจัย .....	40
3.1 เครื่องมือและสารเคมี .....	40
3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย .....	40
3.1.2 วัสดุดิบและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย .....	44
3.2 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย .....	45
3.2.1 การเตรียมชีวมวลตั้งต้น (ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง) .....	45
3.2.2 การหาวิธีเตรียมฟางข้าวและการศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลัง .....	46
3.2.3 การปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องด้วยออโตไฮโดรไลซิส .....	47
3.2.4 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ .....	49
3.2.5 การวิเคราะห์ผล .....	50
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	53
4.1 ผลการวิเคราะห์ร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนินและเถ้าในชีวมวลตั้งต้น .....	53
4.2 ผลของการเตรียมชีวมวล .....	55
4.2.1 ศึกษาวิธีการเตรียมชีวมวล .....	55
4.2.2 ศึกษาปริมาณตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารป้อนเป็นชีวมวลผสมระหว่าง ฟาง ข้าวและกากมันสำปะหลัง .....	58
4.3 การศึกษากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง .....	61

4.3.1	ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อร้อยละ น้ำหนักที่สูญเสียไปในระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น.....	61
4.3.2	ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อ องค์ประกอบในของเหลวหลังปรับสภาพ .....	66
4.3.3	ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อ ประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์.....	69
4.3.4	คุณมวลในกระบวนการทั้งระบบ.....	72
4.4	การปรับสภาพชีวมวลในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ .....	74
4.4.1	ผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อร้อยละน้ำหนักสูญเสียของชีวมวลในระหว่างการปรับ สภาพเบื้องต้น .....	74
4.4.2	ศึกษาผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อองค์ประกอบในของเหลวหลังปรับสภาพ .....	75
4.4.3	ศึกษาผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์.....	81
4.5	ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Saccharification) ด้วยเอนไซม์ .....	84
4.5.1	เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล .....	84
4.5.2	ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล .....	85
4.5.3	ผลของตัวยับยั้งต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลหลังปรับสภาพ .....	87
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	89
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	89
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	90
รายการอ้างอิง	.....	91
ภาคผนวก.....	.....	97
ภาคผนวก ก	การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวล .....	98
ภาคผนวก ข	กราฟมาตรฐาน (Calibration curve).....	107
ภาคผนวก ค	เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง .....	110
ภาคผนวก ง	ข้อมูลการทดลองและการคำนวณ.....	115
ภาคผนวก จ	ข้อมูลอื่น ๆ.....	127
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	.....	145

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2-1 วัฏจักรของชีวมวล .....	6
รูปที่ 2-2 ฟางข้าว .....	9
รูปที่ 2-3 กากมันสำปะหลัง .....	10
รูปที่ 2-4 ภาพถ่าย SEM ของเซลลูโลสบริสุทธิ์ (กำลังขยาย 5000 เท่า).....	13
รูปที่ 2-5 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส .....	13
รูปที่ 2-6 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเฮมิเซลลูโลส .....	14
รูปที่ 2-7 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของลิกนิน.....	15
รูปที่ 2-8 มอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของลิกนิน .....	16
รูปที่ 2-9 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบตั้งต้นชนิดต่าง ๆ .....	18
รูปที่ 2-10 โครงสร้างของชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส .....	21
รูปที่ 2-11 ผลลัพธ์ที่คาดหวังของการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวล .....	23
รูปที่ 2-12 ตัวบ่งชี้ที่มีโอกาสเกิดขึ้นระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น.....	23
รูปที่ 2-13 เครื่องปฏิกรณ์ที่มีการไหลสำหรับการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนอัดความดัน.....	27
รูปที่ 2-14 กลไกการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสโดยใช้กรด.....	30
รูปที่ 2-15 กลไกการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสโดยใช้เอนไซม์ .....	32
รูปที่ 2-16 กลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ .....	34
รูปที่ 3-1 ถังกวน.....	40
รูปที่ 3- 2 เครื่องปฏิกรณ์ความดันสูง .....	41
รูปที่ 3-3 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง.....	42
รูปที่ 3-4 ภาพเขียนของ Progressive cavity pump .....	42
รูปที่ 3-5 เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ.....	43
รูปที่ 3-6 ตู้ควบคุม .....	44
รูปที่ 3-7 แผนภาพกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง.....	48
รูปที่ 3-1 ถังกวน.....	40
รูปที่ 3- 2 เครื่องปฏิกรณ์ความดันสูง .....	41
รูปที่ 3-3 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง.....	42
รูปที่ 3-4 ภาพเขียนของ Progressive cavity pump .....	42
รูปที่ 3-5 เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ.....	43
รูปที่ 3-6 ตู้ควบคุม .....	44

รูปที่ 3-7 แผนภาพกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง..... 48

รูปที่ 4-1 สัญญาณ UV-Visible Detector จากเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียส เทียบกับสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.... 58

รูปที่ 4-2 สัญญาณจากเครื่อง GC-MS/MS ของของเหลวภายหลังการปรับสภาพของกากมันสำปะหลัง และฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ..... 61

รูปที่ 4-3 ร้อยละน้ำหนักร้อยเสียทั้งหมดในการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนืองที่ภาวะต่าง ๆ..... 62

รูปที่ 4-4 ร้อยละน้ำหนักร้อยเสียขององค์ประกอบต่าง ๆ ในชีวมวลระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนืองที่ภาวะต่าง ๆ..... 63

รูปที่ 4- 5 ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนืองที่ภาวะต่าง ๆ เทียบกับชีวมวลก่อนผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น ..... 65

รูปที่ 4-6 น้ำหนักของเซลลูโลสต่อเอมิเซลลูโลสในชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนืองที่ภาวะต่าง ๆ เทียบกับชีวมวลก่อนผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น ..... 66

รูปที่ 4-7 ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระและกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ..... 68

รูปที่ 4-8 ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ..... 68

รูปที่ 4-9 ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ และชีวมวลที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 16.26 กรัมต่อลิตร (Enzyme activity = 16.94 FPU/ml) ..... 70

รูปที่ 4-10 ขั้นตอนโดยรวมของการผลิตสารละลายกลูโคสจากชีวมวล..... 72

รูปที่ 4-11 ร้อยละน้ำหนักร้อยเสียของชีวมวลผสมภายหลังที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ..... 74

รูปที่ 4-12 ร้อยละน้ำหนักร้อยเสียของกากมันสำปะหลังภายหลังที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ..... 75

รูปที่ 4-13 ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระและไซโลสอิสระในของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ..... 76

รูปที่ 4-14 การไฮโดรไลซ์ของสายโซ่น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม..... 77

รูปที่ 4-15 ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ..... 77

รูปที่ 4-16 การไฮโดรไลซ์ของสายโซ่น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม..... 78

**รูปที่ 4-17** ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลว  
 ภายหลังจากปรับสภาพกากมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบดซ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ..... 79

**รูปที่ 4-18** ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระในของเหลวภายหลังจากปรับสภาพชีวมวลผสมและกากมัน  
 สำปะหลังอย่างเดียวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบดซ์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ..... 80

**รูปที่ 4-19** ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่  
 ภาวะต่าง ๆ มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส  
 สกัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้น  
 ของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme  
 activity = 23.85 FPU/ml)..... 81

**รูปที่ 4-20** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่  
 ภาวะต่าง ๆ มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส  
 สกัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้น  
 ของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme  
 activity = 23.85 FPU/ml)..... 83

**รูปที่ 4-21** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น  
 มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดส่วนชีวมวล  
 แห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อยตั้งแต่ 0 – 144 ชั่วโมง และความเข้มข้นของ  
 กลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 15.38 กรัมต่อลิตร (enzyme activity  
 = 16.02 FPU/ml)..... 85

**รูปที่ 4-22** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น  
 มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย  
 24 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ตั้งแต่ 0 - 1200 ไมโครลิตรต่อชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม และความเข้มข้นของ  
 กลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 15.38 กรัมต่อลิตร (enzyme activity  
 = 16.02 FPU/ml)..... 86

**รูปที่ 4-23** ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพ  
 เบื้องต้น มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดส่วน  
 ชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของ  
 กลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme activity  
 = 23.85 FPU/ml)..... 88

**รูปที่ ก-1** แผนผังสรุปวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบชีวมวลของ Van Soest..... 103

**รูปที่ ข-1** กราฟมาตรฐานสำหรับกลูโคส ..... 107

**รูปที่ ข-2** กราฟมาตรฐานสำหรับไซโลส ..... 108

**รูปที่ ข-3** กราฟมาตรฐานสำหรับเฟอร์ฟูรอล ..... 108



รูปที่ ข-4 กราฟมาตรฐานสำหรับ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ ..... 109

รูปที่ ค-1 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จาก UV-VIS detector ของเครื่องโครมาโท กราฟของเหลว สมรรถนะสูงจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเฟอร์ฟูรอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 113

รูปที่ ค-2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จาก Refractive index detector ของเครื่องโครมาโทกราฟ ของเหลวสมรรถนะสูงจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ..... 114

รูปที่ จ-1 แผนภาพแสดงค่าความดันตลอดการทดลองที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ..... 128

รูปที่ จ-2 ตัวอย่างอุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์ตลอดการทดลองที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส 128

รูปที่ จ-3 ลักษณะของชีวมวลภายหลังจากการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ ..... 129

รูปที่ จ-4 ลักษณะของของเหลวภายหลังจากการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ ..... 129

รูปที่ จ-5 พื้นผิวของฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 50 เท่า) ..... 131

รูปที่ จ-6 พื้นผิวของฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 1000 เท่า)..... 131

รูปที่ จ-7 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 50 เท่า)..... 132

รูปที่ จ-8 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 1000 เท่า) ..... 132

รูปที่ จ-9 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า) ..... 133

รูปที่ จ-10 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้า ที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)..... 133

รูปที่ จ-11 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้า ที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า) ..... 134

รูปที่ จ-12 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้า ที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)..... 134

รูปที่ จ-13 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้า ที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า) ..... 135

รูปที่ จ-14 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้า ที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)..... 135

รูปที่ จ-15 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบ แบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)..... 136

รูปที่ จ-16 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบ แบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า) ..... 136



**รูปที่ จ-31** พื้นผิวของซีมวอลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 50 เท่า) ..... 144

**รูปที่ จ-32** พื้นผิวของซีมวอลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)..... 144



## สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2-1 แหล่งของชีวมวลที่สำคัญในประเทศไทย.....	7
ตารางที่ 2-2 ตัวอย่างของชีวมวลตั้งต้น, เทคโนโลยีการแปลงสภาพ, และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ .....	8
ตารางที่ 2-3 แสดงปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในของเหลือทิ้งทางการเกษตรและของเสียชนิดต่าง ๆ .....	11
ตารางที่ 2-4 ปริมาณพลังงานที่ต้องใช้ในการบดชีวมวล.....	25
ตารางที่ 2-5 เปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรดกับด้วยเอนไซม์.....	33
ตารางที่ 4-1 ร้อยละองค์ประกอบของฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง).....	54
ตารางที่ 4-2 การประเมินหาวิธีการเตรียมสารป้อนที่เหมาะสม .....	56
ตารางที่ 4-3 ร้อยละองค์ประกอบของฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง).....	57
ตารางที่ 4-4 องค์ประกอบในของเหลวภายหลังปรับสภาพเบื้องต้นแบบแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ความดัน 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที.....	60
ตารางที่ 4-5 ปริมาณกลูโคสอิสระที่ติดไปกับของแข็งเปียกก่อนนำไปย่อยด้วยเอนไซม์.....	71
ตารางที่ 4-6 คุณภาพของกระบวนการผลิตกลูโคสจากการย่อยชีวมวลผสมที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่ภาวะต่าง ๆ.....	73
ตารางที่ 4-7 ปริมาณกลูโคสอิสระที่ติดบนของแข็งเปียกก่อนนำไปย่อยด้วยเอนไซม์.....	88
ตารางที่ ง-1 ปริมาณของฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง.....	115
ตารางที่ ง-2 ปริมาณของฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบคทีเรีย.....	115
ตารางที่ ง-3 น้ำหนักของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง... ..	116
ตารางที่ ง-4 ร้อยละขององค์ประกอบต่าง ๆ ในชีวมวลทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง .....	116
ตารางที่ ง-5 ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง.....	117
ตารางที่ ง-6 น้ำหนักของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบคทีเรีย และร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพ.....	117
ตารางที่ ง-7 ความเข้มข้นของกลูโคสและตัวบ่งชี้ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง .....	118

ตารางที่ ง-8 ความเข้มข้นของน้ำตาลและตัวยับยั้งในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ .....	118
ตารางที่ ง-9 ความเข้มข้นและร้อยละผลได้ของกลูโคสภายหลังการย่อยชีวมวลทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง .....	119
ตารางที่ ง-10 ความเข้มข้นและร้อยละผลได้ของกลูโคสภายหลังการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ .....	119
ตารางที่ ง-11 ผลของการย่อยชีวมวลภายหลังปรับสภาพที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ณ เวลาในการย่อยต่าง ๆ.....	120
ตารางที่ ง-12 ผลของการย่อยชีวมวลภายหลังปรับสภาพที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ตั้งแต่ 0 - 1200 ไมโครลิตรต่อชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม .....	120
ตารางที่ จ-1 ผลการวิเคราะห์แบบประมาณของชีวมวลผสม (ฟางข้าวร้อยละ 3.5 และกากมันสำปะหลังร้อยละ 3.5 เทียบกับของเหลวที่ใช้ในการปรับสภาพ) .....	127
ตารางที่ จ-2 ผลการวิเคราะห์แบบแยกธาตุของชีวมวลผสม (ฟางข้าวร้อยละ 3.5 และกากมันสำปะหลังร้อยละ 3.5 เทียบกับของเหลวที่ใช้ในการปรับสภาพ) .....	127
ตารางที่ จ-3 ปริมาตรกรดซัลฟิวริก 4% ที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์หาโอลิโกแซ็กคาไรด์ .....	130

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

กิจกรรมส่วนใหญ่ทั้งในภาคอุตสาหกรรม ภาคครัวเรือน หรือแม้แต่ภาคเกษตรกรรม ล้วนต้อง  
ใช้พลังงานแทบทั้งสิ้น ดังนั้นจึงปฏิเสธไม่ได้ว่าพลังงานได้กลายมาเป็นปัจจัยที่ 5 ในโลกยุคปัจจุบัน  
แหล่งพลังงานหลักที่ใช้ในปัจจุบันคือ แหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น น้ำมันดิบ ถ่านหิน และ  
ก๊าซธรรมชาติ ซึ่งได้มาจากปิโตรเลียมที่กำลังมีปริมาณลดลงและอาจหมดไปในอนาคต ประกอบกับ  
การบริโภคพลังงานในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกมีปริมาณที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากประชากรโลกที่เพิ่มขึ้น  
ดังนั้นผู้เกี่ยวข้องทางด้านพลังงานทั่วโลกจึงมีความพยายามในการค้นคว้าและวิจัยเพื่อหาแหล่ง  
พลังงานทางเลือกใหม่ที่มีปริมาณเพียงพอและสามารถใช้ทดแทนแหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล  
ขณะเดียวกันก็ต้องเป็นพลังงานที่มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมด้วย ประเทศไทยเป็นประเทศ  
เกษตรกรรมมีวัตถุดิบทางการเกษตรและวัตถุดิบที่เป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรหลังจากการ  
เก็บเกี่ยวหรือแปรรูปเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเชื้อเพลิงชีวภาพหรือพลังงานชีวภาพ (Bio-fuel or bio-  
energy) ซึ่งเป็นพลังงานจากชีวมวล จึงนับเป็นหนึ่งในเป้าหมายหลักของยุทธศาสตร์การพัฒนา  
พลังงานหมุนเวียนที่สะอาด เพื่อเพิ่มความมั่นคงด้านพลังงานของประเทศไทยในระยะยาว

เอทานอล (Ethanol) เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่ได้จากการแปรรูปชีวมวลรูปแบบหนึ่งซึ่งสามารถ  
นำไปใช้ทดแทนเชื้อเพลิงจากฟอสซิลได้โดยตรง ในปัจจุบันเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกชนิดหนึ่ง  
ที่ได้รับความสนใจและได้ถูกนำมาใช้ทดแทนน้ำมันแกโซลีนหรือน้ำมันเบนซินอย่างแพร่หลาย การ  
ผลิตเอทานอลชีวภาพในปัจจุบันใช้การหมักน้ำตาลกลูโคสด้วยยีสต์ในภาวะที่เหมาะสม วัตถุดิบที่ใช้  
เป็นชีวมวลตั้งต้นในการผลิตเอทานอลในเชิงอุตสาหกรรมเป็นวัตถุดิบที่ให้น้ำตาลหรือแป้งสูง เช่น  
ข้าวโพด อ้อยและมันสำปะหลัง เป็นต้น หรือผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมแป้งและน้ำตาล เช่น  
กากน้ำตาล อย่างไรก็ตามวัตถุดิบดังกล่าวเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์ จึงไม่เป็นการพัฒนาพลังงาน  
อย่างยั่งยืนในระยะยาว เนื่องจากถ้ามีการนำพืชอาหารเหล่านี้ไปผลิตเป็นพลังงานมากขึ้นอาจเกิด  
ความขาดแคลนทำให้เกิดการแข่งขันด้านราคาของวัตถุดิบ ส่งผลต่อเสถียรภาพของราคาพลังงาน ใน  
ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาการนำวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic  
biomass) เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย และซังข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรที่

เกษตรกรส่วนมากมักกำจัดทิ้งโดยการเผาทำลาย มาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตเอทานอล วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญ 3 องค์ประกอบได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน สัดส่วนของแต่ละองค์ประกอบขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ก่อนเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอล วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสต้องผ่านการย่อย (Saccharification) ด้วยเอนไซม์หรือกรด เพื่อแปรรูปเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส แต่องค์ประกอบและโครงสร้างทั้งทางกายภาพและเคมีของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นตัวขัดขวางการย่อยเซลลูโลส ทำให้ปริมาณกลูโคสที่ได้ไม่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นก่อนกระบวนการย่อย วัตถุดิบต้องผ่านกระบวนการที่สำคัญอีกกระบวนการหนึ่งคือ การปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment) วัตถุประสงค์ของการปรับสภาพเบื้องต้น คือ ทำให้เซลลูโลสสามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดีขึ้นและเพิ่มอัตราเร็วของการย่อย โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทั้งทางกายภาพและเคมีของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น การเพิ่มพื้นที่ผิวที่เอนไซม์เข้าถึงได้ การกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส และการลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส เป็นต้น การปรับสภาพเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพในปัจจุบันมีหลากหลายกระบวนการ ซึ่งแต่ละกระบวนการมีขั้นตอน ภาวะและปัจจัยที่ต้องควบคุม และมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกันไป สำหรับกระบวนการแปรรูปชีวมวลไปเป็นเอทานอล การปรับสภาพเบื้องต้นถือเป็นขั้นตอนที่มีค่าใช้จ่ายสูงที่สุด แต่มีศักยภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการ ซึ่งค่าใช้จ่ายส่วนนี้อาจจะลดลงได้ผ่านการวิจัยและพัฒนาในอนาคต ในปัจจุบันเทคนิคการปรับสภาพเบื้องต้นจำนวนมากได้ถูกพัฒนาขึ้นมา ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ล้วนเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น การปรับสภาพโดยใช้สารเคมี และการปรับสภาพโดยออโตไฮโดรไลซิส เป็นต้น

โครงการวิจัยนี้มุ่งศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่องของฟางข้าวโดยออโตไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากไม่มีการใช้สารเคมีในการปรับสภาพเบื้องต้น เพื่อศึกษาวิธีดำเนินการและหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นโดยออโตไฮโดรไลซิสแบบต่อเนื่อง

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่องของฟางข้าวโดยออโตไฮโดรไลซิส
2. ศึกษาตัวแปรที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นและการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์

### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นของซีมวอล
2. วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของซีมวอลได้แก่ ปริมาณความชื้น และปริมาณเถ้า และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของซีมวอล ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน
3. ศึกษากระบวนการอโตไฮโดรไลซิสของซีมวอลและหาภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการโดยตัวแปรที่ศึกษาในงานวิจัย ได้แก่ อุณหภูมิการปรับสภาพ และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนสู่มอเตอร์ (Utility frequency) ของปั๊ม
4. ศึกษาการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ของซีมวอลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น เทียบกับซีมวอลเริ่มต้น โดยตัวแปรที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ เวลาการย่อย ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ต่อน้ำหนักของซีมวอลแห้ง และผลของตัวยับยั้งต่อกระบวนการย่อย วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของซีมวอลทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการ และวิเคราะห์องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ของแข็งและของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นและการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

### 1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาและรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นของซีมวอล โดยซีมวอลที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง
2. เตรียมวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย
  - 2.1. เตรียมฟางข้าวโดยนำไปผ่านการบดหยาบให้มีขนาดประมาณ 1-3 เซนติเมตร
  - 2.2. หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างซีมวอล (ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง) และน้ำ
3. ศึกษาการใช้เครื่องปฏิกรณ์อโตไฮโดรไลซิสแบบต่อเนื่อง
4. วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของซีมวอล
  - วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของซีมวอลได้แก่ ปริมาณความชื้น และปริมาณเถ้า
  - วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของซีมวอล ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน
  - วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของซีมวอลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)



5. ศึกษาผลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้น ได้แก่
  - อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส): 120 - 200
  - ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนสู่มอเตอร์ของบีม (เฮิร์ต): 5 - 10
6. วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวล
  - วิเคราะห์องค์ประกอบ และปริมาณในผลิตภัณฑ์ของเหลว โดยเครื่องมือวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC)
  - วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปของชีวมวลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)
  - ร้อยละการละลายของชีวมวลและองค์ประกอบในชีวมวล (% solubilization)
  - วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในผลิตภัณฑ์ของแข็งภายหลังผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น
7. นำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นมาเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ และเทียบกับชีวมวลเริ่มต้น โดยตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่
  - เวลาการย่อย (ชั่วโมง): 0 - 144
  - ปริมาณเอนไซม์ต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง (u/1.2g dry biomass): 0 - 1200
  - ผลของตัวบ่งชี้ต่อกระบวนการย่อย : ล้าง/ไม่ล้างชีวมวลก่อนการย่อย
8. วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์
  - วิเคราะห์องค์ประกอบ และปริมาณในผลิตภัณฑ์ของเหลว โดยเครื่องมือวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC)
  - ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมด (% overall glucose yield)
  - ร้อยละการละลายของชีวมวล (% solubilization)
  - วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปของชีวมวลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)

## 9. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการวิจัย และเขียนวิทยานิพนธ์

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

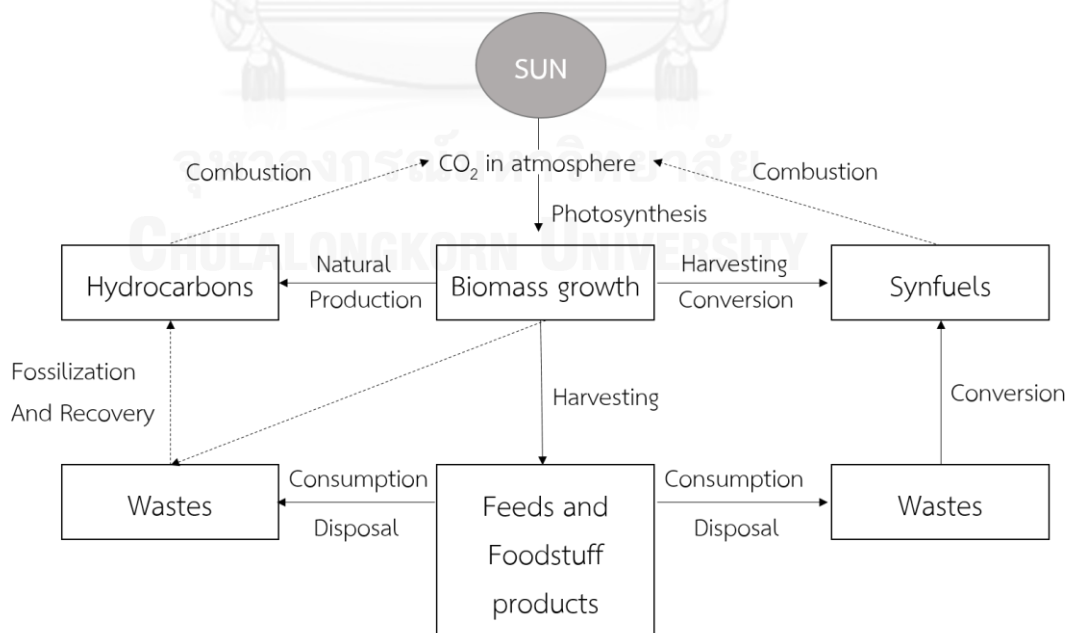
ได้ภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการอโตไฮโดรไลซิสของฟางข้าว  
ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องและการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์



## บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ชีวมวล

ชีวมวล (Biomass) คือ วัตถุหรือสสารที่ได้มาจากสิ่งมีชีวิตหรือองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิต เช่น ต้นไม้ พืชที่มีส่วนประกอบเป็นแป้งและน้ำตาล ถ่านหิน แกลบ วัชพืชต่าง ๆ หรือแม้กระทั่งขยะและมูลสัตว์ เป็นสารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติ เช่น พลังงานจากดวงอาทิตย์ถูกกักเก็บผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช เป็นต้น ในอดีตชีวมวลส่วนมากมักจะถูกปล่อยทิ้งเพื่อให้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ในแปลงเพาะปลูก หรืออาจถูกเผาทำลายโดยเกษตรกรเพื่อเตรียมพื้นที่ในการเพาะปลูกสำหรับฤดูกาลต่อไป ซึ่งไม่ก่อให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุดทั้งยังส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม แต่เมื่อพิจารณาถึงสมบัติของชีวมวลจะพบว่าแหล่งพลังงานที่ถูกกักเก็บไว้นั้นนับเป็นแหล่งพลังงานที่มีศักยภาพ อีกทั้งชีวมวลถือเป็นพลังงานที่ไม่มีวันหมดเนื่องจากวงจรการผลิตชีวมวลมีระยะเวลาที่สั้นเมื่อเทียบกับแหล่งพลังงานจากฟอสซิล เช่น ถ่านหินและน้ำมัน นอกจากนี้การใช้พลังงานจากชีวมวลยังส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากปริมาณก๊าซเรือนกระจกในชีวมวลมีปริมาณที่ต่ำเมื่อเทียบกับเชื้อเพลิงฟอสซิลและการใช้พลังงานจากชีวมวลไม่เป็นการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์สุทธิในชั้นบรรยากาศ [1]



รูปที่ 2-1 วงจรของชีวมวล [2]

ในรูปที่ 2-1 แสดงให้เห็นวัฏจักรของชีวมวล ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการแปรรูปชีวมวลไปเป็นพลังงานจะถูกนำกลับมาสร้างเป็นสารอาหารผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม ในกระบวนการแปรรูปและการผลิตผลผลิตทางการเกษตรต่าง ๆ จะมีชีวมวลเหลือทิ้งอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นพลังงานจากชีวมวลจึงถือเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญอย่างมาก แหล่งผลิตชีวมวลที่สำคัญของประเทศไทยแสดงดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 แหล่งของชีวมวลที่สำคัญในประเทศไทย [2]

ชนิดของชีวมวล	แหล่งผลิต
ฟางข้าว	ไร่นา
แกลบ	โรงสีข้าว
กากมันสำปะหลัง	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง
กากและกะลาปาล์ม	โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบ
กากอ้อย (ชานอ้อย)	โรงงานน้ำตาล
ซังข้าวโพด	ไร่ข้าวโพด โรงงานผลิตอาหารสัตว์
เศษไม้	โรงเลื่อยไม้ สวนยางพารา และโรงงานผลิตไม้อัด
กากและกะลามะพร้าว	สวนมะพร้าว โรงงานแปรรูปเนื้อมะพร้าว
มูลสัตว์	โรงเลี้ยงสัตว์
ขยะชุมชน	สถานที่ทิ้งขยะ
ส่าเหล้า	โรงงานผลิตเอทานอล

คนไทยนำชีวมวลมาใช้เป็นพลังงานมาเป็นเวลานานแล้ว โดยการนำไปผลิตเพื่อให้เป็นพลังงานความร้อน เช่น จากการใช้ไม้ฟืนโดยตรงหรือจากถ่าน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามสิ่งที่ขาดคือการใช้พลังงานเหล่านี้ให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด ดังนั้นตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันทั่วโลกจึงให้ความสนใจในการศึกษาและวิจัยเพื่อนำชีวมวลมาใช้ให้เกิดประสิทธิภาพโดยการนำมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ (Biofuel) ซึ่งอาจอยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ สำหรับกระบวนการแปรสภาพของชีวมวลไปเป็นพลังงานนั้นสามารถแบ่งออกเป็นกระบวนการหลักได้ 3 กระบวนการได้แก่ กระบวนการแปรสภาพทางกายภาพ กระบวนการแปรสภาพทางเคมีความร้อน และกระบวนการแปรสภาพทางชีวเคมี ในตารางที่ 2-2 แสดงตัวอย่างของพืชชีวมวลที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ กระบวนการแปรสภาพชีวมวล และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่สามารถผลิตได้จากชีวมวล

ตารางที่ 2-2 ตัวอย่างของชีวมวลตั้งต้น, เทคโนโลยีการแปลงสภาพ, และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ [3]

ชีวมวลตั้งต้น	เทคโนโลยีการแปลงสภาพ	ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้
ชีวมวลบนพื้นดิน เช่น	ทางกายภาพ เช่น	ถ่านชาร์
- ต้นไม้	- Densification	ไฟฟ้า
- พืช	- Drying	ไอน้ำ
- หญ้า	- Extraction	ความร้อน
	- Separation	ก๊าซไฮโดรเจน
	- Size reduction	ก๊าซมีเทน
ชีวมวลในแหล่งน้ำ เช่น	ทางเคมีความร้อน เช่น	ก๊าซสังเคราะห์
- พืชในแหล่งน้ำจืด	- Carbonization	เอทานอล
- พืชในแหล่งน้ำเค็ม	- Chemical hydrolysis	เอสเทอร์
- สาหร่าย	- Combustion	อีเทอร์
	- Cracking	เมทานอล
	- Dehydrogenation	และสารเคมีอื่น ๆ
ขยะ เช่น	- Hydrogenation	
- จากการเกษตรกรรม	- Partial oxidation	
- จากอุตสาหกรรม	- Pyrolysis	
- จากป่าไม้	- Steam reforming	
- จากชุมชน	ทางชีวเคมี เช่น	
	- Aerobic fermentation	
	- Anaerobic fermentation	
	- Biophotolysis	
	- Composting	
	- Enzymatic	

ในกระบวนการแปรสภาพชีวมวลหลากหลายวิธีที่ได้มีการศึกษาวิจัยมีบางกระบวนการถูกนำไปใช้จริงในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม แต่บางกระบวนการยังอยู่เพียงในระดับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากปัจจุบันยังไม่คุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์จากเชื้อเพลิงฟอสซิล อีกทั้งยังมีข้อจำกัดบางประการในการผลิตพลังงานจากชีวมวล ได้แก่

- การขนส่งและการเก็บรักษาชีวมวลทำได้ยาก เนื่องจากชีวมวลมีความหนาแน่นต่ำทำให้ไม่เหมาะสมต่อการขนย้ายในระยะทางที่ไกลกับแหล่งผลิตของชีวมวล และยังต้องการพื้นที่ในการจัดเก็บในขนาดที่มาก
- ความไม่คงที่ของปริมาณชีวมวล เพราะชีวมวลบางชนิดจะมีช่วงฤดูการผลิตที่จำเพาะ นอกจากนี้สภาพภูมิอากาศในแต่ละปียังส่งผลต่อปริมาณชีวมวลที่สามารถผลิตได้

แต่อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายอย่างที่เป็นแรงขับเคลื่อนในการส่งเสริมการผลิตพลังงานจากชีวมวล อันได้แก่ ผลกระทบต่อคุณภาพสิ่งแวดล้อมเมื่อเทียบกับพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล ลดความเสี่ยงต่อวิกฤตพลังงานในอนาคต และช่วยลดการนำเข้าพลังงานจากต่างประเทศ เป็นต้น

## 2.2 ชีวมวลที่ใช้ในงานวิจัย [4]

### 2.2.1 ฟางข้าว



รูปที่ 2-2 ฟางข้าว

- ลักษณะทั่วไป** : ขนาดเล็กยาวมีภายในกลวง เป็นของเหลือทิ้งภายหลังการเกี่ยวข้าว
- แหล่ง** : ถ้าเกี่ยวข้าวด้วยแรงคน ฟางข้าวจะกองอยู่บริเวณลานตากข้าว ถ้าเกี่ยวข้าวด้วยเครื่องจักร ฟางข้าวจะถูกทิ้งไว้ในบริเวณนาข้าว
- การนำไปใช้งาน** : ฟางข้าวมีประโยชน์หลายอย่าง เช่น เป็นอาหารสัตว์ คลุมดิน เพาะเห็ด ฟาง และใช้ในอุตสาหกรรมทำกระดาษ เป็นต้น แต่ยังมีฟางข้าวอีกมากที่ไม่ได้นำไปใช้ โดยประมาณ 1 ใน 3 ของฟางข้าวภายหลังการเก็บเกี่ยว มักถูกเผาทิ้ง
- จุดเด่น** : องค์ประกอบหลักของฟางข้าวคือเซลลูโลสซึ่งสามารถนำมาย่อยเพื่อให้เป็นกลูโคสสำหรับป้อนเข้าสู่การหมักเอทานอลหรือผลิตเป็นสารเคมีได้หลากหลาย
- จุดด้อย** : รวบรวมได้ยาก เพราะอยู่อย่างกระจัดกระจาย

### 2.2.2 กากมันสำปะหลัง



รูปที่ 2-3 กากมันสำปะหลัง



- ลักษณะทั่วไป** : มีลักษณะละเอียด สีขาว ส่วนมากมีความชื้นสูงประมาณร้อยละ 80
- แหล่ง** : เป็นเศษที่เหลือจากการผลิตแป้งมันสำปะหลังในโรงงาน
- การนำไปใช้งาน** : นำไปใช้ผสมเป็นอาหารสัตว์ หรือใช้ในการเพาะเห็ดฟาง
- จุดเด่น** : ในกากมันสำปะหลังประกอบด้วยแป้งที่เหลืออยู่มากกว่าร้อยละ 50 (คิดเทียบน้ำหนักแห้ง) ซึ่งเป็นแหล่งของน้ำตาลกลูโคส และการรวบรวมทำได้ง่ายกว่าฟางข้าวเพราะแหล่งของกากมันสำปะหลังถูกเก็บไว้ที่โรงงานผลิตแป้งมัน
- จุดด้อย** : ความชื้นสูงมากทำให้ไม่คุ้มค่าในการขนส่ง

### 2.3 ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส [5-8]

ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบหลัก 3 องค์ประกอบคือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่น ๆ อีกเล็กน้อย เช่น เพกติน โพรตีน สารแทรก และเถ้า เป็นต้น ชีวมวลแตกต่างกันย่อมมีปริมาณองค์ประกอบที่ต่างกัันดังแสดงในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 แสดงปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในของเหลือทิ้งทางการเกษตรและของเสียชนิดต่าง ๆ [9]

ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส	เซลลูโลส (%)	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)
hardwood stems	40 – 55	24 -40	18 -25
softwood stems	45 – 50	25 – 35	25 – 35
nut shells	25 – 30	25 – 30	30 -40
corn cobs	45	35	15
grasses	25 – 40	35 – 50	10 – 30
paper	85 – 99	0	0 – 15
wheat straw	30	50	15
sorted refuse	60	20	20
leaves	15 – 20	80 – 85	0
cotton seed hairs	80 – 95	5 – 20	0
newspaper	40 – 55	25 – 40	18 – 30



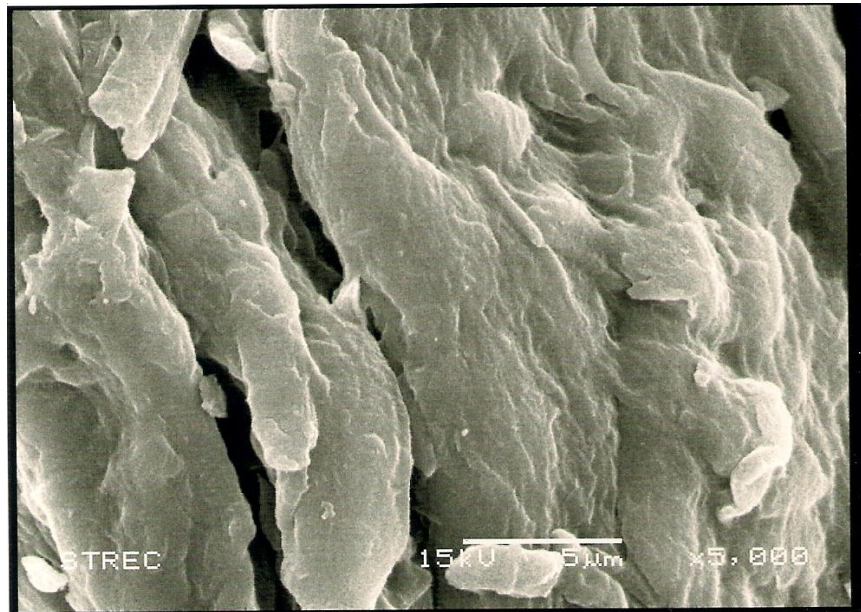
ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส	เซลลูโลส (%)	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)
waste paper form	60 - 70	10 - 20	5- 10
chemical pulps			
primary wastewater solids	8 - 15	0	0
solid cattle manure	1.6 - 4.7	1.4 - 3.3	2.7 - 5.7
coastal bermudagrass	25	35.7	6.4
switchgrass	45	31.4	12
swine waste	6	28	0

ส่วนมากชีวมวลประเภทนี้จะเป็นผลิตผลพลอยได้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ชังข้าวโพด และอาจเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมเช่น อุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ เป็นต้น

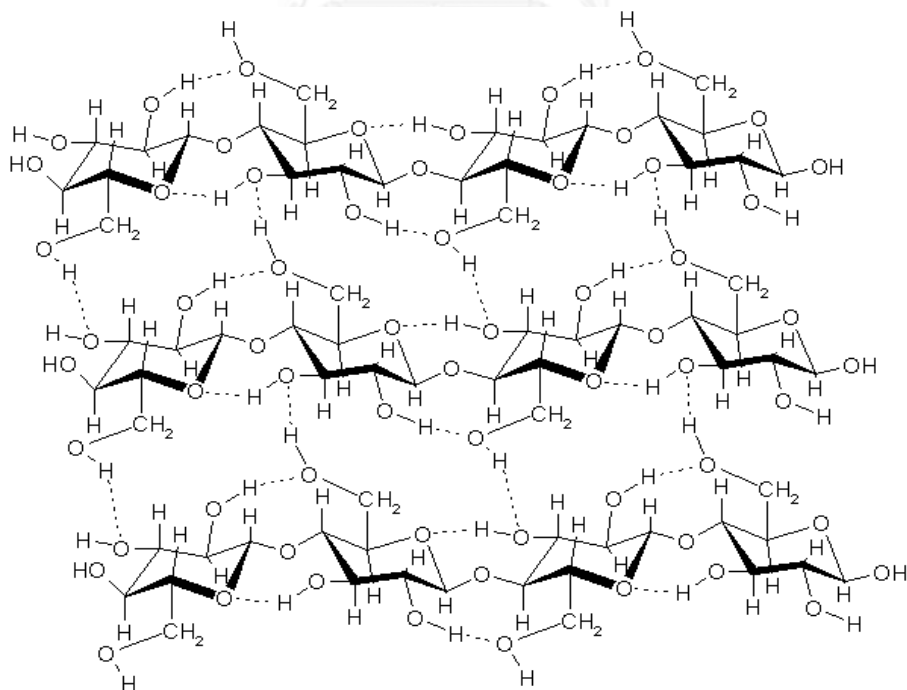
### 2.3.1 เซลลูโลส

เซลลูโลสมีสูตรทั่วไปคือ  $[C_6(H_2O)_5]_n$  เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ที่มีอยู่ในธรรมชาติ แต่ในธรรมชาติจะไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระแต่มักจะพบรวมอยู่กับลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส พบมากในพืชสีเขียว และแบคทีเรียบางชนิด เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Cell wall) มีลักษณะเป็นหน่วยเล็ก ๆ ที่ประกอบรวมเป็นเนื้อเยื่อในพืช ทำหน้าที่เสริมโครงสร้างของพืชให้แข็งแรง เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์เส้นตรง (Linear polymer) ของปีต้ากลูโคส ( $\beta$ -glucose) เกิดจากหน่วยของ ดี-กลูโคส (D-glucose) ประมาณ 1,250 ถึง 12,500 โมเลกุลมาจับต่อกันด้วยพันธะ ปีต้า-1,4 ไกลโคซิดิก (Beta-1,4 glycosidic bond) และมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ของเซลลูโลสบริเวณหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในโมเลกุลถัดไป การจัดเรียงเช่นนี้ทำให้แต่ละสายโซ่ของเซลลูโลสเรียงตัวขนานซึ่งกันและกันอย่างมีระเบียบ จึงทำให้เกิดเป็นเส้นใยที่เรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) เส้นใยเหล่านี้จะถูกยึดติดกับองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น เฮมิเซลลูโลส เป็นต้น และถูกปกคลุมด้วยลิกนิน การจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบดังกล่าวส่งผลให้เซลลูโลสมีโครงสร้างที่มีความเป็นผลึกสูง เนื่องจากโครงสร้างที่ซับซ้อนและสมบัติต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้เซลลูโลสมีความต้านทานต่อสารเคมีและเอนไซม์ มีสมบัติไม่ละลายน้ำ สารอินทรีย์ และสารละลายกรดอ่อนหรือเบสอ่อน แต่การละลายของเซลลูโลสสามารถเกิดขึ้นได้ดีเมื่อใช้สารละลายกรดแก่ โดยเซลลูโลสที่สามารถถูกย่อยได้ง่ายจะอยู่ในรูปที่ไม่เป็นผลึก เซลลูโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ต่างจากแป้งที่มีการจัดเรียงตัวที่ต่างกัน เอนไซม์ที่สามารถย่อย

เซลลูโลสและแป้งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจึงเป็นคณละชนิดกัน โดยเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ เซลลูเลส ลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของเซลลูโลส และการจัดเรียงตัวของเซลลูโลสแสดงดังรูปที่ 2-4 และ 2-5 ตามลำดับ



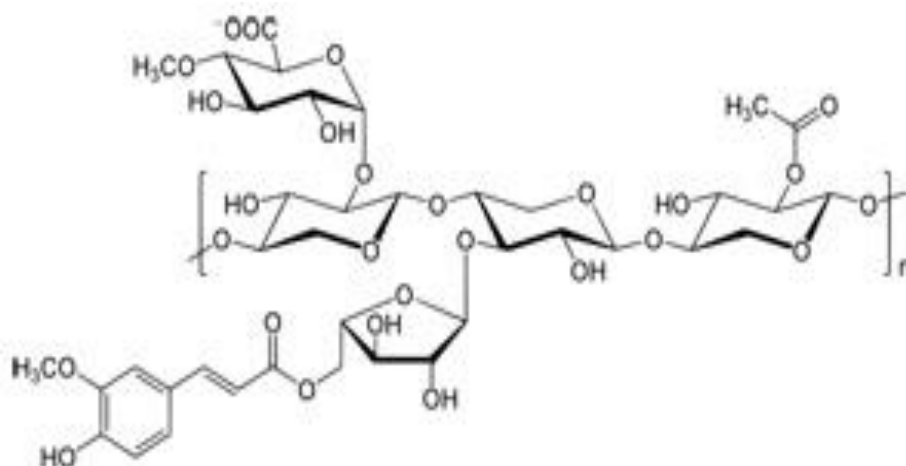
รูปที่ 2-4 ภาพถ่าย SEM ของเซลลูโลสบริสุทธิ์ (กำลังขยาย 5000 เท่า) [10]



รูปที่ 2-5 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส

([http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/wood/structure\\_wood\\_pt1.php](http://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/wood/structure_wood_pt1.php) : online)

### 2.3.2 เฮมิเซลลูโลส

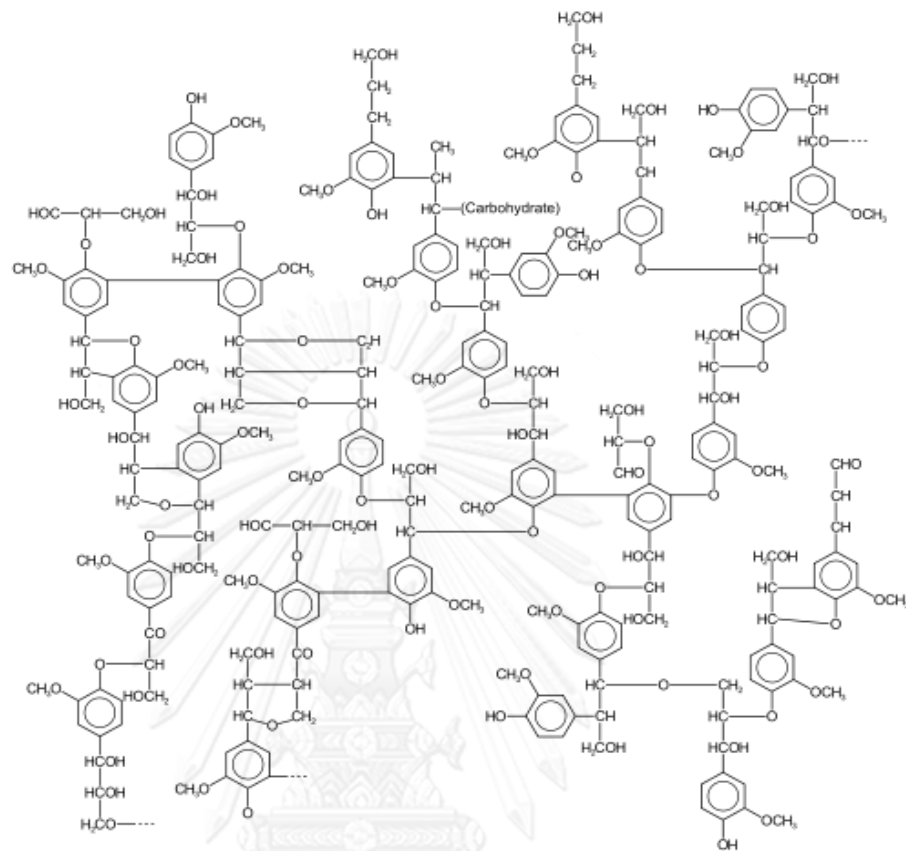


รูปที่ 2-6 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของเฮมิเซลลูโลส

([http://www.edinformatics.com/math\\_science/science\\_of\\_cooking/what\\_is\\_dietary\\_fiber.htm](http://www.edinformatics.com/math_science/science_of_cooking/what_is_dietary_fiber.htm) : online)

เฮมิเซลลูโลสมีสูตรทั่วไปคือ  $[C_5(H_2O)_4]_n$  เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิด คือ เฮกโซส (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีคาร์บอน 6 อะตอม) ได้แก่ กลูโคส แมนโนส กาแลกโตส และ เพนโทส (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีคาร์บอน 5 อะตอม) ได้แก่ ไซโลส อะราบิโนส และยังมีกรดบางชนิด ได้แก่ 4-O-methyl-D glucuronic acid และ galacturonic acid เป็นต้น โดยทั่วไปในพืช จะมีสัดส่วนของเฮมิเซลลูโลสรองจากเซลลูโลส โดยจะมีประมาณร้อยละ 20 ถึง 40 เฮมิเซลลูโลสที่พบในพืชส่วนใหญ่จะประกอบด้วยหน่วยของ ดี-ไซแลน (D-xylan) ซึ่งเป็นน้ำตาลไซโลสหลายโมเลกุลต่อกันด้วยพันธะ บีต้า-1,4 ไกลโคซิดิกเป็นหลัก เฮมิเซลลูโลสมีโครงสร้างที่มีกิ่งก้านสาขามากกว่าเซลลูโลส ความยาวของสายโซ่สั้นกว่าและโครงสร้างเป็นอสัณฐาน (Amorphous) เนื่องจากการจัดเรียงตัวจะอยู่อย่างไม่เป็นระเบียบหรืออยู่แบบสุ่ม ทำให้สามารถถูกย่อยเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวง่ายกว่าเซลลูโลส โดยใช้สารละลายกรดอ่อนหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 17.5

### 2.3.3 ลิกนิน

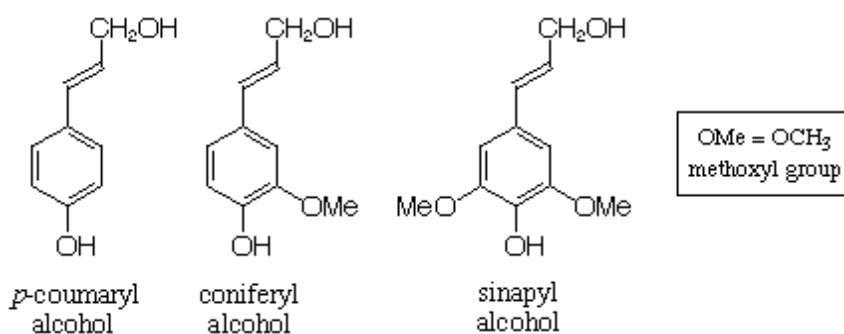


รูปที่ 2-7 โครงสร้างการจัดเรียงตัวของลิกนิน

([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lignin\\_structure.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lignin_structure.svg) : online)

ลิกนินมีสูตรทั่วไปคือ  $[C_{10}H_{12}O_4]_n$  เป็นสารที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต (ไม่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก) มวลโมเลกุลเฉลี่ยของลิกนินจะมีค่ามากกว่า 10,000 โมเลกุลของลิกนินมีความซับซ้อนมากกว่าเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส โครงสร้างของลิกนินเป็นพีนอลิกพอลิเมอร์ (Phenolic polymer) โดยมีหน่วยฟีนิลโพรเพน (Phenyl propane units) เรียงต่อกันแบบสุ่ม ได้แก่ Coniferyl alcohol (Guaiacyl propanol), Sinapyl alcohol (Syringyl alcohol), และ p-Coumaryl alcohol (p-hydroxyphenyl propanol) เชื่อมต่อกันจนกลายเป็นโครงสร้าง 3 มิติ นอกจากนี้ยังมีพันธะเคมีระหว่างลิกนินกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ลิกนินเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ความแข็งแรงต่อผนังเซลล์ของพืชทำให้ต้านทานต่อสารเคมี การเข้าทำลายของจุลินทรีย์ต่าง ๆ และการกระทบกระแทก ดังนั้นชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินสูงจึงยากต่อการย่อยไม่ว่าจากการใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ ลิกนินไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น ไนเอทานอลหรือเมทานอลร้อนและในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยทั่วไปในไม้เนื้ออ่อนจะ

มีปริมาณลิกนินมากกว่าในไม้เนื้อแข็งและในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร นอกจากนี้ปริมาณของลิกนินในชีวมวลจะมากขึ้นตามอายุของชีวมวล



รูปที่ 2-8 มอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของลิกนิน

(<http://dwb4.unl.edu/Chem/CHEM869E/CHEM869ELinks/www.chem.vt.edu/chem-dept/helm/3434WOOD/notes1/lignin.html> : online)

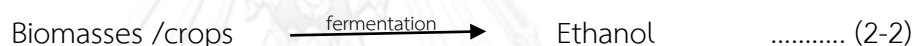
## 2.4 กระบวนการผลิตเอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) เป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 46.07 จุดเดือดประมาณ 78 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว -114.1 องศาเซลเซียส และความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเท่ากับ 0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร เอทานอลเป็นของเหลวใสไม่มีสี ติดไฟง่าย ให้เปลวไฟสีน้ำเงินไม่มีควัน ละลายได้ทั้งในน้ำและในสารละลายอินทรีย์ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น ใช้ในการผลิตเครื่องดื่ม ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม ใช้เป็นเชื้อเพลิงขับเคลื่อนยานยนต์ และใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตสารเคมีหลายชนิด เป็นต้น ในอนาคตมีหลายปัจจัยที่จะทำให้ความต้องการและปริมาณการผลิตเอทานอลสูงขึ้นดังนี้ [11]

- การเพิ่มขึ้นและการผันผวนของราคาน้ำมันเนื่องจากปริมาณแหล่งน้ำมันดิบลดลง
- ความต้องการใช้เชื้อเพลิงเหลวมากขึ้น เนื่องจากการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี
- ความกังวลและข้อกฎหมายเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม

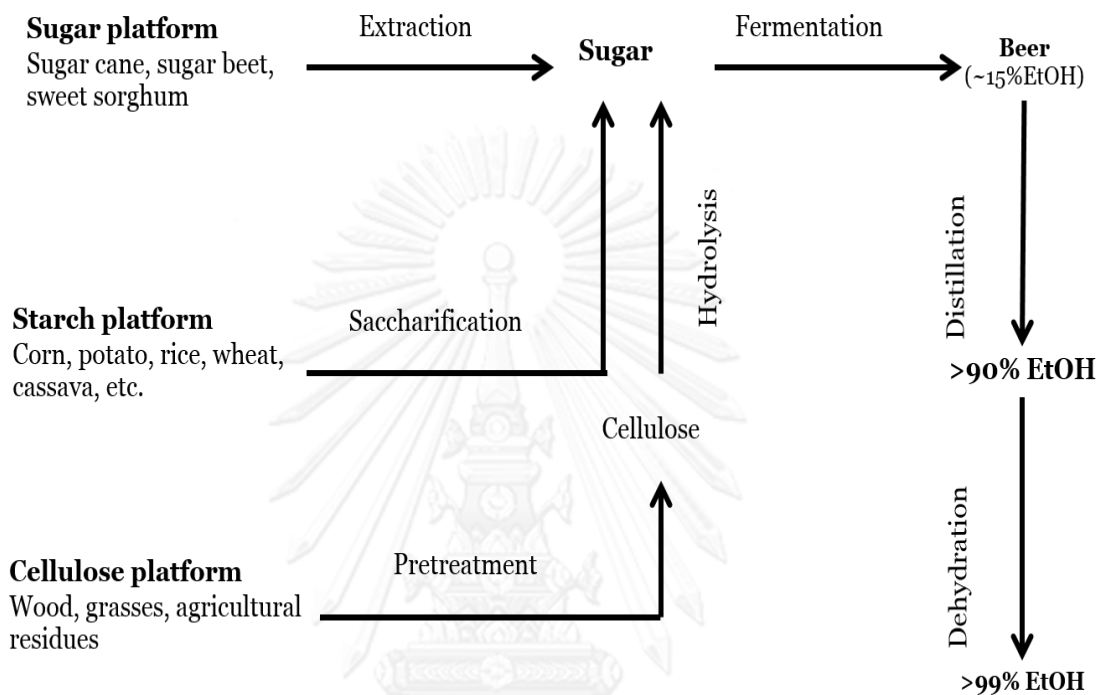
เอทานอลผลิตได้ทั้งจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยปฏิกิริยาไฮเดรชันของเอทิลีนดังแสดงในสมการ (2-1) แต่ส่วนใหญ่เอทานอลมากกว่าร้อยละ 95 ผลิตจากกระบวนการทางชีวเคมีจาก

พืชหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีแป้งและน้ำตาลสูงเป็นวัตถุดิบตั้งต้นดังแสดงในสมการ (2-2) วัตถุดิบที่สามารถเลือกใช้มีหลากหลายชนิดตามความเหมาะสมของแต่ละประเทศ เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง มันสำปะหลัง อ้อย และกากน้ำตาล เป็นต้น การผลิตเอทานอลจากชีวมวลเหล่านี้เป็นกระบวนการที่ได้รับความนิยมใช้ในการผลิตเชิงอุตสาหกรรมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากวัตถุดิบในกลุ่มนี้สามารถใช้เป็นสารป้อนอุตสาหกรรมอาหารได้อีกทางหนึ่ง ทำให้มีแนวโน้มในการแข่งขันซึ่งจะทำให้ราคาวัตถุดิบสูงขึ้นในอนาคต ดังนั้นจึงมีความพยายามในการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ฟางข้าวสาลี และ ชังข้าวโพด เนื่องจากวัตถุดิบประเภทนี้ไม่ใช่พืชอาหารและส่วนมากภายหลังการเกษตรกรรมจะไม่ได้ถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์



กระบวนการผลิตเอทานอลประกอบด้วยขั้นตอนหลัก ๆ ดังนี้คือ ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ ขั้นตอนการหมัก ขั้นตอนการแยกผลิตภัณฑ์และขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ สำหรับขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวนั้นจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของชีวมวลที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นดังแสดงในรูปที่ 2-8 ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก ๆ คือ วัตถุดิบที่ให้น้ำตาล วัตถุดิบที่ให้แป้ง และวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส โดยวัตถุดิบประเภทที่เป็นน้ำตาลอยู่แล้ว เมื่อปรับความเข้มข้นให้เหมาะสมสามารถนำไปเข้าสู่กระบวนการหมักได้เลย ส่วนวัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องถูกย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาลก่อน ขณะที่วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสต้องผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นก่อนที่จะผ่านการย่อยเพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จากนั้นน้ำตาลที่ได้จะถูกนำไปหมักโดยใช้จุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล ภายหลังการหมักน้ำหมัก (Beer) ที่ได้จะมีเอทานอลที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 15 โดยปริมาตร นำไปผ่านกระบวนการกลั่นลำดับส่วน ซึ่งสามารถแยกเอทานอลให้ได้ความบริสุทธิ์ประมาณร้อยละ 90 โดยปริมาตร แล้วจึงเข้าสู่กรรมวิธีในการแยกน้ำ (Dehydration) เพื่อให้เอทานอลมีความบริสุทธิ์สูงขึ้น ตัวอย่างวิธีการแยกน้ำคือการใช้โมเลกุลาร์ซีฟ (Molecular sieve separation) โดยเอทานอลที่ความบริสุทธิ์ประมาณร้อยละ 90 จะผ่านเข้าไปในหอดูดซับที่บรรจุตัวดูดซับประเภทซีโอไลต์ โมเลกุลของเอทานอลจะไหลผ่านช่องว่างของซีโอไลต์ออกไปได้ แต่โมเลกุลของน้ำจะถูกดูดซับไว้ ทำให้เอทานอลที่ไหลออกไปมีความบริสุทธิ์

มากกว่าร้อยละ 99 ส่วนซีโอไลต์ที่ดูดซับน้ำไว้จะถูกรีเจนเนอเรต (Regenerate) เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่อีกครั้งโดยการไล่น้ำออกโดยใช้ความร้อน เอทานอลความบริสุทธิ์สูงที่สามารถนำไปผสมกับน้ำมันเบนซินเพื่อใช้ในรถยนต์เครื่องเบนซินได้ทันที [12]



รูปที่ 2-9 กระบวนการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบตั้งต้นชนิดต่าง ๆ [13]

## 2.5 การผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส

### 2.5.1 ปัจจัยที่เป็นข้อจำกัดสำหรับการผลิตเอทานอลจากชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส

จากการศึกษาวิจัยหลายงานวิจัยสามารถสรุปได้โดยสังเขปว่าปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบของชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ประกอบด้วยปัจจัยดังต่อไปนี้ [14, 15]

### 2.5.1.1 ความเป็นผลึกของเซลลูโลส (Crystallinity of cellulose)

โครงสร้างของเซลลูโลสในชีวมวลมีทั้งส่วนที่เป็นผลึกและไม่เป็นผลึก แต่ในชีวมวลส่วนมากจะพบส่วนของเซลลูโลสที่เป็นผลึกสูงกว่าไม่เป็นผลึก (มากกว่า 2 ใน 3 ของเซลลูโลสทั้งหมดในชีวมวล) เอนไซม์สามารถย่อยเซลลูโลสที่ไม่เป็นผลึกได้ง่าย แต่ประสิทธิภาพของเอนไซม์จะต่ำมากเมื่อย่อยเซลลูโลสที่มีความเป็นผลึกสูง [16] ดังนั้นปัจจัยที่สำคัญที่สุดปัจจัยหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลของเอนไซม์คือการลดระดับความเป็นผลึกของเซลลูโลส

### 2.5.1.2 พื้นที่ที่เอนไซม์สามารถเข้าถึงได้ (Enzymatic accessible area)

ขนาดของรูพรุนที่พื้นผิวของชีวมวลหรือพื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้ของชีวมวลสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ การปรับสภาพชีวมวลหลายวิธีช่วยกำจัดเฮมิเซลลูโลสหรือบางกระบวนการอาจช่วยกำจัดลิกนินด้วย แต่กระบวนการดังกล่าวนี้ยังเป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้ของชีวมวลทางอ้อมอีกด้วย เนื่องจากการสลายตัวออกมาขององค์ประกอบดังกล่าวจะทำให้เกิดรูพรุนที่ผิวของชีวมวลและทำให้เซลลูโลสเกิดการบวมตัว ดังนั้นประสิทธิภาพของการปรับสภาพด้วยเทคนิคหนึ่ง ๆ อาจสัมพันธ์กับการลดระดับความเป็นผลึกของเซลลูโลส การกำจัดลิกนิน การกำจัดเฮมิเซลลูโลส การเพิ่มพื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้หรือทุกปัจจัยรวมกัน

ในกระบวนการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์จะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

- (I) การดูดซับเอนไซม์จากเฟสของเหลวสู่พื้นผิวของเซลลูโลสที่เป็นของแข็ง
- (II) การเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาล
- (III) การคายเอนไซม์กลับสู่เฟสของเหลว

ปฏิกิริยาเช่นนี้ถือว่าเป็นปฏิกิริยาเชิงเร่งแบบวิวิธพันธุ์ (Heterogeneous catalytic reaction) ดังนั้นการสัมผัสกันระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์และเซลลูโลสจึงถือเป็นเงื่อนไขที่สำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล หรืออาจกล่าวได้ว่าพื้นที่ผิวที่สามารถเข้าถึงได้ของเซลลูโลสในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสนับเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการย่อยด้วยเอนไซม์



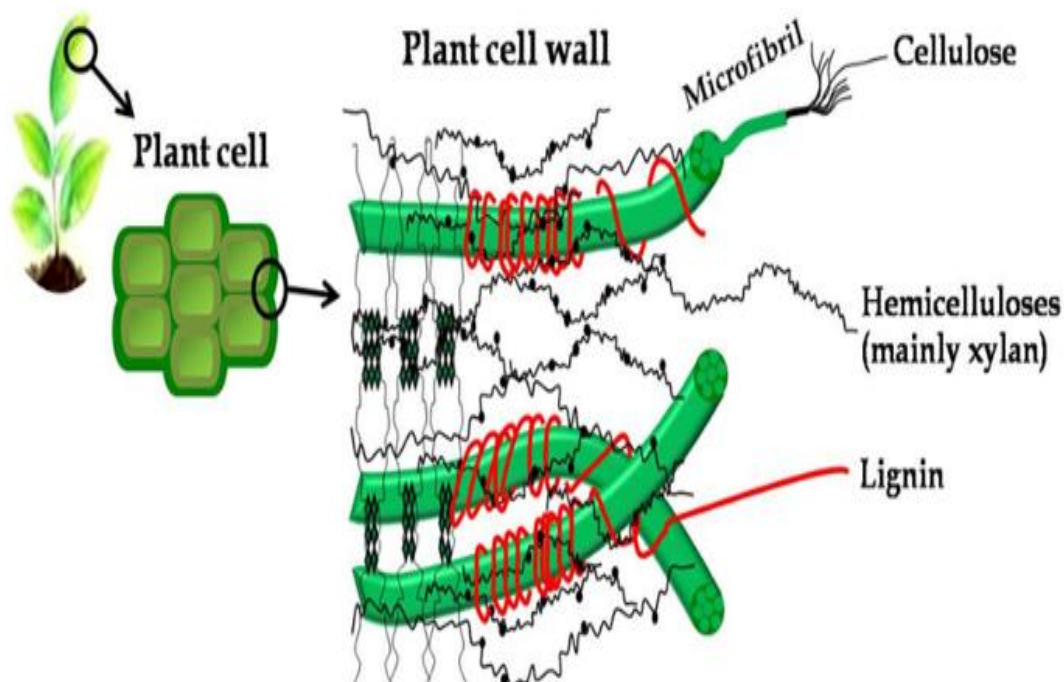
วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสมีพื้นผิว 2 ประเภท ได้แก่ พื้นผิวภายในและพื้นผิวภายนอก โดยพื้นผิวภายนอกสัมพันธ์กับรูปร่างและขนาดของอนุภาค ขณะที่พื้นผิวภายในสัมพันธ์กับโครงสร้างความพรุนของเซลลูโลส โดยปกติเซลลูโลสแห้งจะมีพื้นผิวภายนอกมากกว่าพื้นผิวภายในเนื่องจากเกิดการยุบตัวและหดตัวของโครงสร้างรูพรุน ดังนั้นจึงทำให้พื้นผิวที่สามารถเข้าถึงได้ของเซลลูโลสลดลง แต่พื้นที่ผิวภายในสามารถเพิ่มขึ้นได้เมื่อเกิดการบวมตัวของลิกโนเซลลูโลสในน้ำหรือสารละลายที่มีซั้ว

โดยทั่วไปอัตราการย่อยจะไม่คงที่ตลอดกระบวนการ โดยช่วงแรกจะเกิดเร็วมากและจะเกิดช้าลงในช่วงหลัง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวที่สามารถเข้าถึงได้ระหว่างกระบวนการ แต่อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยรายงานว่าปัจจัยดังกล่าวอาจไม่ใช่ปัจจัยหลัก แต่อัตราการย่อยที่ช้าลงอาจจะมาจากความยากในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของส่วนที่เป็นผลึกของเซลลูโลส ภายหลังจากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของส่วนที่ไม่เป็นผลึกของเซลลูโลสไปหมดแล้ว [17]

### 2.5.1.3 อิทธิพลของลิกนิน

เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสยึดเกาะซึ่งกันและกันเนื่องจากการถูกปกคลุมด้วยโครงสร้างของลิกนินดังแสดงในรูป 2-9 เฮมิเซลลูโลสและลิกนินมีการจัดเรียงตัวกันโดยมีพันธะโควาเลนต์เชื่อมต่อระหว่างลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลิกนินมีหน้าที่สำคัญในการให้ความมั่นคงแข็งแรงและป้องกันการเกิดการบวมตัวของโครงสร้างชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นปริมาณและการกระจายตัวของลิกนินจึงเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความต้านทานของชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสต่อกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์โดยการจำกัดความสามารถในการเข้าถึงของเอนไซม์ กระบวนการกำจัดลิกนิน (Delignification) จึงเป็นกระบวนการที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์โดยช่วยเพิ่มความสามารถในการเข้าถึงของเอนไซม์เนื่องจากรูพรุนที่เพิ่มขึ้น ภายหลังจากการกำจัดลิกนินออกจากชีวมวล ทั้งยังช่วยทำให้อัตราเร็วของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามกระบวนการกำจัดลิกนินส่วนมากนอกจากลิกนินแล้ว เฮมิเซลลูโลสบางส่วนก็สามารถเกิดการสลายตัวออกมาได้เช่นเดียวกัน ช่วยให้ประสิทธิภาพโดยรวมของกระบวนการเพิ่มขึ้น แต่ข้อควรระวังคือลิกนินที่สลายตัวออกมาระหว่างกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยเฉพาะเอนไซม์เซลลูเลส

นอกเหนือจากปริมาณและการกระจายตัวของลิกนินแล้ว องค์ประกอบของลิกนินยังเป็นส่วนสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ซึ่งพบว่าไม้เนื้ออ่อนต้านทานต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์มากกว่าไม้เนื้อแข็ง เนื่องจากลิกนินในไม้เนื้ออ่อนมีหน่วยมอนอเมอร์ของ guaiacyl propanol เป็นหลัก ขณะที่ไม้เนื้อแข็งจะมีหน่วยของ guaiacyl propanol อยู่ร่วมกับ syringyl alcohol ทำให้สรุปได้ว่าหน่วยของ guaiacyl propanol มีผลต่อการต้านทานการบวมตัวของวัสดุดิบและการเข้าถึงของเอนไซม์มากกว่าหน่วยของ syringyl alcohol [18]



รูปที่ 2-10 โครงสร้างของชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส [19]

#### 2.5.1.4 อิทธิพลของเฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นสิ่งที่กีดขวางทางกายภาพซึ่งอยู่ล้อมรอบเส้นใยเซลลูโลส บางตำแหน่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเส้นใยไมโครไฟบริลของเซลลูโลสช่วยปกป้องเซลลูโลสจากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ ในงานวิจัยจำนวนมากได้แสดงให้เห็นว่ากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นหลายกระบวนการสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ

กระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้โดยการกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากวัตถุดิบ เนื่องจากทำให้เอนไซม์สามารถเข้าถึงโครงสร้างของเซลลูโลสได้มากขึ้น

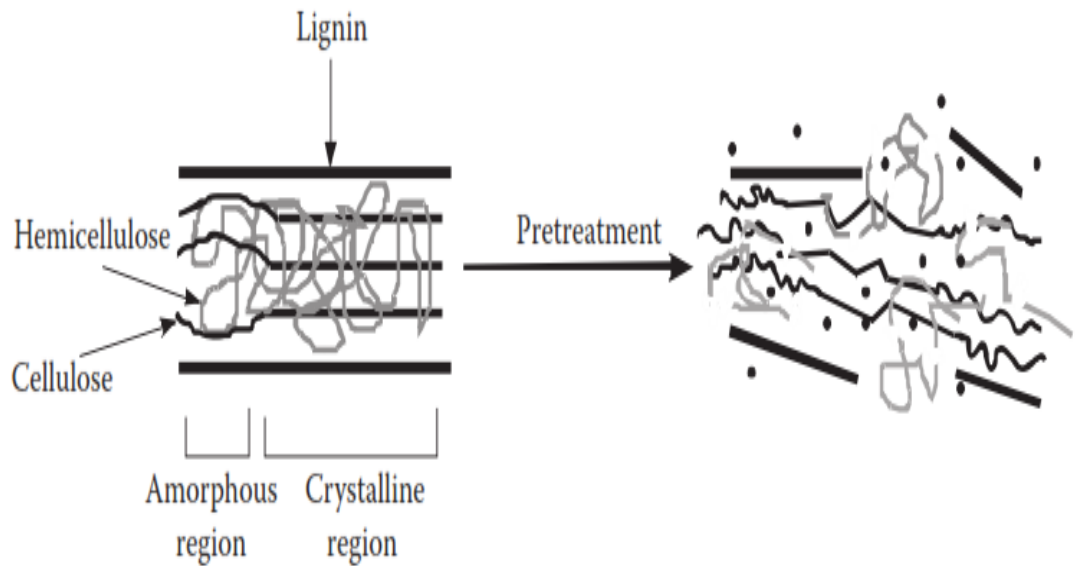
แม้ว่าเฮมิเซลลูโลสในชีวมวลสามารถถูกย่อยได้โดยใช้กระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เฮมิเซลลูเลสโดยตรง ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสไม่สามารถถูกย่อยได้โดยไม่ต้องผ่านการปรับสภาพ เพราะค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเฮมิเซลลูโลสมีค่าสูงมาก และภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ผสมควบคุมได้ยาก ดังนั้นการปรับสภาพเบื้องต้นเพื่อกำจัดเฮมิเซลลูโลสจึงเป็นที่นิยมมากกว่า เพราะการปรับสภาพเบื้องต้นหลายวิธีก็ให้ประสิทธิภาพในการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสได้สูงกว่าการใช้เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส แต่การควบคุมกระบวนการทำได้ง่ายกว่าและค่าใช้จ่ายต่ำกว่า เช่น การปรับสภาพด้วยกรดเจือจาง และการปรับสภาพโดยใช้น้ำร้อนอัดความดัน เป็นต้น ในภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยกรดเจือจางสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสในชีวมวลได้อย่างสมบูรณ์ [20]

### 2.5.2 การปรับสภาพชีวมวลเบื้องต้น

สมบัติตามธรรมชาติของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้วัตถุดิบประเภทนี้ยากต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ ดังนั้นจุดประสงค์หลักของการปรับสภาพเบื้องต้น (Pretreatment) คือการเปลี่ยนสมบัติเหล่านี้ทั้งทางกายภาพและทางเคมี เช่น การเพิ่มพื้นที่ผิวที่เอนไซม์เข้าถึงได้ การกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส และการลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส เป็นต้น เพื่อเตรียมวัตถุดิบให้เหมาะสมก่อนเข้าสู่ขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ เนื่องจากวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสมีความซับซ้อนมาก ดังนั้นกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นจึงไม่ใช่กระบวนการที่ทำได้โดยง่ายเช่นกัน พิจารณาถึงกระบวนการผลิตเอทานอลทั้งระบบ ขั้นตอนนี้เป็นหนึ่งในขั้นตอนที่มีค่าใช้จ่ายสูงที่สุดและถือเป็นขั้นตอนที่กำหนดประสิทธิภาพโดยรวมของกระบวนการ [21]

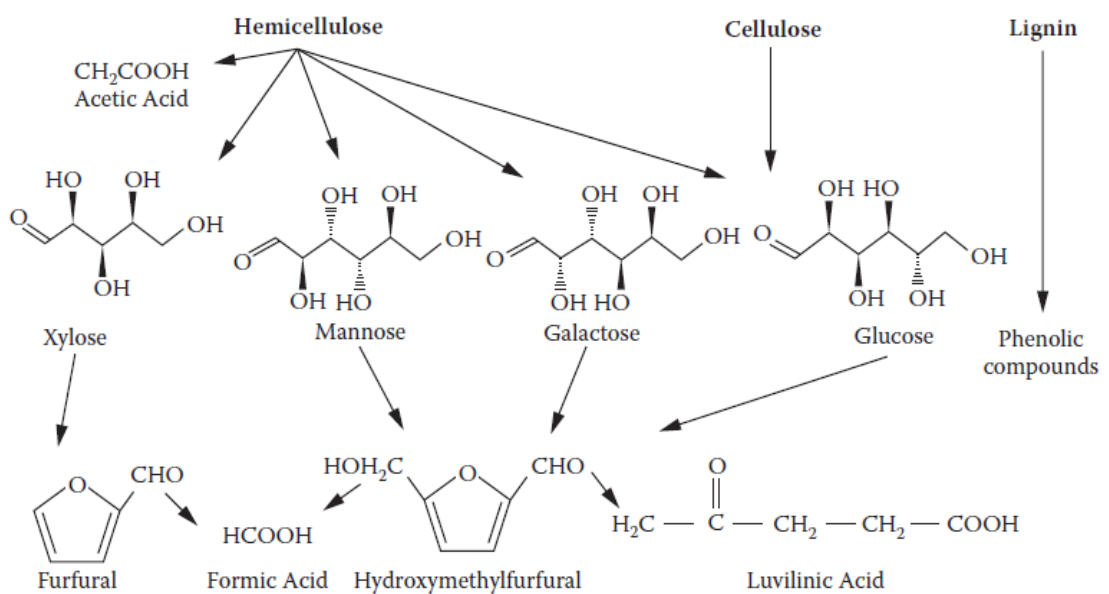
กระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพทั้งในเชิงวิทยาศาสตร์และเศรษฐศาสตร์ ควรบรรลุเป้าหมายซึ่งสามารถสรุปได้พอสังเขปดังนี้ [15]

- ผลิตเส้นใยเซลลูโลสที่ว่องไวต่อการย่อยของเอนไซม์
- ไม่ทำลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส



รูปที่ 2-11 ผลลัพธ์ที่คาดหวังของการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวล [13]

- เลี่ยงการเกิดผลพลอยได้ที่เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ เช่น เฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ ดังแสดงในรูปที่ 2-12



รูปที่ 2-12 ตัวอย่างที่มีโอกาสเกิดขึ้นระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น [13]

- ประหยัดพลังงาน
- ลดค่าใช้จ่ายการลดขนาดของชีวมวลก่อนทำการปรับสภาพ
- ค่าใช้จ่ายในการติดตั้งเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการปรับสภาพไม่สูงมาก
- สามารถแยกกลีนินและองค์ประกอบอื่นที่ได้จากการปรับสภาพขั้นต้นออกได้ง่าย เพื่อนำไปผลิตสารที่มีคุณค่าอื่นๆ
- ใช้สารเคมีสำหรับกระบวนการปรับสภาพและการทำให้เป็นกลางปริมาณน้อยและราคาต่ำ รวมทั้งสามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์ได้ง่าย

กระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นสามารถจำแนกออกได้เป็น 4 วิธีหลัก ๆ คือ การปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการทางกายภาพ (Physical pretreatment) การปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการทางความร้อน (Thermal pretreatment) การปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการทางเคมี (Chemical pretreatment) และการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Biological pretreatment) [15] วิธีการและภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของชีวมวล นอกจากนี้ปัจจัยทางด้านสมดุลพลังงาน การนำกลับมาใช้ใหม่ของสารละลาย การกักความร้อน ค่าใช้จ่ายของกระบวนการและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมก็ควรได้รับการพิจารณาอย่างรอบคอบก่อนการเลือกวิธีที่เหมาะสม [22] และเพื่อให้สามารถเลือกเทคนิคการปรับสภาพเบื้องต้นให้เหมาะสมกับวัตถุดิบจึงจำเป็นต้องเข้าใจถึงหลักการคร่าว ๆ และข้อดีข้อเสียของแต่ละกระบวนการก่อน ดังจะอธิบายในส่วนต่อไปนี้

#### 2.5.2.1 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ [5, 15]

เป็นกระบวนการปรับโครงสร้างทางกายภาพบางส่วนของชีวมวลให้เหมาะสม ทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กกลงโดยใช้วิธีการบด (Milling) ซึ่งวิธีการนี้ช่วยลดสภาพผลึกและระดับการเกิดพอลิเมอร์โซลของเซลลูโลส ในขณะที่เดียวกันยังสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้และขนาดของรูพรุนของชีวมวล โดยทั่วไปการบดหรือการลดขนาดของชีวมวลมักไม่ใช่กระบวนการปรับสภาพหลักของชีวมวล แต่นิยมทำเพื่อเตรียมชีวมวลให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมก่อนที่จะปรับสภาพชีวมวลด้วยเทคนิคอื่น ๆ ต่อไป อย่างไรก็ตามการปรับสภาพด้วยวิธีการบดต้องใช้พลังงานที่สูง โดยปริมาณพลังงานที่ต้องใช้ในการบดจะขึ้นอยู่กับลักษณะของชีวมวลและขนาดของชีวมวลที่ต้องการ ยิ่งต้องการขนาดเล็กยิ่งต้องใช้พลังงานที่

สูง [23] ตัวอย่างแสดงในตารางที่ 2-4 และข้อเสียที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการบดคือไม่สามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในชีวมวลได้

ตารางที่ 2-4 ปริมาณพลังงานที่ต้องใช้ในการบดชีวมวล [5]

ชีวมวล	ขนาดที่ต้องการ (mm)	ปริมาณพลังงาน (kW h/ton)	
		Kinfe Mill	Hammer Mill
ไม้เนื้อแข็ง	1.6	130	130
	2.54	80	120
	3.2	50	115
	6.35	25	95
ฟาง	1.60	7.5	42
	2.54	6.4	29
ซังข้าวโพด	3.20	20	9.6

#### 2.5.2.2 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางความร้อน

##### - การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) [13,14,21]

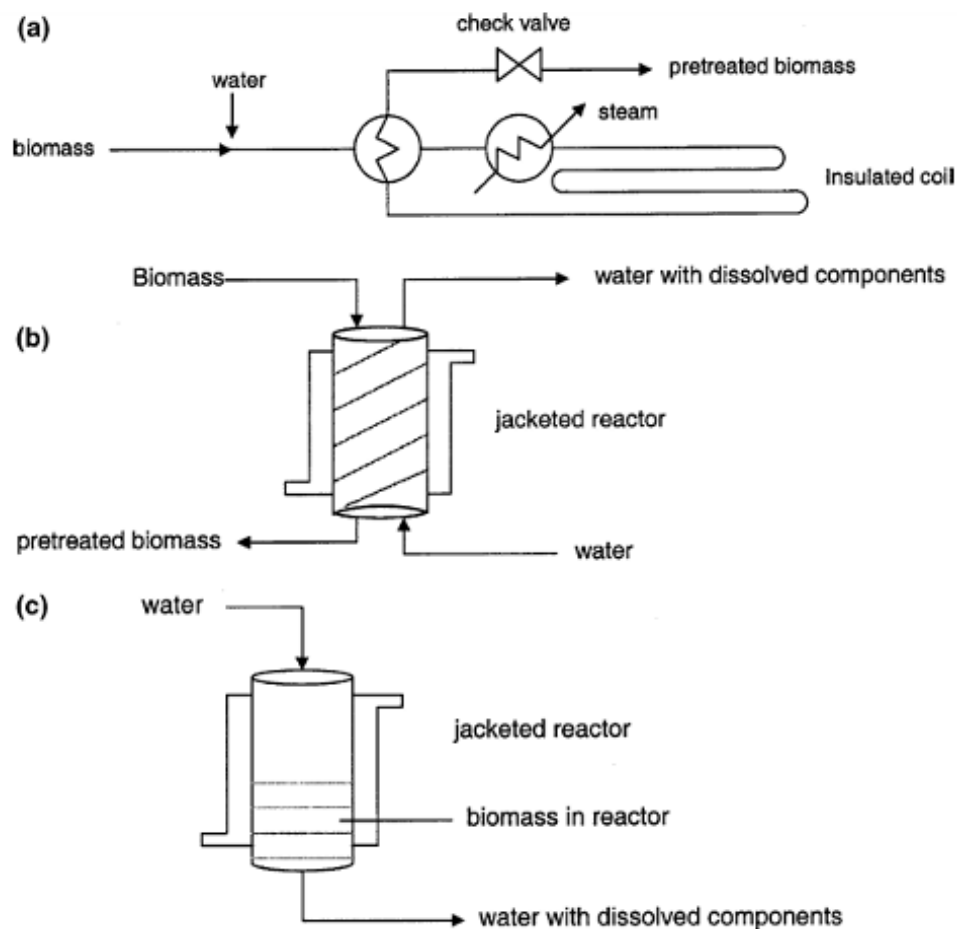
ให้ชีวมวลสัมผัสกับไอน้ำอึมตัวความดันสูงที่อุณหภูมิประมาณ 160 – 260 องศาเซลเซียส (สัมพันธ์กับความดันประมาณ 6.9 – 48.3 บาร์) ในช่วงเวลาหนึ่ง จากนั้นทำให้ความดันในระบบลดลงอย่างรวดเร็วสู่ความดันบรรยากาศ ทำให้ไอน้ำในเซลล์เกิดการขยายตัว โครงสร้างของผนังเซลล์เกิดการเสียสภาพ พันธะที่เชื่อมระหว่างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเกิดการแตกออกทำให้เส้นใยแยกออกจากกัน [24] ส่งผลให้เฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่ในชีวมวลสลายตัวออกมาและโครงสร้างของลิกนินบางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลง การเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น การสลายตัวออกมาของเฮมิเซลลูโลสในชีวมวลเป็นผลมาจากความเป็นกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการปรับสภาพทั้งที่เกิดจากหมู่แอซิดในเฮมิเซลลูโลสสลายตัวและความเป็นกรดอ่อนของน้ำที่อุณหภูมิสูง [25] นอกจากนี้การกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกมายังช่วยทำให้พื้นที่ผิวที่สามารถเข้าถึงได้ในชีวมวลเพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการปรับสภาพด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำคือ เวลาและอุณหภูมิการปรับสภาพ ขนาดและปริมาณความชื้นของชีวมวล เป็นต้น นอกจากนี้มี

งานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการใช้สารเคมี เช่น กรดซัลฟิวริก ซัลเฟอร์ไดออกไซด์หรือคาร์บอนไดออกไซด์ ในการปรับสภาพด้วยการระเบิดด้วยไอน้ำจะช่วยให้อุณหภูมิของกระบวนการสูงขึ้น ข้อดีของการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้คือต้องการพลังงานต่ำกว่าเมื่อเทียบกับ การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือเฮมิเซลลูโลสบางส่วนอาจสลายตัวจนเกิดเป็นตัวยับยั้งที่จะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เช่น เพอร์ฟอรอลและกรดแอสติก เป็นต้น ทำให้อาจจำเป็นต้องล้างชีวมวลภายหลังการปรับสภาพแล้วด้วยน้ำก่อนที่จะเข้าสู่ขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและขั้นตอนการหมัก นอกจากนี้การใช้ภาวะที่รุนแรงมากอาจทำให้เซลลูโลสเกิดการสลายตัวได้เช่นเดียวกัน

#### - น้ำร้อนอัดความดัน (Liquid Hot Water: LHW)

ใช้ความดันสูงกว่าความดันอ้อมตัวของน้ำเพื่อรักษาสภาพของน้ำที่อุณหภูมิสูงให้อยู่ในรูปของเหลว น้ำร้อนภายใต้ความดันสามารถผ่านเข้าไปภายในโครงสร้างของชีวมวล กำจัดเฮมิเซลลูโลสในชีวมวลเกือบทั้งหมดและกำจัดลิกนินบางส่วนออกมาอยู่ในน้ำที่ใช้ในกระบวนการปรับสภาพ ความร้อนทำให้โครงสร้างชีวมวลเกิดการบวมตัว พื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้ของชีวมวลมีมากขึ้น ข้อดีของการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้คือไม่ต้องใช้สารเคมี ไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อนในการสร้างเครื่องปฏิกรณ์ ไม่จำเป็นต้องลดขนาดชีวมวลตั้งต้นให้มีขนาดเล็ก ปริมาณตัวยับยั้งเกิดขึ้นน้อยเพราะน้ำตาลที่เกิดขึ้นส่วนมากไม่อยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวแต่ยังอยู่ในรูปโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นหลักทำให้โอกาสที่จะเกิดการสลายตัวต่อไปต่ำ และเนื่องจากการสลายตัวต่อไปเกิดต่ำดังนั้นของเหลวภายหลังการปรับสภาพส่วนใหญ่จึงเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอมสามารถนำไปใช้ผลิตเอทานอลด้วยจุลินทรีย์ที่เหมาะสมได้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้การควบคุมความเป็นกรด-เบสโดยการเติมเบสระหว่างกระบวนการปรับสภาพช่วยลดการเกิดตัวยับยั้งในกระบวนการได้ [35] สำหรับปัจจัยมีผลต่อการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้คือ ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) อุณหภูมิ และระยะเวลาในการปรับสภาพเบื้องต้น

สำหรับเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนอัดความดันแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือแบบแบตช์และแบบที่มีการไหล สำหรับเครื่องปฏิกรณ์แบบที่มีการไหลแบ่งออกเป็นแบบไหลตามกัน (Co-current) แบบไหลสวนทาง (Counter-current) และแบบไหลผ่าน (Flow-through) [26] ดังแสดงในรูป 2-13



รูปที่ 2-13 เครื่องปฏิกรณ์ที่มีการไหลสำหรับการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนอัดความดัน [26]

### 2.5.2.3 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางเคมี

#### - การปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกรด (Acid pretreatment)

กรดที่นิยมใช้ในการปรับสภาพคือกรดซัลฟิวริก การปรับสภาพด้วยกรดสามารถทำได้สองวิธีคือ การปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงด้วยกรดอ่อน (Dilute-acid pretreatment) และการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่ำด้วยกรดแก่ (Concentrated-acid pretreatment) [27] ซึ่งการปรับสภาพใช้กรดแก่ที่อุณหภูมิต่ำ (ประมาณ 40 องศาเซลเซียส) ทำให้การสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสเกิดขึ้นได้ดีกว่าการปรับสภาพโดยใช้กรดอ่อนที่อุณหภูมิสูง แต่ข้อเสียคือความ



อันตรายของกระบวนการและค่าใช้จ่ายของกระบวนการสูงกว่าเนื่องจากวัสดุที่ใช้ทำเครื่องปฏิกรณ์ต้องสามารถทนการกัดกร่อนได้สูงและต้องมีการนำกรดที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่เพื่อควบคุมค่าทางเศรษฐศาสตร์ ดังนั้นในการปรับสภาพด้วยกรดเจือจางจึงเป็นกระบวนการที่เป็นที่นิยมมากกว่า ในการปรับสภาพมักใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้นประมาณร้อยละ 0.1 – 1 และอุณหภูมิประมาณ 140 – 190 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดสารที่อาจยับยั้งการทำงานของเอนไซม์น้อยที่สุด การปรับสภาพด้วยกรดสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกมาได้เกือบทั้งหมดขณะที่โครงสร้างของลิกนินจะถูกทำให้แตกออกเป็นโครงสร้างที่มีขนาดเล็กลง ทำให้การเข้าไปย่อยเซลลูโลสของเอนไซม์เกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น ข้อดีที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้คือเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพต่ำเพียงประมาณ 1 – 5 นาทีก็เพียงพอ อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับการปรับสภาพโดยใช้ความร้อนแล้วจะพบว่าแม้การปรับสภาพด้วยกรดจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้ดีกว่า แต่โอกาสที่จะทำให้เกิดด้วยยับยั้งระหว่างการปรับสภาพก็สูงมากกว่า อีกทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายหลังการปรับสภาพจำเป็นต้องผ่านการล้างและปรับสภาพความเป็นกรด-เบสก่อนที่จะนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ต่อไป [13]

- การปรับสภาพเบื้องต้นด้วยเบส (Alkaline pretreatment) [21,22]

สารละลายเบสที่นิยมใช้ในการปรับสภาพได้แก่ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) การปรับสภาพด้วยเบสจะช่วยให้สามารถกำจัดลิกนินได้เกือบทั้งหมด นอกจากนี้การเติมอากาศระหว่างการปรับสภาพด้วยเบสยังช่วยให้การกำจัดลิกนินในชีวมวลเกิดได้ดียิ่งขึ้น ช่วยลดระดับความเป็นผลึกของเซลลูโลสและช่วยให้โครงสร้างของเซลลูโลสเกิดการบวมตัว (Swelling) ทำให้พื้นที่ผิวที่เข้าถึงได้มากขึ้น ขณะที่เฮมิเซลลูโลสบางส่วนก็สามารถละลายออกมาจากชีวมวลได้เช่นเดียวกัน เทียบกับการปรับสภาพด้วยเทคนิคอื่นแล้วการปรับสภาพด้วยเบสเป็นเทคนิคที่ใช้อุณหภูมิและความดันในการปรับสภาพที่ต่ำ โดยสามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ แต่เวลาที่ใช้ในการปรับสภาพนาน โดยอาจใช้เวลามากกว่าหนึ่งชั่วโมงหรือหนึ่งวัน และปริมาณเบสที่ต้องใช้ในการปรับสภาพต้องใช้ในปริมาณมาก (ความเข้มข้น 0.05 – 0.15 กรัมต่อกรัมชีวมวล ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์) และข้อเสียที่สำคัญคือระหว่างการปรับสภาพ เบสจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเกลือและปน

ไปกับชีวมวลซึ่งไม่สามารถแยกกลับคืนมาได้ และการปรับสภาพด้วยเบสมักจะไม่มีผลต่อไม้เนื้ออ่อนเท่ากับไม้เนื้อแข็ง

- **การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion: AFEX) [9]**

วิธีการนี้ทำโดยป้อนแอมโมเนียเข้าเครื่องปฏิกรณ์ที่อุณหภูมิสูงประมาณ 90 – 100 องศาเซลเซียส ความดันสูงประมาณ 17 – 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นลดความดันในเครื่องปฏิกรณ์อย่างรวดเร็ว ปัจจัยที่ส่งผลต่อการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้คือ ปริมาณแอมโมเนียที่ใช้ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ การลดความดัน และเวลา ชีวมวลภายหลังการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้จะมีปริมาณของลิกนินลดลง แต่เฮมิเซลลูโลสจะไม่ถูกกำจัดออกจากชีวมวลดังนั้นในขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์จึงต้องใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส ข้อดีของการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือไม่ก่อให้เกิดตัวบ่งชี้จากสารประกอบฟูแรนและอนุพันธ์ แต่ข้อเสียคือสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่เกิดจากการสลายตัวของลิกนินอาจติดไปกับชีวมวล ซึ่งสารประกอบกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ได้ เช่นเดียวกันดังนั้นจึงอาจจำเป็นต้องล้างชีวมวลหลังปรับสภาพ นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้จะให้ประสิทธิภาพที่สูงสำหรับชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินต่ำเท่านั้น (น้อยกว่าร้อยละ 25 โดยน้ำหนักแห้ง) และต้องมีการออกแบบระบบเพื่อนำแอมโมเนียที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่เพื่อลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

**2.5.2.4 กระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีทางชีวภาพ**

วิธีการนี้ใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เช่น ราขาวและราน้ำตาล เพื่อการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนินในชีวมวล ขณะที่เซลลูโลสเพียงบางส่วนเท่านั้นที่เกิดการสูญเสียเนื่องจากเซลลูโลสมีความต้านทานต่อการย่อยของจุลินทรีย์สูงกว่าองค์ประกอบอื่น และยังช่วยให้โครงสร้างที่ซับซ้อนของเซลลูโลสอยู่ในรูปโซ่ตรง ช่วยลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส จุดเด่นของวิธีนี้คือมีการใช้พลังงานต่ำ ไม่ใช้สารเคมี ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม แต่มีจุดด้อยคือมีอัตราการเกิดไฮโดรไลซิสต่ำมากอาจต้องใช้เวลาหลายวัน และเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีสมบัติไม่เหมือนกัน บางชนิดอาจจะมีผลทำลายเซลลูโลส ดังนั้นควรเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถทำลายเฮมิเซลลูโลสและลิกนินเท่านั้น นอกจากนี้ราคาของจุลินทรีย์ยังสูงมากและการย่อยควรทำในภาวะปลอดเชื้อเพื่อป้องกันการแพร่ของจุลินทรีย์ออกสู่สิ่งแวดล้อม [5, 15]

### 2.5.3 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาล [5, 7, 27]

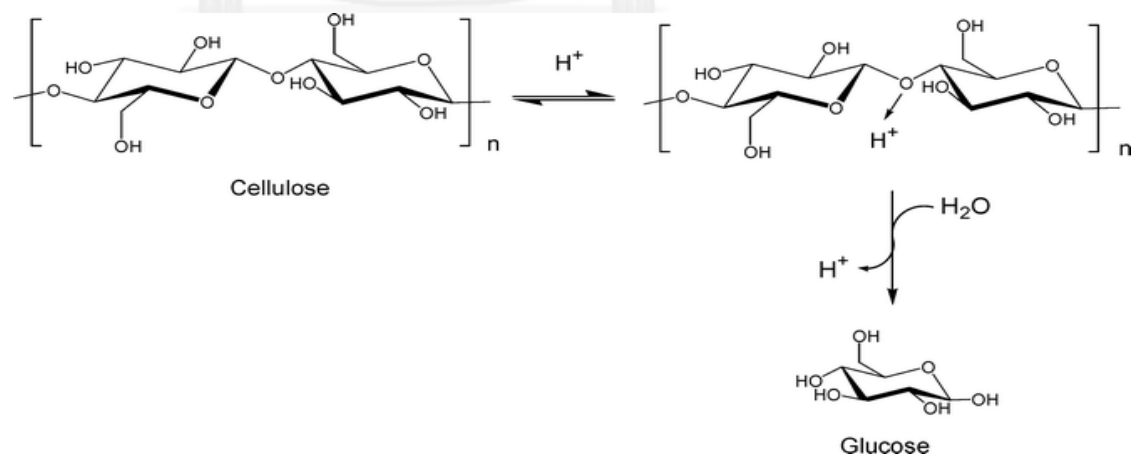
การเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Saccharification) คือการทำปฏิกิริยากับน้ำทำให้สารโมเลกุลใหญ่แตกตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง สำหรับในกระบวนการผลิตเอทานอลนั้นหมายถึงการเปลี่ยนพอลิแซ็กคาไรด์ของน้ำตาลให้อยู่ในรูปน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สมการ 2-4 และ 2-5 แสดงการเปลี่ยนพอลิแซ็กคาไรด์ของน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 และ 6 อะตอมตามลำดับไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว



สำหรับกระบวนการเปลี่ยนชีวมวลไปเป็นน้ำตาลสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทดังต่อไปนี้

#### 2.5.3.1 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรด

กลไกของการย่อยด้วยกรดเป็นดังนี้คือ อะตอมของออกซิเจนที่พันธะไกลโคสิติกถูกโปรโตไนซ์ (Protonized) ด้วยโปรตอนของไฮโดรเนียมไอออน ทำให้พันธะไกลโคสิติกแตกออกและเกิดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สั้นลงจนกระทั่งได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในที่สุด [28]



รูปที่ 2-14 กลไกการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสโดยใช้กรด [28]

กรดที่นิยมใช้ในกระบวนการคือกรดซัลฟิวริก ซึ่งการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดตามความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิที่ใช้

- **การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรดแก่ (Concentrated-acid saccharification)**

เป็นการย่อยโดยใช้กรดเข้มข้น (ร้อยละ 10 – 30) ที่อุณหภูมิและความดันไม่สูง (อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส และความดันบรรยากาศ) ประสิทธิภาพของกระบวนการสูงกว่าการย่อยโดยใช้กรดอ่อน แต่ข้อเสียคือความอันตรายและความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้ นอกจากนี้ยังมีค่าใช้จ่ายในกระบวนการสูงทั้งในส่วนของคุณทุนด้านเครื่องปฏิกรณ์และค่าดูแลรักษาระบบจากการฟูก่อนของเครื่องเนื่องจากการใช้กรดเข้มข้น และเมื่อคำนึงถึงความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์และผลต่อสิ่งแวดล้อมจึงจำเป็นต้องมีกระบวนการแยกกรดที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ แต่อย่างไรก็ตามกรดบางส่วนก็มีโอกาสสูญเสียโดยติดปนไปกับชีวมวลที่ไม่ถูกย่อย

- **การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรดเจือจาง (Dilute-acid saccharification)**

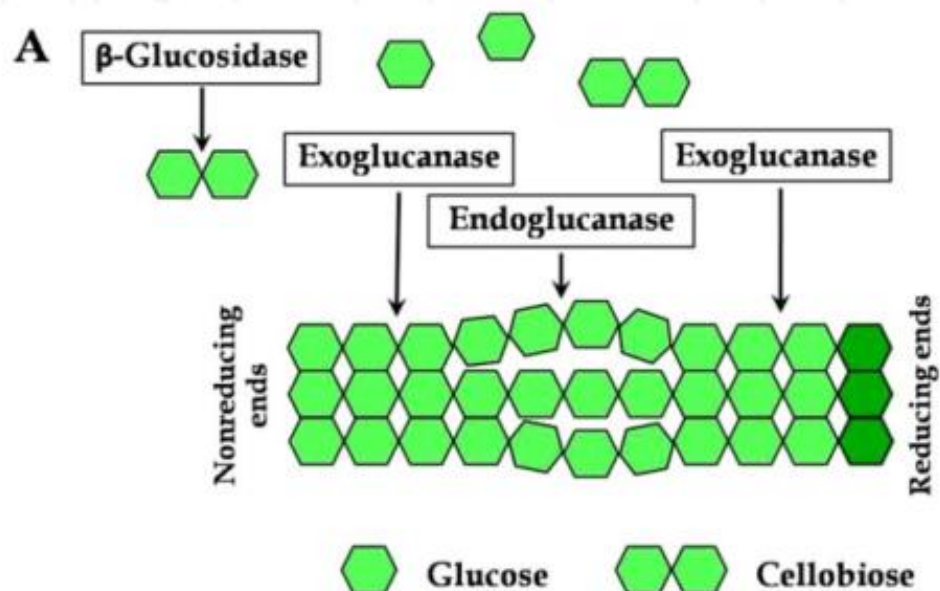
ใช้กรดเจือจาง (2-5%) ที่อุณหภูมิสูง (160-230 องศาเซลเซียส) และความดันสูง (ประมาณ 10 บาร์) เพื่อย่อยเซลลูโลสในชีวมวลให้กลายเป็นกลูโคส เป็นวิธีที่นิยมมากกว่าการย่อยโดยใช้กรดแก่ แต่กรดที่ปนอยู่ของในสารละลายภายหลังการย่อยไม่สามารถนำกลับมาใช้ในกระบวนการใหม่ได้ ดังนั้นสารละลายที่ได้จำเป็นต้องถูกปรับความเป็นกรด-เบสก่อนนำไปเข้าสู่ขั้นตอนการหมัก

### 2.5.3.2 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

สำหรับกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรด เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจง (Specification) ต่อซับสเตรตที่สูง แต่อาจใช้ระยะเวลานานกว่าการใช้กรด ในช่วงศตวรรษที่ 19 และ ต้นศตวรรษที่ 20 การใช้กรดในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเป็นที่นิยม แต่ในปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์มากกว่ากรด เนื่องจากปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาเรื่องของเอนไซม์อย่างกว้างขวาง ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสูงและต้นทุนที่ต่ำลงได้ และการใช้เอนไซม์เป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดในเรื่องของคุณทุนเพราะว่าจะทำในภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย คือความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.8 และอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ไม่เกิดปัญหาการกัดกร่อนของเครื่องปฏิกรณ์และยังเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การ

เปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์จะไม่เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก [29]

เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนเซลลูโลสในชีวมวลเพื่อให้ได้เป็นกลูโคสคือเอนไซม์ที่มีชื่อเรียกว่าเซลลูเลส (Cellulase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถผลิตได้จากเชื้อรา แบคทีเรีย และโปรโตซัว นอกจากนี้ในสัตว์ยังสามารถผลิตเซลลูเลสได้ด้วย เช่น กระบวนการย่อยในกระเพาะอาหารของวัวและแกะ ซึ่งเซลลูเลสถูกผลิตจากแบคทีเรียในลำไส้เล็ก เป็นต้น สำหรับการย่อยของเอนไซม์เกิดจากองค์ประกอบ 3 ชนิดทำงานร่วมกัน โดยเอ็นโดกลูคาเนส (Endoglucanase หรือ Endo-1-4- $\beta$ -glucanase) จะทำลายพันธะไกลโคซิดิกบริเวณสายโซ่ของเส้นใยเซลลูโลสส่วนที่ไม่เป็นผลึกอย่างสุ่มทำให้สายโซ่ของเซลลูโลสสั้นลง จากนั้นเอ็กโซกลูคาเนส (Exoglucanase หรือ Cellobiohydrolase) จะตัดสายโซ่บริเวณส่วนปลายของเส้นใยเซลลูโลสทั้งส่วนที่เป็นผลึกหรือไม่เป็นผลึกให้กลายเป็นเซลโลไบโอสและโอลิโกแซ็กคาไรด์ สุดท้ายบีต้า-กลูโคซิเดส ( $\beta$ -glucosidase) จะย่อยเซลโลไบโอสและโอลิโกแซ็กคาไรด์ไปเป็นกลูโคส [13] ซึ่งกลไกการทำงานที่ของเซลลูเลสแสดงดังรูปที่ 2-15

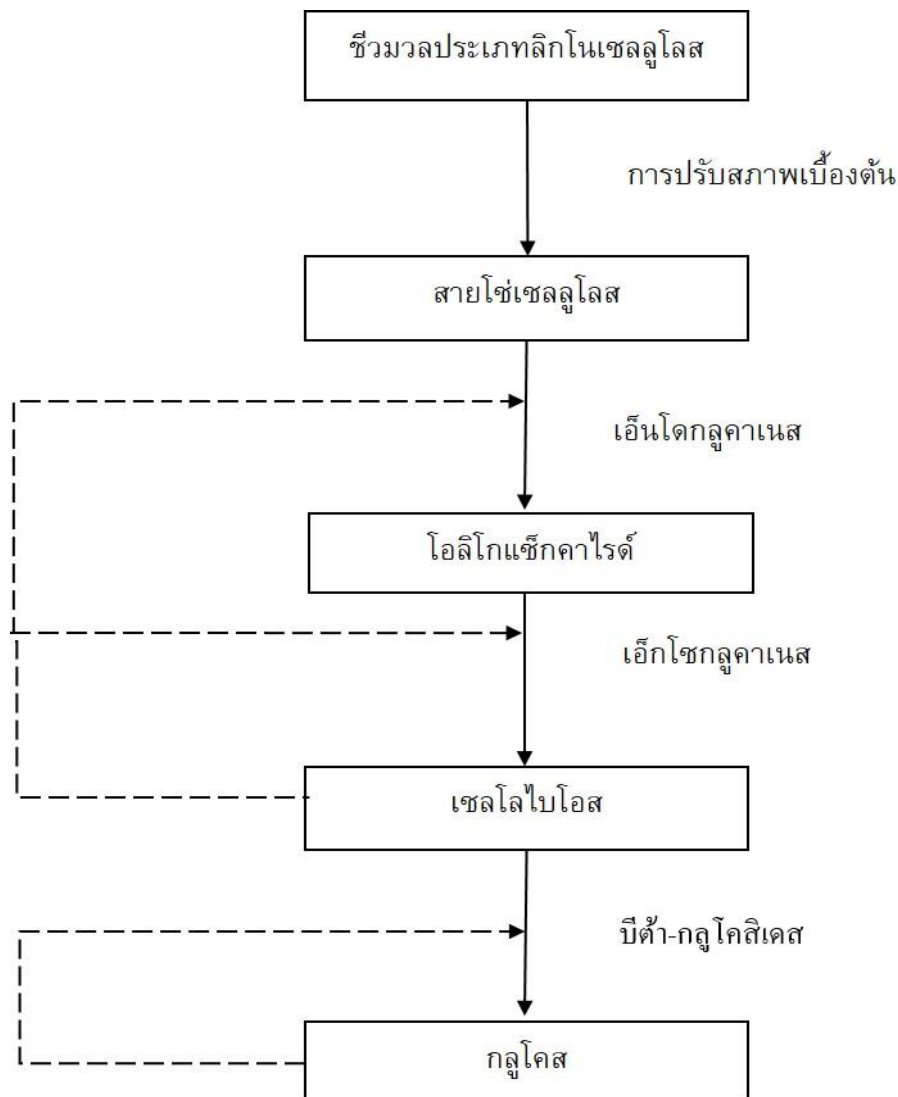


รูปที่ 2-15 กลไกการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสโดยใช้เอนไซม์ [13]

ตารางที่ 2-5 เปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรดกับด้วยเอนไซม์ [7]

เกณฑ์	การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยกรด	การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์
เวลาในการย่อย	เร็ว	ช้า (อาจใช้เวลาหลายวัน)
ผลได้ของน้ำตาล	ต่ำ (< 60%)	สูง (อาจถึง 100% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การปรับสภาพ)
ราคาของสารที่ใช้	ถูก	แพง
ภาวะการย่อย	รุนแรง (ใช้อุณหภูมิและความ ดันสูงกรณีใช้กรดอ่อน)	ไม่รุนแรง (ภาวะเป็นกรดเล็กน้อย อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ ความดันบรรยากาศ )
ผลของตัวยับยั้งต่อการย่อย	-	ส่งผลอย่างมาก
การเกิดตัวยับยั้งขณะย่อย	สูง	-

ในกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมากขึ้นจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ [30] โดยเมื่อปริมาณกลูโคสในสารละลายเพิ่มมากขึ้นจะยับยั้งการทำงานของปีต้า-กลูโคซิเดส ทำให้ในระบบมีการสะสมของเซลโลไบโอสเพิ่มขึ้น และเซลโลไบโอสจะไปยับยั้งการสังเคราะห์เอ็นโดกลูคาเนสและเอ็กโซกลูคาเนส ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด กลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แสดงดังรูปที่ 2-16



รูปที่ 2-16 กลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ [30]

### ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ [31]

- ความเข้มข้นของเอนไซม์

เมื่อซับสเตรตมีปริมาณมากพอ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของเอนไซม์ คือเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้น

- อุณหภูมิ

อัตราการทำงานของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จนถึงระดับหนึ่งการทำงานของเอนไซม์จะมีอัตราการทำงานสูงสุด แต่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านี้อัตราการทำงานกลับลดลง เพราะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์

- ความเป็นกรด-เบส  
มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เพราะเอนไซม์จะคงสภาพอยู่ได้ในช่วงความเป็นกรด-เบสที่จำกัดเท่านั้น โดยเอนไซม์โดยทั่วไปทำงานได้ดีในภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อยคือ 4.8
- ความเข้มข้นของซับสเตรต  
ปริมาณซับสเตรตมากขึ้นทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้นในช่วงแรกของการย่อย จากนั้นอัตราเร็วจะเริ่มคงที่
- ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์  
ปริมาณตัวยับยั้งเพิ่มขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง

#### 2.5.4 การหมักเอทานอล

การหมักเอทานอลเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในการเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวภายใต้สภาพที่ปราศจากออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยให้เป็นเอทานอล [7] ดังแสดงในสมการ (2-6) และ (2-7)



การเลือกใช้ชนิดของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับวัตถุดิบที่นำมาหมักจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก สำหรับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีคาร์บอนหกอะตอม (Hexose) เช่น กลูโคส (Glucose) ฟรุ็กโทส (Fructose) แมนโนส (Mannose) และกาแล็กโทส (Galactose) สามารถถูกหมักเป็นเอทานอลได้ทันทีโดยใช้จุลินทรีย์ที่มีในธรรมชาติ โดยอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอลจากการหมักส่วนใหญ่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการเปลี่ยนน้ำตาลเฮกโซสให้เป็นเอทานอล อย่างไรก็ตามเนื่องจากความซับซ้อนของคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีคาร์บอนห้าอะตอม (Pentose) เช่น น้ำตาลไซโลส (Xylose) และอาราบินอส (Arabinose) ซึ่งได้มาจากเฮมิเซลลูโลสที่มีในชีวมวลก็สามารถพบได้ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพหรือการย่อย ดังนั้นความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้ประโยชน์น้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในของเหลวจึงนับเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญเพื่อเพิ่มขีดความสามารถการแข่งขันในการผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทนี้ ในปัจจุบันด้านพันธุวิศวกรรมเริ่มให้ความสนใจในการพัฒนาและค้นคว้าสายพันธุ์ยีสต์หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นเพื่อใช้



ผลิตเอทานอล [32] ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียสายพันธุ์ *Zymomonas mobilis* ซึ่งพบว่าให้ผลได้ของเอทานอล (%ethanol yield) อัตราเร็วในการหมัก และความทนทานต่อเอทานอลสูงกว่ายีสต์

## 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ando และคณะ [33] ศึกษาพฤติกรรมการสลายตัวของวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส 3 ชนิด ได้แก่ ไม้ไผ่ (Bamboo) ชินคาพินโอ๊ค (Chinquapin oak, hardwood) และ ไม้ซีดาร์ญี่ปุ่น (Japan cedar, softwood) โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่องปริมาตร 3.6 มิลลิลิตร น้ำร้อนอัดความดันไหลผ่านด้วยอัตราเร็ว 10 มิลลิลิตรต่อนาที ความดันภายในเครื่องปฏิกรณ์เป็น 9.8 บาร์ อุณหภูมิเริ่มต้นของการออโตไฮโดรไลซิสคือ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราทำให้ความร้อน 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งน้ำมีอุณหภูมิ 285 องศาเซลเซียส ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เป็นเวลา 7 นาที ผลผลิตของเหลวที่ออกมาจากน้ำร้อนจะถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเฮมิเซลลูโลสเกือบทั้งหมดที่มีอยู่ในวัตถุดิบทั้ง 3 ชนิดสลายตัวออกมาที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส และลิกนินบางส่วนเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมินี้เช่นเดียวกัน แต่วัตถุดิบต่างชนิดกันจะมีพฤติกรรมการสลายตัวของลิกนินที่แตกต่างกัน ไม้ซีดาร์ญี่ปุ่นมีการสลายตัวของลิกนินน้อยกว่าวัตถุดิบอื่น ส่วนการสลายตัวของเซลลูโลสจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียส งานวิจัยนี้นับเป็นก้าวหนึ่งที่สำคัญต่อการพัฒนากระบวนการปรับปรุงสภาพเบื้องต้นให้ประสบความสำเร็จ โดยการสร้างความเข้าใจภาพรวมของการสลายตัวขององค์ประกอบที่สำคัญในวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสขณะปรับปรุงสภาพด้วยกระบวนการออโตไฮโดรไลซิส

Wan และคณะ [34] ศึกษาผลการเปรียบเทียบศักยภาพในการปรับปรุงสภาพเบื้องต้นของฟางจากต้นถั่วเหลือง (Soybean straw) ระหว่าง 2 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการออโตไฮโดรไลซิสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ปริมาตร 1 ลิตร อัตราส่วนระหว่างน้ำและชีวมวลเป็น 10 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิระหว่าง 170-210 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 3-10 นาที กับกระบวนการปรับปรุงสภาพเบื้องต้นโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 4-40 กรัมต่อ 100 กรัม ของชีวมวล ที่อุณหภูมิห้อง อัตราส่วนระหว่างน้ำและชีวมวลเป็น 10 ต่อ 1 พิจารณาประสิทธิภาพของกระบวนการจากผลได้ (Yield) ของกลูโคส ภายหลังจากย่อยเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในกากของแข็งที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงสภาพเบื้องต้น พบว่าสำหรับกระบวนการออโตไฮโดรไลซิส การละลายของไซเลนระหว่างกระบวนการปรับปรุงสภาพเบื้องต้นเป็นตัวแปรสำคัญต่อประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลสในกากของแข็งที่เหลือ การละลายของไซเลนในวัตถุดิบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิและเวลาในการปรับปรุงสภาพเบื้องต้นเพิ่มขึ้น ณ ภาวะการออโตไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้ร้อยละผลได้ของกลูโคส

สูงสุดเท่ากับ 70.76 และการละลายของไซเลนเท่ากับร้อยละ 80 สำหรับการปรับสภาพเบื้องต้นโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งมีหน้าที่หลักในการกำจัดลิกนิน พบว่าการละลายของไซเลนเป็นร้อยละ 46.37 และร้อยละผลได้ของกลูโคสสูงสุดเท่ากับ 65.55 จากงานวิจัยนี้ได้ข้อสรุปว่าการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการอโตไฮโดรไลซิสมีประสิทธิภาพสูงกว่ากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ทั้งในแง่ของประสิทธิภาพของกระบวนการซึ่งทราบได้จากผลได้ของกลูโคสและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

Yu และคณะ [35] ศึกษาผลของการปรับสภาพเบื้องต้นของฟางข้าว (Rice straw) ด้วยกระบวนการอโตไฮโดรไลซิส เหตุผลที่เลือกใช้ฟางข้าว เนื่องจากฟางข้าวถือเป็นหนึ่งในชีวมวลที่กำลังได้รับความสนใจมากเพราะเป็นธัญพืชที่มีการเพาะปลูกมากเป็นอันดับสามของโลก (ประมาณ 650 ล้านตันต่อปี) รองจากข้าวสาลีและข้าวโพด การผลิตเม็ดข้าวหนึ่งกิโลกรัมจะได้ฟางข้าวประมาณ 1.5 กิโลกรัม ดังนั้นฟางข้าวจึงเป็นวัตถุดิบเหลือทางการเกษตรที่มีปริมาณมากแต่มักถูกเผาทิ้งหลังการเก็บเกี่ยว เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวพบว่ามีปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนมาก ดังนั้นฟางข้าวจึงเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาการผลิตเอทานอลจากฟางข้าวยังมีไม่มากนัก [36] ในงานวิจัยนี้ใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเบื้องต้นของฟางข้าวโดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลและตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ของเหลวและผลได้ของน้ำตาลภายหลังผ่านการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ พบว่าภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้น น้ำตาลที่ละลายอยู่ในผลิตภัณฑ์ของเหลวคือน้ำตาลโมเลกุลคู่เป็นส่วนมาก ผลิตภัณฑ์มีกรดแอสติกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิและระยะเวลาการปรับสภาพเบื้องต้นมากขึ้น และมีเฟอร์ฟูอรอลเกิดขึ้นสูงสุด (2.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ปริมาณไซโลสในผลิตภัณฑ์ของเหลวสูงสุดเมื่อปรับสภาพที่ 180 องศาเซลเซียส จากผลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพเบื้องต้นของฟางข้าวด้วยกระบวนการอโตไฮโดรไลซิสคือ การใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพที่ภาวะนี้เมื่อนำไปย่อยด้วยเอนไซม์แล้วจะให้ร้อยละผลได้ของกลูโคสไม่น้อยกว่า 85

Zeng และคณะ [37] ตั้งข้อสมมติฐานว่าขนาดของอนุภาคมีผลต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่ามีพื้นที่ผิวสูงกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ดังนั้นอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าน่าจะถูกย่อยได้ง่ายกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ ผู้วิจัยจึงเลือกที่จะศึกษาผลของขนาดอนุภาคต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ โดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นและอัตราเร็วของกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ยังศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของวัตถุดิบทั้งก่อนและหลังการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM) เพื่อการอธิบายและการวิเคราะห์ผลที่ได้จากงานวิจัย ใน

งานวิจัยนี้ใช้วัตถุดิบตั้งต้นคือ ต้นและใบข้าวโพดหลังเก็บเกี่ยว (Corn stover) ที่มีขนาดแตกต่างกัน สองขนาดคือ 53-75 ไมโครเมตร และ 425-710 ไมโครเมตร แบ่งการศึกษาออกเป็นสองส่วน โดยส่วนที่หนึ่งเป็นการย่อยวัตถุดิบที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น พบว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก (53-75 ไมโครเมตร) ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ดีกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ (425-710 ไมโครเมตร) ประมาณ 1.5 เท่า และมีอัตราเร็วการย่อยสูงกว่า แต่ในส่วนที่สองวัตถุดิบก่อนเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์จะผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการออโตไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีก่อน พบว่าแม้ขนาดอนุภาคของวัตถุดิบตั้งต้นแตกต่างกัน แต่ทั้งความสามารถและความเร็วในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของเอนไซม์มีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของวัตถุดิบหลังการปรับสภาพเบื้องต้นและการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลก็จะพบว่าลักษณะที่ปรากฏคล้ายกัน จากงานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการออโตไฮโดรไลซิสช่วยลดความแตกต่างของประสิทธิภาพการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ของวัตถุดิบตั้งต้นที่มีขนาดแตกต่างกัน เพราะการเกิดรูพรุนที่มีขนาดระดับไมโครในโครงสร้างของอนุภาคภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้น ซึ่งส่งผลให้เอนไซม์สามารถเข้าถึงและย่อยน้ำตาลออกมาได้ง่ายขึ้น

งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยกระบวนการออโตไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่เติมสารเคมีในกระบวนการเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพโดยรวมของการแปรรูปวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอลเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงมีงานวิจัยอีกหลายงานวิจัยที่ศึกษากระบวนการให้มีความเหมาะสมกับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมยิ่งขึ้น เช่น การเพิ่มขนาดของเครื่องปฏิกรณ์ [38, 39] และการพัฒนาเป็นกระบวนการแบบกึ่งต่อเนื่องและแบบต่อเนื่อง

Petersen และคณะ [40] ศึกษาหาภาวะการปฏิบัติงานที่เหมาะสมในการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่องของฟางข้าวสาลี (Wheat straw) ระดับโรงงานต้นแบบขนาด 100 กิโลกรัมต่อชั่วโมง โดยไม่ใช้สารเคมีในกระบวนการ พิจารณาภาวะที่เหมาะสมจากปริมาณการนำกลับของน้ำตาล (Recovery of sugar) ภายหลังกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นและจากความสามารถในการแปรรูปชีวมวลไปเป็นเอทานอล ในกระบวนการชีวมวลถูกป้อนอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหล 50 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ผ่านน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความดันมากกว่าความดันอ้อมตัวของน้ำ เป็นเวลา 5 – 10 นาที จากนั้นน้ำส่วนเกินจะถูกแยกเก็บเป็นผลิตภัณฑ์ของเหลว ซึ่งองค์ประกอบส่วนใหญ่ คือ เสมิเซลลูโลส แร่ธาตุต่าง ๆ และตัวยับยั้ง เมื่อพิจารณาการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ส่วนนี้สามารถนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์โดยผ่านกระบวนการระเหย และยังสามารถนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอมได้ ส่วนชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นจะถูกป้อนเข้าเครื่องปฏิกรณ์โดยไหลสวนทางกับน้ำร้อน จากนั้นจะถูกบีบอัดเพื่อกำจัดน้ำส่วนเกิน และเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและหมักต่อไป น้ำส่วนเกินที่แยกออกมาจะถูกหมุนเวียนใช้ใน

กระบวนการ องค์ประกอบหลักของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้น คือ เซลลูโลส และลิกนิน โดยมีเฮมิเซลลูโลสอยู่เล็กน้อยขึ้นอยู่กับภาวะความรุนแรงของกระบวนการปรับสภาพ ผลการทดลองที่ได้ชี้ให้เห็นว่าภาวะที่เหมาะสมคือ การปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิ 195 องศาเซลเซียส เวลา 6 – 12 นาที ณ ภาวะนี้ปริมาณการนำกลับของเฮมิเซลลูโลส (%hemicellulose recovery) เท่ากับร้อยละ 70 และของเซลลูโลส (%cellulose recovery) ที่เหลือในของแข็งหลังปรับสภาพประมาณร้อยละ 93 - 94 ณ การปรับสภาพที่ภาวะที่เหมาะสมพบว่าค่าการเปลี่ยนเซลลูโลสในชีวมวลภายหลังการปรับสภาพไปเป็นเอทานอลมีค่าเท่ากับร้อยละ 89 และจะเพิ่มเป็นร้อยละ 92 เมื่อเติมเอนไซม์ไซเลสร่วมด้วยในขั้นตอนการเปลี่ยนจากเซลลูโลสเป็นเอทานอล



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

### บทที่ 3

#### เครื่องมือและวิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือและสารเคมี

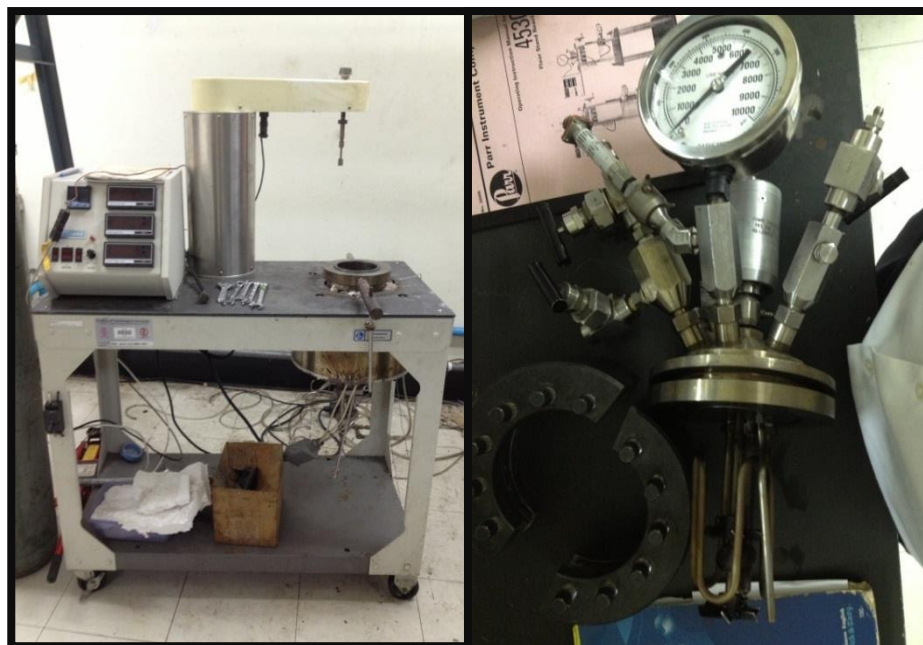
##### 3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.1.1.1 เครื่องบดย่อยชีวมวลชนิดหยาบ
- 3.1.1.2 เครื่องบดย่อยชีวมวลแบบละเอียดที่มีตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร
- 3.1.1.3 เตาอบ
- 3.1.1.4 เตาเผาอุณหภูมิสูง
- 3.1.1.5 เครื่องทำน้ำเกรด HPLC ยี่ห้อ ELGA PURELAB รุ่น Maxima LS
- 3.1.1.6 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath) ยี่ห้อ GFL รุ่น 1083
- 3.1.1.7 เครื่องชั่งอย่างหยาบ
- 3.1.1.8 เครื่องชั่งอย่างละเอียด
- 3.1.1.9 ถังกวนสำหรับเตรียมโคลน (Slurry) ฟางข้าวในน้ำ มีขนาดความจุรวม 300 ลิตร ภายในมีแผ่นปะทะ (Baffle) และมีการติดตั้งชุดให้ความร้อนภายในถังกวนและชุดควบคุมอุณหภูมิ ด้านล่างของถังมีวาล์วเปิดปิด (Ball valve)



รูปที่ 3-1 ถังกวน

- 3.1.1.10 เครื่องปฏิกรณ์ทนความดันสูง (High pressure reactor) ขนาด 1.2 ลิตร จากบริษัท Parr Instrument Company รุ่น 4571



รูปที่ 3- 2 เครื่องปฏิกรณ์ความดันสูง

- 3.1.1.11 เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic bath)
- 3.1.1.12 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)
- 3.1.1.13 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatograph) และแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) ยี่ห้อ Varian รุ่น Saturn 2200
- 3.1.1.14 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatograph: HPLC) จากบริษัท Shimadzu จำกัด รุ่น LC-10ADvp ประกอบด้วย Refractive Index Detector รุ่น RID-10v และ UV Detector รุ่น 200 โดยใช้คอลัมน์รุ่น Aminex HPX-87H จากบริษัท Bio-Rad ขนาด 7.8 มิลลิเมตร ยาว 300 มิลลิเมตร



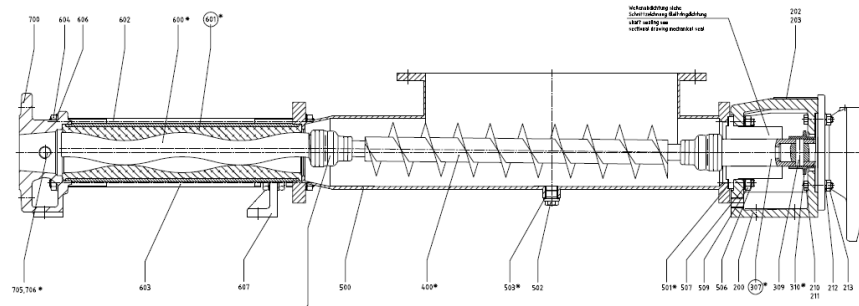


รูปที่ 3-3 เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง

3.1.1.15 เครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องสำหรับการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวล (Continuous pretreatment reactor) ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนประกอบหลักดังนี้

- ปัมสำหรับป้อนโคลนฟางข้าวในน้ำ

ปัมสำหรับป้อนโคลนฟางข้าวในน้ำเป็นปัมชนิด Progressive cavity pump จาก บริษัท Seepex จำกัด รุ่น BT-024 อัตราการป้อนที่ความเร็วรอบสูงสุดของปัมมีค่าเท่ากับ 1,000 ลิตรต่อชั่วโมง



รูปที่ 3-4 ภาพเขียนของ Progressive cavity pump

- เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ (Tube shape hydrothermal reactor)

เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ 1 ชุด ยาว 1 เมตร ทำจากสแตนเลสเบอร์ 304 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 1 ½ นิ้ว สามารถทนแรงดันสูงสุดได้ 40 บาร์ที่อุณหภูมิห้อง จำนวนของท่อทั้งหมดเป็น 16 ท่อ แบ่งเป็นส่วนให้ความร้อน 14 ท่อ แต่ละท่อมีอุปกรณ์ให้ความร้อนแบบไฟฟ้าขนาด 300 วัตต์ 220 โวลต์ จำนวน 3 ชุด ส่วนอีกสองท่อสุดท้ายก่อนออกจากเครื่องคือส่วนให้ความเย็น เป็นเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนแบบท่อสองชั้น (Double pipe heat exchanger) โดยใช้ น้ำเย็นจากเครื่องทำความเย็น (Chiller) เป็นสารหล่อเย็น



รูปที่ 3-5 เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อ

- ระบบควบคุมและบันทึกค่าอุณหภูมิ

อุปกรณ์วัดอุณหภูมิที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็น Pt100 จำนวนทั้งหมด 16 ตัว ติดตั้งบริเวณทางออกของทุกท่อ สัญญาณที่ได้จาก Pt100 จะถูกบันทึกในระบบดิจิทัลและใช้ประมวลผลเพื่อควบคุมการเปิด-ปิดของอุปกรณ์ให้ความร้อนทั้ง 16 ชุด แบบอิสระ การควบคุมอุณหภูมิประมวลผลด้วยไมโครคอมพิวเตอร์ในระบบพีไอดี



(PID control) แสดงผลแบบตามเวลาจริง (Real-time) บนหน้าจอแบบสัมผัสขนาด 6 นิ้ว ข้อมูลที่บันทึกไว้สามารถส่งออกสู่โปรแกรม Microsoft Excel เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ผลการทดลองได้



รูปที่ 3-6 ตู้ควบคุม

- วาล์วควบคุมความดัน

เลือกใช้วาล์วควบคุมความดันชนิด High-pressure sleeve trim valve จาก บริษัท Larox จำกัด ซึ่งใช้สำหรับตะกอนโคลนที่มีความหนืดและการกัดสีสูง และติดตั้งอุปกรณ์วัดความดันไว้ที่ท่อทางออกของเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งอุปกรณ์วัดความดันใช้เป็นแบบดิจิทัลเพื่อใช้บันทึกค่าความดันตามเวลาจริงตลอดการทดลอง ในไมโครคอมพิวเตอร์ชุดเดียวกับที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ

### 3.1.2 วัสดุดิบและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.2.1 ฟางข้าว

3.1.2.2 กากมันสำปะหลัง

3.1.2.3 แป้งมันสำปะหลัง

3.1.2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์เกล็ด (Sodium hydroxide pellet) เกรดวิเคราะห์

- 3.1.2.5 กรดซิตริก (Citric acid) เกรดวิเคราะห์
- 3.1.2.6 กลูโคส (Glucose)
- 3.1.2.7 ไซโลส (Xylose)
- 3.1.2.8 เฟอร์ฟูรอล (Furfural)
- 3.1.2.9 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ (5-hydroxymethyl-2-furaldehyde)
- 3.1.2.10 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) เกรดวิเคราะห์
- 3.1.2.11 เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) ได้รับจากสถาบันวิจัยและเทคโนโลยี บริษัท ปตท จำกัด (มหาชน)
- 3.1.2.12 แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) เกรดวิเคราะห์

### 3.2 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

#### 3.2.1 การเตรียมชีวมวลตั้งต้น (ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง)

ฟางข้าวที่ใช้ในงานวิจัยได้มาจากจังหวัดปทุมธานี นำมาบดโดยเครื่องบดอย่างหยาบ เพื่อให้ได้ฟางข้าวที่มีขนาดประมาณ 1 – 3 เซนติเมตร ฟางข้าวส่วนหนึ่งถูกแบ่งมาเพื่อวิเคราะห์หองค์ประกอบ

- ความชื้น หาได้จากการนำฟางข้าวไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก
- ปริมาณเถ้า หาได้จากการนำฟางข้าวไปเผาที่ 575 องศาเซลเซียส รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก
- ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน หาโดยใช้วิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐาน TAPPI รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

สำหรับกากมันสำปะหลังได้มาจากบริษัท เอี่ยม บурพา จำกัด ซึ่งเป็นโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในจังหวัดสระแก้ว กากมันสำปะหลังที่ได้เก็บไว้ในถุงอย่างมิดชิดเพื่อป้องกันแมลงวันเข้ามาวางไข่ องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังทั้งความชื้น ปริมาณเถ้า จะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกับการวิเคราะห์ฟางข้าว แต่การวิเคราะห์ปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จะใช้วิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Van Soest แทน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก ทั้งนี้เนื่องจากวิธีวิเคราะห์ตามมาตรฐาน TAPPI เหมาะสมกับ

ชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนินและ  
 ใยไม้ครอบคลุมถึงชีวมวลที่มีแบ่งเป็นองค์ประกอบหลัก

### 3.2.2 การหาวิธีเตรียมฟางข้าวและการศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลัง

3.2.2.1 ทดสอบการไหลของโคลนฟางข้าวจากวิธีในการเตรียมสารป้อนที่แตกต่างกัน 4 วิธี  
 ดังนี้

- ต้มฟางข้าวในน้ำที่อุณหภูมิ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ต้มฟางข้าวในน้ำที่อุณหภูมิ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติม  
 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก จากนั้นให้ความร้อนต่อไป  
 อีก 30 นาที พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง
- ต้มฟางข้าวในน้ำที่อุณหภูมิ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติม  
 แป้งมันสำปะหลัง จากนั้นให้ความร้อนต่อไปอีก 30 นาที พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง
- ต้มฟางข้าวในน้ำที่อุณหภูมิ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติม  
 กากมันสำปะหลัง จากนั้นให้ความร้อนต่อไปอีก 30 นาที พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง

วิธีการเตรียมที่เหมาะสมพิจารณาจากเงื่อนไข 4 ประการดังนี้คือ ความสม่ำเสมอและ  
 เป็นเนื้อเดียวกันของสารป้อน ความสามารถในการไหลอย่างต่อเนื่องของสารป้อนในเครื่อง  
 ปฏิกรณ์ ความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมของกระบวนการ และค่าใช้จ่ายของกระบวนการ

3.2.2.2 ศึกษาปริมาณตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารป้อนเป็นชีวมวลผสมระหว่าง  
 ฟางข้าวและกากมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

3.2.2.2.1 เตรียมสารป้อนโดยชั่งน้ำหนักฟางข้าว กากมันสำปะหลัง และน้ำใน  
 สัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งในการทดลองทำการเตรียมตัวอย่าง 2 ชุดตัวอย่าง  
 เพื่อเปรียบเทียบกัน โดยตัวอย่างแรกเป็นการใช้ชีวมวลแบบผสมกัน  
 ระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังในอัตราส่วนหนึ่งต่อหนึ่ง ณ  
 สัดส่วนของของแข็งต่อของเหลวเป็นร้อยละ 7 ขณะที่ตัวอย่างที่สองคือ  
 การใช้สารป้อนเป็นกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว

3.2.2.2.2 นำสารป้อนที่บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนแล้วใส่ลงในเครื่องปฏิกรณ์ทนความ  
 ตัน จากนั้นจึงประกอบเครื่องปฏิกรณ์ และตั้งโปรแกรมการให้ความร้อน

3.2.2.2.3 ทำการปรับสภาพชีวมวลที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียส ความ

ดัน 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที และเมื่อครบเวลาการทำปฏิกิริยา หล่อเย็นเครื่องปฏิกรณ์จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

3.2.2.2.4 ตัวอย่างภายหลังจากการปรับสภาพเบื้องต้นนำมากรองแยกด้วยระบบสุญญากาศ ส่วนที่เป็นของเหลวนำไปวิเคราะห์หาปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง และวิเคราะห์หาองค์ประกอบของตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นโดยการนำไปสกัดด้วยเฮกเซน จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟและแมสสเปกโตรมิเตอร์

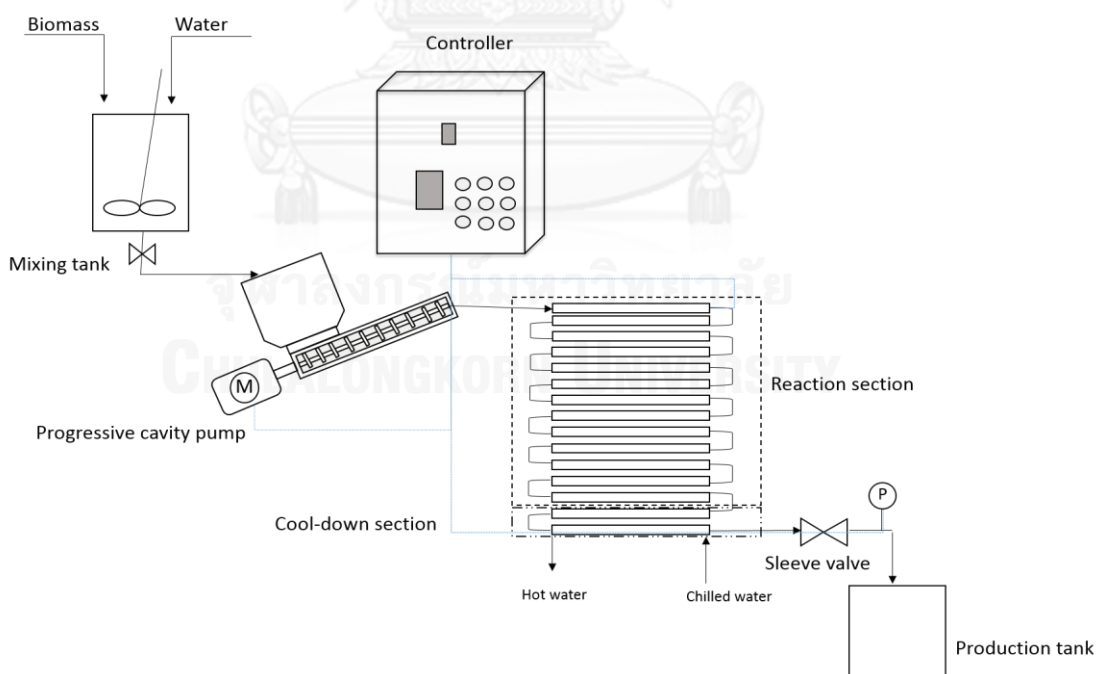
### 3.2.3 การปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องด้วยอโตไฮโดรไลซิส

- 3.2.3.1 ชั่งน้ำหนักของฟางข้าวที่ผ่านการบดแล้วประมาณ 9 กิโลกรัม และกากมันสำปะหลัง 35 กิโลกรัม ซึ่งคำนวณมาจากภาวะการทดลองที่คิดสัดส่วนของของแข็งต่อของเหลวในสารป้อนเป็นร้อยละ 7 ขณะที่สัดส่วนระหว่างฟางข้าวแห้งต่อกากมันสำปะหลังแห้งเป็น 1:1 (แสดงรายละเอียดในภาคผนวก ง) โดยค่าน้ำหนักที่แน่นอนของฟางข้าวและกากมันสำปะหลังนั้นจะได้อาจมาจากร้อยละของความชื้นของชีวมวลซึ่งมีค่าที่แตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละวันที่ทำการทดลอง
- 3.2.3.2 เติมน้ำปริมาณ 200 ลิตรลงในถังกวน จากนั้นจึงค่อย ๆ ป้อนฟางข้าวที่เตรียมไว้ก่อนหน้านี้ลงไปจนหมด แล้วจึงเปิดใบกวนพร้อมกับให้ความร้อนถังกวน
- 3.2.3.3 ต้มฟางข้าวในน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นจึงค่อย ๆ เติมหากมันสำปะหลังลงไปในถังกวนช้า ๆ เพื่อรักษาอุณหภูมิในถังกวนให้เปลี่ยนแปลงไม่มากนัก (อุณหภูมิของของผสมในถังกวนไม่ควรต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส)
- 3.2.3.4 เมื่อเติมหากมันสำปะหลังแล้วต้มของผสมต่อไปอีกประมาณ 30 นาที จึงหยุดการให้ความร้อน (ยังคงกวนของผสมตลอดเวลา) ปล่อยให้ของผสมเย็นตัวลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ยางบริเวณเสื่อปั๊มสามารถทนได้
- 3.2.3.5 ป้อนของผสมที่เตรียมได้สู่เครื่องปฏิกรณ์ ณ ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนสู่มอเตอร์ของปั๊มที่สนใจทำการศึกษ ได้แก่ 5 และ 10 เฮิร์ต ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการไหลของชีวมวลแห้งโดยเฉลี่ยประมาณ 1.5 และ 3 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ พร้อมจับเวลาจนกระทั่งของผสมไหลออกที่ทางออกของเครื่องปฏิกรณ์อย่างต่อเนื่อง

3.2.3.6 เริ่มทำความดันให้ระบบ โดยปรับวาล์วควบคุมความดันที่บริเวณทางออกของเครื่องปฏิกรณ์อย่างช้า ๆ จนกระทั่งระบบมีความดันมากกว่าความดันอิมิตัวของน้ำในภาวะที่ทำการศึกษา ข้อควรระวังในขั้นตอนนี้คือการเพิ่มความดันจะทำให้เกิดการสะสมของของผสมในระบบก่อนที่ของผสมที่มีความดันสูงจะไหลออกจากเครื่องปฏิกรณ์อย่างรุนแรง เหตุการณ์เช่นนี้จึงทำให้ระบบมีความดันที่ไม่คงที่ตลอดการทดลอง จึงต้องควบคุมให้ได้ช่วงความดันที่เหมาะสมแทน อย่างไรก็ตามเมื่อความดันของระบบมีค่าสูงกว่าความดันอิมิตัวของไอน้ำ ณ อุณหภูมิที่ใช้ปรับสภาพเบื้องต้น การเปลี่ยนแปลงความดันในการปรับสภาพเบื้องต้นไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการปรับสภาพ

3.2.3.7 เปิดระบบหล่อเย็น จากนั้นจึงเปิดระบบให้ความร้อนแก่เครื่องปฏิกรณ์โดยเพิ่มอุณหภูมิของเครื่องปฏิกรณ์ไปยังอุณหภูมิที่ต้องการปรับสภาพ ข้อควรระวังในการเปิดส่วนให้ความร้อนคือให้ค่อย ๆ เปิดทีละ 6 ตัว เมื่อ 6 ตัวแรกอุณหภูมิถึงอุณหภูมิที่ต้องการแล้วจึงเปิดส่วนให้ความร้อนส่วนที่เหลือ

3.2.3.8 รอให้ระบบเข้าสู่สถานะคงตัว (Steady state) จึงทำการเก็บตัวอย่าง ครึ่งละ 15 นาที จำนวน 4 ตัวอย่าง พร้อมกับวัดอัตราการไหลขาออกของผลิตภัณฑ์



รูปที่ 3-7 แผนภาพกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

- 3.2.3.9 ปิดอุปกรณ์ให้ความร้อน รอจนอุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องจึงปิดระบบหล่อเย็น จากนั้นค่อย ๆ ลดความดันของระบบลงอย่างช้า ๆ จนกระทั่งเท่ากับความดันบรรยากาศ ขั้นตอนที่สุดท้ายทำการล้างเครื่องโดยการป้อนกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียวและน้ำตามลำดับ เพื่อป้องกันฟางข้าวติดในปั๊มและเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาในการทำการทดลองครั้งต่อไป
- 3.2.3.10 นำตัวอย่างที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศผ่านกระดาษกรองเบอร์ 40 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างของเหลวและของแข็งเปียกที่แน่นอนเพื่อคำนวณหาร้อยละของเหลวและของแข็งเปียกในของผสมภายหลังการปรับสภาพ
- 3.2.3.11 แบ่งส่วนที่เป็นของแข็งเปียกมาหาความชื้นโดยการอบที่ 105 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง ของแข็งเปียกที่เหลือและส่วนที่เป็นของเหลวให้เก็บที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียสเพื่อนำไปใช้ต่อไป

### 3.2.4 การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

#### 3.2.4.1 การเตรียมสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์

- เตรียมสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ 1 โมลต่อลิตร จากการผสมส่วนประกอบดังนี้

กรดซิทริกโมโนไฮเดรต	210	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	50 – 60	กรัม
น้ำกลั่น	750	มิลลิลิตร

จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร วัดค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายบัฟเฟอร์ดังกล่าว โดยจะต้องมีค่าความเป็นกรด-เบสประมาณ 4.8 ในกรณีที่ค่าความเป็นกรด-เบสต่ำกว่า 4.8 ให้ปรับโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนกระทั่งได้ค่าของความเป็นกรด-เบสดังกล่าว

- เตรียมสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร จากการนำสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร มาเจือจางในน้ำกลั่นที่มีปริมาตร 190 มิลลิลิตร

### 3.2.4.2 ขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล

- ชั่งน้ำหนักของแข็งที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น จำนวน 12 กรัมเปียก ซึ่งคิดเป็น 1.2 กรัมแห้ง (ซึ่งค่าน้ำหนักที่แน่นอนนั้นได้มาจากร้อยละของความชื้นของของแข็งเปียก) ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- เติมสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร จำนวน 50 มิลลิลิตร และเอนไซม์เซลลูเลส 1 มิลลิลิตรลงในขวด ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยแผ่นอะลูมิเนียม จากนั้นนำไปใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 50 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำตัวอย่างที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ บนที่ก้นน้ำหนักตัวอย่างของเหลวและของแข็งเปียก
- นำของแข็งเปียกไปอบที่ 50 องศาเซลเซียสจนกว่าน้ำหนักคงที่ เก็บตัวอย่างของเหลวและของแข็งแห้งเพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 3.2.5 การวิเคราะห์ผล

#### 3.2.5.1 ผลิตกัณฑ์ของเหลว

- ของเหลวภายหลังการปรับสภาพ  
นำไปวัดความเป็นกรด-เบสโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) จากนั้นแบ่งมาวิเคราะห์เป็น 2 ส่วนดังนี้

**ส่วนที่ 1** ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (กลูโคสและไซโลส) และปริมาณตัวยับยั้ง (เฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์)

- เตรียมกราฟมาตรฐานของ

กลูโคส	0 – 12	mg/ml
ไซโลส	0 – 12	mg/ml
เฟอร์ฟูรอล	0 – 1	mg/ml
5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์	0 – 1	mg/ml

- กรองตัวอย่างของเหลวประมาณ 2 มิลลิลิตร ผ่านตัวกรองขนาด 0.4 ไมโครเมตรด้วยเข็มฉีดยาใส่ขวดแก้วเล็ก (Vial) และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือน้ำตาลอิสระ ใช้ภาวะในการวิเคราะห์เป็นดังนี้

ปริมาณตัวอย่าง	: 20 ไมโครลิตร
ชนิดตัวพา	: กรดซัลฟิวริก 0.005 โมลต่อลิตร
อัตราการไหล	: 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิคอลัมน์	: 55 องศาเซลเซียส
ตัวตรวจจับสัญญาณ	: Refractive Index Detector
เวลาการวิเคราะห์	: 30 นาที

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณตัวยับยั้ง ใช้ภาวะในการวิเคราะห์เป็นดังนี้

ปริมาณตัวอย่าง	: 20 ไมโครลิตร
ชนิดตัวพา	: กรดซัลฟิวริก 0.005 โมลต่อลิตร
อัตราการไหล	: 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิคอลัมน์	: 55 องศาเซลเซียส
ตัวตรวจจับสัญญาณ	: UV Detector (ความยาวคลื่น 210 nm)
เวลาการวิเคราะห์	: 60 นาที

## ส่วนที่ 2 ปริมาณโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Gluco- and Xylo-oligosaccharide)

- เตรียมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 98 โดยน้ำหนัก
- ปิเปตของเหลวที่ต้องการนำมาวิเคราะห์ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มีฝาปิดขนาด 50 มิลลิลิตร
- เตรียมสารละลายกลูโคสผสมไซโลสปริมาณ 10 มิลลิลิตรเพื่อใช้เป็นค่าแก้ไขการสูญเสียของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว
- เติมกรดซัลฟิวริกที่เตรียมไว้ก่อนหน้า ปริมาณ 348 ไมโครลิตรลงในตัวอย่างของเหลวและสารละลายน้ำตาลที่ได้เตรียมไว้ (ปริมาณกรดที่แน่นอนขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-เบสของของเหลวที่ทำมาวิเคราะห์แสดงดังตาราง จ-3 ใน



ภาคผนวก จ) จากนั้นปิดฝาขวดและนำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

- ปลอ่ยให้ของเหลวเย็นตัวลงช้า ๆ ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับความเป็นกรด-เบสให้อยู่ในช่วง 5 – 6 โดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนต
- ปลอ่ยให้เกิดการแยกชั้น จากนั้นนำของเหลวส่วนบนมากรองผ่านตัวกรองขนาด 0.4 ไมโครเมตร ก่อนนำไปวิเคราะห์ห้องค์ประกอบของน้ำตาล เช่นเดียวกับวิธีในส่วนที่ 1
- ของเหลวภายหลังการเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์  
ของเหลวในส่วนนี้นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเช่นเดียวกับวิธีที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นในส่วนที่ 1

### 3.2.5.2 ผลิตภัณฑ์ของแข็ง

- ของแข็งภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้น  
นำมาวิเคราะห์หาปริมาณของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยใช้วิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Van Soest อีกส่วนหนึ่งจะนำไปวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างพื้นผิวที่เปลี่ยนแปลงไปของชีวมวลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
- ของแข็งภายหลังการเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์  
นำไปวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างพื้นผิวที่เปลี่ยนแปลงไปของชีวมวลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องของฟางข้าวโดยอโตไฮโดรไลซิส ซึ่งเป็นการเตรียมฟางข้าวให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสซึ่งถือเป็นองค์ประกอบสำคัญของฟางข้าวไปเป็นกลูโคสที่เป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการผลิตเอทานอลชีวภาพโดยการหมักด้วยยีสต์ต่อไป สำหรับในกระบวนการปรับสภาพอย่างต่อเนื่องนั้นตัวแปรที่ทำการศึกษาประกอบด้วยอุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้น และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนสู่มอเตอร์ของบิ๊มซึ่งสัมพันธ์กับเวลาที่ชีวมวลอยู่ในเครื่องปฏิกรณ์ การประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการปรับสภาพพิจารณาจากร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดจากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่ภาวะต่าง ๆ และปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเป็นสำคัญ

#### 4.1 ผลการวิเคราะห์ร้อยละเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนินและเถ้าในชีวมวลตั้งต้น

การวิเคราะห์องค์ประกอบของฟางข้าวที่นำมาใช้ในงานวิจัย ใช้วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบตามมาตรฐาน TAPPI (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก) โดยผลของการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4-1 จากข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์พบว่าเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของฟางข้าว คิดเป็นร้อยละ 38.19 โดยน้ำหนักแห้ง และองค์ประกอบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในฟางข้าวคือเฮมิเซลลูโลส คิดเป็นร้อยละ 32.15 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีลิกนินและเถ้าอยู่อย่างละประมาณร้อยละ 12 ขององค์ประกอบอื่น ๆ ในที่นี้เป็นสารแทรกชนิดต่าง ๆ ที่มีอยู่ปริมาณเล็กน้อยภายในเซลล์ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของฟางข้าวที่ได้มีความสอดคล้องกับผลจากการศึกษาสมบัติของฟางข้าวเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอลชีวภาพของ Binod และคณะ [36] จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าวทำให้สามารถสรุปได้ว่าฟางข้าวถือเป็นชีวมวลเหลือทิ้งที่เป็นแหล่งเซลลูโลสที่สำคัญ มีศักยภาพเพียงพอต่อการผลิตกลูโคส ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าได้หลายชนิดซึ่งหนึ่งในนั้นคือเอทานอล และเนื่องจากในฟางข้าวยังมีเฮมิเซลลูโลสซึ่งนับเป็นอีกองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญ ทั้งยังเป็นองค์ประกอบที่ขัดขวางการย่อยเซลลูโลสของเอนไซม์ ดังนั้นการปรับสภาพฟางข้าวโดยอโตไฮโดรไลซิสจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสม เพราะการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้ ณ ภาวะที่เหมาะสมจะสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกมาจากชีวมวลได้อย่างสมบูรณ์ [42]

ตารางที่ 4-1 ร้อยละองค์ประกอบของฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบ	ตัวอย่าง	
	ฟางข้าว	กากมันสำปะหลัง
เซลลูโลส	38.19	25.51
เฮมิเซลลูโลส	32.15	12.45
ลิกนิน	12.68	4.29
เถ้า	12.02	2.43
อื่น ๆ	4.96	55.32

สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังใช้วิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Van Soest (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก) แต่จะไม่สามารถวิเคราะห์ตามมาตรฐาน TAPPI ได้ เนื่องจากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังในงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง [53, 65] พบว่าองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังคือแป้ง โดยมีอยู่ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 50 ซึ่งแป้งที่มีอยู่เป็นจำนวนมากจะรบกวนการวิเคราะห์ตามมาตรฐาน TAPPI ทำให้ผลลัพธ์ที่ได้คลาดเคลื่อน โดยจะให้ค่าร้อยละเซลลูโลสสูงกว่าความเป็นจริงเนื่องจากในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ร้อยละของเซลลูโลสถูกคิดมาจากทั้งส่วนของแป้งและเซลลูโลสรวมกัน ขณะที่วิธีการของ Van Soest ส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใย (Non – structural carbohydrate) คือแป้งจะถูกแยกออกก่อนในขั้นตอนแรกทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณของเซลลูโลสในชีวมวลได้อย่างถูกต้อง เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกากมันสำปะหลังในตารางที่ 4-1 พบว่าในกากมันสำปะหลังมีเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 25.51 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ร้อยละ 55.32 คือคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใยซึ่งประกอบด้วยแป้งและสารแทรกร้อยละ 53.09 และ 2.23 ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์ในงานวิจัยของธีรพัฒน์และคณะ [65] ซึ่งพบว่าในกากมันสำปะหลังมีเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 24.99 และมีแป้งอยู่ประมาณร้อยละ 60 จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าวแสดงให้เห็นความเป็นไปได้ว่าการผลิตกลูโคสจากกากมันสำปะหลังสามารถผลิตได้จากสองส่วนคือจากแป้งซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังและจากเซลลูโลสซึ่งมีปริมาณมารองจากแป้ง

## 4.2 ผลของการเตรียมชีวมวล

ในกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่อง การบ้อนโคลนฟางข้าวเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ โดยตรงไม่สามารถทำได้ เพราะลักษณะทางกายภาพของฟางข้าวที่มีความแข็งทำให้เกิดการอุดตันของโคลนฟางข้าวบริเวณส่วนทำความดันของปั๊มและภายในเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นในการทดลองจึงต้องหาวิธีการเตรียมสารบ้อนเพื่อให้โคลนฟางข้าวสามารถไหลได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่เกิดการอุดตัน

### 4.2.1 ศึกษาวิธีการเตรียมชีวมวล

ตารางที่ 4-2 แสดงสรุปผลการทดลองเพื่อหาวิธีการเตรียมสารบ้อนที่เหมาะสม ซึ่งพบว่าการต้มฟางข้าวเพียงอย่างเดียวนั้นแม้จะทำให้ฟางข้าวนิ่มมากขึ้น แต่โคลนฟางข้าวที่ผ่านการต้มไม่สามารถไหลผ่านส่วนทำความดันเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ได้ อีกทั้งโคลนฟางข้าวที่ได้ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน โดยเมื่อต้มฟางข้าวเป็นเวลาประมาณ 2 – 3 ชั่วโมงจะเกิดการแยกชั้นกันอย่างชัดเจน ซึ่งฟางข้าวจะตกจมสู่ด้านล่างของถังผสม สำหรับวิธีที่สองซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้สารเคมีเพื่อช่วยปรับปรุงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว พบว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้ฟางมีลักษณะเป็นเจล (Gel) ในน้ำซึ่งมีลักษณะคล้ายสารหล่อลื่น เนื่องจากการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นเบสจะทำให้ฟางข้าวอ่อนตัวลงและทำให้เกิดการบวมตัวของฟางข้าว เพราะลิกนินซึ่งถือเป็นองค์ประกอบที่ให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ในฟางข้าวจะสลายตัวออกมา (Delignification) [63] ซึ่งกระบวนการเช่นนี้มีให้เห็นอยู่โดยทั่วไปในการเตรียมเยื่อกระดาษในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ แม้ว่าการเติมสารเคมีอาจทำให้โคลนฟางข้าวสามารถไหลผ่านส่วนทำความดันและเครื่องปฏิกรณ์ได้โดยไม่เกิดการอุดตัน แต่จะทำให้จุดแข็งของกระบวนการอัตโนมัติไฮดรอลิซิสคือเป็นกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นชีวมวลโดยไม่ใช้สารเคมีสูญเสียไป วิธีที่สามเป็นการเติมแป้งมันสำปะหลังเพื่อเพิ่มความต่อเนื่องและสมบัติการหล่อลื่นของโคลนฟางข้าวในน้ำ พบว่าเมื่อบ้อนโคลนฟางข้าวเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ไม่เกิดปัญหาการติดขัดของโคลนฟางข้าวในส่วนทำความดันและเครื่องปฏิกรณ์ ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้คือ เม็ดแป้งเมื่อได้รับความร้อนจะเกิดการเจลาติไนซ์ (Gelatinization) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลของเม็ดแป้ง (Starch granule) เนื่องจากความร้อนทำลายพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของเม็ดแป้ง สายพอลิเมอร์ของอะมิโลส (Amylose) และอะมิโลเพกติน (Amylopectin) ที่อัดแน่นอยู่ในเม็ดแป้งจะคลายตัวและรวมเข้ากับน้ำที่ล้อมรอบ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏโดยทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัว และความหนืดของน้ำแป้งเพิ่มสูงขึ้นอย่าง

ต่อเนื่อง จึงส่งผลให้โคลนฟางข้าวที่เตรียมด้วยวิธีนี้สามารถไหลได้อย่างไม่ติดขัด แต่เมื่อพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายในกระบวนการพบว่าแ่งมันสำปะหลังที่นำมาใช้ทำการทดลองเป็นเกรดบริโภคซึ่งมีราคาประมาณกิโลกรัมละ 70 บาท ดังนั้นการเตรียมสารป้อนโดยใช้แ่งมันสำปะหลังเป็นตัวประสานสำหรับการปรับสภาพเบื้องต้นของฟางข้าวจึงไม่เหมาะสมในทางเศรษฐศาสตร์

ตารางที่ 4-2 การประเมินหาวิธีการเตรียมสารป้อนที่เหมาะสม

เกณฑ์ที่พิจารณา	วิธีการที่ใช้			
	I	II	III	IV
ความเป็นเนื้อเดียว				
กันของสารป้อน	x	✓	✓	✓
ความสามารถในการไหลอย่างต่อเนื่อง	x	✓	✓	✓
ความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม	✓	x	✓	✓
ค่าใช้จ่ายของวิธีการ	x	x	x	✓

หมายเหตุ: ✓ คือ เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด x คือ ไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

I คือ ต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

II คือ ต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

III คือ ต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมแ่งมันสำปะหลัง

IV คือ ต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมกากมันสำปะหลัง

ดังนั้นในวิธีที่สี่จึงเลือกใช้กากมันสำปะหลังซึ่งเป็นของเสียที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีราคาถูก โดยมีราคาต่อกิโลกรัมเพียง 1 – 2 บาท (เทียบราคารับซื้อจากหน้าโรงงานแป้งมันสำปะหลัง) เพราะส่วนมากจะใช้เป็นอาหารสัตว์เท่านั้น แต่เนื่องจากองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังมีแป้งมากกว่าร้อยละ 50 ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้เตรียมสารป้อนได้เช่นเดียวกับการใช้แป้งมันสำปะหลัง

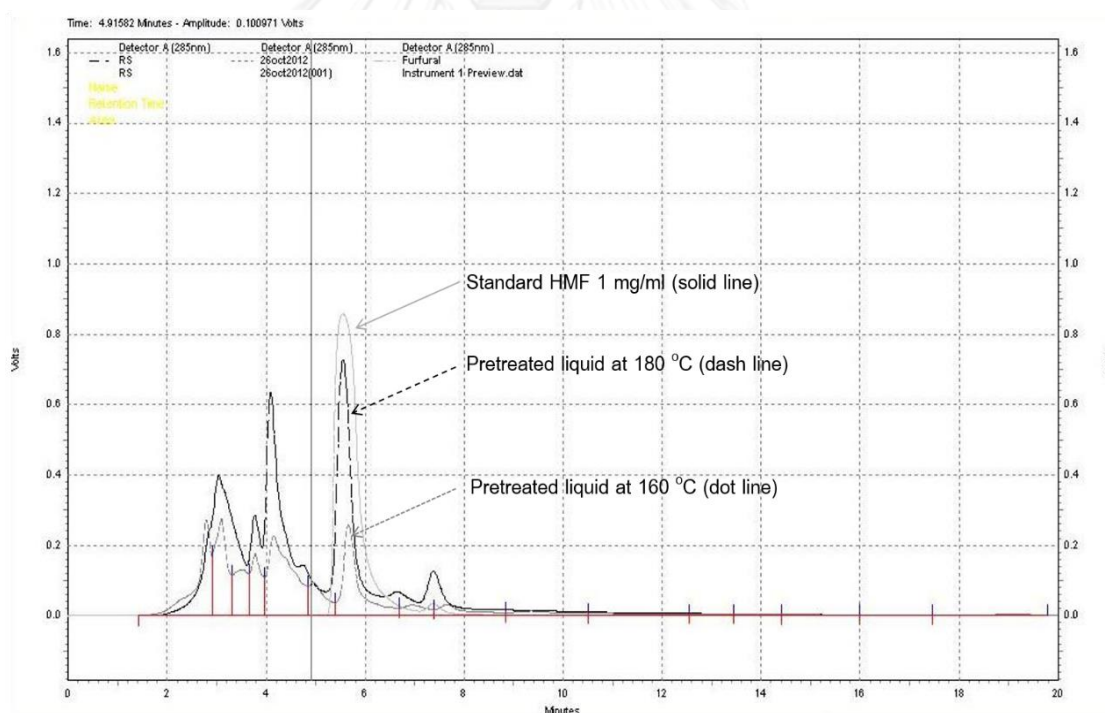
จากการศึกษาหาวิธีการเตรียมสารป้อนที่เหมาะสมสามารถสรุปได้ว่า วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมสารป้อนคือการต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงเติมกากมันสำปะหลัง จากนั้นให้ความร้อนต่อไปอีก 30 นาที พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง โดยสัดส่วนของกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการเตรียมสารป้อนแต่ละครั้งคิดเป็นร้อยละ 3.5 เมื่อเทียบกับน้ำหนักของของเหลว และสัดส่วนของฟางข้าวต่อกากมันสำปะหลังเท่ากับ 1 ต่อ 1 (โดยน้ำหนักแห้ง) องค์ประกอบของชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังซึ่งวิเคราะห์จากวิธีการของ Van Soest และจากการคำนวณแสดงดังตารางที่ 4-3 พบว่าค่าที่ได้จากทั้งสองวิธีมีความใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4-3 ร้อยละองค์ประกอบของฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบ	ฟางข้าวผสมกากมัน	
	จากการวิเคราะห์	จากการคำนวณ
เซลลูโลส	30.85	31.85
เฮมิเซลลูโลส	22.96	22.30
ลิกนิน	7.93	8.48
เถ้า	4.24	7.23
อื่นๆ	34.02	30.14

#### 4.2.2 ศึกษาปริมาณตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้สารป้อนเป็นชีวมวลผสมระหว่าง ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง

เนื่องจากการวิจัยนี้ศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นโดยใช้ชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง ซึ่งคาดว่าผลลัพธ์ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยไฮโดรไลซิสน่าจะมีความแตกต่างจากการปรับสภาพฟางข้าวเพียงอย่างเดียวซึ่งมีการศึกษาในงานวิจัยหลายงานวิจัย เพราะว่ากากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก การสลายตัวของแป้งเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส ส่งผลให้การปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงเกินไปมีโอกาสเกิดสารยับยั้งต่อการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ได้ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาการปรับสภาพของชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ขนาด 1.2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียส ความดัน 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องต่อไป



รูปที่ 4-1 สัญญาณ UV-Visible Detector จากเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียส เทียบกับสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูรัลดีไฮด์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4-1 แสดงผลการวิเคราะห์ของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาถึงปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถ้าของเหลวภายหลังการปรับสภาพมีความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรอลมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและขั้นตอนการหมักตามลำดับ [20] จากการวิเคราะห์พบว่าของเหลวหลังจากการปรับสภาพชีวมวลที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส มีความเข้มข้นของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งน่าจะเกิดมาจากการสลายตัวของแป้งที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังเป็นหลัก เพราะในการปรับสภาพชีวมวลที่เป็นฟางข้าวเพียงอย่างเดียวจากการศึกษา งานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะพบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์จำนวนมากเฉพาะเมื่อใช้อุณหภูมิ การปรับสภาพสูงกว่า 200 องศาเซลเซียสเท่านั้น [35] ขณะที่ของเหลวหลังจากการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ตรวจพบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์อยู่จำนวนเล็กน้อยซึ่งไม่ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และยีสต์ จึงสามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่สำคัญในการกำหนดองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการจากการปรับสภาพเบื้องต้น ในน้ำร้อนอัดความดัน ภาวะการปรับสภาพเบื้องต้นที่รุนแรงเกินไปจะก่อให้เกิดสารยับยั้งที่จะส่งผลกระทบทั้งในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและการหมัก

เมื่อพิจารณารูปที่ 4-1 เพิ่มเติมจะพบว่านอกจาก 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์แล้วยังตรวจพบองค์ประกอบอื่นซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นเฟอร์ฟูรอลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรอล จึงนำตัวอย่างของเหลวไปสกัดด้วยเฮกเซนและนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเครื่อง GC-MS/MS เพื่อยืนยันโครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบอื่น ๆ ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพ โดยเลือกของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีปริมาณของเฟอร์ฟูรอลและอนุพันธ์สูงกว่าของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส องค์ประกอบในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ตรวจพบแสดงดังตารางที่ 4-4

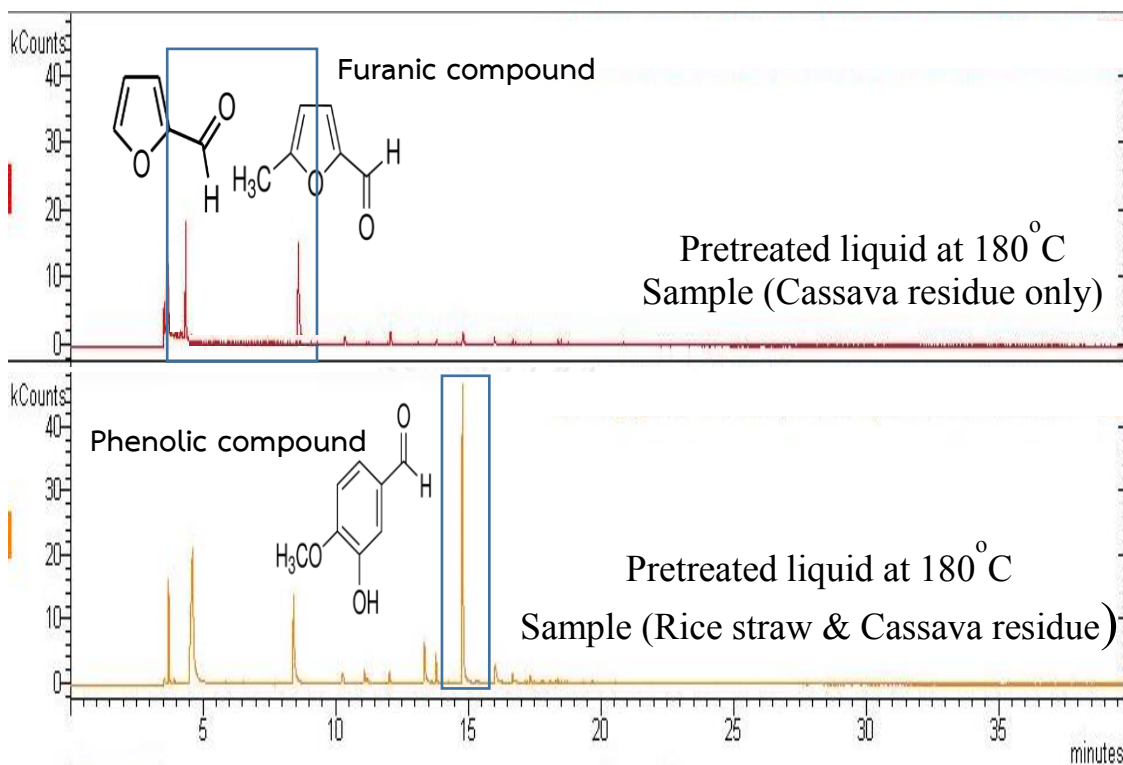


**ตารางที่ 4-4** องค์ประกอบในของเหลวภายหลังปรับสภาพเบื้องต้นแบบแบดซ์ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ความดัน 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที

พีคที่	ชื่อทางเคมี	มวลโมเลกุล
1	Furfural	96
2	5-Methyl-2-furancarboxaldehyde	110
3	2-Methoxy-phenol	124
4	2,5-Dimethylhydroquinone	138
5	3-Methyl-benzaldehyde	120
6	4-Phenyl-2-butanone	148
7	2-Methoxy-4-vinylphenol	150
8	3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde	152
9	2-Methoxy-4-(1-propenyl)phenol	164
10	4-(4-Methoxyphenyl)-2-butanone	178

ผลการวิเคราะห์จาก GC-MS/MS พบว่าสารที่ยังเกิดขึ้นในของเหลวภายหลังการปรับสภาพสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ สารประกอบกลุ่มฟูแรน (Furanic compound) เป็นอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรอล ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic compound) เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งคาดว่าเกิดจากการสลายตัวของลิกนิน สารประกอบทั้งสองกลุ่มเป็นตัวที่ยังการทำงานของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก

นอกจากนี้เมื่อทดลองปรับสภาพกากมันสำปะหลังอย่างเดี่ยวในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบดซ์ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ความดัน 20 บาร์ เป็นเวลา 30 นาที เพื่อศึกษาเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ภาวะการทดลองเดียวกัน แสดงดังรูปที่ 4-2 พบว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเกิดขึ้นเมื่อปรับสภาพฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลัง และพบสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกน้อยมากเมื่อปรับสภาพกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเกิดมาจากฟางข้าว นอกจากนี้ยังพบว่าการที่เกิดเฟอร์ฟูรอล และอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรอลปริมาณมากในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นผลมาจากการสลายตัวในส่วนของกากมันสำปะหลัง



รูปที่ 4-2 สัญญาณจากเครื่อง GC-MS/MS ของของเหลวหลังการปรับสภาพของกากมันสำปะหลัง และฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

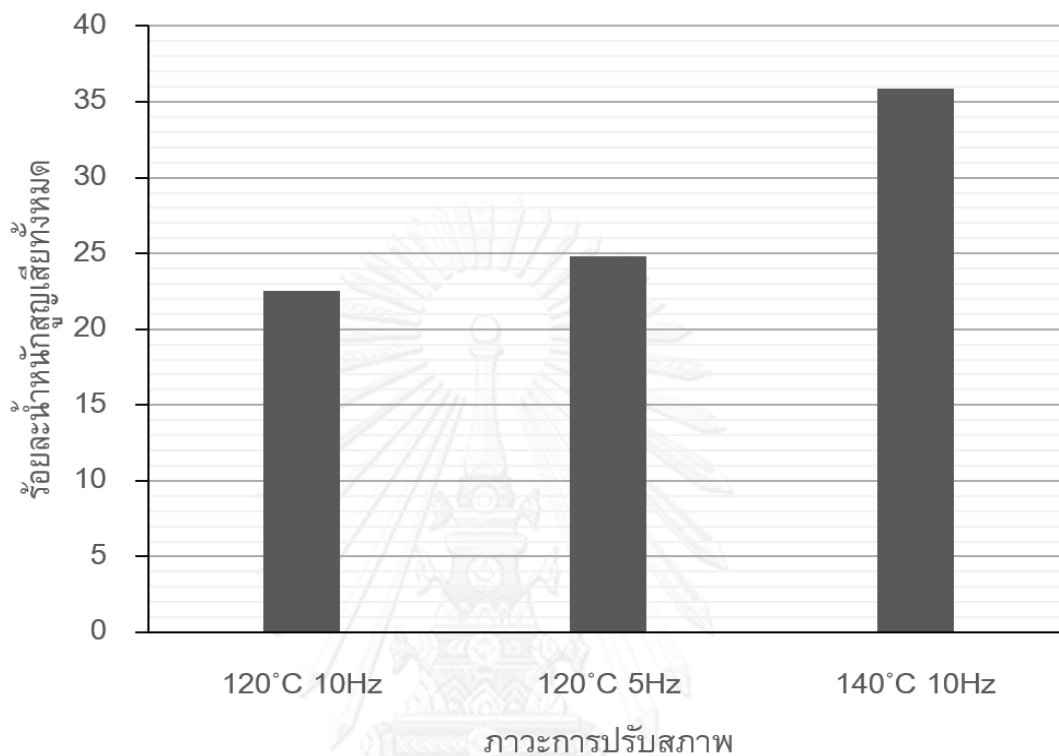
#### 4.3 การศึกษากระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

จากผลการศึกษาในส่วนของการเตรียมสารป้อนให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม และการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อการใช้ชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบดซ์ ผลของการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องแสดงดังต่อไปนี้

##### 4.3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปในระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น

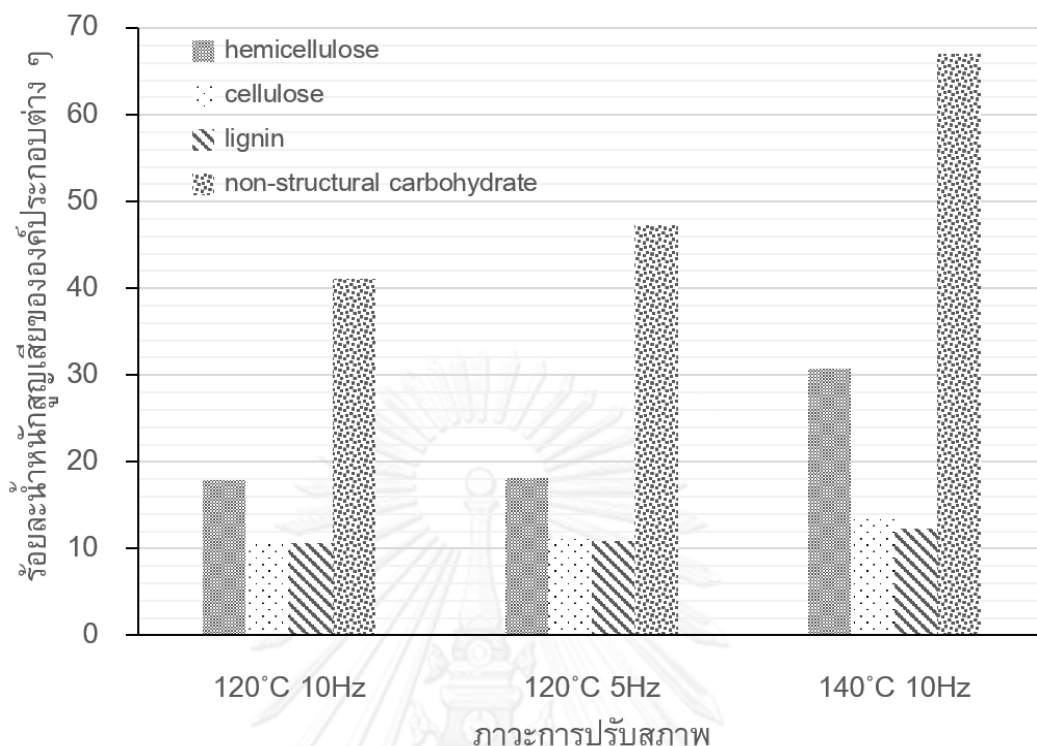
หลักการของกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นโดยออโตไฮโดรไลซิสคือการกำจัดองค์ประกอบต่าง ๆ นอกเหนือจากเซลลูโลสออกมาจากชีวมวลให้ได้มากที่สุดเพื่อให้ชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเป็นชีวมวลที่มีปริมาณของเซลลูโลสสูงขึ้น (Cellulose-enriched material) เหมาะสมต่อการนำไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้เป็นกลูโคสและนำไปหมักเป็น

เอทานอลต่อไป ในรูปที่ 4-3 แสดงถึงร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียบนของชีวมวลภายหลังจากที่ชีวมวลผ่าน การปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องที่ภาวะต่าง ๆ



รูปที่ 4-3 ร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมดในการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องที่ ภาวะต่าง ๆ

ร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมด (%overall weight loss) คำนวณได้จากน้ำหนักของชีวมวลที่หายไปในช่วงการปรับสภาพต่อน้ำหนักของชีวมวลเริ่มต้น (ตัวอย่างการคำนวณแสดงในภาคผนวก จ) ซึ่งพบว่าภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงขึ้นส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมดมีค่าสูงขึ้น โดยเฉพาะผลของการเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพจาก 120 องศาเซลเซียส ไปเป็น 140 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากประมาณร้อยละ 22 – 24 เป็นร้อยละ 35 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้นเป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดสำหรับกระบวนการปรับสภาพชีวมวล ขณะที่การเพิ่มเวลาการปรับสภาพในเครื่องปฏิกรณ์โดยการลดความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มจาก 10 เฮิร์ต เหลือ 5 เฮิร์ต ร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมดแตกต่างกันเพียงประมาณร้อยละ 2 เท่านั้น แสดงให้เห็นว่าเวลาการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อร้อยละน้ำหนักสูญเสทั้งหมด



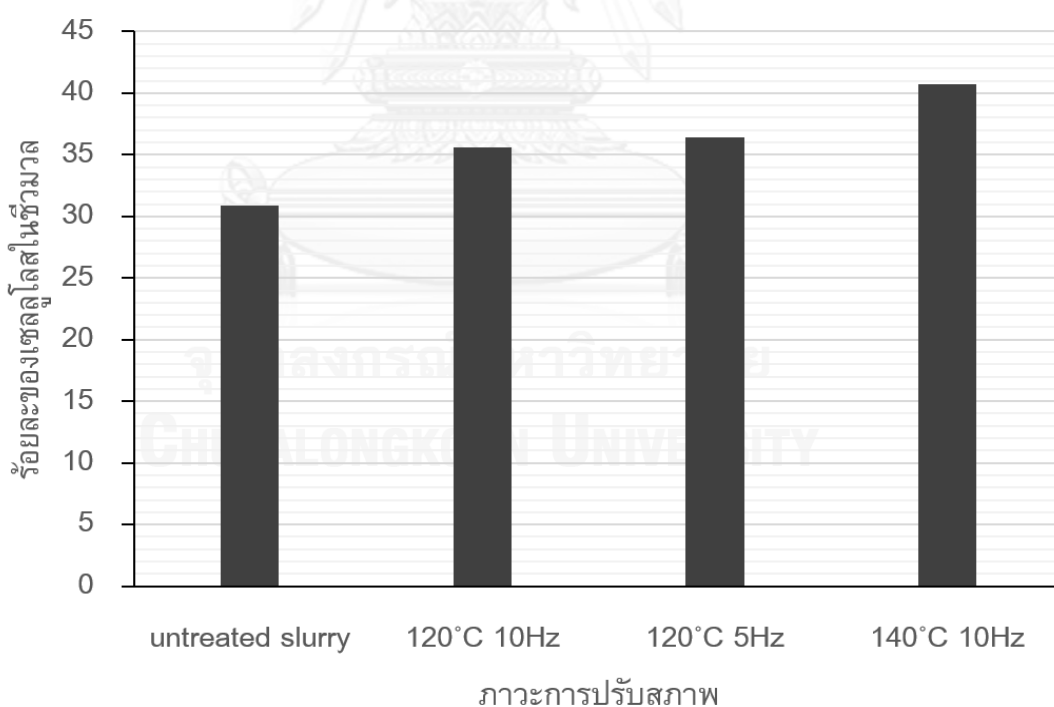
รูปที่ 4-4 ร้อยละน้ำหนักสูญเสียขององค์ประกอบต่าง ๆ ในชีวมวลระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องที่ภาวะต่าง ๆ

รูปที่ 4-4 แสดงร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนินและคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใยในชีวมวลภายหลังจากผ่านการปรับสภาพด้วยอโตไฮโดรไลซิสตามลำดับ ร้อยละน้ำหนักสูญเสียของแต่ละองค์ประกอบคำนวณจากน้ำหนักขององค์ประกอบที่สนใจในชีวมวลที่หายไปในช่วงการปรับสภาพต่อน้ำหนักขององค์ประกอบที่สนใจในชีวมวลเริ่มต้น (ตัวอย่างการคำนวณแสดงในภาคผนวก จ) พบว่าองค์ประกอบหนึ่งที่สูญเสียมากระหว่างการปรับสภาพคือเฮมิเซลลูโลส โดยการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มเท่ากับ 10 เฮิร์ต ร้อยละน้ำหนักสูญเสียของเฮมิเซลลูโลสมีค่าสูงสุดประมาณร้อยละ 31 เนื่องจากเมื่อใช้อุณหภูมิในการปรับสภาพที่สูงเพียงพอ เฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ในชีวมวลจะเกิดการคลายตัว จากนั้นเริ่มเกิดดีพอลิเมอร์ไรเซชัน (Depolymerization) จนกระทั่งเกิดการสลายตัวออกมาอยู่ในน้ำ [52] ขณะที่ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของเซลลูโลสและลิกนินมีค่าไม่แตกต่างกันมากนักในช่วงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการปรับสภาพจาก 120 องศาเซลเซียส ไปเป็น 140 องศาเซลเซียส โดยร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของเซลลูโลสและลิกนินมีค่าประมาณร้อยละ 10 – 15 แต่สังเกตได้ว่าการสลายตัวขององค์ประกอบทั้งสองมีค่ามากกว่า

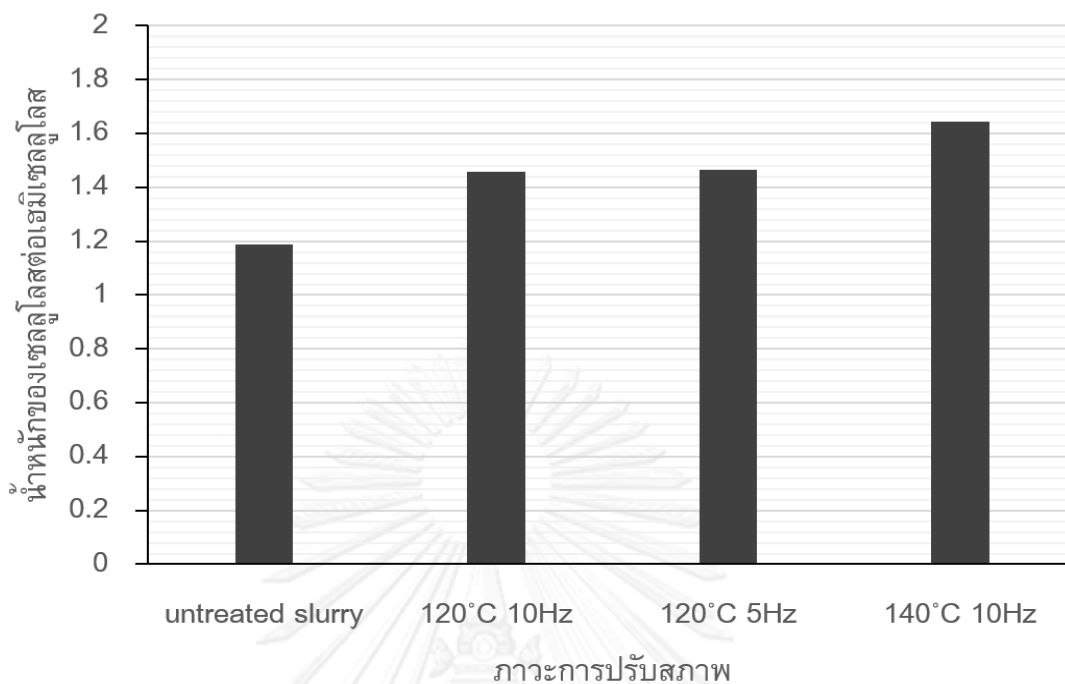
ค่าที่พบในงานวิจัยอื่นที่ใช้อุณหภูมิการปรับสภาพเดียวกัน ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการควบคุมอุณหภูมิขณะทำการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องซึ่งมีค่าคลาดเคลื่อนประมาณ  $\pm 25$  องศาเซลเซียส (สังเกตจากรูปที่ จ-1) นอกจากนี้ยังจะสังเกตได้อีกว่าร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปขององค์ประกอบทั้งสองยังมีค่าไม่สูงเมื่อเทียบกับร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของเฮมิเซลลูโลส ทั้งนี้เนื่องจากการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสในน้ำร้อนอัดความดันสามารถเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่าองค์ประกอบอีกสองชนิด โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสลายตัวขององค์ประกอบประเภทลิกโนเซลลูโลสสามารถเรียงลำดับจากน้อยไปมากได้ดังนี้ เฮมิเซลลูโลส < เซลลูโลส < ลิกนิน [33] อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้เป็นการใช้ชีวมวลผสม (ฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยอื่น องค์ประกอบหลักในกากมันสำปะหลังคือแป้งซึ่งสามารถละลายออกมาง่ายกว่าเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน เนื่องจากโครงสร้างของแป้งมีการจับตัวกันอย่างไม่มีรูปแบบและโมเลกุลเกาะกันอย่างหลวม ๆ จากรูปที่ 4-4 จะเห็นว่าร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใยในชีวมวลมีค่าสูงสุดเกือบเท่ากับร้อยละ 70 ณ ภาวะการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มเท่ากับ 10 เฮิร์ต การสลายตัวออกมาของแป้งในของเหลวหลังปรับสภาพทำให้ทราบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำของเหลวในส่วนนี้ไปใช้ในการผลิตเอทานอลได้อีกทางหนึ่ง เพราะว่าแป้งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ของกลูโคสและสามารถถูกย่อยเป็นกลูโคสอิสระได้โดยใช้กรดอ่อนหรือเอนไซม์อะไมเลส นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์อีกกลุ่มหนึ่งที่สามารถนำไปใช้ผลิตเอทานอลได้เช่นกันคือ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม โดยเฉพาะไซโลสที่เกิดจากการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสซึ่งเกิดขึ้นได้ดีในการปรับสภาพโดยอโตไฮโดรไลซิส และเนื่องจากการนำของเหลวหลังปรับสภาพมาใช้ผลิตเป็นเอทานอลมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตเอทานอลโดยรวม ดังนั้นปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นในของเหลวหลังปรับสภาพจึงถือเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการพิจารณาถึงภาวะการปรับสภาพที่เหมาะสมของชีวมวลผสม เพราะปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้นมากหมายถึงการสลายตัวต่อไปของน้ำตาลที่สามารถนำไปหมักเพื่อผลิตเอทานอลสลายตัวต่อไปได้มากเช่นกัน

การวิเคราะห์ปริมาณของเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในชีวมวลภายหลังที่ชีวมวลผ่านการปรับสภาพด้วยอโตไฮโดรไลซิสที่ภาวะต่าง ๆ แสดงในรูปที่ 4-5 ซึ่งกราฟนี้เป็นการแสดงโดยเทียบกับร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 30.85 พบว่าการปรับสภาพเบื้องต้นทำให้ร้อยละเซลลูโลสในชีวมวลมีค่าสูงขึ้น ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นมีค่าอยู่ระหว่าง 35.62 ถึง 40.72 ขึ้นอยู่กับภาวะการปรับสภาพเบื้องต้น การที่ชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นมีสัดส่วนของเซลลูโลสที่สูงขึ้นเป็นผลมาจากการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและแป้งที่อยู่ในชีวมวลตั้งต้นออกมาอยู่ในส่วนของ

ของเหลว และเนื่องจากความสามารถในการละลายออกมาขององค์ประกอบเหล่านี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้น ดังนั้นร้อยละของเซลลูโลสที่เหลืออยู่ในชีวมวลภายหลังการปรับสภาพจึงมีค่าแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพเช่นกัน โดยการปรับสภาพชีวมวลด้วยภาวะรุนแรงที่สุดในการทดลอง คือที่อุณหภูมิการปรับสภาพเป็น 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มเท่ากับ 10 เฮิร์ต ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลมีค่าเท่ากับ 40.72 ซึ่งมากกว่าชีวมวลที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นประมาณร้อยละ 10 ขณะที่รูป 4-6 แสดงถึงน้ำหนักของเซลลูโลสต่อเอมิเซลลูโลสในชีวมวลทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพเบื้องต้น ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นตามภาวะความรุนแรงของกระบวนการปรับสภาพ ชีวมวลที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพมีสัดส่วนของน้ำหนักระหว่างเซลลูโลสต่อเอมิเซลลูโลสเป็น 1.18 และมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 1.64 ณ ภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงที่สุด แสดงให้เห็นถึงปริมาณเอมิเซลลูโลสที่เกิดการสลายตัวออกมามากกว่าเซลลูโลส สอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่ศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นด้วยอโตไฮโดรไลซิสที่ใช้อุณหภูมิการปรับสภาพเดียวกัน [35,42]



รูปที่ 4- 5 ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องที่ภาวะต่าง ๆ เทียบกับชีวมวลก่อนผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น



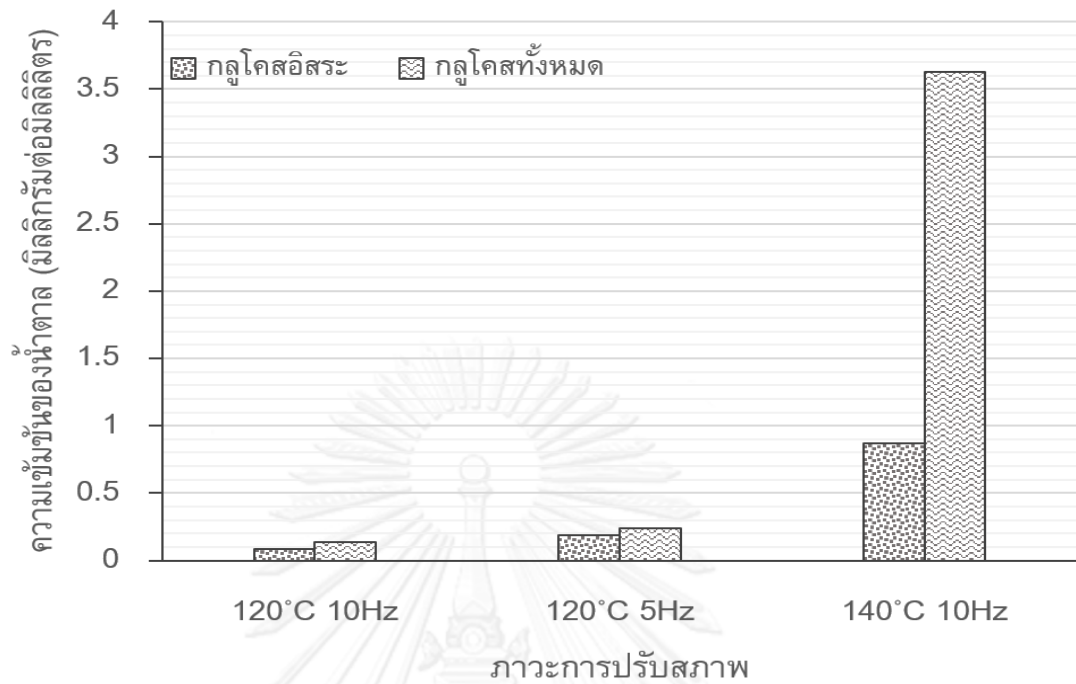
รูปที่ 4-6 น้ำหนักของเซลลูโลสต่อเฮมิเซลลูโลสในชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องที่ภาวะต่าง ๆ เทียบกับชีวมวลก่อนผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น

#### 4.3.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อองค์ประกอบในของเหลวหลังปรับสภาพ

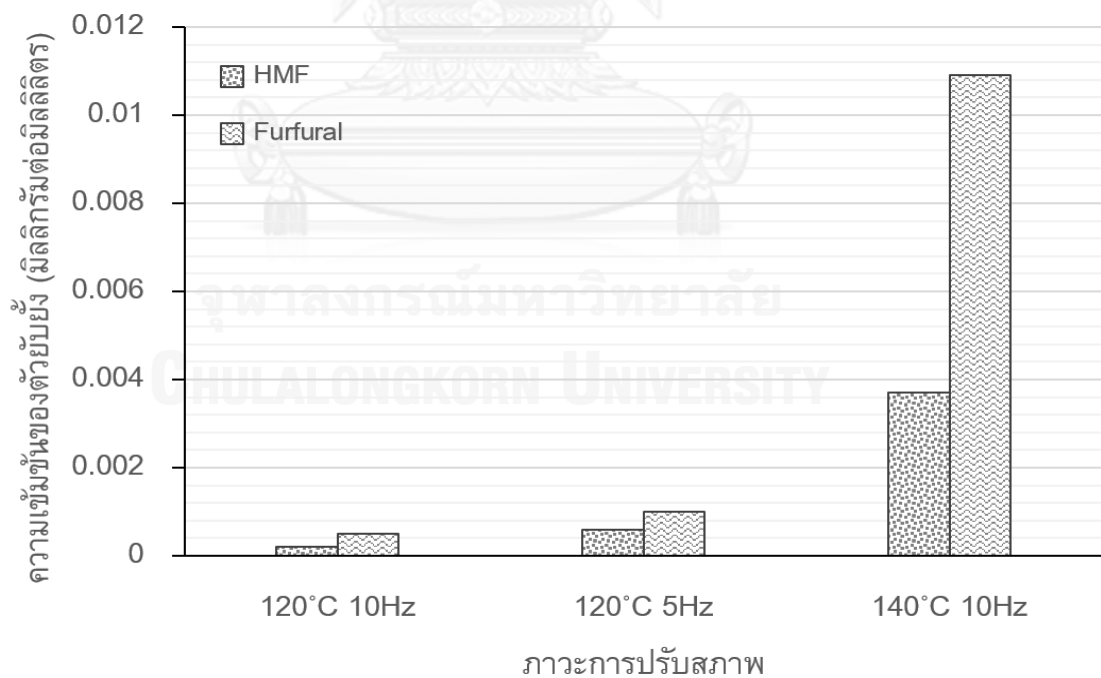
ภายหลังกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่อง ของเหลวจะถูกกรองแยกออกมาจากของแข็งเปียกเพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบภายในของเหลว ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจอยู่สองส่วนหลัก ๆ ได้แก่ ส่วนที่เป็นน้ำตาลแบ่งออกเป็นสองประเภทคือ น้ำตาลอิสระหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว อีกส่วนหนึ่งคือน้ำตาลโมเลกุลเล็ก (Oligosaccharide) คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตั้งแต่สองโมเลกุลขึ้นไปจนถึงสิบโมเลกุล ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยรวมทั้งหมดจากทั้งสองส่วนหาได้จากการนำของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นมาย่อยด้วยกรดอ่อนเพื่อให้น้ำตาลอยู่ในรูปโมเลกุลเดี่ยวทั้งหมดก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง อีกส่วนหนึ่งที่สนใจคือ ตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นในของเหลวระหว่างกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นนั้นก็คือ เพอร์ฟอรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูรัลดีไฮด์ ในของเหลวหลังปรับสภาพเบื้องต้น การมีตัวบ่งชี้มากเกินไปทำให้ของแข็งเปียกที่ได้จากการปรับสภาพเบื้องต้นไม่สามารถนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ได้ทันที ต้องผ่านการล้างด้วยน้ำร้อนก่อน ขณะที่ของเหลวหลังปรับสภาพซึ่งมีน้ำตาลอยู่ก็ไม่สามารถนำไปใช้ผลิตเอทานอลโดยการนำไปย่อยและหมักด้วยยีสต์ต่อได้เช่นกัน

รูปที่ 4-7 แสดงความเข้มข้นของกลูโคสอิสระ (กราฟลายจุด) และกลูโคสทั้งหมด (กราฟลายเส้น) โดยภาพรวมจะเห็นว่ากลูโคสส่วนมากที่ละลายอยู่ในน้ำหลังการปรับสภาพไม่อยู่ในรูปกลูโคสโมเลกุลเดี่ยว ๆ แต่จะยังคงอยู่ในรูปสายโซ่ของกลูโคสเป็นหลัก (Gluco-oligosaccharide) ซึ่งเป็นข้อดีของการปรับสภาพชีวมวลโดยไฮโดรไลซิสเมื่อเทียบกับการปรับสภาพโดยใช้สารเคมี เนื่องจากการปรับสภาพด้วยการใช้สารเคมีโดยเฉพาะการใช้กรดจะทำให้กลูโคสเกือบทั้งหมดในของเหลวอยู่ในรูปของกลูโคสโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งทำให้มีโอกาสสลายตัวต่อไปได้ง่ายกว่าการอยู่ในรูปสายโซ่ของกลูโคส [39] สำหรับกลูโคสในน้ำหลังการปรับสภาพมาจากแป้งที่เป็นองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลัง และจากเซลลูโลสที่มีอยู่ในชีวมวลทั้งสองชนิด โดยพอลิเมอร์สายโซ่ยาวของกลูโคสจากทั้งสองส่วนเกิดการสลายตัวออกมาเป็นโมเลกุลที่มีสายโซ่ที่สั้นลงระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวล และสามารถเกิดการสลายตัวต่อไปจนกระทั่งบางส่วนเกิดเป็นกลูโคสอิสระ เนื่องจากความเป็นกรดอ่อนของน้ำที่ใช้ในการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูง โดยมีค่าความเป็นกรด-เบสประมาณ 5 – 6 นอกจากนี้ความเป็นกรดอ่อนของน้ำยังเป็นผลมาจากการสลายตัวออกมาของเฮมิเซลลูโลสที่โครงสร้างประกอบด้วยหมู่แอสีทิล [14,42] การสลายตัวออกมาของโมเลกุลที่มีหมู่แอสีทิลทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้กับปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสายโซ่ยาวของกลูโคสและช่วยในการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลส อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาร้อยละการสูญเสียที่ถูกแสดงไว้ในหัวข้อ 4.3.1 ทำให้สามารถสันนิษฐานได้ว่ากลูโคสที่เกิดขึ้นในของเหลวน่าจะมาจากแป้งเป็นหลัก เนื่องจากการสูญเสียออกมาของเซลลูโลสในชีวมวล ณ ภาวะที่ได้ทำการทดลองต่ำกว่าการสูญเสียออกมาของแป้งมาก ส่วนกลูโคสที่อาจเกิดขึ้นมาจากเซลลูโลสภายในชีวมวลจะมาจากเซลลูโลสบริเวณที่เป็นอสัณฐาน เพราะว่าเซลลูโลสในส่วนนี้สามารถสลายตัวออกมาได้ง่ายกว่าในส่วนที่มีความเป็นผลึกแม้ใช้อุณหภูมิการปรับสภาพไม่สูงนัก มีงานวิจัยรายงานว่าเซลลูโลสที่มีความเป็นผลึกสูงจะเริ่มสลายตัวออกมาอยู่ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียส [26, 62] ดังนั้นการพิจารณาถึงภาวะที่เหมาะสมนอกจากปริมาณเฮมิเซลลูโลสถูกแยกออกมาแล้ว ยังต้องคำนึงถึงการสูญเสียของเซลลูโลสซึ่งต้องเกิดขึ้นในปริมาณต่ำที่สุดด้วยเช่นกัน สำหรับแนวโน้มของความเข้มข้นกลูโคสในของเหลวแปรผันตรงกับความรุนแรงของภาวะการปรับสภาพเบื้องต้น ณ ภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงที่สุด พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสในน้ำที่ผ่านการปรับสภาพมีค่าสูงที่สุด





รูปที่ 4-7 ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระและกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ

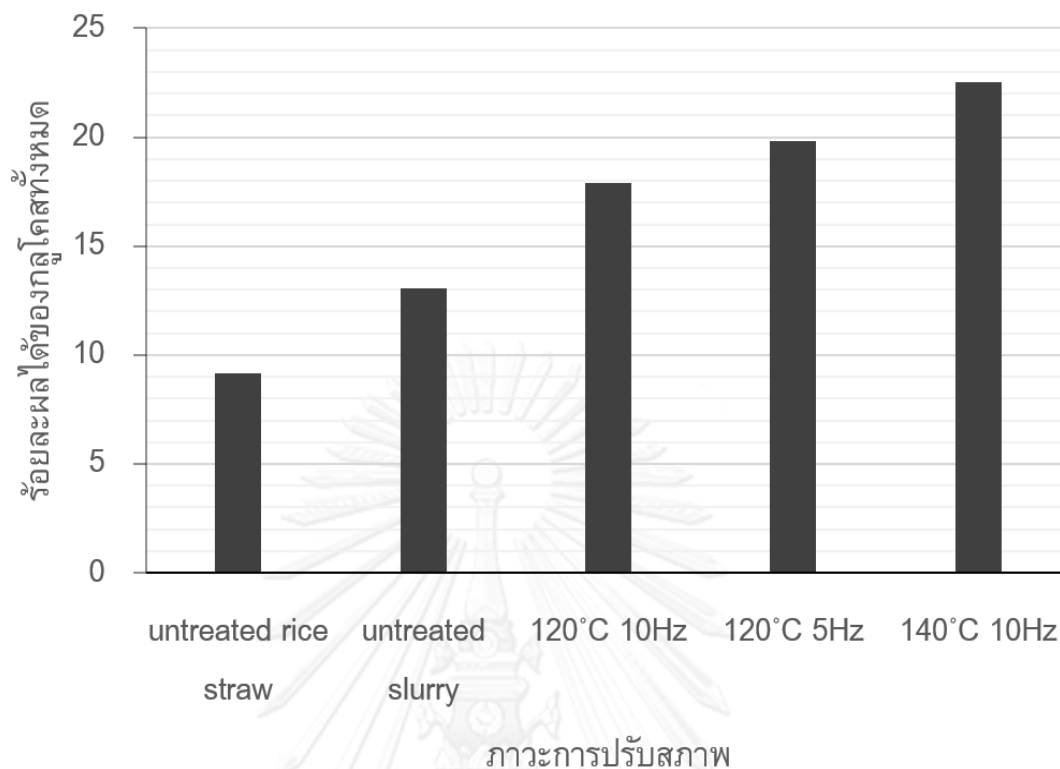


รูปที่ 4-8 ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ

ความเข้มข้นของตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นในน้ำหลังการปรับสภาพแสดงดังรูปที่ 4-8 พบว่าความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณการเกิดของกลูโคสอิสระในของเหลวที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิการปรับสภาพเท่ากับ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้กับมอเตอร์ของปั๊มเท่ากับ 10 เฮิร์ต ถือว่ามีปริมาณน้อยมาก ไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและการทำงานของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก

#### 4.3.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนเข้าสู่มอเตอร์ของปั๊มต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์

เนื่องจากจุดประสงค์หลักของการปรับสภาพเบื้องต้นคือ การเพิ่มความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ ดังนั้นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการพิจารณาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวลคือ ความสามารถในการย่อยเซลลูโลสที่อยู่ในชีวมวลของเอนไซม์เซลลูเลส ในหลายงานวิจัยเกณฑ์ที่ใช้ชี้วัดประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์คือ การพิจารณาค่าการเปลี่ยนของเซลลูโลสในชีวมวลไปเป็นกลูโคสในกระบวนการย่อย (% cellulose conversion) แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ชีวมวลที่ใช้เป็นชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง ซึ่งกลูโคสสามารถเกิดขึ้นได้สองทางกล่าวคือ กลูโคสที่เกิดเนื่องจากการย่อยเซลลูโลสในชีวมวลด้วยเอนไซม์ และกลูโคสที่เกิดเนื่องจากการสลายตัวของแป้งที่อยู่ในกากมันสำปะหลัง นอกจากนี้น้ำตาลโมเลกุลสั้นที่มาจากแป้งมีโอกาสติดไปกับชีวมวลเปียกที่นำไปเข้าสู่กระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์และสลายตัวเป็นกลูโคสอิสระได้เนื่องจากภาวะในการย่อยมีความเป็นกรดเล็กน้อย (pH 4.8) ดังนั้นตัวชี้วัดเพื่อใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นชีวมวลโดยอัตโนมัติไฮโดรไลซิสสำหรับในงานวิจัยนี้จะใช้เป็นร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมด (%overall glucose yield) แทน ซึ่งสามารถหาได้จากอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของกลูโคสที่ได้ในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลทั้งหมดที่ผ่านการปรับสภาพมาย่อยด้วยเอนไซม์ต่อน้ำหนักของชีวมวลแห้งที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้น (ตัวอย่างการคำนวณแสดงในภาคผนวก ง)



**รูปที่ 4-9** ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ และชีวมวลที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 16.26 กรัมต่อลิตร (Enzyme activity = 16.94 FPU/ml)

ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดจากการนำชีวมวลเปียกภายหลังจากการปรับสภาพเบื้องต้น และชีวมวลที่ยังไม่ผ่านการปรับสภาพทั้งกรณีที่เป็นฟางข้าวอย่างเดียวและฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลังมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสแสดงดังรูปที่ 4-9 และเนื่องจากในแต่ละวันความสามารถในการทำงานของเอนไซม์อาจไม่เท่ากัน ผู้วิจัยจึงได้ย่อยกระดาษกรองซึ่งถือเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัมต่อปริมาณเซลลูเลส 1 มิลลิลิตร เพื่อบอกถึงความสามารถในการย่อยของเซลลูเลสในแต่ละรอบการย่อย จากผลการทดลองพบว่า ชีวมวลที่นำมาเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยไม่ผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นให้ประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ที่ต่ำ เนื่องจากความซับซ้อนและแข็งแรงขององค์ประกอบของชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลสถูกปกคลุมด้วยเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน นอกจากนี้ยังพบว่าการเปลี่ยนฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพให้เป็น

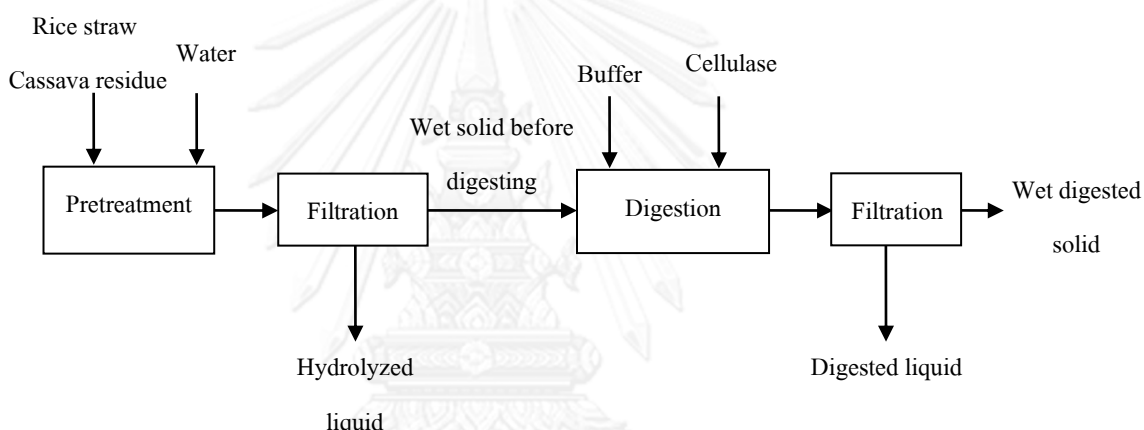
น้ำตาลมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการเปลี่ยนชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการปรับสภาพให้เป็นน้ำตาล ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากขั้นตอนการเตรียมชีวมวลผสมซึ่งมีการให้ความร้อนแก่ชีวมวลที่ 90 - 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จึงทำให้โครงสร้างของชีวมวลอ่อนตัวลงทำให้การย่อยเกิดได้ดีขึ้น สำหรับการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลของชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นแล้ว ค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นตามความรุนแรงของการปรับสภาพ ณ อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 22.50 เนื่องจากความสามารถในการสลายตัวออกมาของเอมิเซลลูโลสแปรผันตรงกับความรุนแรงการปรับสภาพ การกำจัดเอมิเซลลูโลสในชีวมวลทำให้ความสามารถในการเข้าถึงของเอนไซม์และการย่อยเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสมีมากขึ้น นอกจากนี้มีรายงานว่า การละลายออกมาของเอมิเซลลูโลสยังก่อให้เกิดรูพรุนที่พื้นผิวของชีวมวลเป็นจำนวนมากส่งผลดีต่อการเข้าถึงของเอนไซม์ด้วยเช่นกัน [37] ซึ่งยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์โครงสร้างพื้นผิวของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ (แสดงในภาคผนวก จ) อย่างไรก็ตามค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีค่าเพียง 1 ใน 3 เท่านั้นเมื่อเทียบกับร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดตามทฤษฎีซึ่งมีค่าเท่ากับ 68.08 เนื่องจากภาวะการปรับสภาพในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องยังไม่สามารถทำให้เอมิเซลลูโลสและแป้งที่มีอยู่ในชีวมวลสลายตัวออกมาอย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 4-5 ปริมาณกลูโคสอิสระที่ติดไปกับของแข็งเปียกก่อนนำไปย่อยด้วยเอนไซม์

อุณหภูมิที่ใช้ปรับสภาพเบื้องต้น (องศาเซลเซียส)	ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้กับมอเตอร์ของปั๊ม (เฮิร์ต)	น้ำหนักกลูโคสที่ติดอยู่บนชีวมวลก่อนย่อย (มิลลิกรัม/1.2 กรัมชีวมวลแห้งที่นำมาย่อย)
120	10	0.94
120	5	1.55
140	10	8.16

ตารางที่ 4-5 แสดงปริมาณของกลูโคสอิสระที่ติดไปกับของแข็งเปียกที่นำมาย่อยในแต่ละรอบการย่อย พบว่ามีปริมาณเพียงเล็กน้อยเนื่องจากกลูโคสอิสระในของเหลวหลังปรับสภาพมีปริมาณต่ำ ณ ภาวะการปรับสภาพรุนแรงที่สุดปริมาณกลูโคสอิสระที่ติดมากับของแข็งเปียกคิดเป็นเพียงร้อยละ 1.84 เมื่อเทียบกับปริมาณกลูโคสอิสระทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ภายหลังกระบวนการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์

#### 4.3.4 คุณผลในกระบวนการทั้งระบบ



รูปที่ 4-10 ขั้นตอนโดยรวมของการผลิตสารละลายกลูโคสจากชีวมวล

รูปที่ 4-10 แสดงถึงขั้นตอนการผลิตกลูโคสจากชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังทั้งระบบ เริ่มจากการปรับสภาพเบื้องต้นชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวร้อยละ 3.5 และกากมันสำปะหลังร้อยละ 3.5 เทียบกับน้ำหนักของของเหลวทั้งหมด ในน้ำ 200 กิโลกรัม ขั้นตอนที่สองคือการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง ความดันบรรยากาศ ความเป็นกรด-เบส 4.8 ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ 50 กรัมต่อ 1.2 กรัมชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น (แห้ง) และเซลลูเลส 1 มิลลิลิตรต่อ 1.2 กรัมของชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น (แห้ง) ผลการคำนวณคุณผลทั้งระบบแสดงดังตารางที่ 4-6

**ตารางที่ 4-6** คุณสมบัติของกระบวนการผลิตกลูโคสจากการย่อยชีวมวลผสมที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่ภาวะต่าง ๆ

Pretreated condition	Biomass* (kg)	Liquid** (kg)	Hydrolyzed liquid (kg)	Wet solid before saccharified (kg)	Glucose in saccharified liquid (kg)	%Overall glucose yield***
120°C/10Hz	16.3	227	125.7	118.2	2.9	17.8
120°C/5Hz	16.6	226	96.8	156.4	3.3	19.8
140°C/10Hz	16.0	225	88.0	153.1	3.6	22.5

\* คำนวณจากน้ำหนักแห้งของชีวมวลผสม

\*\* คำนวณจากน้ำหนักของน้ำที่ใช้รวมกับน้ำในชีวมวล

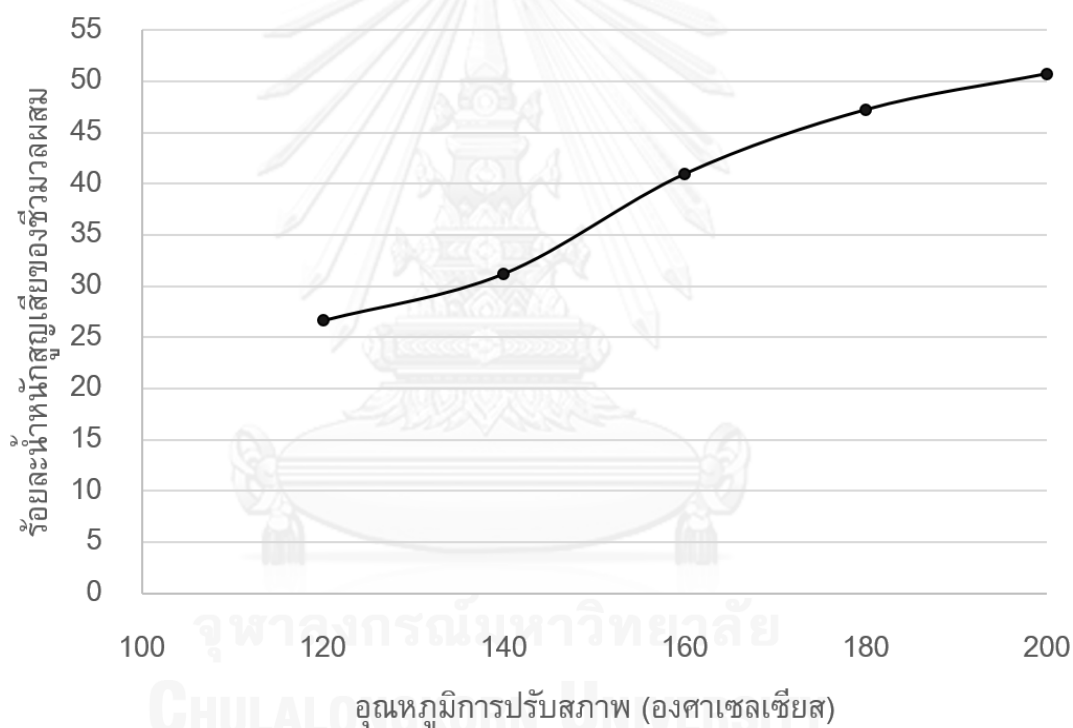
\*\*\* คำนวณจากน้ำหนักกลูโคสที่ได้ภายหลังการย่อยต่อน้ำหนักชีวมวลตั้งต้นในฟางข้าวก่อนการปรับสภาพเบื้องต้น

อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อจำกัดของเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการปรับสภาพชีวมวลแบบต่อเนื่องซึ่งไม่สามารถปฏิบัติงานได้ที่อุณหภูมิมากกว่า 140 องศาเซลเซียส และความดันมากกว่า 15 บาร์ เนื่องจากจะส่งผลให้ปะเก็นเทฟลอนเกิดความเสียหาย ทำให้เกิดการรั่วบริเวณรอยต่อของแต่ละท่อปฏิกรณ์ และปัญหาในส่วนของระบบหล่อเย็นซึ่งประสิทธิภาพไม่เพียงพอทำให้โคลนชีวมวลขาออกมีอุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียสทำให้ไม่สามารถทำการเก็บตัวอย่างได้และเป็นอันตรายต่อผู้ทำการทดลอง ดังนั้นเพื่อศึกษาการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิสูง ผู้วิจัยจึงใช้เครื่องปฏิกรณ์ทนความดันของบริษัท Parr instrument ทำการวิจัยเพิ่มเติม โดยการทดลองปรับสภาพเบื้องต้นของฟางข้าวผสมกากมันสำปะหลังเทียบกับกากมันสำปะหลังอย่างเดียวที่อุณหภูมิ 120, 140, 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส เพื่อความสมบูรณ์ของงานวิจัย ผลการศึกษาแสดงไว้ในหัวข้อ 4.4

#### 4.4 การปรับสภาพชีวมวลในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

##### 4.4.1 ผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักของชีวมวลในระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น

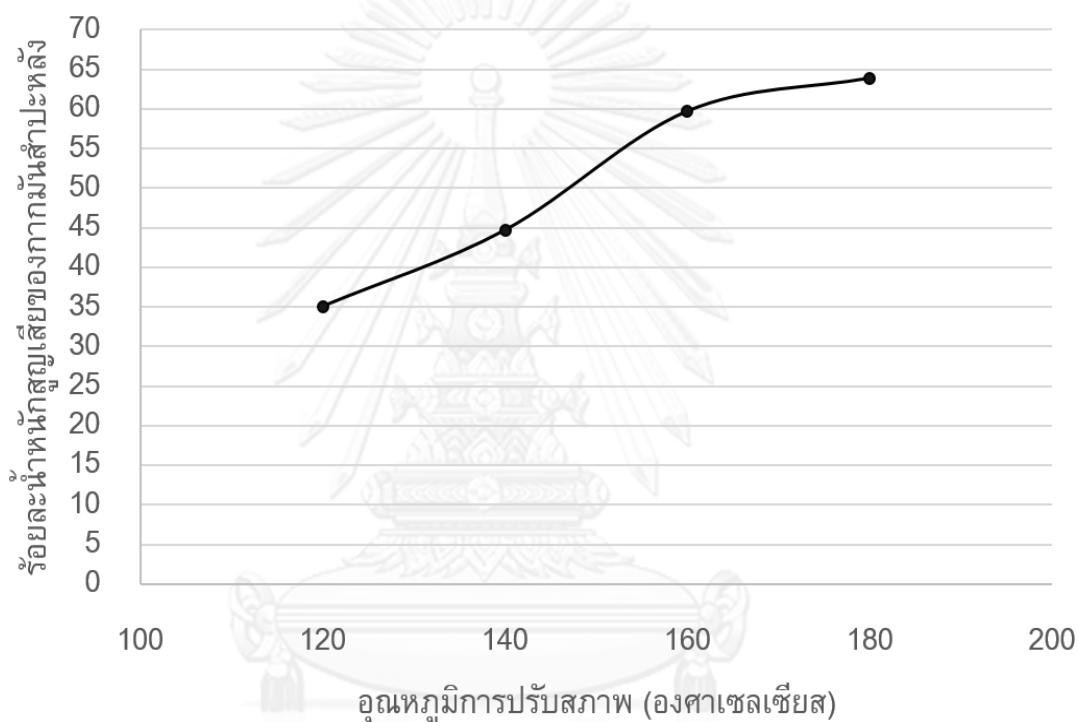
แนวโน้มการเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพส่งผลให้ร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักของชีวมวลเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับผลจากการปรับสภาพชีวมวลในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง พิจารณารูปที่ 4-11 พบว่าค่าร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพ และมีค่ามากกว่าร้อยละ 50 เมื่อปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4-11 ร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักของชีวมวลผสมภายหลังที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักในระหว่างการปรับสภาพของกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว แสดงดังรูป 4-12 พบว่าในช่วงการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 120 ถึง 160 องศาเซลเซียส ค่าร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมาก แต่เมื่ออุณหภูมิการปรับสภาพเพิ่มขึ้นพบว่าร้อยละน้ำหนักร้อยสูญเสียน้ำหนัก

สูญเสียของกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสเพียงร้อยละ 3 – 5 เท่านั้น น่าจะเป็นผลมาจากแป้งซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังสลายตัวเกือบสมบูรณ์ในการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพสูงกว่าอุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสจึงส่งผลให้ร้อยละการสูญเสียเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ค่าร้อยละน้ำหนักสูญเสียที่เพิ่มขึ้นน่าจะเป็นผลมาจากการสลายตัวของเอมิเซลลูโลสซึ่งเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส



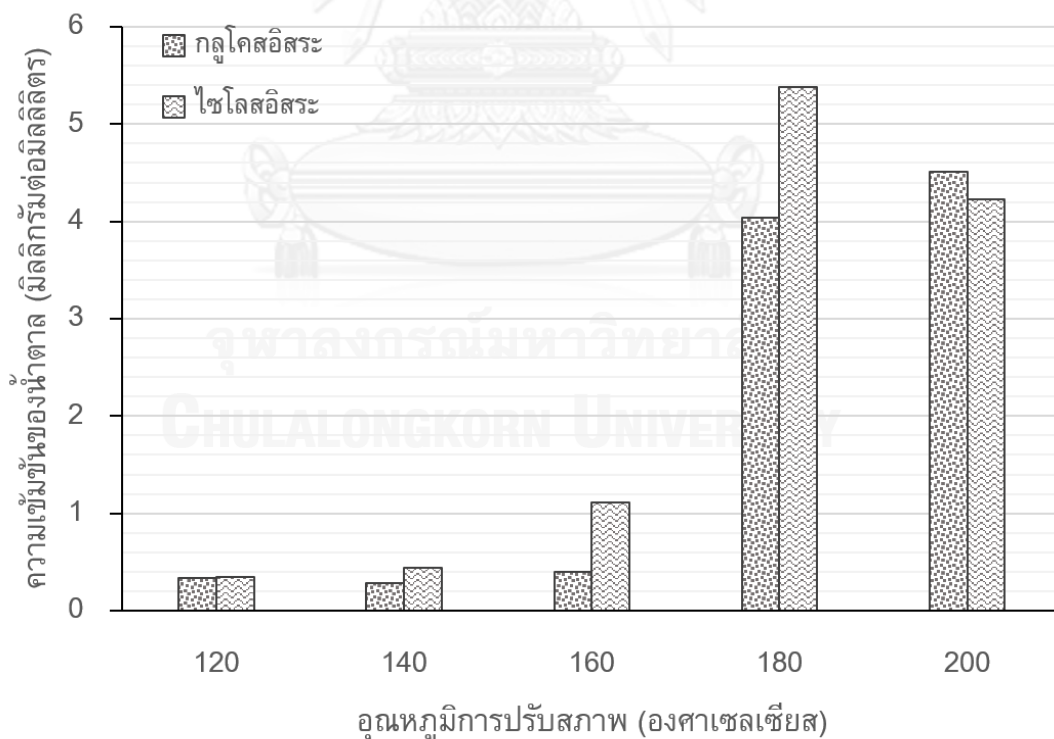
รูปที่ 4-12 ร้อยละน้ำหนักสูญเสียของกากมันสำปะหลังภายหลังที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ

#### 4.4.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อองค์ประกอบในของเหลวหลังปรับสภาพ

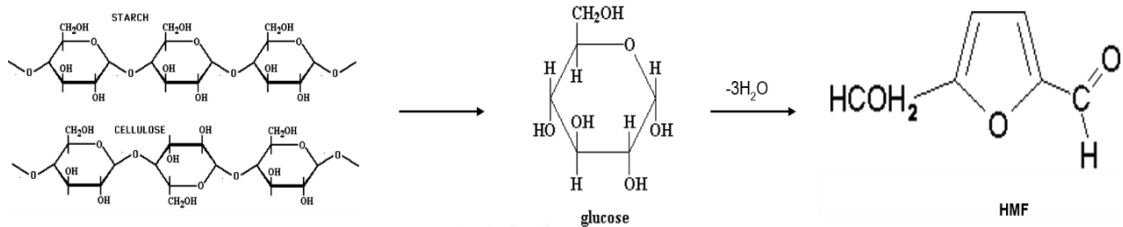
รูปที่ 4-13 แสดงความเข้มข้นของกลูโคสอิสระและไซโลสอิสระในของเหลวหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ พิจารณาความเข้มข้นของกลูโคสอิสระพบว่าในช่วงอุณหภูมิ 120 ถึง 160 องศาเซลเซียส ปริมาณกลูโคสอิสระมีปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพชีวมวลในช่วงอุณหภูมินี้กลูโคสจะยังอยู่ในรูปที่มีสายโซ่ยาวเป็นส่วนใหญ่ แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพเป็น 180 องศาเซลเซียส ปริมาณของกลูโคส



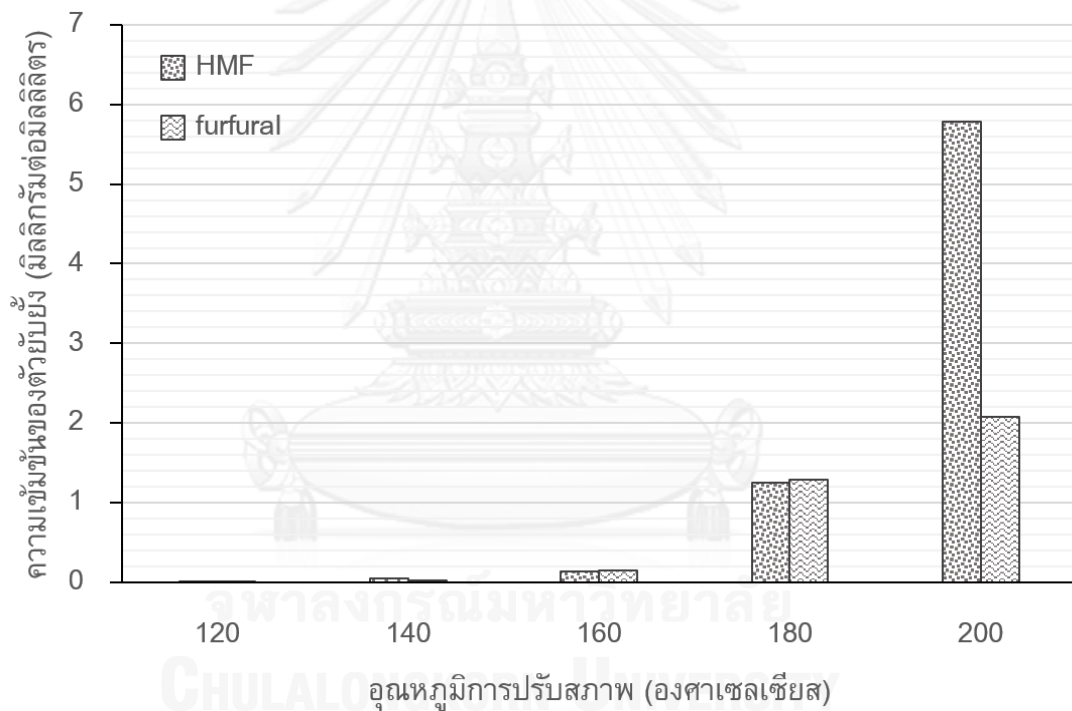
อิสระเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากเกิดไฮโดรไลซ์ของสายโซ่โมเลกุลแบ่งให้ได้สายโซ่ที่สั้นลง จนกระทั่งกลูโคสบางส่วนกลายเป็นกลูโคสอิสระ อย่างไรก็ตามการพบกลูโคสอิสระในของเหลว อาจทำให้เกิดการไฮโดรไลซ์เปลี่ยนเป็น 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์แสดงดังรูปที่ 4-14 ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวที่อุณหภูมิการปรับสภาพเท่ากับ 180 องศาเซลเซียสในรูปที่ 4-15 พบว่าความเข้มข้นของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์มีค่าที่สูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่งบอกถึงความไม่เหมาะสมของการปรับสภาพชีวมวลที่อุณหภูมินี้ นอกจากนี้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้นจาก 180 องศาเซลเซียส เป็น 200 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสอิสระในของเหลวยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่เซลล์โลสในชีวมวลเริ่มเกิดการสลายตัวออกมาได้มาก แต่ความเข้มข้นของ กลูโคสในของเหลวเพิ่มขึ้นจากเดิมอีกไม่มากเนื่องจากเกิดการสลายตัวต่อไปของกลูโคสอิสระอย่างรวดเร็วซึ่งส่งผลให้ความเข้มข้นของ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์เพิ่มขึ้นอีกประมาณห้าเท่าเมื่อเทียบกับที่ตรวจพบในของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4-13 ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระและไซโลสอิสระในของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ



รูปที่ 4-14 การไฮโดรไลซ์ของสายโซ่น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม

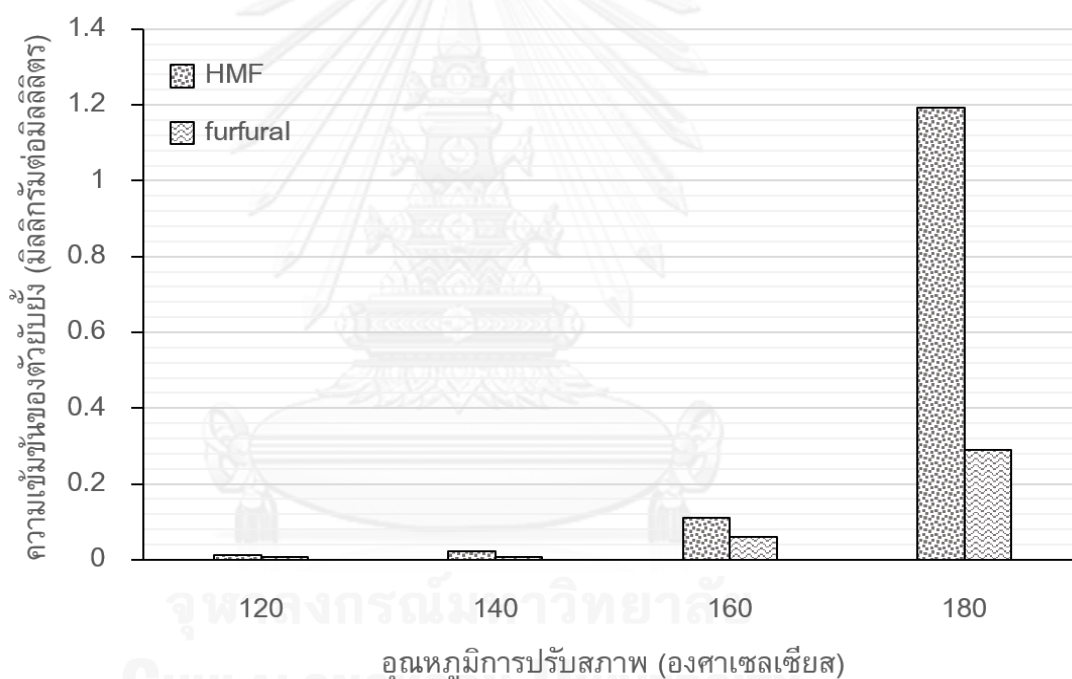


รูปที่ 4-15 ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

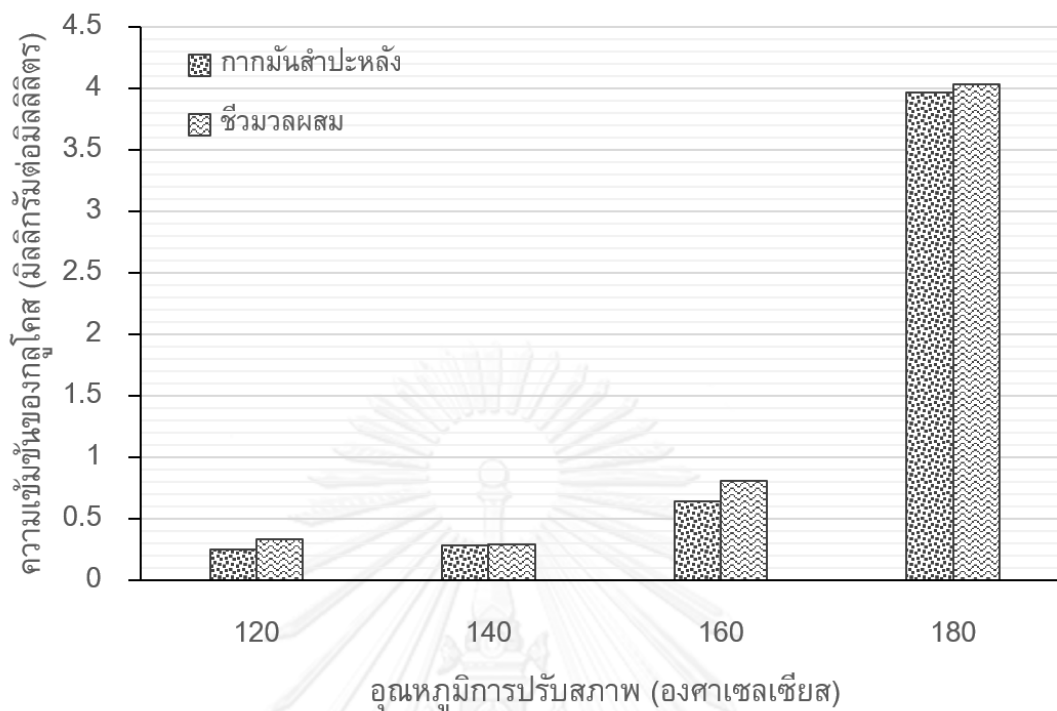
นอกจากนี้ในรูปที่ 4-13 ยังแสดงความเข้มข้นของไซโลสอิสระในของเหลวหลังปรับสภาพไซโลสที่เกิดขึ้นในของเหลวนี้อาจเกิดมาจากการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสดังแสดงในรูปที่ 4-16 โดยความเข้มข้นไซโลสอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนตามอุณหภูมิการปรับสภาพที่เพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิการปรับสภาพเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส การที่ในของเหลวมีไซโลสอิสระอยู่



เดียวกันกับการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวลผสมดังแสดงในรูป 4-15 จะพบว่า 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ ที่เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิการปรับสภาพระหว่าง 120 ถึง 180 องศาเซลเซียส เกิดมาจากแป้งที่อยู่ในกากมันสำปะหลังเป็นหลัก ขณะที่การสลายตัวของเซลลูโลสในชีวมวลเกิดขึ้นน้อยมากเนื่องจากเสถียรภาพต่อความร้อนของโครงสร้างเซลลูโลส สอดคล้องกับงานวิจัยของ Garrote และคณะ [46] ที่กล่าวว่า กลูโคสที่พบในของเหลวภายหลังจากการปรับที่อุณหภูมิไม่สูงเกิดมาจากแป้งในชีวมวล ซึ่งเป็นแหล่งของกลูโคสที่ละลายออกมาได้ง่าย และจากรูปที่ 4-18 ซึ่งแสดงความเข้มข้นของกลูโคสอิสระในของเหลวโดยเทียบกับระหว่างการปรับสภาพชีวมวลผสมและการปรับสภาพกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว ช่วยยืนยันผลว่า กลูโคสอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวหลังการปรับสภาพเกิดมาจากแป้งในกากมันสำปะหลังเป็นหลัก



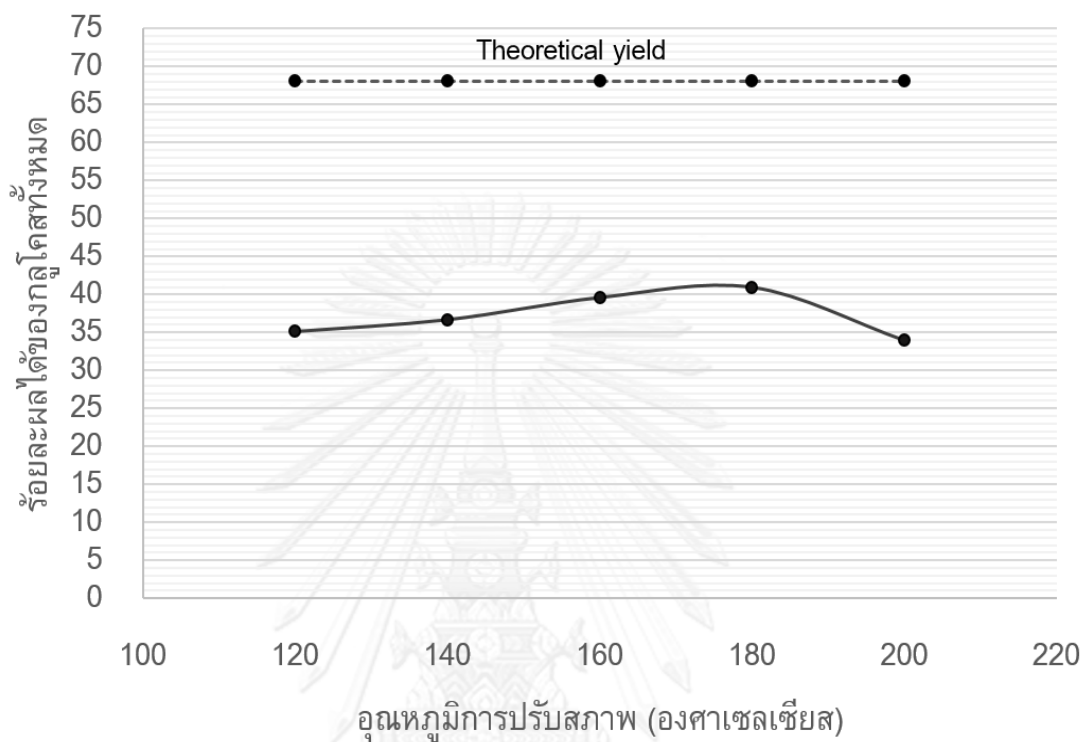
**รูปที่ 4-17** ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวภายหลังจากการปรับสภาพกากมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ



**รูปที่ 4-18** ความเข้มข้นของกลูโคสอิสระในของเหลวภายหลังการปรับสภาพชีวมวลผสมและกากมันสำปะหลังอย่างเดียวนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ลักษณะทางกายภาพของชีวมวลผสมภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส มีลักษณะกระจายตัวของเหลวอย่างสม่ำเสมอเนื่องจากแบ่งที่มีอยู่ในโคลนชีวมวลผสมยังคงให้ความหนืดแก่ของเหลวอยู่ ของเหลวที่กรองแยกออกมาจะมีสีขาวขุ่นและมีความลื่น แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการปรับสภาพลักษณะของโคลนชีวมวลผสมจะมีความแตกต่างออกไปคือ ชีวมวลบางส่วนจมลงสู่ด้านล่างเนื่องจากการสูญเสียความหนืดของน้ำแบ่ง เมื่อเม็ดแบ่งแตกออกและไม่สามารถคืนสภาพได้ ของเหลวที่กรองแยกออกมาจึงไม่มีความลื่นและมีลักษณะใสมากกว่าของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นอกจากนี้สีของของเหลวภายหลังการปรับสภาพที่ภาวะรุนแรงมากขึ้นยังมีสีเข้มขึ้นอีกด้วย ซึ่งผลลักษณะนี้ได้ถูกสังเกตไว้เช่นเดียวกันในงานวิจัยของ Hidenon และคณะ [47] ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการเกิดตัวยับยั้งที่เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการปรับสภาพที่เพิ่มขึ้น โดยเฟอร์ฟูรอลและอนุพันธ์ปริมาณมากในของเหลวภายหลังการปรับสภาพทำให้ของเหลวมีสีน้ำตาลเข้มมากขึ้น รูปแสดงลักษณะของเหลวและของแข็งหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ แสดงในภาคผนวก จ

#### 4.4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิการปรับสภาพต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์



**รูปที่ 4-19** ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme activity = 23.85 FPU/ml)

รูปที่ 4-19 แสดงร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดภายหลังจากการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่ามีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิการปรับสภาพ และมีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 40.98 ที่อุณหภูมิการปรับสภาพเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นผลมาจากการละลายออกมาอย่างสมบูรณ์ของเฮมิเซลลูโลสดังที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 4.4.1 ดังนั้นการปรับสภาพเบื้องต้นที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสจึงให้ประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์สูงที่สุด อย่างไรก็ตามร้อยละผลได้ของกลูโคสสูงกว่าการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสประมาณร้อยละ 1 เท่านั้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากชีวมวลเปียกที่นำมา

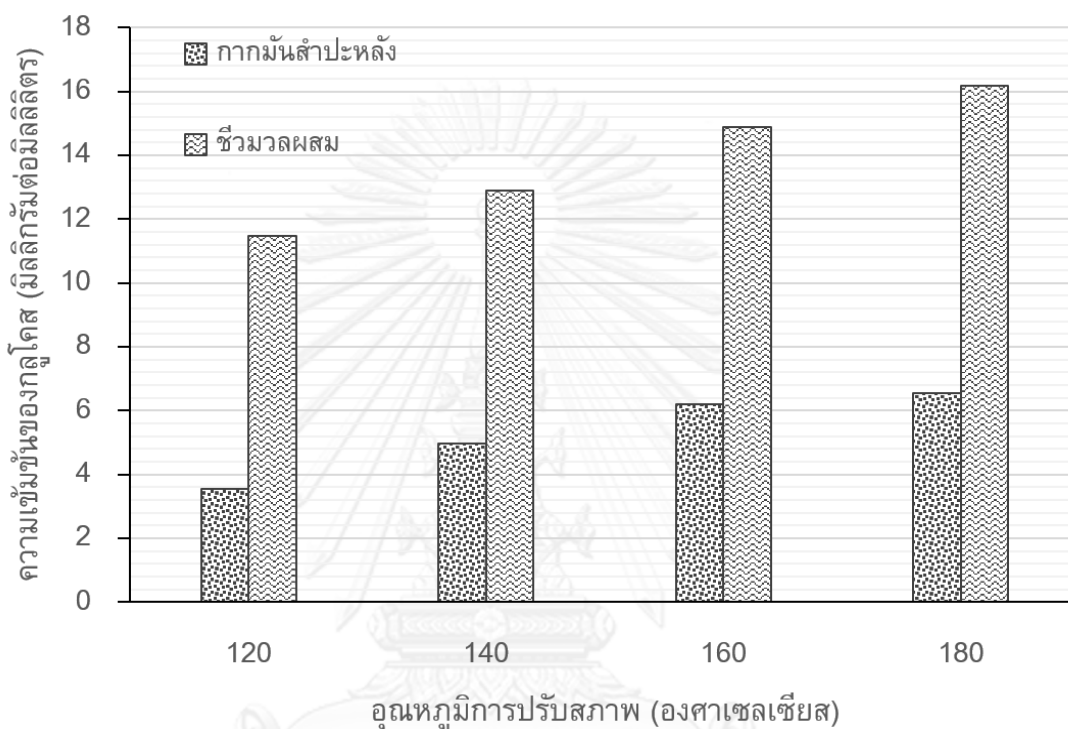
เปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลมีตัวยับยั้งปนเปื้อนมาก ส่งผลให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างไม่เต็มประสิทธิภาพ ยืนยันได้จากการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียสซึ่งที่ภาวะนี้เกิดปริมาณตัวยับยั้งในของเหลวมากที่สุด ส่งผลให้ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตามนอกจากผลของการปนเปื้อนของตัวยับยั้งแล้ว ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดที่ลดลงยังเป็นผลจากการสูญเสียเซลลูโลสซึ่งเกิดการสลายตัวระหว่างการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูง

ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดที่ได้จากการทดลองต่ำกว่าค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดตามทฤษฎีเนื่องจากภาวะการปรับสภาพไม่สามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้สมบูรณ์ และเมื่อใช้ภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงขึ้นส่งผลให้แป้งเกือบทั้งหมดและเซลลูโลสบางส่วนสลายตัวเป็นกลูโคส นอกจากนี้เมื่อเทียบค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดที่ได้จากการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต กับการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส พบว่าการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์มีค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดสูงกว่าประมาณร้อยละ 13 ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้คือ

- เวลาที่ชีวมวลได้รับความร้อนในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์มีมากกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง ชีวมวลที่อยู่ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์จะได้รับความร้อนตั้งแต่ช่วงเริ่มให้ความร้อน (Heat up time) ซึ่งในการทดลองอัตราการให้ความร้อนเท่ากับ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที เพื่อป้องกันไม่ให้อุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์สูงกว่าค่าที่กำหนด (set point) มากเกินไป ในขณะที่ชีวมวลไหลผ่านท่อในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องมีช่วงเริ่มให้ความร้อนสั้นมาก
- ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในรอบการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพแบบแบตช์ (23.85 FPU/ml) มากกว่าในรอบการย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพแบบต่อเนื่อง (16.94 FPU/ml) เนื่องจากผู้วิจัยคาดว่าประสิทธิภาพของเอนไซม์มีค่าใกล้เคียงกันตลอดการทดลองจึงใช้ปริมาณเอนไซม์เท่ากันทุกการทดลอง ซึ่งค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลเล็กน้อยในกรณีที่ชีวมวลผ่านการปรับสภาพ ณ ภาวะที่เหมาะสม [35] แต่อุณหภูมิการปรับสภาพที่นำมาเทียบกันระหว่างระบบแบตช์และระบบต่อเนื่องคือ 140 องศาเซลเซียส ซึ่ง

ไม่ใช่ภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเบื้องต้น ส่งผลให้การเปลี่ยนชีวมวลภายหลังการปรับสภาพให้เป็นน้ำตาลจากทั้งสองระบบมีความแตกต่างกันมาก

- อุณหภูมิในการปรับสภาพด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องมีความแปรปรวนมากกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์



**รูปที่ 4-20** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการการปรับสภาพที่ภาวะต่าง ๆ มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme activity = 23.85 FPU/ml)

เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้นจากกากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ผู้วิจัยจึงทดลองเปลี่ยนกากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นให้เป็นน้ำตาล ได้ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4-20 พบว่ากากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลได้ เพราะว่านอกเหนือจากองค์ประกอบหลักที่เป็นแป้งแล้วในกากมันสำปะหลังยังมีเซลลูโลสซึ่งคิดเป็นร้อยละ 25.51 ของน้ำหนักกากมันสำปะหลังแห้ง ทำให้สามารถถูกย่อยด้วยเซลลูเลสเป็น



กลูโคสได้ นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่ได้หลังจากการเปลี่ยนกากมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 160 และ 180 องศาเซลเซียสไปเป็นน้ำตาล มีค่าใกล้เคียงกัน แต่ความเข้มข้นของกลูโคสมีความแตกต่างกันมากเมื่อใช้ชีวมวลผสมเป็นวัตถุดิบ แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังไปเป็นกลูโคสเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าการเปลี่ยนเซลลูโลสในฟางข้าว เนื่องจากเซลลูโลสในฟางข้าวถูกปกคลุมด้วยชั้นของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสซึ่งมีความหนาแน่นมากกว่าในกากมันสำปะหลังประมาณ 3 เท่า

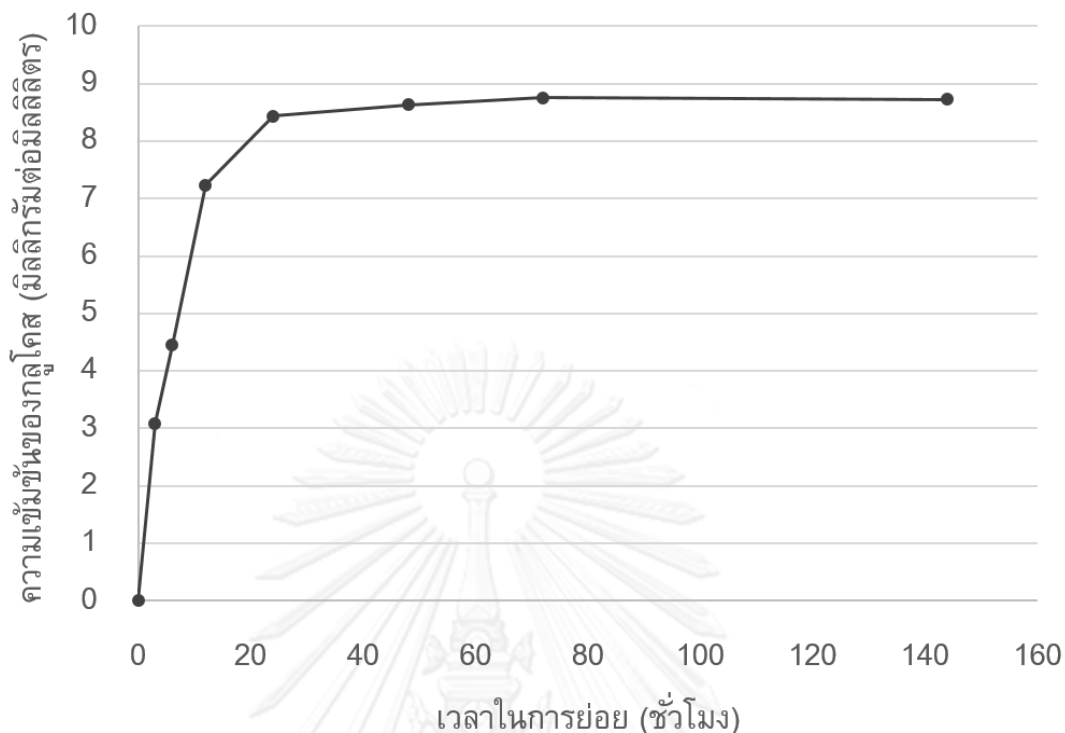
จากการศึกษาถึงบทบาทที่สำคัญของอุณหภูมิการปรับสภาพโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบแบดท์สามารถสรุปได้ว่าเมื่อพิจารณาถึงการนำกลูโคสหลังการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลและการนำของเหลวหลังปรับสภาพไปใช้ผลิตเอทานอลร่วมกัน การปรับสภาพชีวมวลผสมด้วยออโตไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสมีข้อได้เปรียบกว่าการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส

#### 4.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (Saccharification) ด้วยเอนไซม์

การศึกษาอิทธิพลของเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ใช้ชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นแบบต่อเนื่องโดยออโตไฮโดรไลซิสที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนสู่มอเตอร์ของปั๊มเท่ากับ 10 เฮิร์ต ขณะที่ชีวมวลที่ใช้ในการศึกษาผลของตัวบ่งชี้ต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เป็นชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบดท์ที่อุณหภูมิ 120, 140, 160, 180 และ 200 องศาเซลเซียส

##### 4.5.1 เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล

รูปที่ 4-21 แสดงผลของความเข้มข้นของกลูโคส ณ เวลาในการย่อยต่าง ๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 144 ชั่วโมง จะเห็นว่าช่วง 12 ชั่วโมงแรกของการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยสังเกตได้จากความชันของกราฟ เพราะการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลช่วงแรกเป็นการย่อยบริเวณอสัณฐานของเซลลูโลสซึ่งเกิดได้ง่าย จากนั้นจึงเกิดการย่อยบริเวณผลึกของเซลลูโลสทำให้การย่อยเกิดขึ้นได้ช้าลง และเมื่อใช้เวลากการย่อยตั้งแต่ 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป จะพบว่าความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มมีค่าคงที่ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลคือ 24 ชั่วโมง

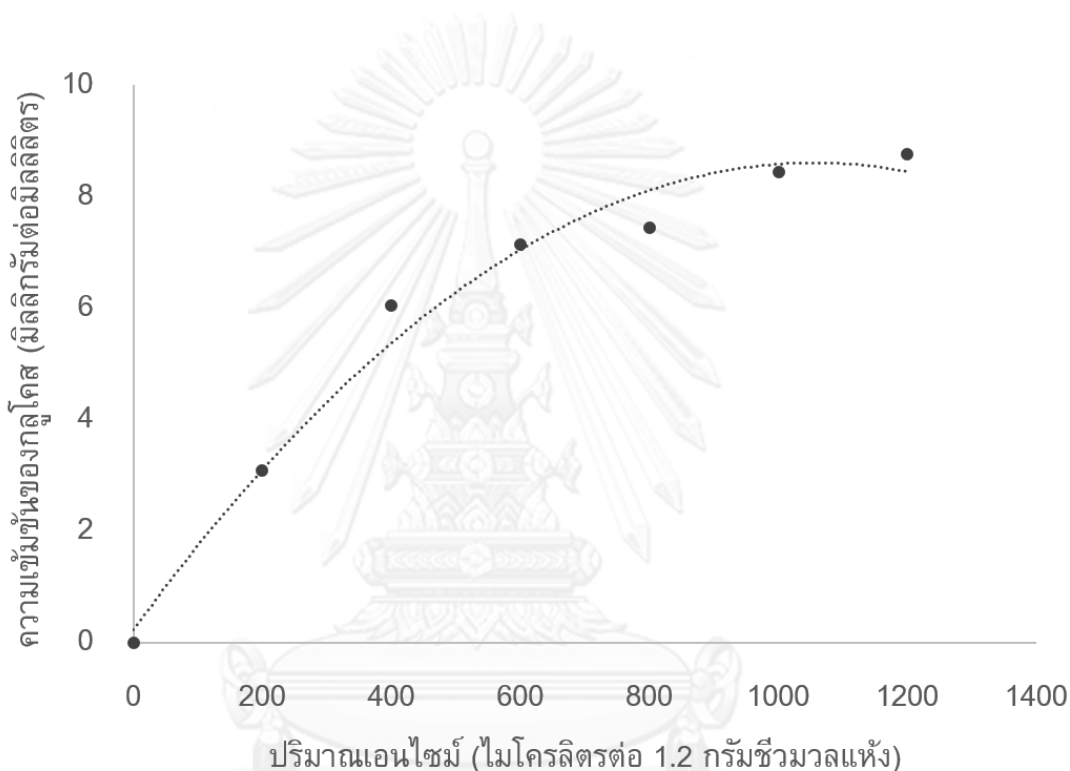


**รูปที่ 4-21** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อยตั้งแต่ 0 – 144 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 15.38 กรัมต่อลิตร (enzyme activity = 16.02 FPU/ml)

#### 4.5.2 ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล

ในทางทฤษฎี การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ทำให้การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเกิดได้ดีขึ้นและคงที่เมื่อมีปริมาณเอนไซม์มากเกินไป เนื่องจากเอนไซม์มีราคาแพงการใช้เอนไซม์มากเกินไปในอุตสาหกรรมจึงไม่เป็นที่นิยม [47] ดังนั้นในงานวิจัยจึงจำเป็นต้องหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาล รูปที่ 4-22 แสดงผลของการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล โดยศึกษาปริมาณเอนไซม์ตั้งแต่ 0 ถึง 1,200 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม ในการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลแต่ละครั้งเลือกใช้ปริมาณชีวมวลแห้งเท่ากันที่ 1.2 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก) เนื่องจากการใช้ชีวมวลหลังปรับสภาพมากกว่าร้อยละ 2 โดยน้ำหนักในขั้นตอนการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของ

เอนไซม์ [35] จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวมีค่าสูงขึ้นจนเริ่มคงที่เมื่อปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เท่ากับ 1,000 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม จากนั้นการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ส่งผลให้ความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลคือการใช้เอนไซม์ 1,000 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม

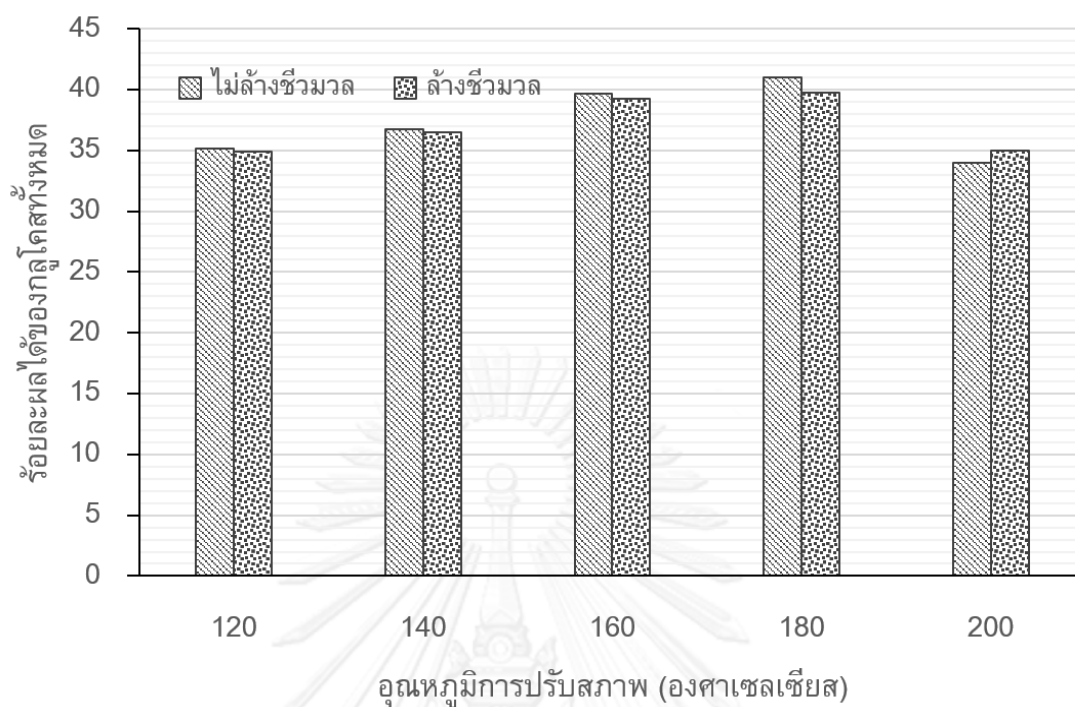


**รูปที่ 4-22** ความเข้มข้นของกลูโคสในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง ปริมาณเอนไซม์ตั้งแต่ 0 - 1200 ไมโครลิตรต่อชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 15.38 กรัมต่อลิตร (enzyme activity = 16.02 FPU/ml)

#### 4.5.3 ผลของตัวยับยั้งต่อการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลหลังปรับสภาพ

การศึกษาในส่วนนี้ชีวมวลหลังปรับสภาพจะถูกแบ่งออกมาเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลสองส่วน คือ ส่วนที่หนึ่งนำมาย่อยโดยตรงไม่มีการล้างของเหลวที่ติดปนอยู่กับชีวมวลออกก่อน อีกส่วนหนึ่งล้างชีวมวลด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสหลายครั้งก่อนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล เพื่อแยกของเหลวที่ปนอยู่กับชีวมวลออกมาให้ได้มากที่สุด โดยใช้ภาวะการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเหมือนกัน การศึกษาส่วนนี้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับผลของของเหลวหลังปรับสภาพที่ปนเปื้อนมากับชีวมวลต่อความสามารถในการทำงานของเอนไซม์

ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 4-23 ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดภายหลังจากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเปรียบเทียบระหว่างชีวมวลหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่ไม่ผ่านการล้างและผ่านการล้าง พบว่าในช่วงอุณหภูมิการปรับสภาพไม่สูงคือในช่วง 120 ถึง 160 องศาเซลเซียส ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดที่ได้จากการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลที่ไม่ผ่านการล้างมีค่าไม่แตกต่างจากชีวมวลที่ผ่านการล้าง เนื่องจากอุณหภูมิการปรับสภาพไม่สูงทำให้เกิดตัวยับยั้งปริมาณน้อย ดังนั้นการล้างชีวมวลจึงไม่มีความจำเป็น ส่วนค่าร้อยละผลได้ที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยสำหรับการเปลี่ยนชีวมวลที่ไม่ผ่านการล้างให้เป็นน้ำตาลน่าจะมาจากกลูโคสซึ่งอยู่ในของเหลวภายหลังจากการปรับสภาพที่ติดอยู่บนชีวมวลเปียก ปริมาณของกลูโคสอิสระที่ติดไปกับของแข็งเปียกหลังการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4-7 สำหรับชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส จะเห็นว่าการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลที่ไม่ผ่านการล้างทำให้ค่าร้อยละผลได้สูงกว่าชีวมวลที่ผ่านการล้างอย่างชัดเจน เนื่องจากปริมาณกลูโคสอิสระเกิดขึ้นมากที่อุณหภูมิการปรับสภาพนี้ ทำให้กลูโคสอิสระปนเปื้อนอยู่บนชีวมวลที่นำไปเปลี่ยนเป็นน้ำตาลมาก ในทางกลับกันการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลของชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส พบว่าการล้างชีวมวลก่อนทำให้ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดสูงขึ้นเล็กน้อย ซึ่งเมื่อพิจารณาส่วนประกอบของของเหลวหลังปรับสภาพแสดงในรูปที่ 4-13 และ 4-15 จะพบว่าปริมาณตัวยับยั้งเกิดขึ้นสูงมากในของเหลวที่ได้จากการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นของตัวยับยั้งที่สูงเกินไปจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ จึงต้องเพิ่มขึ้นตอนการล้างชีวมวลภายหลังกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นของชีวมวลที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ทำให้กระบวนการผลิตเอทานอลมีความยุ่งยากมากขึ้น และเพิ่มต้นทุนในกระบวนการผลิตเอทานอลอีกด้วย



**รูปที่ 4-23** ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังจากนำชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้น มาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง และความเข้มข้นของกลูโคสจากการย่อยเซลลูโลสบริสุทธิ์จำนวน 1.2 กรัม เท่ากับ 22.90 กรัมต่อลิตร (enzyme activity = 23.85 FPU/ml)

**ตารางที่ 4-7** ปริมาณกลูโคสอิสระที่ติดบนของแข็งเปียกก่อนนำไปย่อยด้วยเอนไซม์

อุณหภูมิที่ใช้ปรับสภาพเบื้องต้น (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักกลูโคสที่ติดอยู่บนชีวมวลก่อนย่อย (มิลลิกรัม/1.2 กรัมชีวมวลแห้งที่นำมาย่อย)
120	3.06
140	2.73
160	4.00
180	36.82
200	38.97

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยเพื่อศึกษาการนำชีวมวลเหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยการนำมาผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นก่อนนำไปผลิตเป็นน้ำตาลประกอบไปด้วย 5 ส่วนหลัก ๆ ซึ่งจากการทดลองในแต่ละส่วนสามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

- องค์ประกอบหลักในฟางข้าวคือเซลลูโลสร้อยละ 38.19 โดยน้ำหนักแห้ง ดังนั้นฟางข้าวจึงเป็นชีวมวลเหลือทิ้งที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นเอทานอลได้ โดยกระบวนการที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพฟางข้าวคือออโตไฮโดรไลซิส เพราะว่านอกจากเซลลูโลสในฟางข้าวยังมีเฮมิเซลลูโลสอยู่ปริมาณมาก ซึ่งการปรับสภาพด้วยเทคนิคนี้สามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้เกือบสมบูรณ์ ส่วนองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังคือแป้ง ขณะเดียวกันก็มีเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 25.51 โดยน้ำหนักแห้ง ดังนั้นน้ำตาลจึงสามารถผลิตได้จากกากมันสำปะหลังอีกทางหนึ่ง

- การเตรียมชีวมวลเพื่อใช้เป็นสารป้อนสำหรับกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นอย่างต่อเนื่องพบว่า วิธีการที่เหมาะสมที่สุดคือ การต้มฟางข้าวในน้ำที่ 90 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงเติมกากมันสำปะหลังจากนั้นให้ความร้อนต่อไปอีก 30 นาที พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง สัดส่วนของกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการเตรียมสารป้อนแต่ละครั้งคิดเป็นร้อยละ 3.5 เมื่อเทียบกับน้ำหนักของน้ำ และสัดส่วนของฟางข้าวต่อกากมันสำปะหลังเท่ากับ 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนักแห้ง

- อุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้นเป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดสำหรับกระบวนการปรับสภาพชีวมวล ที่อุณหภูมิการปรับสภาพเท่ากับ 140 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้กับมอเตอร์ของปั๊มเป็น 10 เฮิร์ต ค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 22.50 สัมพันธ์กับร้อยละการสูญเสียของเฮมิเซลลูโลส และที่ภาวะการปรับสภาพนี้พบว่า ค่าร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดสูงกว่าผลที่ได้จากการย่อยฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพและย่อยชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการปรับสภาพประมาณ 2.5 และ 1.5 เท่า ตามลำดับ ขณะที่ตัวบ่งชี้ที่เกิดขึ้นในของเหลวภายหลังการปรับสภาพมีปริมาณที่ต่ำเนื่องจากกลูโคสที่ละลายอยู่ใน

ของเหลวภายหลังการปรับสภาพไม่อยู่ในรูปโมเลกุลเดี่ยว แต่จะยังคงอยู่ในรูปสายโซ่พอลิเมอร์ของ กลูโคส

- อุณหภูมิการปรับสภาพเบื้องต้นมากกว่า 160 องศาเซลเซียสทำให้เกิดสารยับยั้งการทำงานทั้งในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลและการหมักสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส พบ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูราลดีไฮด์ในของเหลวหลังปรับสภาพสูงประมาณ 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดและปริมาณตัวยับยั้งที่เกิดขึ้น สามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการปรับสภาพชีวมวลผสมระหว่างฟางข้าวและกากมันสำปะหลังโดยอัตโนมัติไฮโดรไลซิสเท่ากับ 160 องศาเซลเซียส

- จากการศึกษาผลของระยะเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาลด้วยเซลลูเลส พบว่าภาวะที่เหมาะสมคือ ระยะเวลาในการเปลี่ยนเป็นน้ำตาล 24 ชั่วโมงและปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เท่ากับ 1,000 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถปรับเปลี่ยนสัดส่วนของสารป้อนได้เนื่องจากสารป้อนที่มีกากมันสำปะหลังต่ำกว่าร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักแห้ง ไม่สามารถป้อนเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ได้ เนื่องจากเกิดการสะสมของฟางข้าวภายในตัวป้อน การใช้ป้อนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้นอาจช่วยแก้ปัญหานี้ได้

- สำหรับการปรับสภาพด้วยเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องที่ภาวะที่รุนแรงกว่าอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส จำเป็นต้องแก้ไขจุดหลัก ๆ สองจุดคือ การแก้ไขระบบหล่อเย็นและการเปลี่ยนปะเก็นเทฟลอนเป็นปะเก็นที่สามารถทนอุณหภูมิและความดันได้สูงขึ้น เช่น ปะเก็นแหวนเหล็ก (Spiral wound gasket)

- เนื่องจากภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพชีวมวลผสมฟางข้าวและกากมันสำปะหลังซึ่งได้มาจากการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์คือที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมินี้เอมิเซลลูโลสยังถูกกำจัดได้ไม่หมด ดังนั้นเพื่อให้การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเกิดได้ดียิ่งขึ้นจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเอมิเซลลูเลส โดยเอนไซม์ทั้งสองจะทำงานควบคู่กัน เอมิเซลลูเลสมีหน้าที่กำจัดเอมิเซลลูเลสที่เหลืออยู่ในชีวมวลทำให้การย่อยเซลลูโลสของเซลลูเลสเกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น

## รายการอ้างอิง

- [1] กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, พลังงานชีวมวล. มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2554.
- [2] นคร ทิพย์วงศ์, เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย - ญี่ปุ่น), 2552.
- [3] Chum, H.L. and Overend, R.P., *Biomass and renewable fuels*. Fuel Processing Technology, 2001. 71(1-3): p. 187-195.
- [4] ศูนย์ส่งเสริมพลังงานชีวมวล, ชีวมวล. มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2549.
- [5] Cheng, J., *Biomass to renewable energy processes*. Boca Raton : CRC Press, 2010.
- [6] Himmel, M.E., *Biomass recalcitrance : deconstructing the plant cell wall for bioenergy*. Oxford : Blackwell Pub, 2008.
- [7] Klass, D.L., *Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals*. San Diego : Academic Press, 1998.
- [8] Yokoyama, S., *The Asian Biomass Handbook: A Guide for Biomass Production and Utilization*. The Japan Institute of Energy, 2008.
- [9] Kumar, P. Barrett, D.M. Delwiche, M.J. and Stroeve, P., *Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2009. 48(8): p. 3713-3729.
- [10] เรืองวิทย์ สว่างแก้ว และคณะ, โครงการวิจัยเรื่อง การปรับปรุงสภาพชีวมวลเบื้องต้นด้วยกระบวนการออโตไฮโดรไลซิส. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2011.
- [11] Viikari, L. Vehmaanperä, J. and Koivula, A., *Lignocellulosic ethanol: From science to industry*. Biomass and Bioenergy, 2012. 46(0): p. 13-24.
- [12] M.Walker, G., *Bioethanol : science and technology of fuel alcohol*. Ventus publishing Aps, 2010.
- [13] Cardona, C.A. Sánchez, O.J. and Gutiérrez, L.F., *Process Synthesis for Fuel Ethanol Production*. Boca Raton : Taylor & Francis, 2010.
- [14] Öhgren, K. Bura, R. Saddler, J. and Zacchi, G., *Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover*. Bioresource Technology, 2007. 98(13): p. 2503-2510.
- [15] Taherzadeh, M.J. and Karimi, K., *Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review*. Int J Mol Sci, 2008. 9(9): p. 1621-1651.



- [16] Chum, H. Douglas, L. Feinberg, D. and Schroeder, H., *Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose*. Solar Energy Research Institute; Golden, Colorado, 1985: p. 1–64.
- [17] Fan, L. Lee, Y. and Beardmore, D., *Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: Effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis*. Biotechnology and Bioengineering, 1980. 22: p. 177–199.
- [18] Ramos, L.P. Breuil, C. and Saddler, J.N., *Comparison of steam pretreatment of eucalyptus, aspen, and spruce wood chips and their enzymatic hydrolysis*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1992. 34-35(1): p. 37-48.
- [19] Matovic, M.D., *Biomass Now - Cultivation and Utilization*. InTech, 2013.
- [20] Sanchez, G. Pilcher, L. Roslander, C. Modig, T. Galbe, M. and Liden, G., *Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava*. Bioresource Technology, 2004. 93(3): p. 249-256.
- [21] Hendriks, A.T.W.M. and Zeeman, G., *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. Bioresource Technology, 2009. 100(1): p. 10-18.
- [22] Galbe, M. and Zacchi, G., *Pretreatment: The key to efficient utilization of lignocellulosic materials*. Biomass and Bioenergy, 2012. 46(0): p. 70-78.
- [23] Cadoche, L. and Lopez, G.D., *Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes*. Biological Wastes, 1989. 30: p. 153-157.
- [24] Sun, Y. and Cheng, J., *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review*. bioresource technology, 2002. 83: p. 1-11.
- [25] Weil, J. R. Sarikaya, A. Rau, S. Goetz, J. Ladisch, C.M. Brewer, M. Hendrickson, R. and Ladisch, M. R., *Pretreatment of yellow poplar sawdust by pressure cooking in water*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1997. 68(21-40).
- [26] Mosier, N. Wyman, C. Dale, B. Elander, R. Lee, Y.Y. Holtzapple, M. and Ladisch, M., *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*. Bioresource Technology, 2005. 96(6): p. 673-686.
- [27] Pandey, A., *Handbook of plant-based biofuels*. CRC Press :Taylor&Francis Group, 2009.
- [28] Jollet, V. Chambon, F. Rataboul, F. Cabiac, A. Pinel, C. Guillon, E. and Essayem, N., *Non-catalyzed and Pt/[gamma]-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-catalyzed hydrothermal cellulose dissolution-conversion: influence of the reaction parameters and analysis of the unreacted cellulose*. Green Chemistry, 2009. 11(12): p. 2052-2060.
- [29] Marco, A. and Alexandra, P., *Bioethanol*. InTech, 2012.

- [30] Xiao, Z. Zhang, X. Gregg, D. and Saddler, J., *Effects of sugar inhibition on cellulases and  $\beta$ -glucosidase during enzymatic hydrolysis of softwood substrates*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2004. 115(1-3): p. 1115-1126.
- [31] Robert, K.S., *Enzyme Activity and Assays*. Macmillan Publishers, 2002.
- [32] Rogers, P. L. Jeon, Y. J. Lee, K. J. and Lawford, H. G., *Zymomonas mobilis for Fuel Ethanol and Higher Value Products*, in *Biofuels*, L. Olsson, Editor 2007, Springer Berlin Heidelberg. p. 263-288.
- [33] Ando, H. Sakaki, T. Kokusho, T. Shibata, M. Uemura, Y. and Hatate, Y., *Decomposition Behavior of Plant Biomass in Hot-Compressed Water*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2000. 39(10): p. 3688-3693.
- [34] Wan, C., Zhou, Y. and Li, Y., *Liquid hot water and alkaline pretreatment of soybean straw for improving cellulose digestibility*. Bioresource Technology, 2011. 102(10): p. 6254-6259.
- [35] Yu, G. Yano, S. Inoue, H. Inoue, S. Endo, T. and Sawayama, S., *Pretreatment of Rice Straw by a Hot-Compressed Water Process for Enzymatic Hydrolysis*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010. 160(2): p. 539-551.
- [36] Binod, P. Sindhu, R. Singhanian, R. R. Vikram, S. Devi, L. Nagalakshmi, S. Kurien, N. Sukumaran, R. K. and Pandey, A., *Bioethanol production from rice straw: An overview*. Bioresource Technology, 2010. 101(13): p. 4767-4774.
- [37] Zeng, M. Mosier, N. Huang, C.P. Sherman, D.M. and Ladisch, M.R., *Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis*. Biotechnology and Bioengineering, 2007. 97(2): p. 265-278.
- [38] Mosier, N. Hendrickson, R. Brewer, M. Ho, N. Sedlak, M. Dreshel, R. Welch, G. Dien, B. Aden, A. and Ladisch, M., *Industrial scale-up of pH-controlled liquid hot water pretreatment of corn fiber for fuel ethanol production*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2005. 125(2): p. 77-97.
- [39] Mosier, N. Ho, N. Hendrickson, R. Sedlak, M. and Ladisch, M.R., *Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover*. Bioresource Technology, 2005. 96(18): p. 1986-1993.
- [40] Petersen, M.Ø., Larsen, J. and Thomsen, M.H., *Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals*. Biomass and Bioenergy, 2009. 33(5): p. 834-840.

- [41] Alexander, D. Richard, D. Scott, G. and Ryan, P., *Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Biomass for the Production of Second Generation Biofuels*. Worcester Polytechnic Institute, 2009.
- [42] Carvalheiro, F. Silva-Fernandes, T. Duarte, L. and Girio, F., *Wheat Straw Autohydrolysis: Process Optimization and Products Characterization*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009. 153(1-3): p. 84-93.
- [43] Chiamonti, D. Prussi, M. Ferrero, S. Oriani, L. Ottonello, P. Torre, P. and Cherchi, F., *Review of pretreatment processes for lignocellulosic ethanol production, and development of an innovative method*. Biomass and Bioenergy, 2012. 46(0): p. 25-35.
- [44] Clark, J.H., *Introduction to Chemicals from Biomass*. Corn wall, Grad Britain: Wiley & Sons., 2008.
- [45] Decker, S.R., *High Throughput Pretreatment and Enzyme Hydrolysis of Biomass: Screening Recalcitrance in Large Sample Populations*. In 1st International Conference on Lignocellulosic Ethanol, Denmark, 2010.
- [46] Garrote, G. Domínguez, H. and Parajó, J.C., *Interpretation of deacetylation and hemicellulose hydrolysis during hydrothermal treatments on the basis of the severity factor*. Process Biochemistry, 2002. 37(10): p. 1067-1073.
- [47] Hideno, A. Inoue, H. Yanagida, T. Tsukahara, K. Sawayama, S. and Endo, T., *Combination of hot compressed water treatment and wet disk milling for high sugar recovery yield in enzymatic hydrolysis of rice straw*. Bioresource Technology, 2012. 104(0): p. 743-748.
- [48] Horn, S.J. Nguyen, Q.D. Westereng, B. Nilsen, P.J. and Eijsink, V.G.H., *Screening of steam explosion conditions for glucose production from non-impregnated wheat straw*. Biomass and Bioenergy, 2011. 35(12): p. 4879-4886.
- [49] Kabel, M.A. Bos, G. Zeevalking, J. Voragen, A.J. and Schols, H.A., *Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of the remaining cellulose from wheat straw*. Bioresource Technology, 2007. 98(10): p. 2034-2042.
- [50] Liu, C. and Wyman, C.E., *The Effect of Flow Rate of Compressed Hot Water on Xylan, Lignin, and Total Mass Removal from Corn Stover*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2003. 42(21): p. 5409-5416.
- [51] Makishima, S. Mizuno, M. Sato, N. Shinji, K. Suzuki, M. Nozaki, K. Takahashi, F. Kanda, T. and Amano, Y., *Development of continuous flow type hydrothermal reactor for hemicellulose fraction recovery from corncob*. Bioresource Technology, 2009. 100(11): p. 2842-2848.

- [52] Pérez, J. A. Ballesteros, I. Ballesteros, M. Sáez, F. Negro, M. J. and Manzanares, P., *Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production*. *Fuel*, 2008. 87(17–18): p. 3640-3647.
- [53] Pitcha, W. Pramoch, R. and Sumaeth, C., *Production of Glucose from the Hydrolysis of Cassava Residue using Bacteria Isolates from Thai Higher Termites*. World Academy of Science, Engineering & Technology, 2012. 64: p. 353.
- [54] Saha, B. Iten, L. Cotta, M. and Wu, Y., *Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification, and fermentation of rice hulls to ethanol*. *Biotechnol. Bioresource Technology*, 1998. 64: p. 113–119.
- [55] Selig, M. Weiss, N. and Ji, Y., *Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass NREL/TP-510-42629*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [56] Sipos, B. Réczey, J. Somorai, Z. Kádár, Z. Dienes, D. and Réczey, K., *Sweet Sorghum as Feedstock for Ethanol Production: Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Bagasse*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2009. 153(1-3): p. 151-162.
- [57] Sluiter, A. Hames, B. Hyman, D. Payne, C. Ruiz, R. Scarlata, C. Sluiter, J. Templeton, D. and Wolfe, J., *Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples NREL/TP-510-42621*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [58] Sluiter, A. Hames, B. Ruiz, R. Scarlata, C. Sluiter, J. and Templeton, D., *Determination of Ash in Biomass NREL/TP-510-42622*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [59] Sluiter, A. Hames, B. Ruiz, R. Scarlata, C. Sluiter, J. and Templeton, D., *Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples NREL/TP-510-42623*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [60] Thomsen, M.H., Thygesen, A. and Thomsen, A.B., *Hydrothermal treatment of wheat straw at pilot plant scale using a three-step reactor system aiming at high hemicellulose recovery, high cellulose digestibility and low lignin hydrolysis*. *Bioresource Technology*, 2008. 99(10): p. 4221-4228.
- [61] VAN SOEST, P.J. and GOERING, H.K., *FORAGE FIBER ANALYSES (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications)*. *Agriculture Handbook*. 379.

- [62] Weil, J. Brewer, M. Hendrickson, R. Sarikaya, A. and Ladisch, M., *Continuous pH monitoring during pretreatment of yellow poplar wood sawdust by pressure cooking in water*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1998. 70-72(1): p. 99-111.
- [63] Yoo, C., Lee, C.-W. and Kim, T., *Two-Stage Fractionation of Corn Stover Using Aqueous Ammonia and Hot Water*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2011. 164(6): p. 729-740.
- [64] Zhuang, Xi. Yu, Q. Wang, W. Qi, W. Wang, Q. Tan, X. and Yuan, Z., *Decomposition Behavior of Hemicellulose and Lignin in the Step-Change Flow Rate Liquid Hot Water*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012. 168(1): p. 206-218.
- [65] ชีรภัทร ศรีนรคุตร และคณะ, การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2006. 31(1)



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวล

1. การวิเคราะห์ร้อยละของของแข็งและร้อยละของความชื้นในชีวมวล (NREL/TP-510-42621)

- นำถาดอลูมิเนียมที่เตรียมไว้ไปอบในเตาอบ (Drying oven) ที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desicator) ประมาณ 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของถาด ( $W_1$ )
- ชั่งน้ำหนักของชีวมวลปริมาณ 2 กรัม บนถาดที่ทราบน้ำหนักแล้ว บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของชีวมวลพร้อมถาดก่อนอบ ( $W_2$ )
- นำถาดที่มีชีวมวลอยู่ไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง (กรณีกากมันสำปะหลัง เนื่องจากมีความชื้นสูงควรอบเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ) จากนั้นปล่อยให้เย็นจนเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักชีวมวลพร้อมถาดไว้
- นำชีวมวลพร้อมถาดไปอบอีก 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนน้ำหนักมีค่าคงที่ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของชีวมวลพร้อมถาดหลังอบ ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของของแข็ง} = [(W_3 - W_1) / (W_2 - W_1)] \times 100$$

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = 100 - \text{ร้อยละของของแข็ง}$$

2. การวิเคราะห์ร้อยละของเถ้าในชีวมวล (NREL/TP-510-42622)

- นำครุชีเบลไปเผาในเตาเผา (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ  $575 \pm 25$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desicator) ประมาณ 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของครุชีเบล ( $W_1$ )

- ชั่งน้ำหนักของชีวมวลปริมาณ 0.5 - 2 กรัม ในครุชชีเบลที่ทราบน้ำหนักแล้ว บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของชีวมวลพร้อมครุชชีเบลก่อนเผา ( $W_2$ )
- นำครุชชีเบลที่มีชีวมวลอยู่ไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ  $575 \pm 25$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 5 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นจนเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักชีวมวลพร้อมครุชชีเบลไว้
- นำชีวมวลพร้อมครุชชีเบลไปเผาที่อุณหภูมิเดิมอีก 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักมีค่าคงที่ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของชีวมวลพร้อมครุชชีเบลหลังอบ ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละเถ้า} = [(W_3 - W_1) / (W_2 - W_1)] \times 100$$

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในชีวมวล (TAPPI)

#### 3.1 ปริมาณสารแทรก

- นำถ้วยแก้วที่ใช้สำหรับการสกัด (Soxhlet extraction cup) มาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำไปอบในเตาอบ ก่อนบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยไว้
- นำชีวมวลที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส ปริมาณ 5 - 6 กรัม ( $W_1$ ) ใส่ลงในถ้วยพร้อมกับครอบด้วยตะแกรงละเอียดรูปกรวย จากนั้นจึงใส่ลงในเครื่องสกัด
- ติดตั้งเครื่องสกัด โดยตัวทำละลายที่ใช้สกัดคือ เอทานอลผสมกับเบนซีนปริมาณ 150 มิลลิลิตร ใช้เวลาการสกัดประมาณ 4 - 5 ชั่วโมง
- นำถ้วยแก้วออกมาจากเครื่องสกัด เพื่อนำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นจนเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น
- นำชีวมวลพร้อมถ้วยแก้วไปอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส อีก 1 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ทำซ้ำจนกระทั่งน้ำหนักมีค่าคงที่ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของชีวมวลพร้อมถ้วยแก้ว ( $W_2$ )



- ทำ Blank โดยการวิธีเดียวกันกับวิธีข้างต้น แต่ไม่ใช่ชีวมวลในขั้นตอนการสกัด บันทึกรน้ำหนักที่แน่นอน ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของสารแทรก} = (W_2 - W_3) / W_1 \times 100$$

### 3.2 ปริมาณไฮโลเซลลูโลส (เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส)

- ชั่งน้ำหนักชีวมวลที่สกัดสารแทรกออกแล้วปริมาณ 3 กรัม น้ำหนักแห้ง ( $W_1$ ) จากนั้นนำไปใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่นลงในขวดที่ใส่ชีวมวลไว้ปริมาณ 160 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดแอสติคเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 – 80 องศาเซลเซียส โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พร้อมทั้งเขย่าตลอดเวลา (ต้องทำการทดลองในตู้ดูดควัน เนื่องจากมีการเกิดแก๊สคลอรีนไดออกไซด์ขึ้นระหว่างการสกัด)
- หลังจากผ่านไป 1 ชั่วโมง ถ้าตัวอย่างไม่เปลี่ยนเป็นสีขาวให้เติมกรดแอสติคเข้มข้นปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม อีกครั้ง และรออีก 1 ชั่วโมง (ทำเช่นนี้จนกระทั่งได้ผงตัวอย่างที่มีสีขาว) จากนั้นนำไปแช่ลงในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที
- นำตัวอย่างที่อยู่ในขวดมากรองผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนไว้แล้ว ( $W_2$ ) จากนั้นล้างผงตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นและตามด้วยเอซีโตน
- นำไฮโลเซลลูโลสที่ได้ไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง บันทึกรน้ำหนักที่แน่นอนของกระดาษกรองและตัวอย่างหลังอบ ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของไฮโลเซลลูโลส} = (W_3 - W_2) / W_1 \times 100$$

### 3.3 ปริมาณเซลลูโลส

- บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของโฮโลเซลลูโลสแห้งปริมาณ 2 – 3 กรัม ( $W_1$ ) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 300 มิลลิลิตร
- เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 75 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ จากนั้นนำไปใส่ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
- คนสารละลายที่ได้ด้วยเครื่องกระจายประมาณ 5 นาที จากนั้นคนต่อด้วยแท่งแก้วก่อนนำไปไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที
- เมื่อครบ 30 นาที เติมน้ำกลั่นลงในสารละลาย 100 มิลลิลิตร คนให้สารละลายเข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ต่ออีก 30 นาที
- นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนไว้แล้ว ( $W_2$ ) จากนั้นล้างด้วยน้ำเย็น ตามด้วยกรดแอสติคเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งของเหลวที่แยกออกมาไม่เป็นกรด
- นำตัวอย่างที่ได้ไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส อย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของกระดาษกรองและตัวอย่างหลังอบ ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของเซลลูโลส (สัดส่วนในโฮโลเซลลูโลส)} = (W_3 - W_2) / W_1 \times 100$$

### 3.4 ปริมาณลิกนิน

- ชั่งน้ำหนักชีวมวลที่สกัดสารแทรกออกแล้ว 1 - 2 กรัม น้ำหนักแห้ง ( $W_1$ ) นำไปใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- นำบีกเกอร์ไปใส่ในอ่างน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 2 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 72 จำนวน 15 มิลลิลิตร (ควรคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วจนกระจายอย่างทั่วถึง)

- เมื่อผงตัวอย่างกระจายสม่ำเสมอแล้ว ปิดฝาปิกเกอร์แล้วนำไปไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยกวนทุก ๆ 15 นาที
- นำสารละลายในปิกเกอร์มาเทใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่น 300 – 400 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปอีกจนสารละลายมีความเข้มข้นของกรดเป็นร้อยละ 3 (สารละลายสุดท้ายมีปริมาณ 575 มิลลิลิตร)
- รีฟลักซ์สารละลายตัวอย่างเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองผ่านถ้วยกรองที่ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนไว้แล้ว ( $W_2$ )
- ล้างลิกนินที่อยู่ในถ้วยด้วยน้ำร้อน จากนั้นจึงไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส อย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยและลิกนินหลังอบ ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของลิกนิน} = (W_3 - W_2) / W_1 \times 100$$

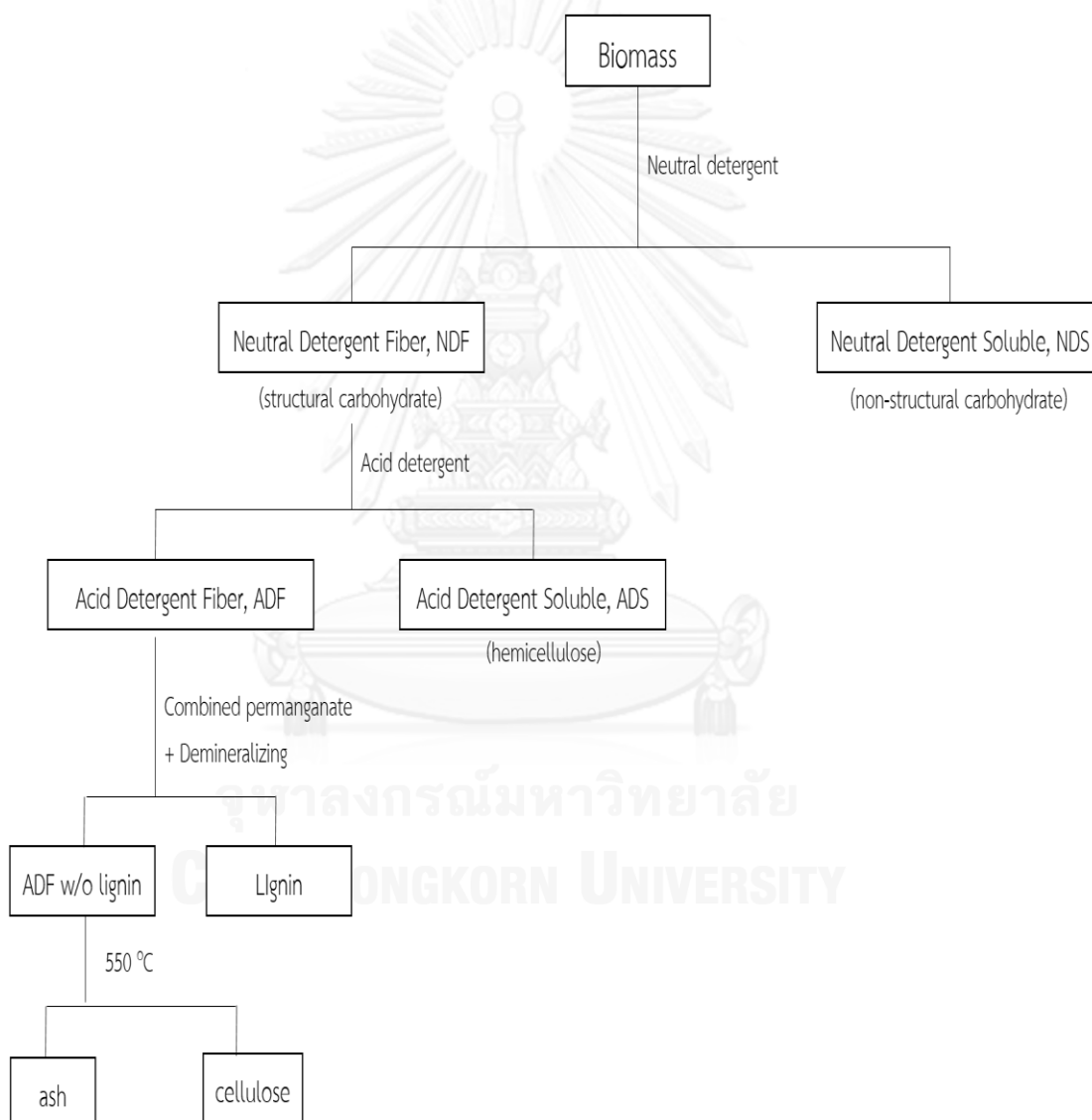
#### 4. การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่เส้นใยในชีวมวล (Van Soest)

##### 4.1 การเตรียมสารเคมี

###### 4.1.1 สารละลาย neutral detergent

- ชั่งไดโซเดียมเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอซิเตรต (EDTA) และโซเดียมบอเรตเตตระไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) เท่ากับ 16.18 และ 6.81 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ตามลำดับ แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นนำไปให้ความร้อนจนผลึกเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอซิเตรตและโซเดียมบอเรตเตตระไฮเดรตละลายหมด
- เติมสารละลายโซเดียมลอร์ริลซัลเฟต 30 กรัมและ 2-เอทอกซีเอทานอล 10 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ของสารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระแอซิเตรตและโซเดียมบอเรตเตตระไฮเดรต

- ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 4.56 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และให้ความร้อน แล้วนำสารละลายที่ได้ไปเติมลงในบีกเกอร์สารละลายเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิเตรต โซเดียมบอเรตเคคไฮเตรต โซเดียมลอร์ริลซัลเฟตและ 2-เอทอกซีเอทานอล ที่เตรียมไว้
- ปรับปริมาตรสารละลายที่ได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร



รูปที่ ก-1 แผนผังสรุปวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบชีวมวลของ Van Soest [61]

#### 4.1.2 สารละลาย acid detergent

- เตรียมกรดซัลฟิวริก 1 นอร์มอลปริมาตร 1 ลิตร ผสมกับซิติลไตรเอทิลแอมโมเนียมโบไมด์ (CTAB) 20 กรัม

#### 4.1.3 สารละลาย combined potassium permanganate

ได้จากการผสมสารละลาย 2 ชนิดคือ lignin buffer และ saturated potassium permanganate ในอัตราส่วน 1:2

- lignin buffer เตรียมจากละลายซิลเวอร์ไนเตรต ( $\text{AgNO}_3$ ) 0.15 กรัมและเพอร์ริคไนเตรตนาโนไฮเดรต ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) 6 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติมกรดแอสติกเข้มข้น (Gracial acetic acid) 500 มิลลิลิตร โพแทสเซียมแอสเตรต 5 กรัม และเทอเทียร์รีบิวทิลแอลกอฮอล์ 400 มิลลิลิตร ลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตและเพอร์ริคไนเตรต
- saturated potassium permanganate เตรียมจากละลายซิลเวอร์ซัลเฟต 0.05 กรัมและโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 50 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

#### 4.1.4 สารละลาย demineralizing

- ละลายกรดออกซาลิกไดไฮเดรต 50 กรัมในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

### 4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ NDF

- ออบครูซิเบิล (Filtering crucible) ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ( $W_1$ )
- ชั่งชีวมวล 1 กรัม ( $W_2$ ) ลงในขวดก้นกลม จากนั้นเติมสารละลาย neutral detergent 100 มิลลิลิตร โซเดียมซัลเฟต 0.5 กรัม และเดคะไฮโดรแนฟทาซีน 2 มิลลิลิตร ลงไป รีฟลักซ์ตัวอย่าง 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาถ่ายส่วนผสมลงในครูซิเบิลซึ่งวางอยู่บนชุดกรอง กรองและล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอซิโทน
- นำครูซิเบิลไปอบที่  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก ( $W_3$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของ NDF} = (W_3 - W_1) / W_2 \times 100$$

#### 4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ ADF

- ถ่ายชีวมวลที่ผ่านการสกัดด้วย neutral detergent แล้วจากครุชิเบิลลงในขวดก้นกลมจากนั้นเติมสารละลาย acid detergent 100 มิลลิลิตร และเดคะไฮโดรแนฟทาลิน 2 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ตัวอย่าง 1 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาถ่ายส่วนผสมลงในครุชิเบิลอันเดิมซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอน กรองและล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80
- นำครุชิเบิลไปอบที่  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก ( $W_4$ )

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของ ADF} = (W_4 - W_1) / W_2 \times 100$$

$$\text{ร้อยละของเฮมิเซลลูโลส} = \%NDF - \%ADF$$

#### 4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณลิกนิน

- เติม combined potassium permanganate เพิ่มอีก 25 มิลลิลิตร ลงในครุชิเบิลของชีวมวลที่ผ่านการสกัดด้วย acid detergent แล้ว จากนั้นแช่ครุชิเบิลในภาชนะที่มีน้ำเย็นสูง 2 เซนติเมตร เป็นเวลา 45 นาที พร้อมกับคนตัวอย่างเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างจับเป็นก้อน จากนั้นใช้ปั๊มสุญญากาศดูดสารละลายออก
- เติม combined potassium permanganate 25 มิลลิลิตร ลงในครุชิเบิลแล้วทิ้งไว้อีก 45 นาที ก่อนใช้ปั๊มสุญญากาศดูดสารละลายออก
- เติม demineralizing ลงในครุชิเบิล แล้วแช่ไว้ 5 นาที ก่อนใช้ปั๊มสุญญากาศดูดสารละลายออก ทำซ้ำขั้นตอนนี้ไปเรื่อย ๆ จนตัวอย่างมีสีขาว จากนั้นกรองและล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนตามด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 และแอซีโตน

- นำครุฑิเบิลไปอบที่  $105 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนชั่งน้ำหนัก ( $W_5$ ) ซึ่งคือน้ำหนักของครุฑิเบิลรวมกับชีวมวลที่ผ่านการสกัดลิกนินออกไปแล้ว

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของลิกนิน} = (W_4 - W_5) / W_2 \times 100$$

#### 4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส

นำครุฑิเบิลที่มีชีวมวลซึ่งผ่านการสกัดลิกนินออกไปแล้วไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ  $550 \pm 25$  องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นจนเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักชีวมวลพร้อมครุฑิเบิลไว้ ( $W_6$ ) ซึ่งคือน้ำหนักของครุฑิเบิลรวมกับเถ้า

การคำนวณ

$$\text{ร้อยละของเซลลูโลส} = (W_5 - W_6) / W_2 \times 100$$

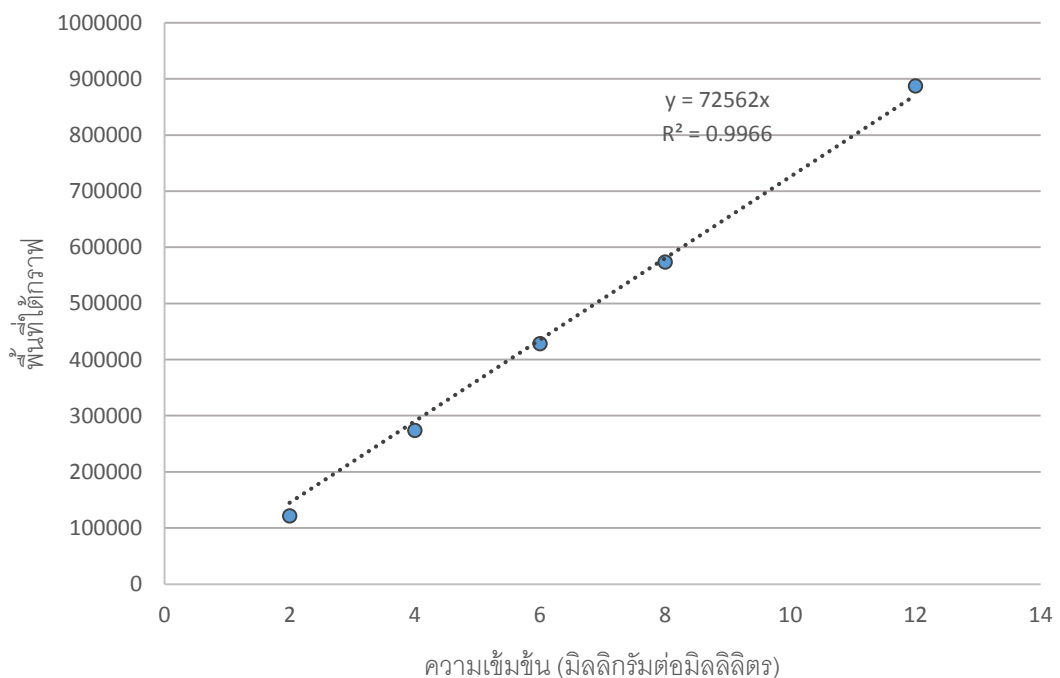
$$\text{ร้อยละของเถ้า} = (W_6 - W_1) / W_2 \times 100$$

## ภาคผนวก ข

### กราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

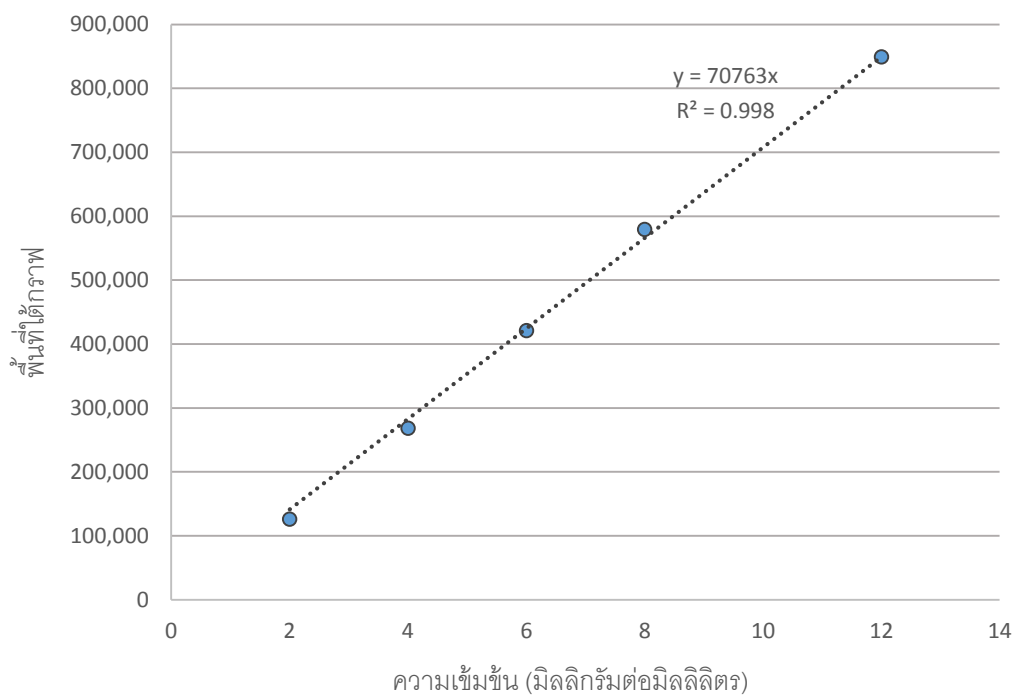
ข้อมูลที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแต่ละชนิด ทั้งในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นและของเหลวภายหลังการเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ สามารถทำได้โดยการเตรียมสารละลายที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง จากนั้นจึงนำผลการวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารละลายที่วิเคราะห์มาพลอตกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานนั้นเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งในการทดลองนี้มีสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์ทั้งหมด 4 ชนิดได้แก่ กลูโคส, ไซโลส, เพอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟูรอลดีไฮด์

#### ตัวอย่างกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์

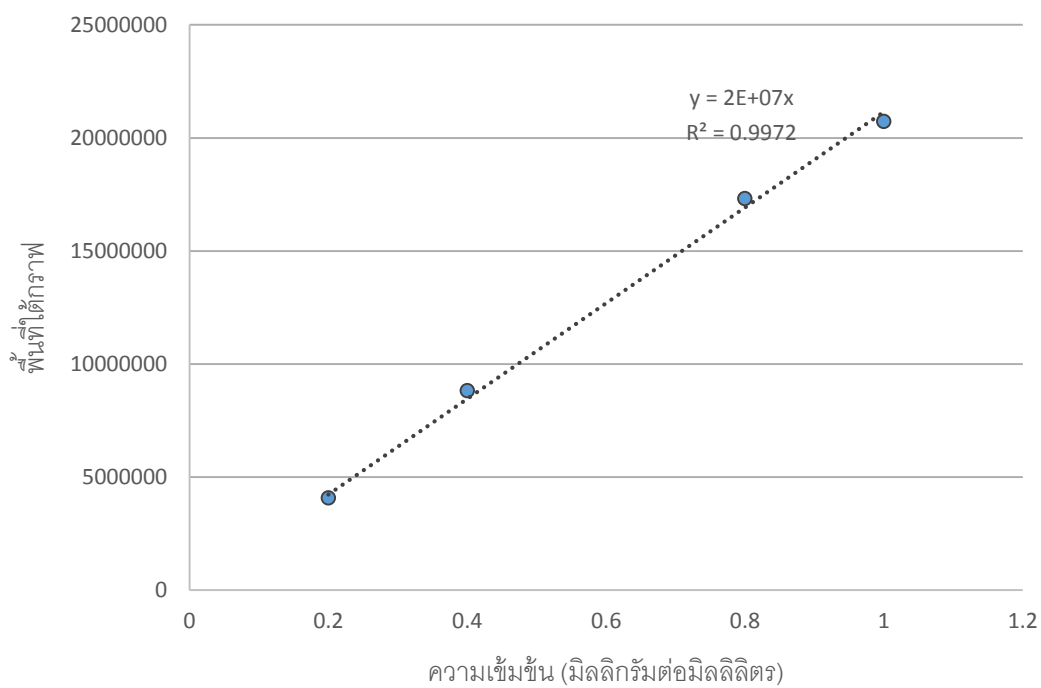


รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานสำหรับกลูโคส

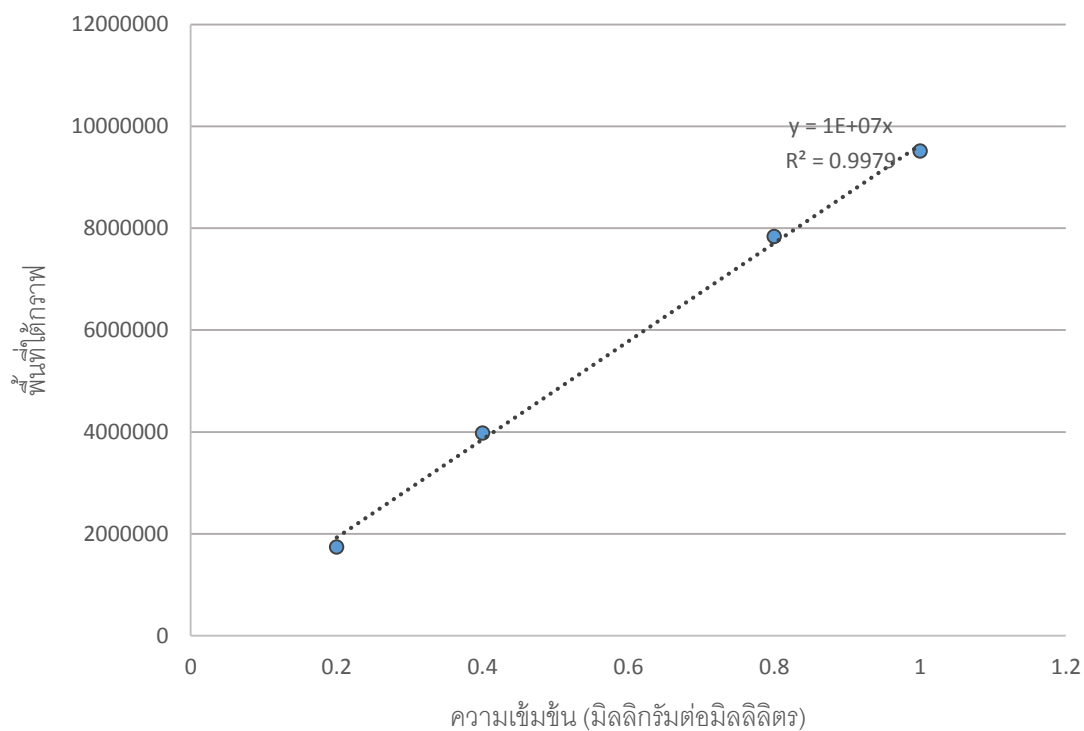




รูปที่ ข-2 กราฟมาตรฐานสำหรับไซโลส



รูปที่ ข-3 กราฟมาตรฐานสำหรับเฟอร์ฟูรอล



รูปที่ ข-4 กราฟมาตรฐานสำหรับ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เพอร์ฟูราลดีไฮด์

## ภาคผนวก ค

### เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง

โครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatograph) เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกองค์ประกอบที่สนใจที่มีอยู่ในตัวอย่าง เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีนิยมนำมาใช้กันมาก สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative analysis) และเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative analysis) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน สามารถตรวจวิเคราะห์ได้แม้ องค์ประกอบที่สนใจในตัวอย่างมีปริมาณต่ำ ๆ ในระดับไมโครกรัม ( $\mu\text{g}$ ) ถึงพิโคกรัม ( $\text{pg}$ ) สำหรับ ตัวอย่างที่เหมาะสมกับการนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องนี้ส่วนใหญ่ นิยมนำมาใช้เป็นสารประกอบที่ระเหยยาก (Low volatile substation) หรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High molecular weight compounds) ใน ปัจจุบันเทคนิคนี้ได้ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างในงานด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง ทั้งทางด้านยา ทางด้านสิ่งแวดล้อม รวมถึงใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามิน สารปนเปื้อนในอาหาร สารพิษที่ผลิตจากเชื้อรา

#### หลักการ

หลักการทำงานของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงนั้น สารผสมจะถูกฉีดเข้าไป ในคอลัมน์ที่บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวยึดจับซึ่งเรียกว่า stationary phase สารผสมจะถูกพา ให้เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์โดยเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สารประกอบแต่ละตัวจะถูกแยกออกมา จากคอลัมน์ในเวลาที่แตกต่างกัน โดยอัตราเร็วของการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพ (Affinity) ของ สารกับอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ถ้าสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสเคลื่อนที่ หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับ ที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารประกอบแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณ ด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นกราฟ ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโทแกรม (Chromatogram)

กระบวนการโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสามารถจำแนกออกได้อย่างกว้าง ๆ ตาม กลไกของการแยกโดยอาศัยเฟสเป็นตัวกำหนด มีดังต่อไปนี้

#### 1. Adsorption Chromatography

การแยกสารนั้นอาศัยการเกิดอันตรกิริยา (Interaction) ที่ต่างกันระหว่าง สารประกอบกับตำแหน่งซึ่ง active บนผิวของตัวดูดซับที่ใช้เป็นเฟสอยู่กับที่

## 2. Partition Chromatography

อาศัยหลักการที่ว่า โมเลกุลของสารประกอบจะกระจายตัวของมันเองระหว่างเฟสทั้งสองที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดยกลไกนี้เฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ต้องมีสภาพขั้วต่างกันมาก ๆ

## 3. Ion Exchange Chromatography

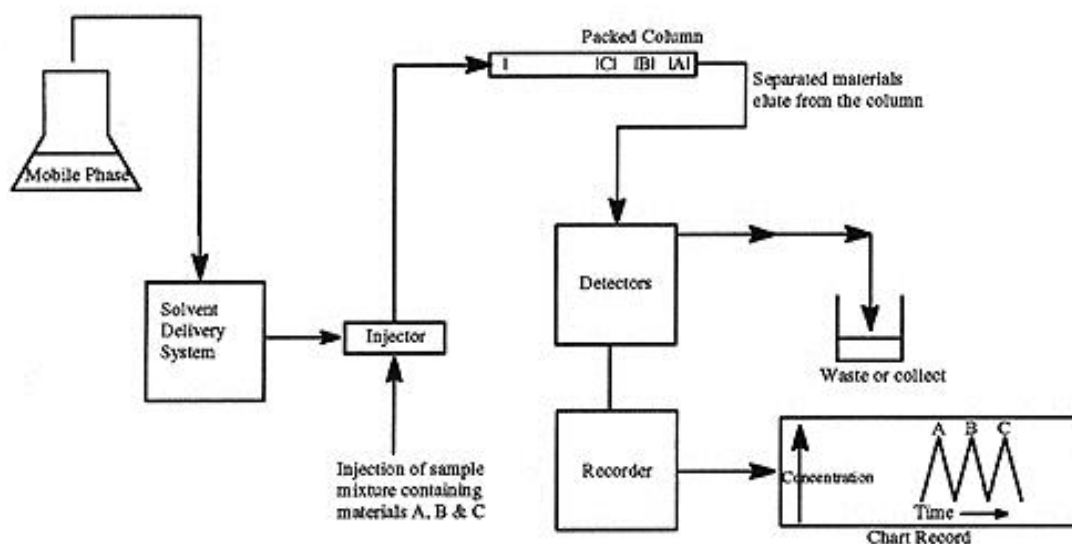
การแยกสารจะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของไอออนในสารละลายกับไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามซึ่งอยู่ที่ผิวของเฟสอยู่กับที่

## 4. Size Exclusion Chromatography

ใช้หลักการที่สารจะถูกเลือกให้แพร่ผ่านรูพรุนของ packing ที่มีลักษณะเป็นโครงข่าย 3 มิติ ซึ่ง packing อาจจะเป็นพวเจล (Gel) หรือของแข็งที่มีรูพรุนซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ การที่จะถูกยึดเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์นานหรือไม่นานขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล

### ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงประกอบด้วยส่วนหลักต่าง ๆ ดังแสดงในรูป ผ3-1



รูป ผ3-1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1. ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase reservoir)

เป็นขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ควรมีขนาดความจุประมาณ 1 ลิตรเป็นอย่างน้อย

2. อุปกรณ์ไล่อากาศ (Degasser)

ไล่อากาศที่อยู่ในเฟสเคลื่อนที่ซึ่งอาจจะทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิดได้ หรือ แม้แต่กับเฟสคงที่ที่อยู่ในคอลัมน์ นอกจากนี้ยังเป็นการลดโอกาสที่จะทำให้เกิดฟองอากาศในเครื่องตรวจจับสัญญาณขณะทำการวิเคราะห์

3. ระบบปั๊ม (Pumping system)

ภายในเครื่องมีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เพราะเป็นการไหลผ่านคอลัมน์ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ซึ่งความต้านทานนี้จะยิ่งมากเมื่อใช้อนุภาคขนาดเล็ก ๆ และคอลัมน์ขนาดเล็ก ดังนั้นระบบปั๊มจึงเป็นส่วนที่สำคัญอย่างมากในการที่จะทำให้เกิดความดันที่สูงเพื่อจะเอาชนะแรงต้านทาน

4. จุดฉีดสาร (Sample injection/Autosampler)

เป็นส่วนที่ไว้ให้ผ่านสารตัวอย่างเข้าไปในเครื่อง ซึ่งในปัจจุบันปริมาณสารที่ฉีดในแต่ละครั้งมีตั้งแต่ 0.5 ไมโครลิตร ไปจนถึงหลายมิลลิลิตร ซึ่งอุปกรณ์การฉีดมีทั้งแบบที่ผู้วิเคราะห์ต้องฉีดเองและแบบให้เครื่องฉีดโดยอัตโนมัติ

5. คอลัมน์ (Column)

- Analytical column ภายในมีอนุภาคถูกบรรจุอยู่ ส่วนมากมีความยาวประมาณ 10 - 30 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 4 - 10 มิลลิเมตร

- Guard column ต่อก่อนถึงคอลัมน์ ทำหน้าที่กรองสิ่งสกปรกหรืออนุภาคที่อาจจะปนเปื้อนอยู่ในสารตัวอย่างรวมทั้งในเฟสเคลื่อนที่ เพื่อช่วยยืดอายุการใช้งานของ analytical column ส่วนที่เป็น packing material จะเหมือนกับ analytical column แต่มีความยาวที่น้อยกว่า

6. เครื่องตรวจจับสัญญาณ (Detector)

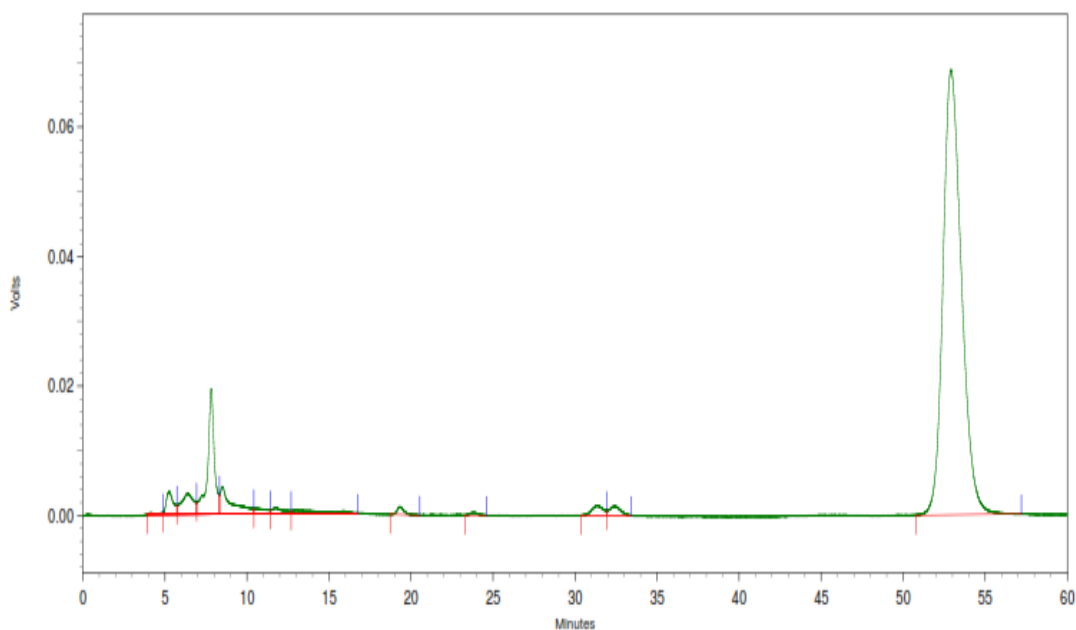
ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารประกอบที่ได้จากกระบวนการแยก ซึ่งที่มมีการใช้งานในงานวิจัยนี้ประกอบไปด้วย

- UV-VIS detector

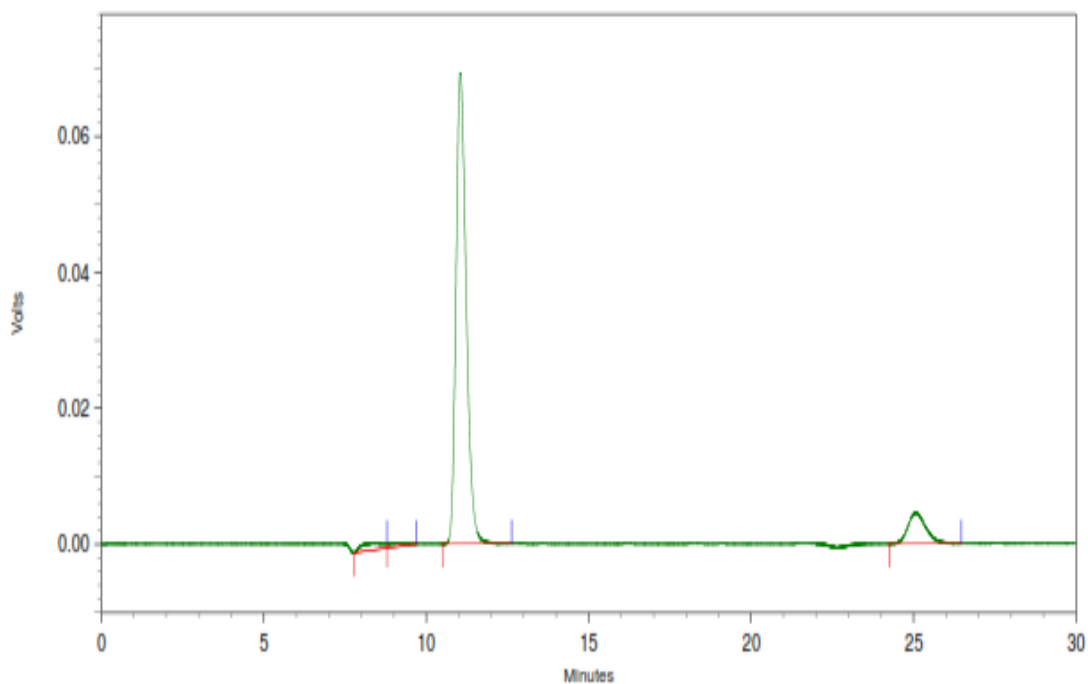
อาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง ซึ่งเครื่องชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันมาก เพราะไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างไวกับสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งในงานวิจัยใช้วิเคราะห์ปริมาณเฟอร์ฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอร์ฟูรอลดีไฮด์

- Refractive index detector

อาศัยการตรวจสอบความแตกต่างของดรรชนีหักเหระหว่างเฟสเคลื่อนที่อย่างเดียวกับเฟสเคลื่อนที่ที่มีสารประกอบอยู่ ซึ่งจะให้สัญญาณของสารประกอบได้ทั้งหมดที่ตัวถูกละลายมีค่าดรรชนีหักเหต่างจากเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งในงานวิจัยใช้วิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว



**รูปที่ ค-1** ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จาก UV-VIS detector ของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเฟอร์ฟูรอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ ค-2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จาก Refractive index detector ของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูงจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**ภาคผนวก ง**  
**ข้อมูลการทดลองและการคำนวณ**

**1. ข้อมูลการทดลอง**

ตารางที่ ง-1 ปริมาณของฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง				น้ำหนักชีวมวลเปียก (kg)	
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)	สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว		ฟางข้าว	กากมัน สำปะหลัง
		ฟางข้าว	กากมันสำปะหลัง		
120	10	0.035	0.035	9.34	34.56
120	5	0.035	0.035	8.79	44.41
140	10	0.035	0.035	8.26	32.84

ตารางที่ ง-2 ปริมาณของฟางข้าวและกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

ภาวะการทดลอง			น้ำหนักชีวมวลเปียก (g)	
อุณหภูมิ (°C)	สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว		ฟางข้าว	กากมัน สำปะหลัง
	ฟางข้าว	กากมันสำปะหลัง		
120	0.035	0.035	29.1	190.98
140	0.035	0.035	29.4	192.46
160	0.035	0.035	29.4	193.0
180	0.035	0.035	29.1	193.81
200	0.035	0.035	29.17	194.13
120	-	0.035	-	193.05



140	-	0.035	-	193.70
160	-	0.035	-	194.30
180	-	0.035	-	194.22

ตารางที่ ง-3 น้ำหนักของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง		น้ำหนัก (kg)		ความชื้นของแข็ง เปียก (%)
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)	ของเหลว	ของแข็ง เปียก	
120	10	118.21	125.68	89.93
120	5	156.37	96.83	86.57
140	10	153.09	88.01	88.23

ตารางที่ ง-4 ร้อยละขององค์ประกอบต่าง ๆ ในชีวมวลทั้งก่อนและหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง		เซลลูโลส (%)	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)	เถ้า (%)	อื่น ๆ (%)
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)					
ก่อนปรับสภาพ		30.85	22.96	7.93	4.24	34.02
120	10	35.62	24.31	9.14	5.05	25.88
120	5	36.44	24.97	9.40	5.35	23.84
140	10	40.72	24.79	10.84	6.15	17.50

ตารางที่ ง-5 ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง		ชีวมวลทั้งหมด (%)	เซลลูโลส (%)	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)	อื่น ๆ (%)
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)					
120	10	22.51	10.53	17.95	10.69	41.05
120	5	24.77	11.14	18.18	10.82	47.28
140	10	35.86	13.34	30.74	12.32	67.01

ตารางที่ ง-6 น้ำหนักของชีวมวลภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ และร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียไปของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพ

ภาวะการทดลอง			น้ำหนักชีวมวล (g)		ความชื้นของแข็งเปียก (%)	น้ำหนักที่สูญเสียของชีวมวล (%)
อุณหภูมิ (°C)	สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว		ของเหลว	ของแข็งเปียก		
	ฟางข้าว	กากมันสำปะหลัง				
120	0.035	0.035	471.32	348.80	88.77	26.68
140	0.035	0.035	491.43	330.43	88.79	31.25
160	0.035	0.035	499.23	332.14	89.32	40.99
180	0.035	0.035	537.66	285.24	88.54	47.24
200	0.035	0.035	594.76	228.54	87.68	50.74
120	-	0.035	574.84	218.21	92.04	35.04
140	-	0.035	594.55	199.15	92.41	44.67
160	-	0.035	619.52	174.78	92.26	59.70
180	-	0.035	623.50	170.72	93.68	63.88

ตารางที่ ง-7 ความเข้มข้นของกลูโคสและตัวยับยั้งในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง		กลูโคส		ตัวยับยั้ง	
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)	free (mg/ml)	total (mg/ml)	furfural (mg/ml)	HMF (mg/ml)
120	10	0.08	0.14	0.0005	0.0002
120	5	0.18	0.24	0.001	0.0006
140	10	0.86	3.63	0.011	0.00368

ตารางที่ ง-8 ความเข้มข้นของน้ำตาลและตัวยับยั้งในของเหลวภายหลังการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

ภาวะการทดลอง			กลูโคส		ไซโลส		ตัวยับยั้ง	
อุณหภูมิ (°C)	สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว		free (mg/ml)	total (mg/ml)	free (mg/ml)	total (mg/ml)	furfural (mg/ml)	HMF (mg/ml)
	ฟางข้าว	กากมันสำปะหลัง						
120	0.035	0.035	0.33	12.55	0.34	4.46	0.0021	0.0022
140	0.035	0.035	0.29	15.37	0.44	6.38	0.024	0.047
160	0.035	0.035	0.80	17.73	1.11	14.30	0.148	0.131
180	0.035	0.035	4.03	19.74	5.38	14.90	1.287	1.255
200	0.035	0.035	4.52	5.53	4.22	5.15	2.075	5.790
120	-	0.035	0.24	11.82	0.05	3.05	0.0067	0.011
140	-	0.035	0.28	14.20	0.13	3.63	0.0069	0.022
160	-	0.035	0.64	17.45	0.89	5.36	0.061	0.112
180	-	0.035	3.97	18.88	3.65	9.48	0.290	1.192

ตารางที่ ง-9 ความเข้มข้นและร้อยละผลได้ของกลูโคสภายหลังจากย่อยชีวมวลทั้งที่ผ่านและไม่ผ่าน การปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

ภาวะการทดลอง		ความเข้มข้น ของกลูโคส (mg/ml)	น้ำหนักกลูโคส ทั้งหมดที่ได้จาก การย่อย (g)	ร้อยละผลได้ ของกลูโคส ทั้งหมด
อุณหภูมิ (°C)	ความถี่ (Hz)			
ฟางข้าวไม่ปรับสภาพ		2.29	101.71	9.14
ชีวมวลผสมไม่ปรับสภาพ		3.60	107.07	13.07
120	10	5.83	2919.25	17.88
120	5	6.50	3303.84	19.85
140	10	8.67	3591.46	22.50

ตารางที่ ง-10 ความเข้มข้นและร้อยละผลได้ของกลูโคสภายหลังจากย่อยชีวมวลที่ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

ภาวะการทดลอง			ความเข้มข้น ของกลูโคส (mg/ml)	น้ำหนักกลูโคส ทั้งหมดที่ได้จาก การย่อย(g)	ร้อยละผลได้ของ กลูโคสทั้งหมด
อุณหภูมิ (°C)	สัดส่วนของแข็งต่อ ของเหลว				
	ฟาง ข้าว	กากมัน สำปะหลัง			
120	0.035	0.035	11.50	18.78	35.15
140	0.035	0.035	12.90	19.78	36.72
160	0.035	0.035	14.89	21.38	39.64
180	0.035	0.035	16.17	22.04	40.98
200	0.035	0.035	15.67	18.30	33.96
120	-	0.035	3.55	5.87	21.97

140	-	0.035	4.96	7.72	28.76
160	-	0.035	6.19	9.01	33.50
180	-	0.035	6.54	8.86	32.93

**ตารางที่ ง-11** ผลของการย่อยชีวมวลภายหลังปรับสภาพที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สัดส่วนชีวมวลแห้งต่อเอนไซม์ 1.2 กรัมต่อ 1 มิลลิลิตร ณ เวลาในการย่อยต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของกลูโคส (mg/ml)
0	0
3	3.08
6	4.44
12	7.23
24	8.43
48	8.63
72	8.75
144	8.72

**ตารางที่ ง-12** ผลของการย่อยชีวมวลภายหลังปรับสภาพที่ความเป็นกรด-เบส 4.8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาในการย่อย 24 ชั่วโมง โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ตั้งแต่ 0 - 1200 ไมโครลิตรต่อชีวมวลแห้ง 1.2 กรัม

ปริมาณเอนไซม์ ( $\mu$ l)	ความเข้มข้นของกลูโคส (mg/ml)
0	0
200	3.08
400	6.04
600	7.13

800	7.45
1000	8.43
1200	8.76

## 2. การคำนวณ

### 2.1 การเตรียมสารป้อน

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณชีวมวลที่ต้องใช้ในการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มเป็น 10 เฮิร์ต ก่อนการทดลองทำการวิเคราะห์ความชื้นของฟางข้าวและกากมันสำปะหลัง พบว่ามีค่าเท่ากับ 11.58 และ 76.61 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

กำหนดให้	R	คือ	น้ำหนักฟางข้าว (กิโลกรัม)
	R <sub>D</sub>	คือ	น้ำหนักฟางข้าวแห้ง (กิโลกรัม)
	C	คือ	น้ำหนักกากมันสำปะหลัง (กิโลกรัม)
	C <sub>D</sub>	คือ	น้ำหนักกากมันสำปะหลังแห้ง (กิโลกรัม)

จากการทดลองพบว่าสัดส่วนของแข็งต่อของเหลวที่มากที่สุดที่ใช้ได้ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องคือร้อยละ 7 ปริมาณน้ำที่ใช้เท่ากับ 200 กิโลกรัม และปริมาณกากมันสำปะหลังต่อฟางข้าวเท่ากับ 1 ต่อ 1 สร้างเป็นสมการสองสมการได้ดังนี้

$$\frac{C_D}{\text{น้ำ} + (0.1158)R + (0.7661)C} = 0.035 \quad \dots\dots (1)$$

$$C_D = R_D \quad \dots\dots (2)$$

$$\begin{aligned} \text{จาก (2); } \quad (1 - 0.7661)C &= (1 - 0.1158)R \\ R &= 0.264C \quad \dots\dots (3) \end{aligned}$$

แทน (3) ใน (1);

$$\begin{aligned} \frac{(1 - 0.7661)C}{200 + (0.1158)(0.264C) + 0.7661C} &= 0.035 \\ \frac{0.2339C}{200 + 0.0306C + 0.7661C} &= 0.035 \end{aligned}$$

จะได้ปริมาณที่ต้องใช้ตามทฤษฎีเท่ากับ

$$C = 33.98 \text{ กิโลกรัม และ } R = 0.264(33.98) = 8.97 \text{ กิโลกรัม}$$

สำหรับปริมาณชีวมวลที่ต้องใช้ตามทฤษฎี ณ ภาวะอื่น ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน และปริมาณชีวมวลที่ซึ่งได้จริงในกระบวนการแสดงในตารางที่ ง-1 และ ง-2

## 2.2 ร้อยละการสูญเสียของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น

ตัวอย่างการคำนวณร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของชีวมวลระหว่างการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊มเป็น 10 เฮิร์ต

ณ ภาวะนี้;	ร้อยละความชื้นของฟางข้าว	= 11.58
	ร้อยละความชื้นของกากมันสำปะหลัง	= 76.61
	น้ำหนักของฟางข้าวที่ใช้ปรับสภาพ	= 9.34 กิโลกรัม
	น้ำหนักของกากมันสำปะหลังที่ใช้ปรับสภาพ	= 34.56 กิโลกรัม

$$\text{น้ำหนักของชีวมวลเปียกภายหลังการปรับสภาพ} = 125.68 \text{ กิโลกรัม}$$

$$\text{ร้อยละความชื้นของชีวมวลเปียกภายหลังการปรับสภาพ} = 89.93$$

$$\text{ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของชีวมวล} = \frac{\text{น้ำหนักของชีวมวลที่หายไปในระหว่างการปรับสภาพ} \times 100}{\text{น้ำหนักของชีวมวลเริ่มต้น}}$$

น้ำหนักของชีวมวลที่หายไปในระหว่างการปรับสภาพ

$$\begin{aligned} &= \text{น้ำหนักของชีวมวลเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักของชีวมวลภายหลังปรับสภาพ} \\ &= ((1 - 0.1158)(9.34) + (1 - 0.7661)(34.56)) - (1 - 0.8993)(125.68) \\ &= 16.34 - 12.66 \\ &= 3.68 \text{ กิโลกรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของชีวมวล} &= \frac{3.68 \times 100}{16.34} \\ &= 22.51 \end{aligned}$$

สำหรับร้อยละการสูญเสียของชีวมวล ณ ภาวะอื่น ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน  
ดังแสดงในตารางที่ ง-5 และ ง-6

CHULALONGKORN UNIVERSITY



### 2.3 ร้อยละการสูญเสียขององค์ประกอบต่าง ๆ ระหว่างการปรับสภาพเบื้องต้น

ตัวอย่างการคำนวณร้อยละการสูญเสียของเซลลูโลสระหว่างการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของบีมเป็น 10 เฮิร์ต

ณ ภาวะนี้;	ร้อยละความชื้นของฟางข้าว	= 11.58
	ร้อยละความชื้นของกากมันสำปะหลัง	= 76.61
	น้ำหนักของฟางข้าวที่ใช้ปรับสภาพ	= 9.34 กิโลกรัม
	น้ำหนักของกากมันสำปะหลังที่ใช้ปรับสภาพ	= 34.56 กิโลกรัม
	น้ำหนักของชีวมวลเปียกภายหลังการปรับสภาพ	= 125.68 กิโลกรัม
	ร้อยละความชื้นของชีวมวลเปียกภายหลังการปรับสภาพ	= 89.93
	ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลเริ่มต้น	= 30.85
	ร้อยละของเซลลูโลสในชีวมวลหลังปรับสภาพ	= 35.62

$$\text{ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของเซลลูโลส} = \frac{\text{น้ำหนักของเซลลูโลสที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักของเซลลูโลสในชีวมวลเริ่มต้น}}$$

น้ำหนักของเซลลูโลสที่หายไป

$$\begin{aligned}
 &= \text{น้ำหนักของเซลลูโลสในชีวมวลเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักของเซลลูโลสในชีวมวลภายหลังปรับสภาพ} \\
 &= [(1 - 0.1158)(9.34) + (1 - 0.7661)(34.56)] \times (0.3085) - [(1 - 0.8993)(125.68)] \times (0.3562) \\
 &= 5.04 - 4.51 \\
 &= 0.53 \text{ กิโลกรัม}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{ร้อยละน้ำหนักที่สูญเสียของเซลลูโลส} &= \frac{0.53 \times 100}{5.04} \\
 &= 10.53
 \end{aligned}$$

สำหรับร้อยละการสูญเสียขององค์ประกอบที่สนใจอื่น ๆ ภาวะต่าง ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ ง-5

#### 2.4 ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมด (%overall glucose yield) ที่ได้ภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์

ตัวอย่างการคำนวณร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมดภายหลังการนำชีวมวลที่ปรับสภาพแบบต่อเนื่องอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของบีมเป็น 10 เฮิร์ต มาย่อยด้วยเอนไซม์

ณ ภาวะนี้;	น้ำหนักของชีวมวลแห้งที่ใช้ในการปรับสภาพ	= 16.34 กิโลกรัม
	น้ำหนักของชีวมวลแห้งหลังการปรับสภาพ	= 12.66 กิโลกรัม
	น้ำหนักของชีวมวลแห้งที่ใช้ในการย่อย	= 1.275 กรัม
	ปริมาตรของของเหลวภายหลังการย่อย	= 50.5 มิลลิลิตร
	ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสจากการย่อย	= 5.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$\text{ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังการย่อย} \times 100}{\text{น้ำหนักของชีวมวลแห้งที่ใช้ในการปรับสภาพเบื้องต้น}}$$

หาน้ำหนักของกลูโคสทั้งหมดในของเหลวภายหลังการย่อยจาก

น้ำหนักของกลูโคสจากการย่อยชีวมวลแห้ง 1.275 กรัม มีค่าเป็น  $5.83 \times 0.0505 = 0.294$  กรัม

น้ำหนักของกลูโคสจากการย่อยชีวมวลแห้ง 12660 กรัม มีค่าเป็น  $\frac{12660 \times 0.294}{1.275} = 2919.25$  กรัม

$$\text{ร้อยละผลได้ของกลูโคสทั้งหมด} = \frac{2919.25 \times 100}{16340}$$

$$= 17.88$$

สำหรับร้อยละผลได้ของกลยุทธ์ทั้งหมด ณ ภาวะอื่น ๆ สามารถคำนวณได้ในทำนองเดียวกัน  
ดังแสดงในตารางที่ ง-8 และ ง-9



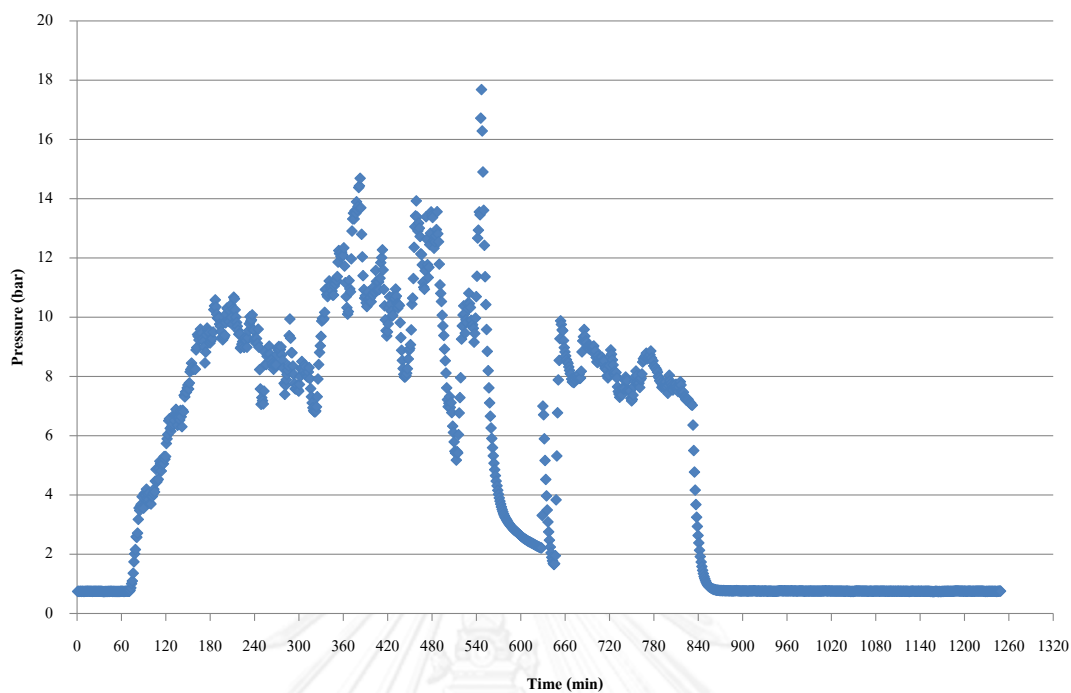
ภาคผนวก จ  
ข้อมูลอื่น ๆ

ตารางที่ จ-1 ผลการวิเคราะห์แบบประมาณของชีวมวลผสม (ฟางข้าวร้อยละ 3.5 และกากมัน  
สำปะหลังร้อยละ 3.5 เทียบกับของเหลวที่ใช้ในการปรับสภาพ)

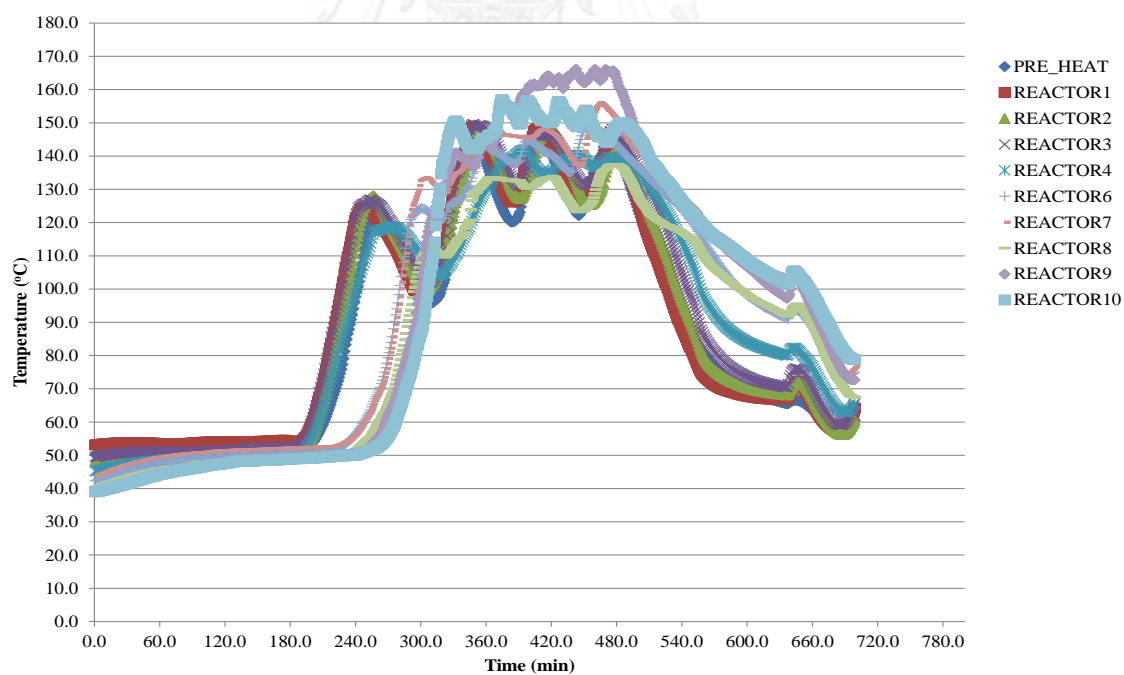
องค์ประกอบ	% as received	% dry basis
ความชื้น (Moisture)	90.25	-
สารระเหย (Volatile matter)	7.86	80.62
คาร์บอนคงตัว (Fix carbon)	0.93	9.61
เถ้า (Ash)	0.95	9.77
รวม	100	100

ตารางที่ จ-2 ผลการวิเคราะห์แบบแยกธาตุของชีวมวลผสม (ฟางข้าวร้อยละ 3.5 และกากมัน  
สำปะหลังร้อยละ 3.5 เทียบกับของเหลวที่ใช้ในการปรับสภาพ)

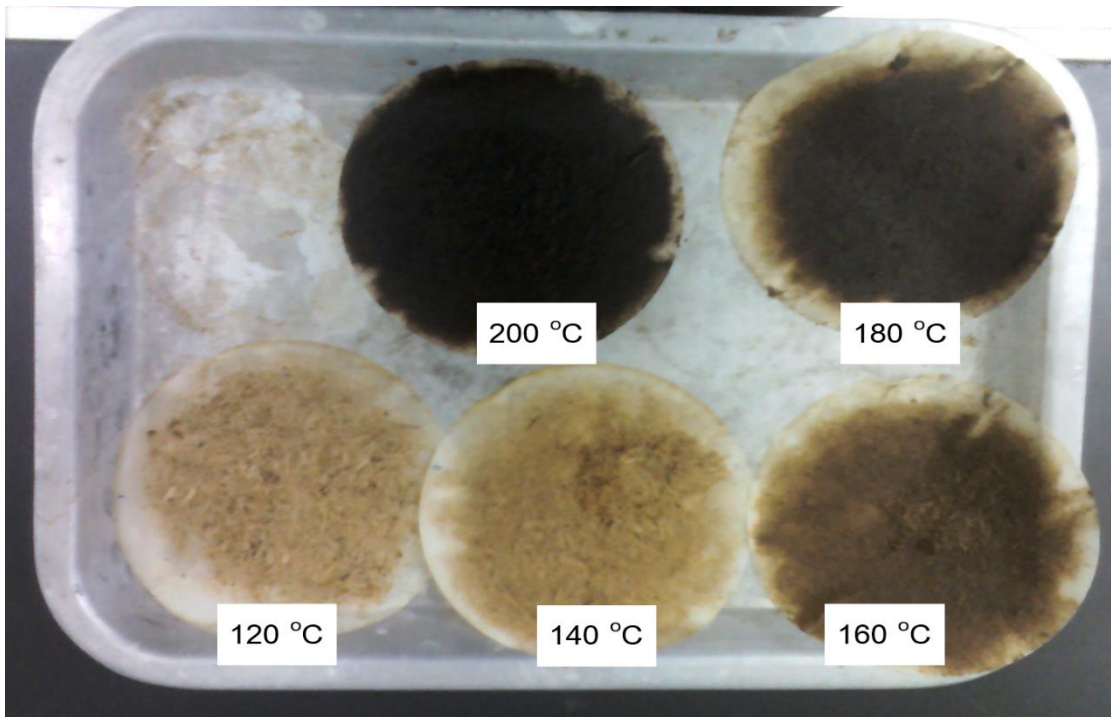
องค์ประกอบ	% by weight
คาร์บอน	39.23
ไฮโดรเจน	6.64
ไนโตรเจน	0.77
ออกซิเจน	53.36
รวม	100.00



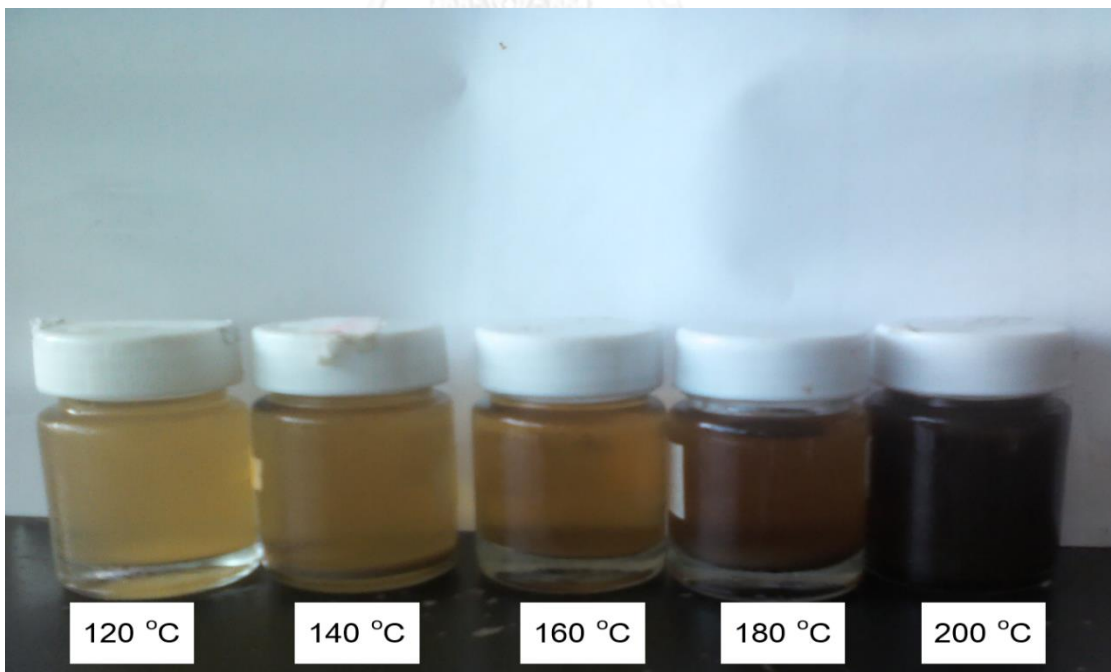
รูปที่ จ-1 แผนภาพแสดงค่าความดันตลอดการทดลองที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส



รูปที่ จ-2 ตัวอย่างอุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์ตลอดการทดลองที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส



รูปที่ จ-3 ลักษณะของชีวมวลภายหลังจากการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์



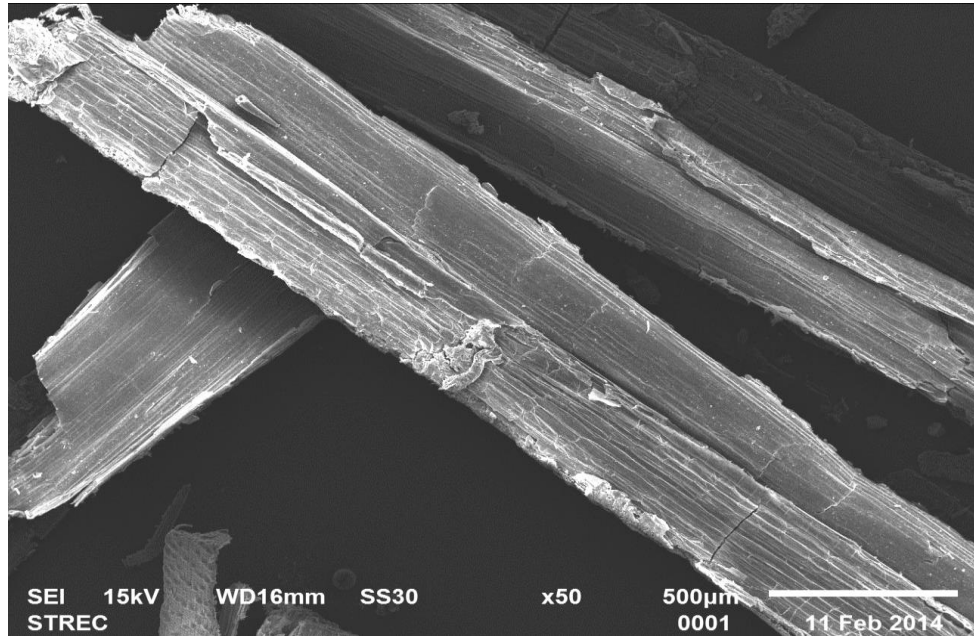
รูปที่ จ-4 ลักษณะของของเหลวภายหลังจากการปรับสภาพที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์

ตารางที่ จ-3 ปริมาณกรดซัลฟิวริก 4% ที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์หาเอ็ดิกแอซิกคาร์โบร

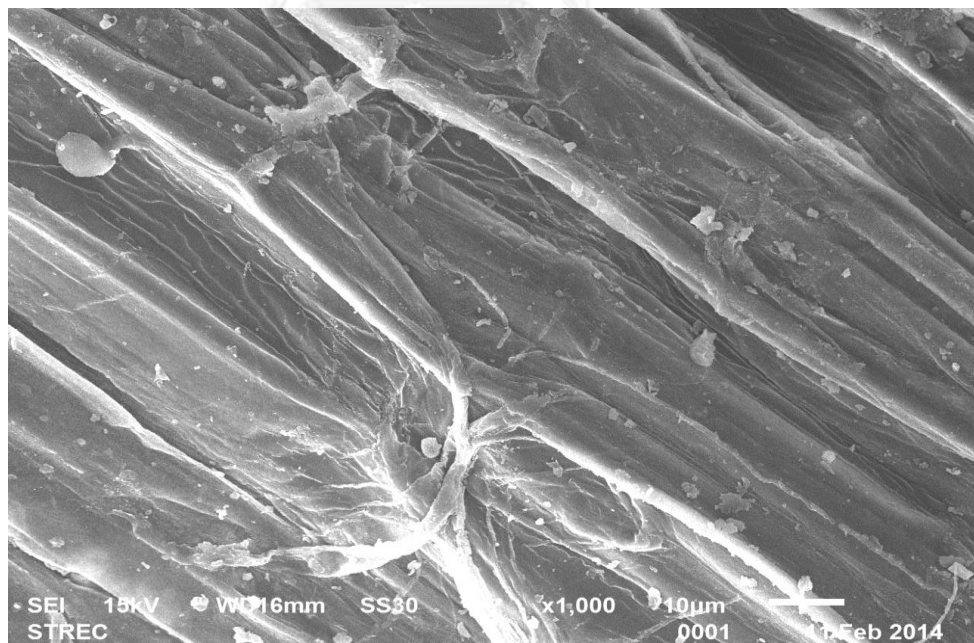
pH	Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)		Vol. of liquor (mL)																			
	5.00	10.00	20.00	30.00	5.00	10.00	20.00	30.00	5.00	10.00	20.00	30.00	5.00	10.00	20.00	30.00	5.00	10.00																		
0.01	0.50	1.08	2.17	4.33	1.0	1.53	3.07	6.14	1.50	1.68	3.35	6.71	2.0	1.72	3.44	6.89	2.50	1.74	3.47	6.95	3.0	1.74	3.48	6.96	3.50	1.74	3.48	6.97	4.0	1.74	3.48	6.97	4.50	1.74	3.48	6.97
0.02	0.51	1.10	2.20	4.39	1.01	1.54	3.08	6.16	1.51	1.68	3.36	6.71	2.01	1.73	3.46	6.89	2.51	1.74	3.47	6.95	3.01	1.74	3.48	6.96	3.51	1.74	3.48	6.97	4.01	1.74	3.48	6.97	4.51	1.74	3.48	6.97
0.03	0.52	1.11	2.23	4.45	1.02	1.54	3.09	6.17	1.52	1.68	3.36	6.72	2.02	1.73	3.46	6.89	2.52	1.74	3.47	6.95	3.02	1.74	3.48	6.96	3.52	1.74	3.48	6.97	4.02	1.74	3.48	6.97	4.52	1.74	3.48	6.97
0.04	0.53	1.13	2.26	4.51	1.03	1.55	3.10	6.19	1.53	1.68	3.36	6.72	2.03	1.73	3.46	6.89	2.53	1.74	3.47	6.95	3.03	1.74	3.48	6.96	3.53	1.74	3.48	6.97	4.03	1.74	3.48	6.97	4.53	1.74	3.48	6.97
0.05	0.54	1.14	2.28	4.57	1.04	1.55	3.11	6.21	1.54	1.68	3.37	6.73	2.04	1.73	3.46	6.89	2.54	1.74	3.47	6.95	3.04	1.74	3.48	6.96	3.54	1.74	3.48	6.97	4.04	1.74	3.48	6.97	4.54	1.74	3.48	6.97
0.06	0.55	1.16	2.31	4.62	1.05	1.56	3.11	6.23	1.55	1.68	3.37	6.74	2.05	1.73	3.46	6.89	2.55	1.74	3.47	6.95	3.05	1.74	3.48	6.96	3.55	1.74	3.48	6.97	4.05	1.74	3.48	6.97	4.55	1.74	3.48	6.97
0.07	0.56	1.17	2.34	4.67	1.06	1.56	3.12	6.24	1.56	1.69	3.37	6.74	2.06	1.73	3.46	6.89	2.56	1.74	3.47	6.95	3.06	1.74	3.48	6.96	3.56	1.74	3.48	6.97	4.06	1.74	3.48	6.97	4.56	1.74	3.48	6.97
0.08	0.57	1.18	2.36	4.73	1.07	1.57	3.13	6.26	1.57	1.69	3.37	6.75	2.07	1.73	3.46	6.89	2.57	1.74	3.47	6.95	3.07	1.74	3.48	6.96	3.57	1.74	3.48	6.97	4.07	1.74	3.48	6.97	4.57	1.74	3.48	6.97
0.09	0.58	1.19	2.39	4.78	1.08	1.57	3.14	6.28	1.58	1.69	3.38	6.75	2.08	1.73	3.46	6.89	2.58	1.74	3.47	6.95	3.08	1.74	3.48	6.96	3.58	1.74	3.48	6.97	4.08	1.74	3.48	6.97	4.58	1.74	3.48	6.97
0.10	0.59	1.21	2.41	4.83	1.09	1.57	3.15	6.29	1.59	1.69	3.38	6.76	2.09	1.73	3.46	6.89	2.59	1.74	3.47	6.95	3.09	1.74	3.48	6.96	3.59	1.74	3.48	6.97	4.09	1.74	3.48	6.97	4.59	1.74	3.48	6.97
0.11	0.60	1.22	2.44	4.88	1.10	1.58	3.15	6.31	1.60	1.69	3.38	6.76	2.10	1.73	3.46	6.89	2.60	1.74	3.48	6.95	3.10	1.74	3.48	6.96	3.60	1.74	3.48	6.97	4.10	1.74	3.48	6.97	4.60	1.74	3.48	6.97
0.12	0.61	1.23	2.46	4.92	1.11	1.58	3.16	6.32	1.61	1.69	3.38	6.77	2.11	1.73	3.46	6.89	2.61	1.74	3.48	6.95	3.11	1.74	3.48	6.96	3.61	1.74	3.48	6.97	4.11	1.74	3.48	6.97	4.61	1.74	3.48	6.97
0.13	0.62	1.24	2.49	4.97	1.12	1.58	3.17	6.34	1.62	1.69	3.39	6.77	2.12	1.73	3.46	6.89	2.62	1.74	3.48	6.95	3.12	1.74	3.48	6.96	3.62	1.74	3.48	6.97	4.12	1.74	3.48	6.97	4.62	1.74	3.48	6.97
0.14	0.63	1.25	2.51	5.02	1.13	1.59	3.18	6.35	1.63	1.69	3.39	6.78	2.13	1.73	3.46	6.89	2.63	1.74	3.48	6.95	3.13	1.74	3.48	6.96	3.63	1.74	3.48	6.97	4.13	1.74	3.48	6.97	4.63	1.74	3.48	6.97
0.15	0.64	1.27	2.53	5.06	1.14	1.59	3.18	6.37	1.64	1.69	3.39	6.78	2.14	1.73	3.46	6.89	2.64	1.74	3.48	6.95	3.14	1.74	3.48	6.96	3.64	1.74	3.48	6.97	4.14	1.74	3.48	6.97	4.64	1.74	3.48	6.97
0.16	0.65	1.28	2.55	5.10	1.15	1.60	3.19	6.38	1.65	1.70	3.39	6.79	2.15	1.73	3.46	6.89	2.65	1.74	3.48	6.95	3.15	1.74	3.48	6.96	3.65	1.74	3.48	6.97	4.15	1.74	3.48	6.97	4.65	1.74	3.48	6.97
0.17	0.66	1.29	2.57	5.15	1.16	1.60	3.20	6.39	1.66	1.70	3.39	6.79	2.16	1.73	3.46	6.89	2.66	1.74	3.48	6.95	3.16	1.74	3.48	6.96	3.66	1.74	3.48	6.97	4.16	1.74	3.48	6.97	4.66	1.74	3.48	6.97
0.18	0.67	1.33	2.60	5.19	1.17	1.60	3.20	6.41	1.67	1.70	3.40	6.80	2.17	1.73	3.46	6.89	2.67	1.74	3.48	6.95	3.17	1.74	3.48	6.96	3.67	1.74	3.48	6.97	4.17	1.74	3.48	6.97	4.67	1.74	3.48	6.97
0.19	0.68	1.31	2.61	5.23	1.18	1.61	3.21	6.42	1.68	1.70	3.40	6.80	2.18	1.73	3.46	6.89	2.68	1.74	3.48	6.95	3.18	1.74	3.48	6.96	3.68	1.74	3.48	6.97	4.18	1.74	3.48	6.97	4.68	1.74	3.48	6.97
0.20	0.69	1.32	2.63	5.27	1.19	1.61	3.22	6.43	1.69	1.70	3.40	6.80	2.19	1.73	3.46	6.89	2.69	1.74	3.48	6.95	3.19	1.74	3.48	6.96	3.69	1.74	3.48	6.97	4.19	1.74	3.48	6.97	4.69	1.74	3.48	6.97
0.21	0.70	1.33	2.65	5.31	1.20	1.61	3.22	6.44	1.70	1.70	3.40	6.80	2.20	1.73	3.46	6.89	2.70	1.74	3.48	6.95	3.20	1.74	3.48	6.96	3.70	1.74	3.48	6.97	4.20	1.74	3.48	6.97	4.70	1.74	3.48	6.97
0.22	0.71	1.34	2.67	5.35	1.21	1.61	3.23	6.45	1.71	1.70	3.40	6.81	2.21	1.73	3.46	6.89	2.71	1.74	3.48	6.95	3.21	1.74	3.48	6.96	3.71	1.74	3.48	6.97	4.21	1.74	3.48	6.97	4.71	1.74	3.48	6.97
0.23	0.72	1.35	2.69	5.38	1.22	1.62	3.24	6.47	1.72	1.70	3.41	6.81	2.22	1.73	3.46	6.89	2.72	1.74	3.48	6.95	3.22	1.74	3.48	6.96	3.72	1.74	3.48	6.97	4.22	1.74	3.48	6.97	4.72	1.74	3.48	6.97
0.24	0.73	1.35	2.71	5.42	1.23	1.62	3.24	6.48	1.73	1.70	3.41	6.82	2.23	1.73	3.46	6.89	2.73	1.74	3.48	6.95	3.23	1.74	3.48	6.96	3.73	1.74	3.48	6.97	4.23	1.74	3.48	6.97	4.73	1.74	3.48	6.97
0.25	0.74	1.36	2.73	5.45	1.24	1.63	3.25	6.49	1.74	1.70	3.41	6.82	2.24	1.73	3.46	6.89	2.74	1.74	3.48	6.95	3.24	1.74	3.48	6.96	3.74	1.74	3.48	6.97	4.24	1.74	3.48	6.97	4.74	1.74	3.48	6.97
0.26	0.75	1.37	2.74	5.49	1.25	1.63	3.25	6.50	1.75	1.71	3.41	6.82	2.25	1.73	3.46	6.89	2.75	1.74	3.48	6.95	3.25	1.74	3.48	6.96	3.75	1.74	3.48	6.97	4.25	1.74	3.48	6.97	4.75	1.74	3.48	6.97
0.27	0.76	1.38	2.76	5.52	1.26	1.63	3.26	6.51	1.76	1.71	3.41	6.82	2.26	1.73	3.46	6.89	2.76	1.74	3.48	6.95	3.26	1.74	3.48	6.96	3.76	1.74	3.48	6.97	4.26	1.74	3.48	6.97	4.76	1.74	3.48	6.97
0.28	0.77	1.39	2.78	5.56	1.27	1.63	3.26	6.52	1.77	1.71	3.41	6.83	2.27	1.73	3.46	6.89	2.77	1.74	3.48	6.95	3.27	1.74	3.48	6.96	3.77	1.74	3.48	6.97	4.27	1.74	3.48	6.97	4.77	1.74	3.48	6.97
0.29	0.78	1.40	2.79	5.59	1.28	1.63	3.27	6.53	1.78	1.71	3.42	6.83	2.28	1.73	3.46	6.89	2.78	1.74	3.48	6.95	3.28	1.74	3.48	6.96	3.78	1.74	3.48	6.97	4.28	1.74	3.48	6.97	4.78	1.74	3.48	6.97
0.30	0.79	1.40	2.81	5.62	1.29	1.64	3.28	6.54	1.79	1.71	3.42	6.84	2.29	1.73	3.46	6.89	2.79	1.74	3.48	6.95	3.29	1.74	3.48	6.96	3.79	1.74	3.48	6.97	4.29	1.74	3.48	6.97	4.79	1.74	3.48	6.97
0.31	0.80	1.41	2.82	5.65	1.30	1.64	3.28	6.55	1.80	1.71	3.42	6.84	2.30	1.73	3.46	6.89	2.80	1.74	3.48	6.95	3.30	1.74	3.48	6.96	3.80	1.74	3.48	6.97	4.30	1.74	3.48	6.97	4.80	1.74	3.48	6.97
0.32	0.81	1.42	2.84	5.68	1.31	1.64	3.28	6.56	1.81	1.71	3.42	6.84	2.31	1.73	3.46	6.89	2.81	1.74	3.48	6.95	3.31	1.74	3.48	6.96	3.81	1.74	3.48	6.97	4.31	1.74	3.48	6.97	4.81	1.74	3.48	6.97
0.33	0.82	1.43	2.85	5.71	1.32	1.64	3.29	6.57	1.82	1.71	3.42	6.84	2.32	1.73	3.46	6.89	2.82	1.74	3.48	6.95	3.32	1.74	3.48	6.96	3.82	1.74	3.48	6.97	4.32	1.74	3.48	6.97	4.82	1.74	3.48	6.97
0.34	0.83	1.43	2.87	5.74	1.33	1.65	3.29	6.58	1.83	1.71	3.42	6.85	2.33	1.73	3.46	6.89	2.83	1.74	3.48	6.95	3.33	1.74	3.48	6.96	3.83	1.74	3.48	6.97	4.33	1.74	3.48	6.97	4.83	1.74	3.48	6.97
0.35	0.84	1.44	2.88	5.77	1.34	1.65	3.29	6.59	1.84	1.71	3.43	6.85	2.34	1.73	3.46	6.89	2.84	1.74	3.48	6.95	3.34	1.74	3.48	6.96	3.84	1.74	3.48	6.97	4.34	1.74	3.48	6.97	4.84	1.74	3.48	6.97
0.36	0.85	1.45	2.90	5.																																



ผลการวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของชีวมวลโดย SEM

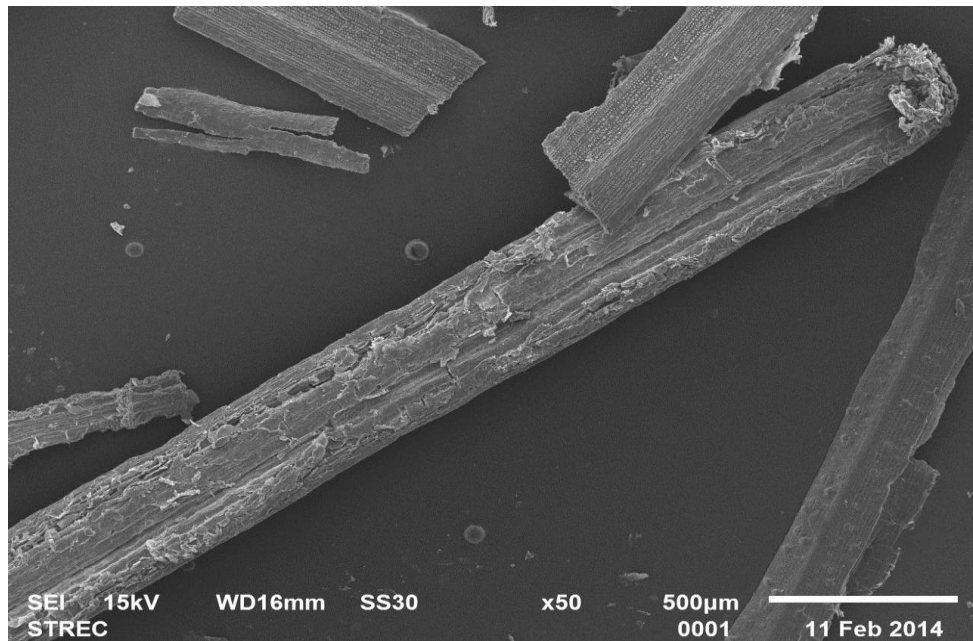


รูปที่ จ-5 พื้นผิวของฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 50 เท่า)

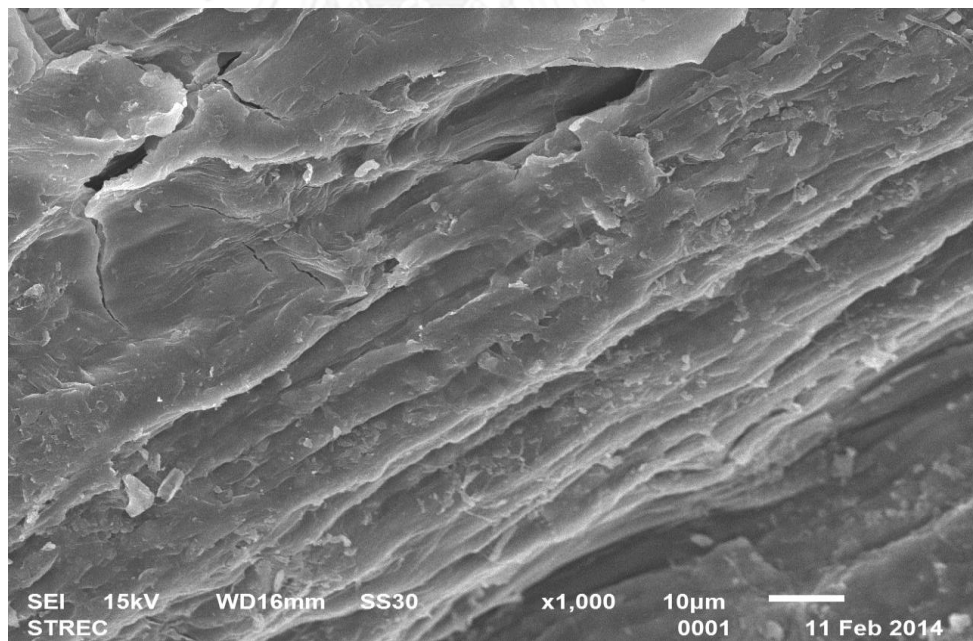


รูปที่ จ-6 พื้นผิวของฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 1000 เท่า)

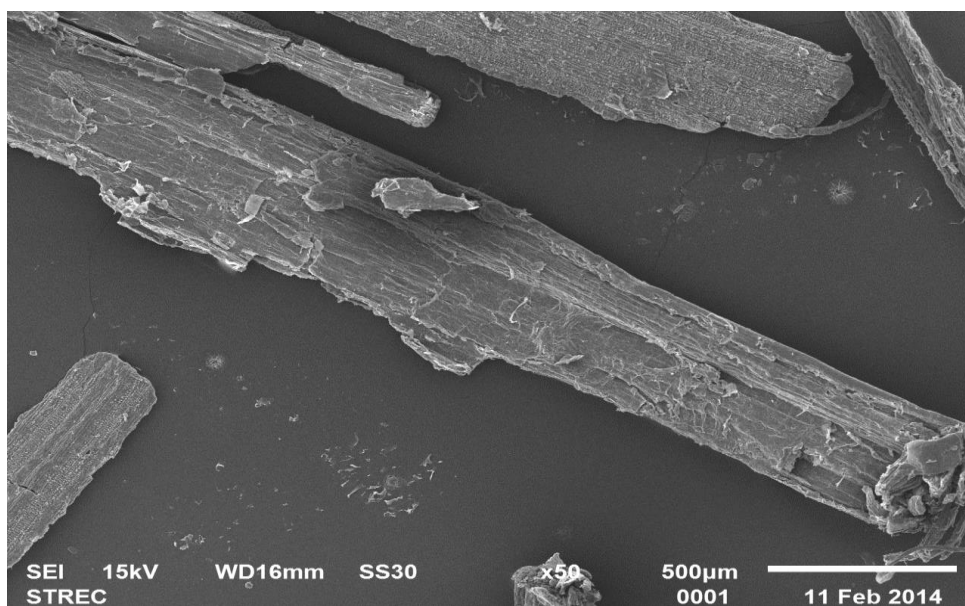




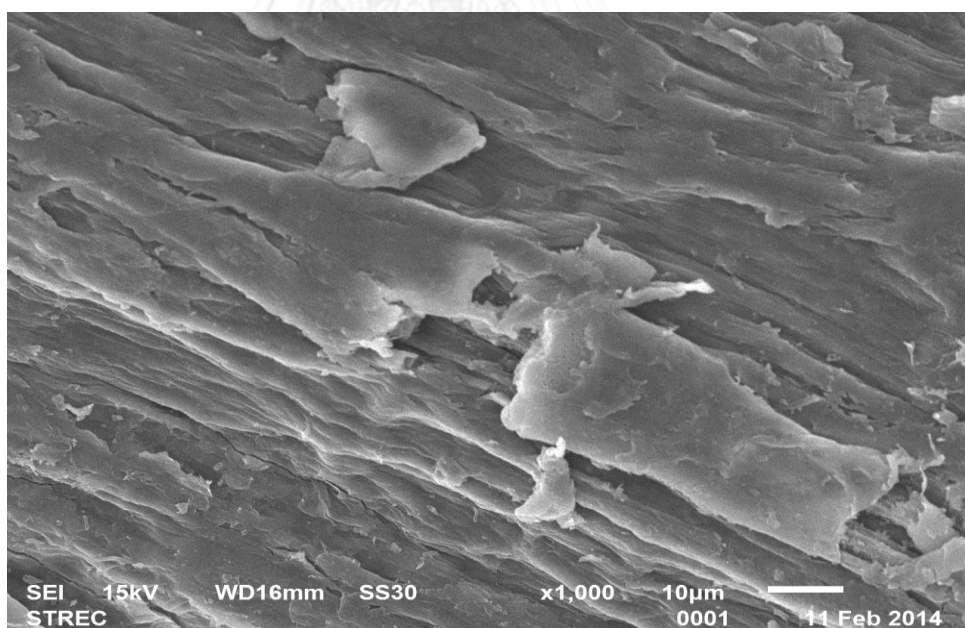
รูปที่ จ-7 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 50 เท่า)



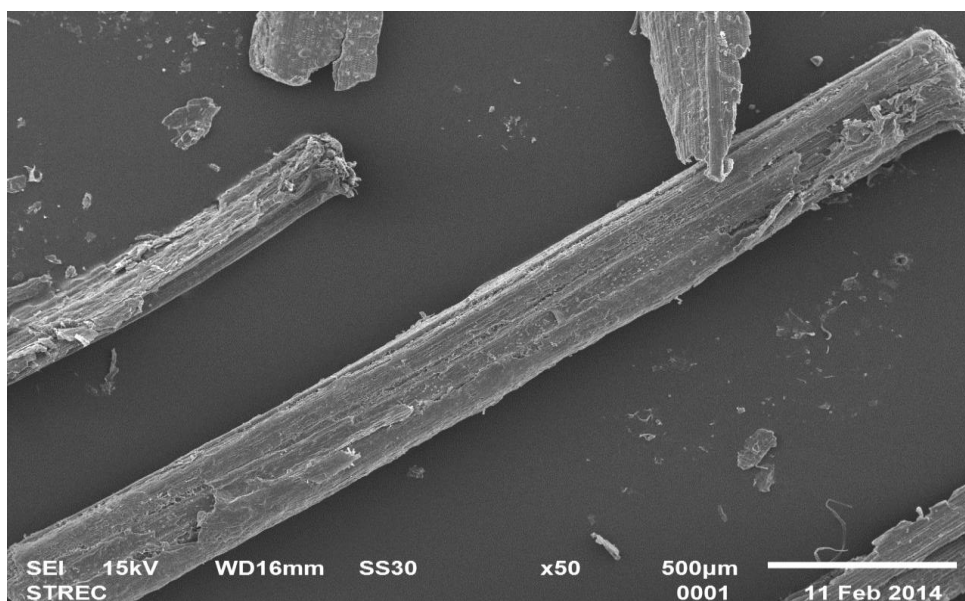
รูปที่ จ-8 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (กำลังขยาย 1000 เท่า)



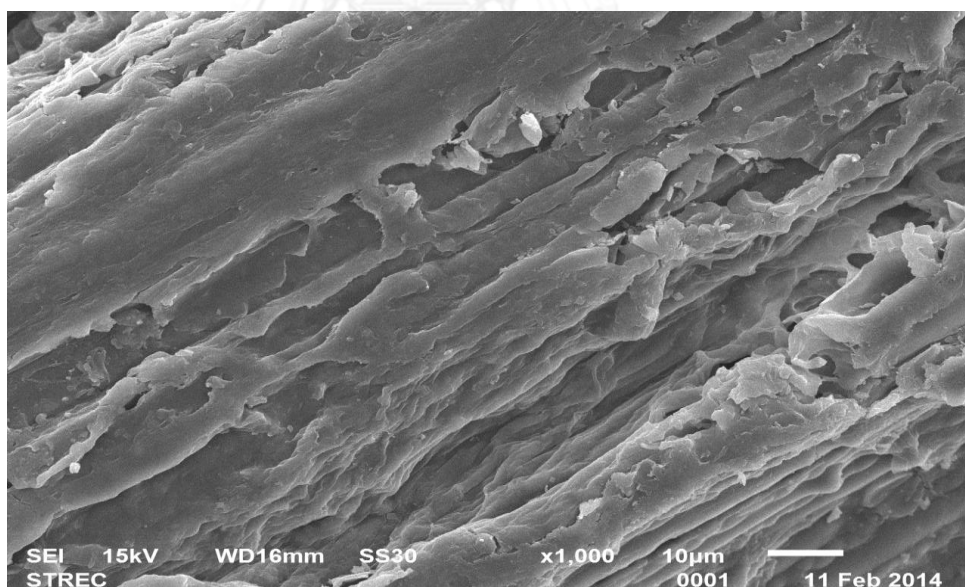
รูปที่ จ-9 พื้นผิวของซีเมนต์ผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า)



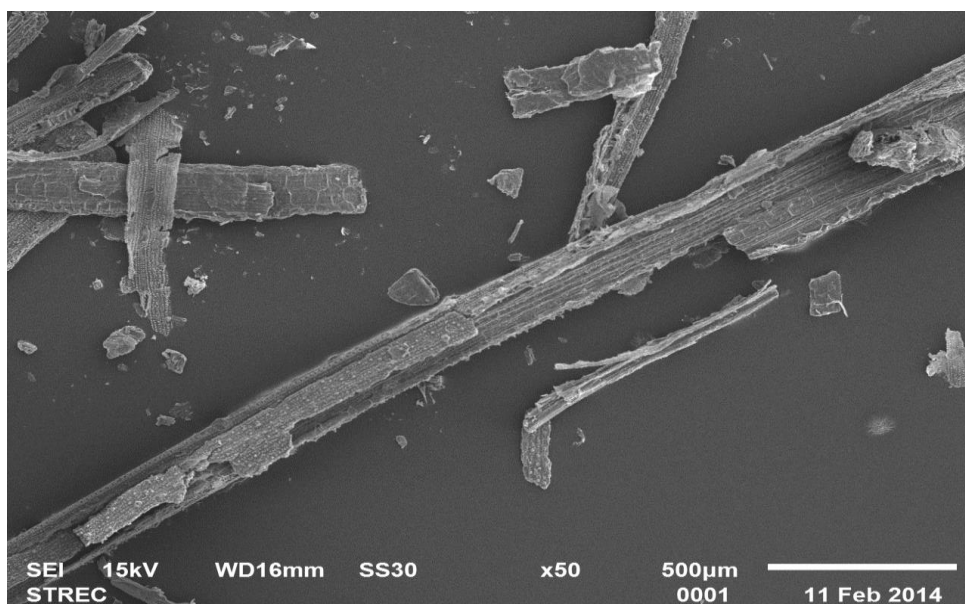
รูปที่ จ-10 พื้นผิวของซีเมนต์ผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)



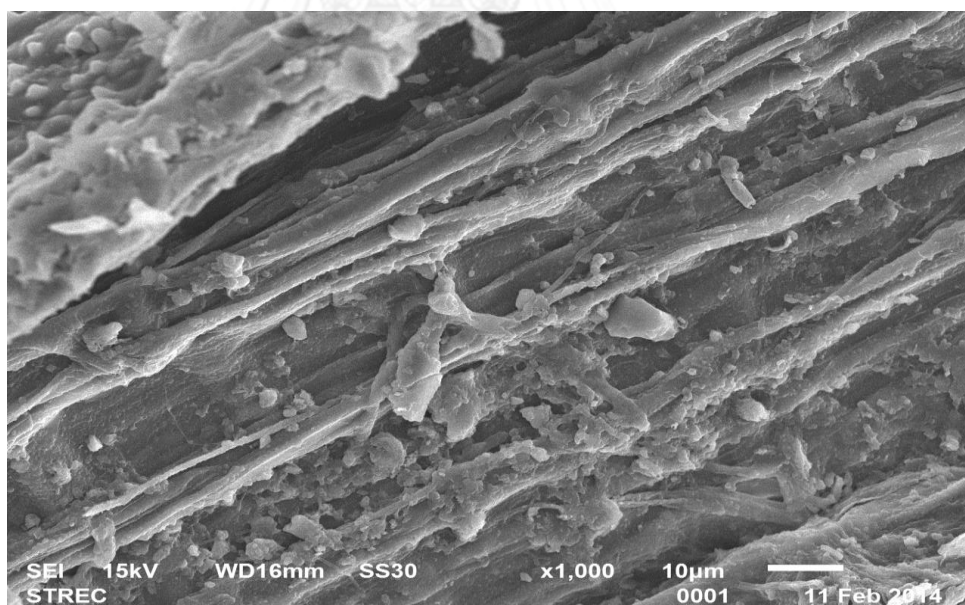
รูปที่ จ-11 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า)



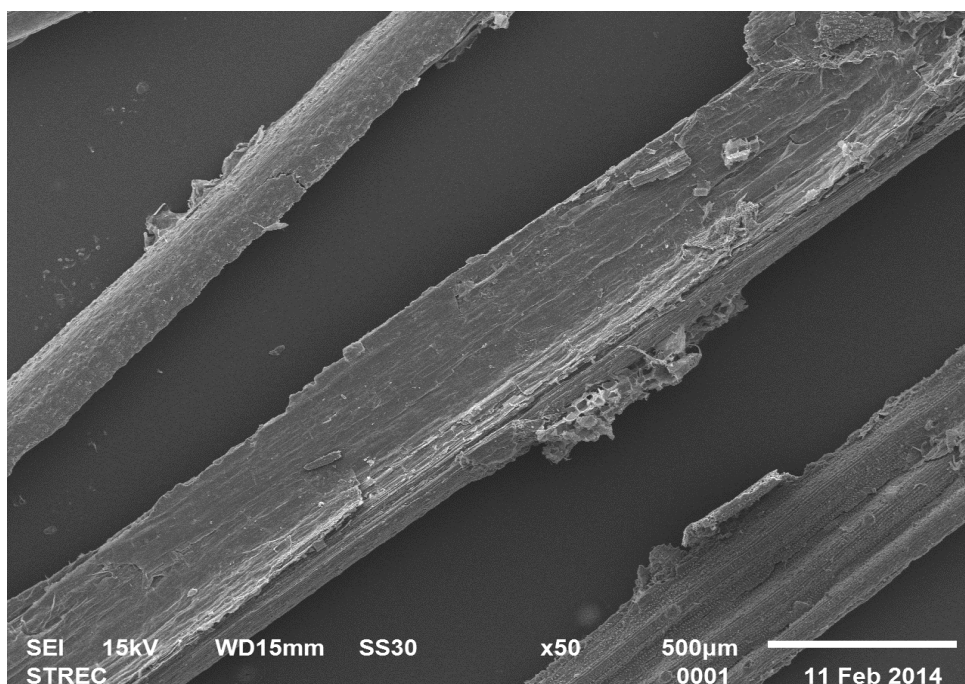
รูปที่ จ-12 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)



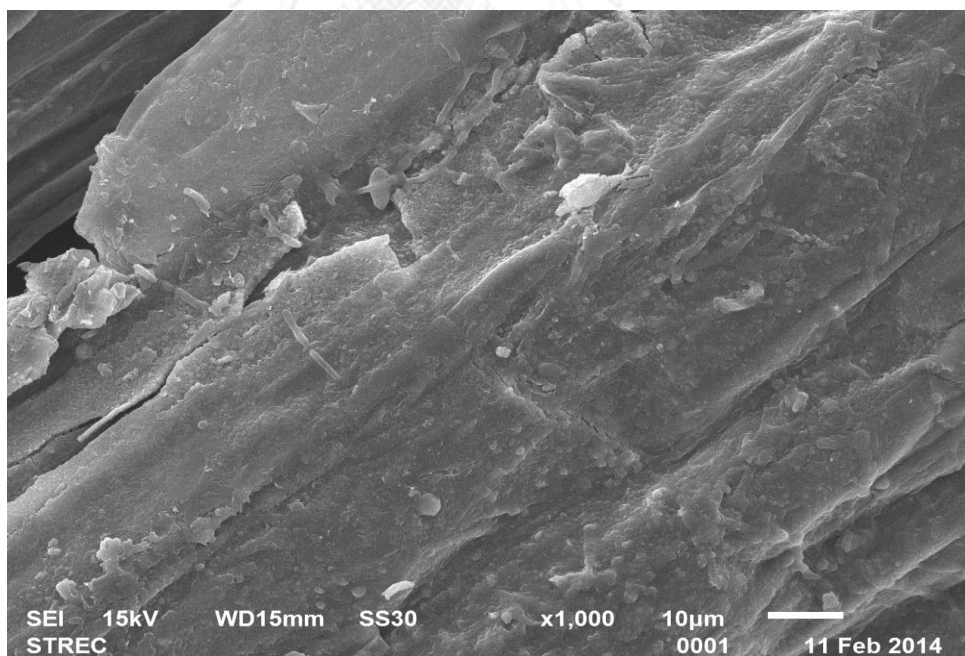
รูปที่ จ-13 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 50 เท่า)



รูปที่ จ-14 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

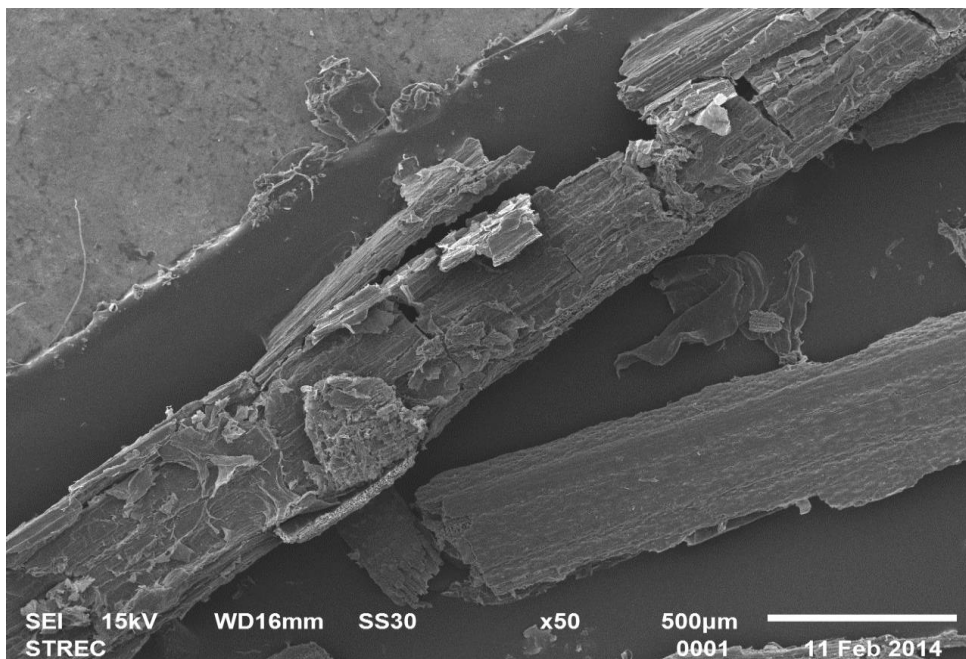


รูปที่ จ-15 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)

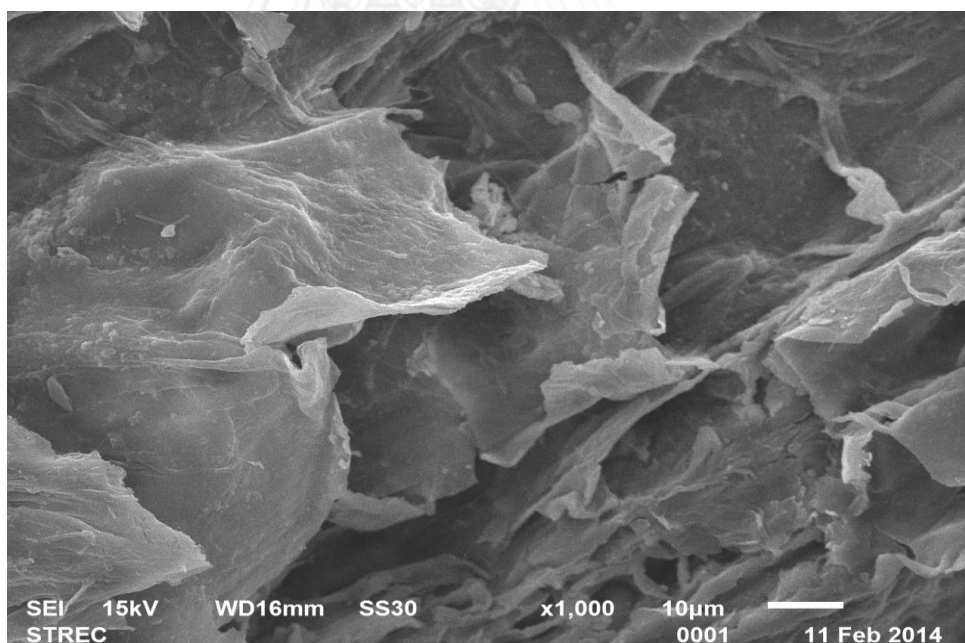


รูปที่ จ-16 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)

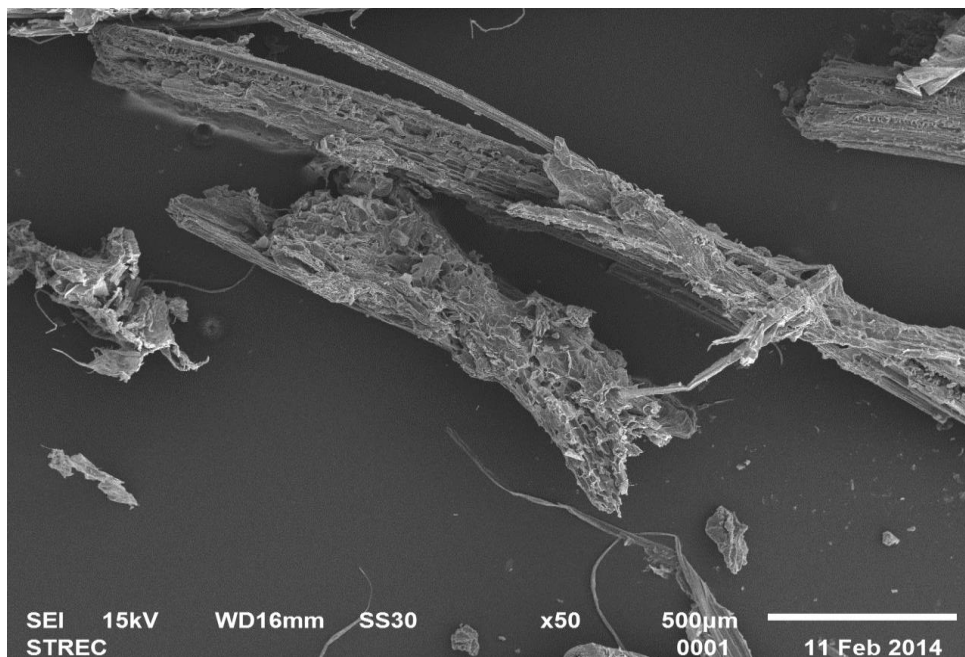




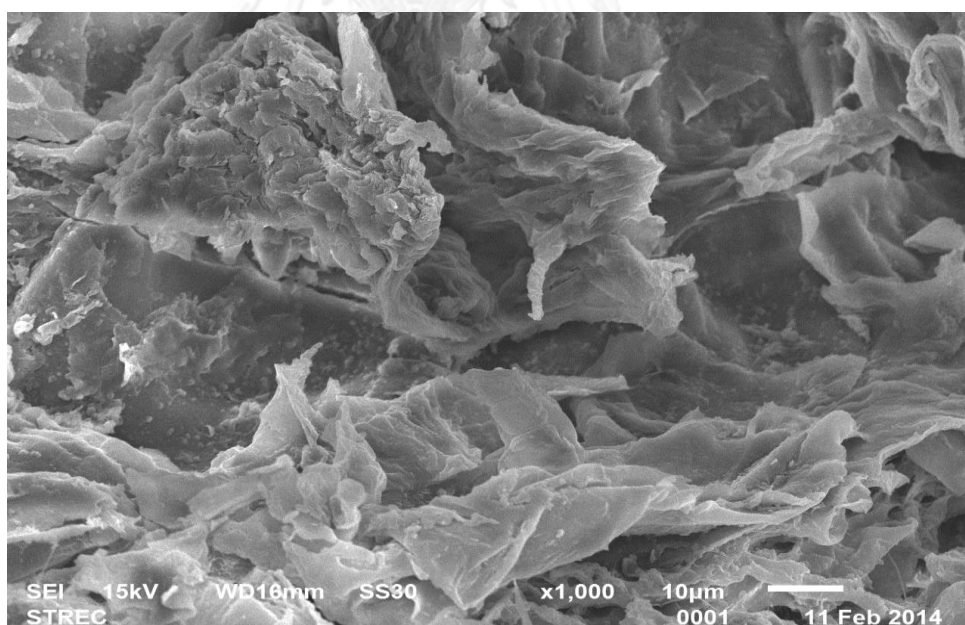
รูปที่ จ-17 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



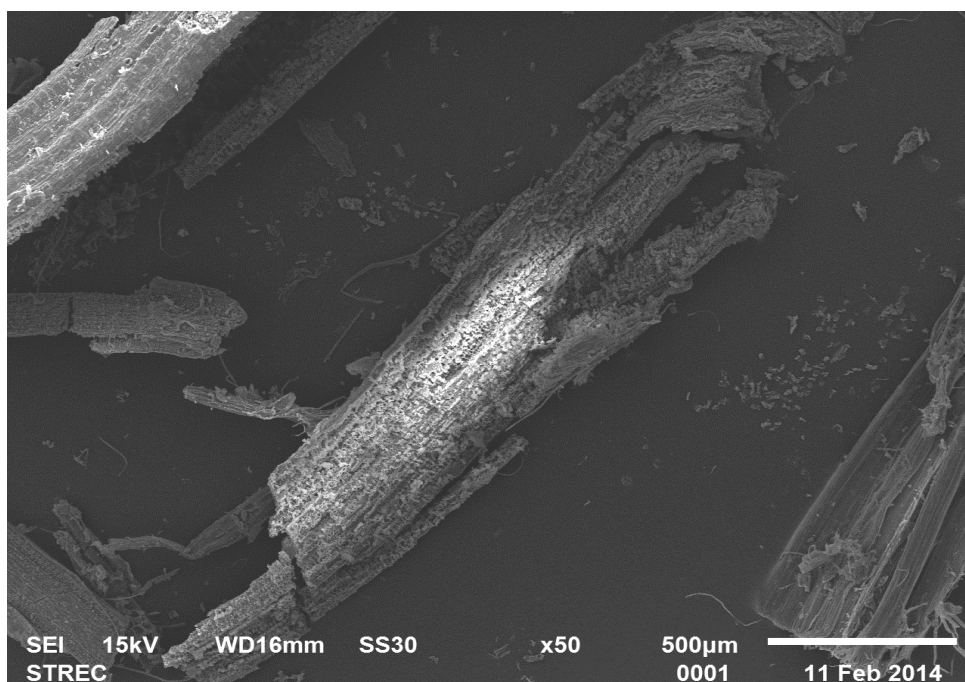
รูปที่ จ-18 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)



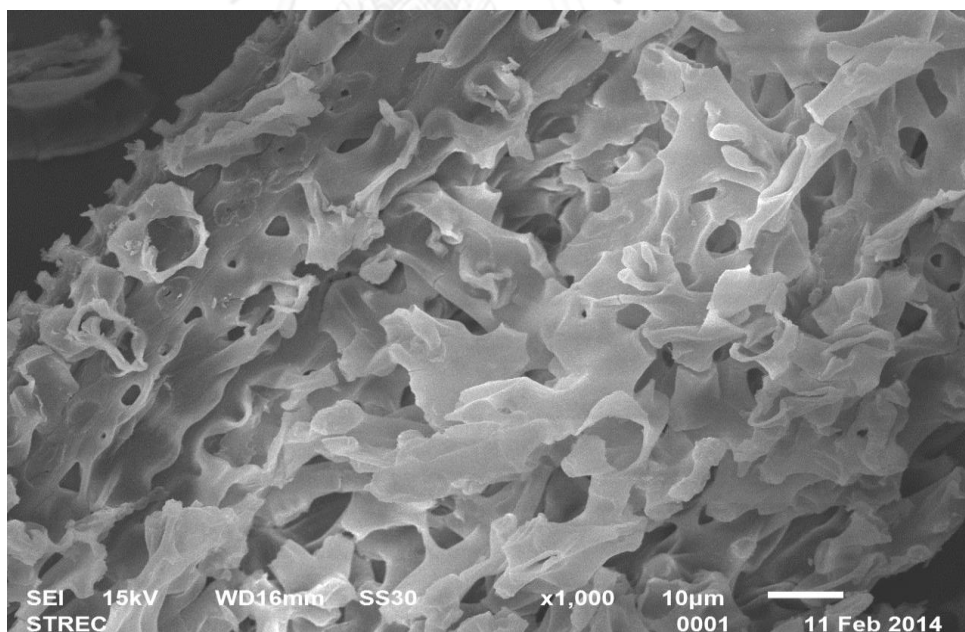
รูปที่ จ-19 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 160 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



รูปที่ จ-20 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 160 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)

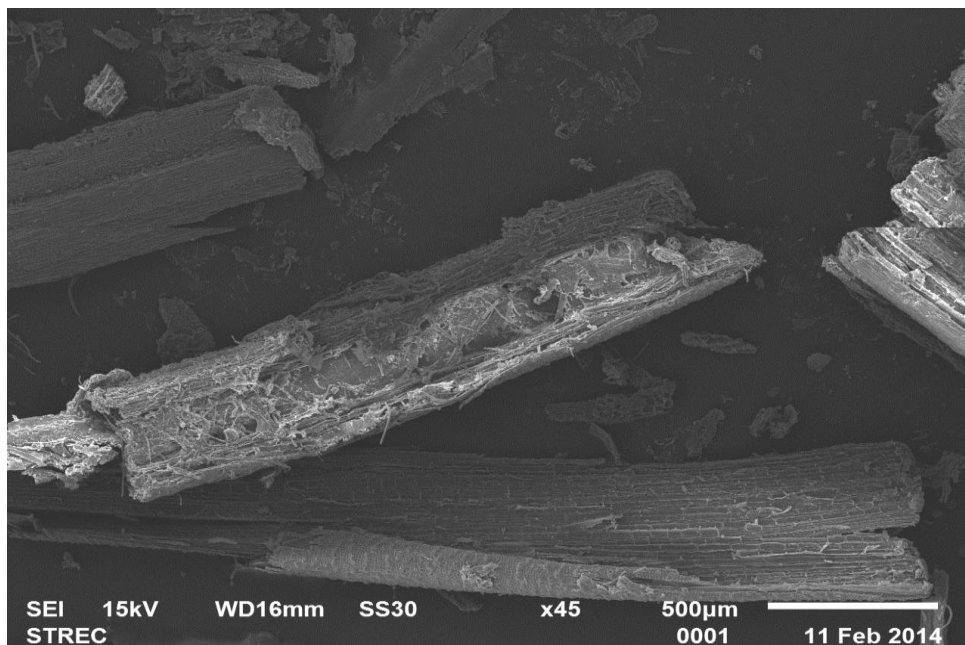


รูปที่ จ-21 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 180 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)

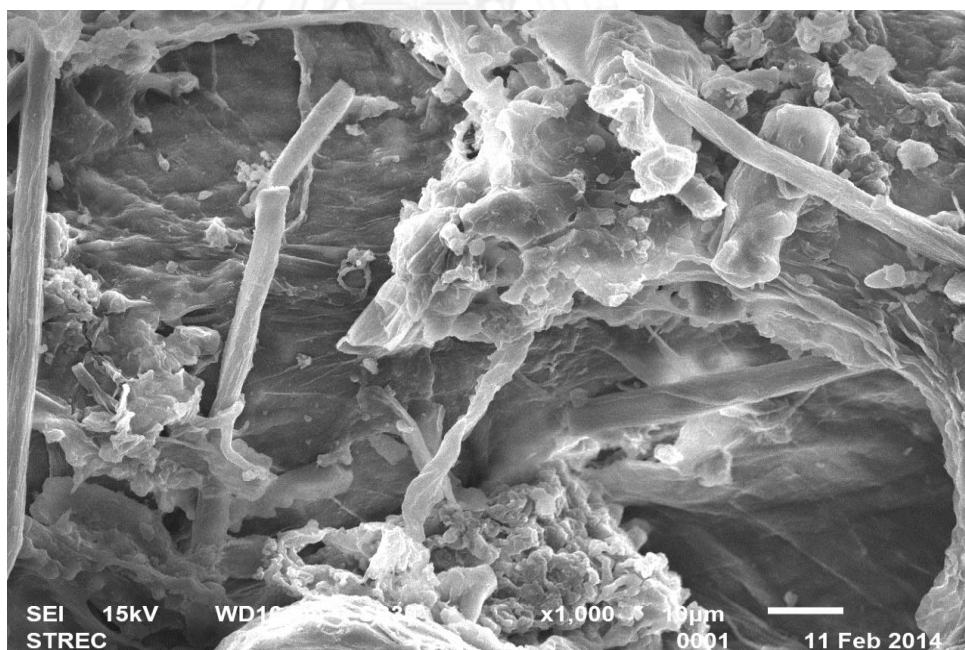


รูปที่ จ-22 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 180 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)

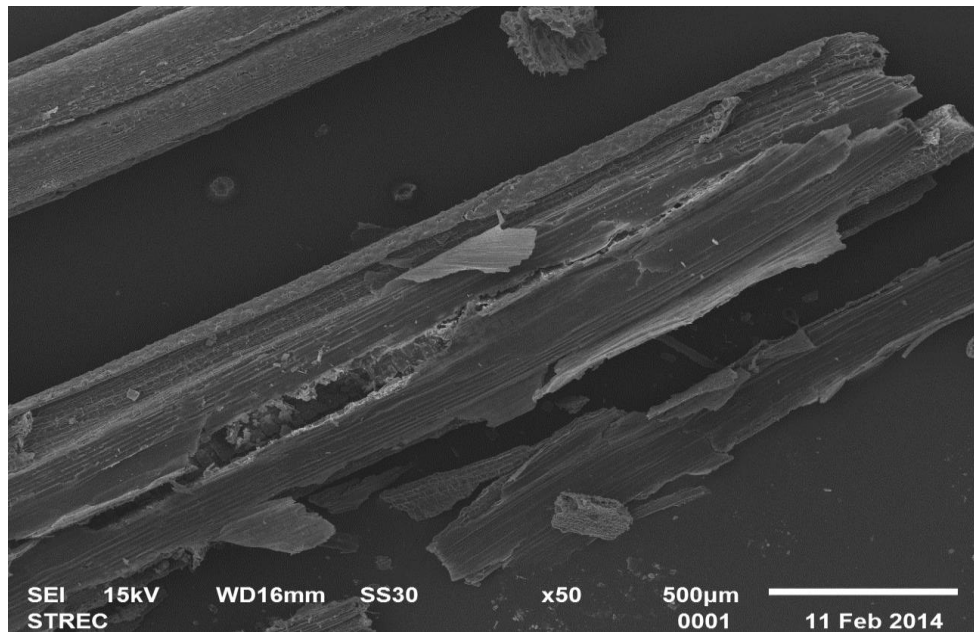




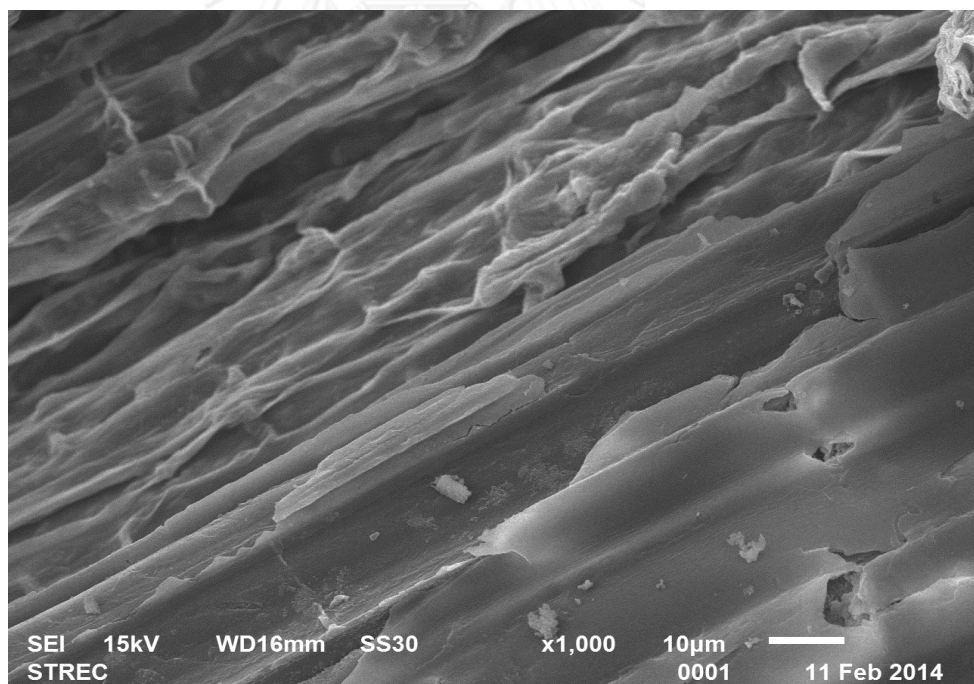
รูปที่ จ-23 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 200 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



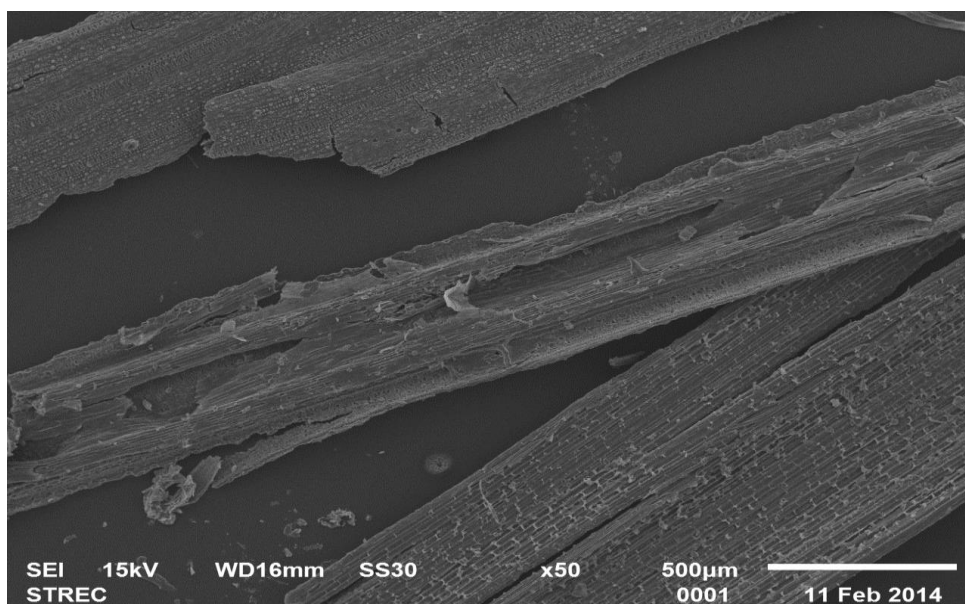
รูปที่ จ-24 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 200 องศาเซลเซียสในเครื่องปฏิกรณ์แบบแบตช์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)



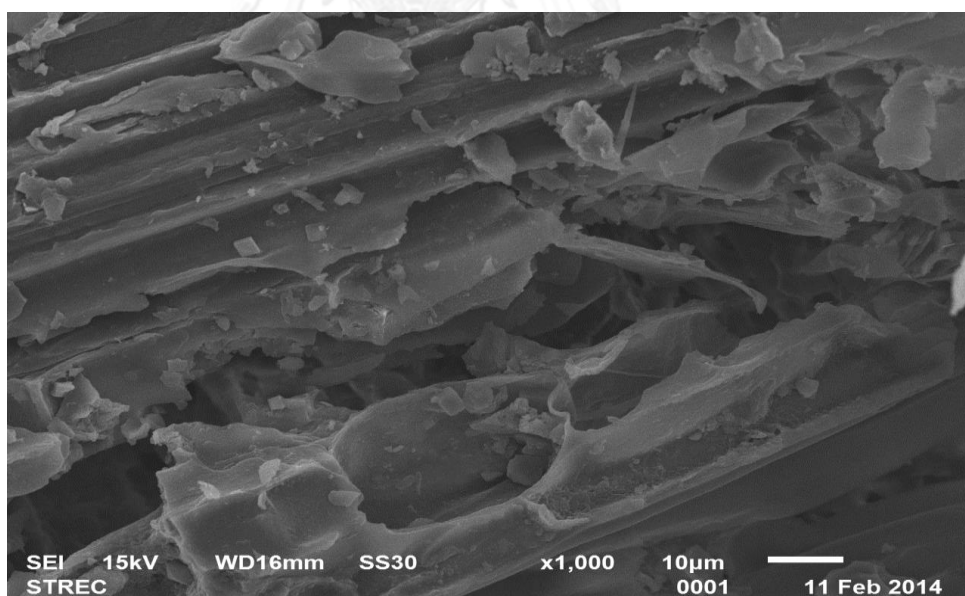
รูปที่ จ-25 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์  
(กำลังขยาย 50 เท่า)



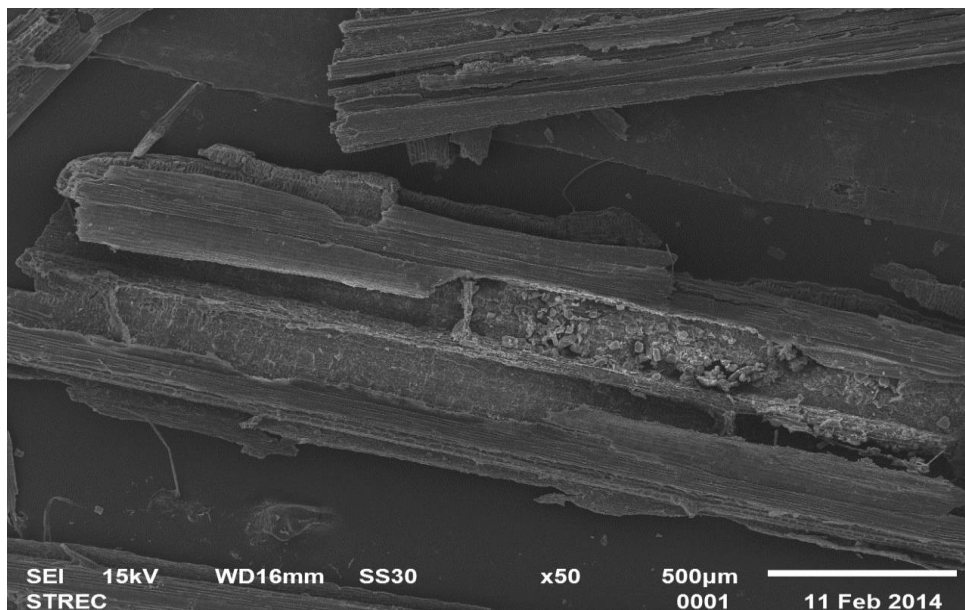
รูปที่ จ-26 พื้นผิวของชีวมวลผสมที่ไม่ผ่านการปรับสภาพภายหลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์  
(กำลังขยาย 1000 เท่า)



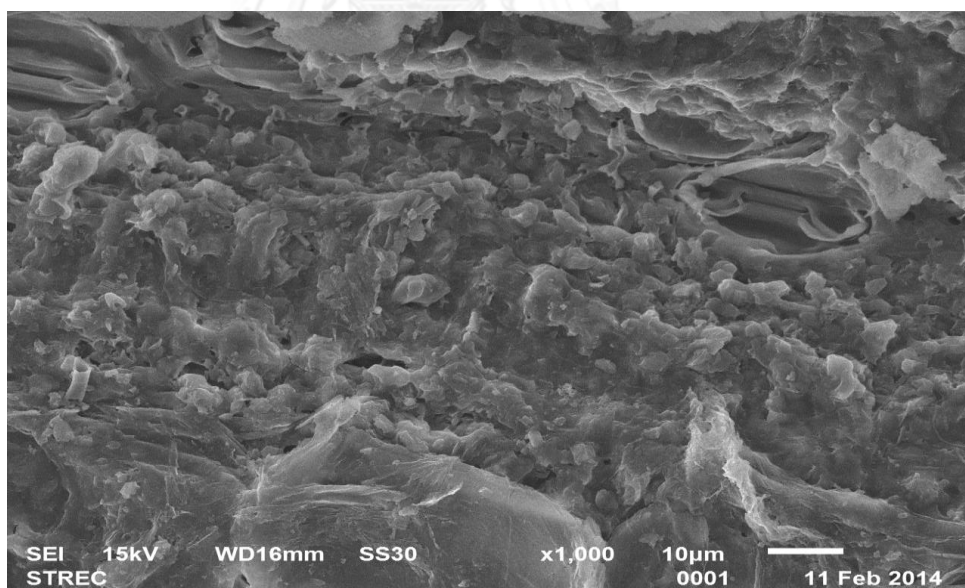
รูปที่ จ-27 พื้นผิวของซีมวอลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



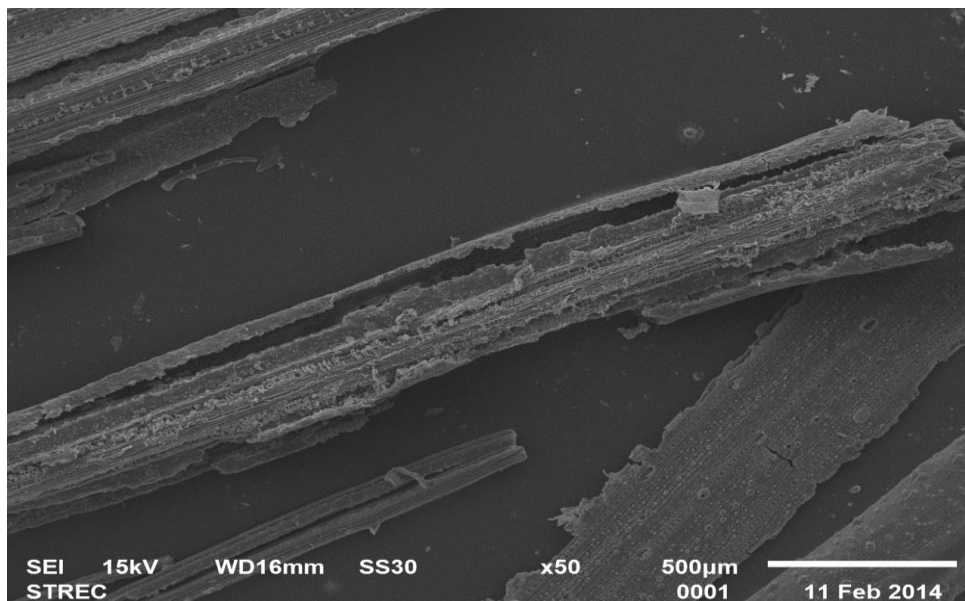
รูปที่ จ-28 พื้นผิวของซีมวอลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)



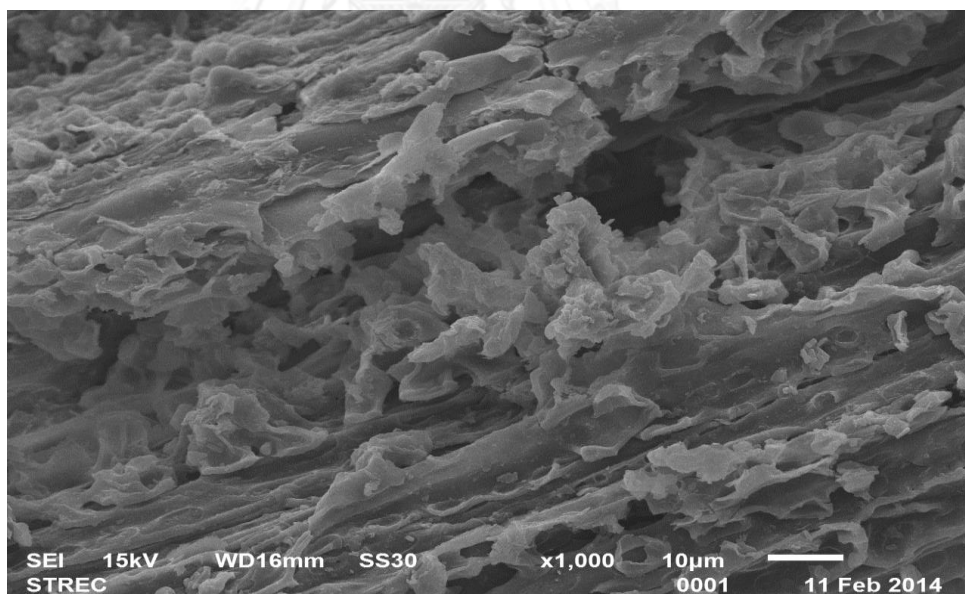
รูปที่ จ-29 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



รูปที่ จ-30 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 120 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 5 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)



รูปที่ จ-31 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 50 เท่า)



รูปที่ จ-32 พื้นผิวของชีวมวลผสมผ่านการปรับสภาพที่ 140 องศาเซลเซียส ความถี่ของกระแสไฟฟ้าที่ป้อนให้มอเตอร์ของปั๊ม 10 เฮิร์ต ในเครื่องปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง และย่อยต่อด้วยเอนไซม์ (กำลังขยาย 1000 เท่า)

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายปุณณวิทย์ หาญไพบุลย์ เกิดวันที่ 30 สิงหาคม พ.ศ.2532 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2554 และได้เข้าร่วมเสนอผลงานวิชาการ ระดับชาติ “PETROMAT PPC Symposium 2014”



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY