การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากซางข้าวฟ่างหวานโดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

Reducing Sugar Production from Sweet Sorghum Bagasse by Acid Hydrolysis

นันทิกา คล้ายชม[1] จรัญ ฉัตรมานพ[1,2] และเพ็ญจิตร ศรีนพคุณ[1,2]

Nuntika Klaichom[1], Jarun Chutmanop[1,2] and Penjit Srinophakun[1,2]

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้สนใจศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากซางข้าวฟ่างหวานโดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ 2 4 6 และ 8% (w/v) อุณหภูมิที่ 30 60 และ 90° C และเวลา 1-3 ชั่วโมง อีกทั้งหาองค์ประกอบของซางข้าวฟ่างหวาน ผลการทดลองพบว่า องค์ประกอบหลักของซางข้าวฟ่างหวานคือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 13.44% เซลลูโลส 32.5% เฮมิเซลลูโลส 15.5% และลิกนิน 5% สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสคือ ที่ความเข้มข้นกรดซัลฟูริก 4% (w/v) อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 19.67 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : ข้าวฟ่างหวาน น้ำตาลรีดิวซ์ ไฮโดรไลซิส

ABSTRACT

In the present study focused on reducing sugar production by acid hydrolysis of sweet sorghum bagasse, a renewable and cheap bioresource. Sweet Sorghum bagasse was hydrolyzed by using sulfuric acid at different concentrations (2, 4, 6 or 8%), temperature (30, 60 or 90°C) and time (1,2 or 3 hours). Samples were taken to analyzed reducing sugar by DNS method. The results showed that the composition of sweet sorghum bagasse consists of 32.5% of cellulose, 15.5% of hemicelluloses and 5% of lignin. The optimal conditions of acid hydrolysis was 4% H_2SO_4 (w/v) at 90°C for 1 hour, which yielded a concentration of reducing sugar at 19.67%.

Keywords : Sweet Sorghum, Reducing Sugar, Hydrolysis

E-maill : g5065856@ku.ac.th

[1] ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

Department of Chemical Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2] ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมีและวัสดุขั้นสูง กรุงเทพฯ 10330

Center of Excellence for Petroleum, Petrochemicals and Advanced Materials, Bangkok 10330

คำนำ

เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของพลังงานทดแทน โดยเฉพาะเอทานอล ซึ่งได้จากกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพหรือการหมักโดยใช้น้ำตาลเป็นวัตถุดิบ และการได้มาซึ่งน้ำตาลนั้นอาจได้จากกระบวนการย่อยสลายโครงสร้างของวัสดุทางการเกษตรที่เรียกว่า กระบวนการไฮโดรไลซิส หรือหมักกับจุลินทรีย์ เนื่องจากพืชมีผนังเซลล์ที่มีชั้นของเซลลูโลส (Cellulose) เป็นโครงหลัก ซึ่งเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสจำนวนมาก เมื่อไรก็ตามที่โมเลกุลของกลูโคสแยกออกมา สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักได้เป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นกลูโคสจำนวนมหาศาลในเซลลูโลสจึงเปรียบเสมือนขุมทรัพย์จากธรรมชาติ สามารถนำไปสู่การผลิตเอทานอลหรือ ที่เรียกกันว่า “เซลลูโลซิก เอทานอล” และน่าจะเป็นเชื้อเพลิงที่สำคัญในปัจจุบันและอนาคต (สุพัฒน์ อรรถธรรม, 2549)

ผลิตผลทางการเกษตรที่ถูกนำมาใช้ที่สำคัญ ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล ชูการ์บีช และข้าวโพด เป็นต้น แต่เนื่องจากข้อจำกัดหลายประการ เช่น อายุการเก็บเกี่ยว ปริมาณการใช้น้ำและค่าใช้จ่ายในการเพาะปลูก จึงทำให้นักวิจัยหันมาให้ความสนใจกับพืชชนิดใหม่ ที่อาจมีศักยภาพสูงในการใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมผลิตเอทานอล คือ ข้าวฟ่างหวาน (Sweet Sorghum หรือ Sorgo) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* (Linn) Moench เป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้ผลิตเอทานอล น้ำเชื่อม และอาหารสัตว์ จัดเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นจึงปลูกได้ปีละหลายครั้ง มีปริมาณน้ำตาลในลำต้นใกล้เคียงกับอ้อยจัดเป็นพืชที่มีคุณสมบัติทนแล้งได้ดี และให้ผลผลิตชีวมวลสูง (ประสิทธิ์ ใจศิล, 2549)

การไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) คือ การลดจำนวนกลูโคส หรือโมโนแซ็กคาไรด์ที่เรียงต่อกันในโมเลกุลให้สั้นลง โดยการไฮโดรไลซิสนั้นสามารถทำได้ 2 วิธี โดยวิธีแรกคือ การย่อยด้วยสารเคมี สามารถแบ่งได้เป็นวิธีการย่อยด้วยกรด (Acid hydrolysis) และการย่อยด้วยด่าง (Alkaline hydrolysis) วิธีที่สองคือ การย่อยด้วยเอนไซม์ (ดุษฎี อุตภาพ, 2550) แต่ในโครงงานวิจัยนี้เลือกใช้กรดมาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยานั้นสั้น ราคาของสารเคมีถูกกว่า และวัสดุหมักไม่ต้องผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบเมื่อเปรียบเทียบกับการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ดังตารางเปรียบเทียบผลดีและผลเสียในการย่อยด้วยเอนไซม์ กับการย่อยด้วยกรด และด่าง (กรมพลังงานทหาร, 2548)

ผลดี	ผลเสีย
ก. สภาวะที่ใช้ทั้งอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างไม่รุนแรง ข. ปฏิกิริยามีความเฉพาะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูง ค. ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่น ง. สามารถทำการหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปพร้อมกับการย่อยได้ จ. ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน	ก. วัตถุดิบต้องได้รับการปรับสภาพก่อน ข. ผลิตภัณฑ์ที่ได้ สามารถเป็นตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ (product inhibition) ค. สูญเสียเอนไซม์ไป เนื่องจากถูกดูดซับ (adsorbed) บนวัสดุที่ไม่ย่อย ง. เสี่ยงต่อการปนเปื้อน (contamination) ของเชื้อจุลินทรีย์ จ. ถ้าระบบมีสารที่เป็นตัวขัดขวางปฏิกิริยา เช่น เฮมิเซลลูโลส หรือลิกนิน อัตราปฏิกิริยาจะช้าลง

ส่วนการย่อยด้วยด่างนั้นจากงานวิจัยของ Dawson และคณะ ในปี ค.ศ. 2006 ที่ทำการเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ได้จากการย่อยโดยใช้กรดและด่าง แล้วนำไปหมักกับยีสต์ต่อ พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยกรดมีปริมาณสูงกว่าด่าง คือ 335.67 และ 130.5 mg/l ตามลำดับ อีกทั้งส่วนมากยังมีการใช้ด่างเป็นสารเคมีในการปรับสภาพวัตถุดิบมากกว่า

ดังนั้นโครงงานนี้จึงเป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากซางข้าวฟ่างหวาน เพื่อนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ไปผลิตเป็นเอทานอลต่อไป โดยนำซางข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการหีบเอาน้ำหวานในลำต้นออกมาผ่านกระบวนการเปลี่ยนแป้ง หรือเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ในซางข้าวฟ่างหวานให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมวัสดุหมัก

นำซางข้าวฟ่างหวานมาหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ จากนั้นทำการปั่นบดให้มีขนาดเล็กลง แล้วผ่านเครื่องคัดแยกขนาด 20 mesh

2. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย

เพื่อหาปริมาณองค์ประกอบในซางข้าวฟ่างหวาน อาทิเช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และอื่นๆ ตามวิธีของ Goering และ Van Soest (1970) ทำได้ดังนี้

เฮมิเซลลูโลส = % NDF - % ADF

เซลลูโลส = % ADF - % ADL

ลิกนิน = % ADL - ash

การหาค่า Neutral Detergent Fiber (NDF)

เป็นขั้นตอนการกำจัดสารต่างๆ เช่น Soluble Carbohydrates (รวมทั้ง Pectins), Proteins (ส่วนใหญ่), Lipids และ soluble mineral substances ออก ดังนั้นกาก (Residues) ที่ได้ประกอบด้วย ส่วนที่เป็นเส้นใยของเซลล์พืช hemicelluloses, cellulose, lignin, cutin, insoluble mineral substances และโปรตีนบางอย่างของผนังเซลล์

การหาค่า Acid Detergent Fiber (ADF)

ใช้สารละลายกรดเพื่อละลายสารต่างๆ เช่น soluble carbohydrates, proteins, lipids, hemicellulose และ soluble mineral substances ออก กากที่เหลือประกอบด้วย cellulose, lignin, cutin และ mineral substances ที่ไม่ละลายในกรด สารเหล่านี้เรียกรวมกันว่า Acid Detergent Fiber (ADF) ซึ่ง ADF ต่างจาก NDF ตรงที่ ส่วนที่เหลือของ ADF ไม่มี hemicelluloses

การหาค่า Acid Detergent Lignin (ADL)

หลักการของวิธีนี้ คือ การละลาย Cellulose ในสารละลาย Sulfuric acid ความเข้มข้น 72% กากที่เหลือเป็น “Raw Lignin” ซึ่งมี cutin อยู่ด้วย

ค่า Silica และเถ้าที่ไม่ละลาย (ash)

เป็นขั้นตอนการกำจัดเซลลูโลสออก โดยนำกากไปเผาที่ 550°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. **ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)**

ทำการทดลองได้โดยนำซางข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการอบที่ 65 °C เป็นเวลา 3 วัน และนำไปบดให้ได้ขนาดของอนุภาค 20 mesh ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส โดยตัวแปรที่ทำการศึกษาคือ ระดับความเข้มข้นของสารเคมีคือ กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ที่ 2 4 6 และ 8% (w/v), อุณหภูมิที่ 30 60 และ 90 °C และเวลา 1-3 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1 กรัม ซางข้าวฟ่างหวาน ต่อ 20 มิลลิลิตรของสารละลายกรด จากนั้นเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร (1/10 v/v) แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 นำส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อไป

4. **น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar)**

ทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยวิธี 3,5-dinitro salicylic acid (DNS method) (Miller, 1959) โดยนำสารละลายส่วนใสที่ได้ปริมาณ 1 ml และสารละลาย DNS 1 ml เติมลงในหลอดทดลอง จากนั้นปิดฝา แล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการแช่หลอดทดลองในน้ำเย็นทันที รอจนหลอดทดลองเย็น แล้วทำการเติมน้ำกลั่นปริมาณ 10 ml ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm ค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Neureiter, 2002)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย**

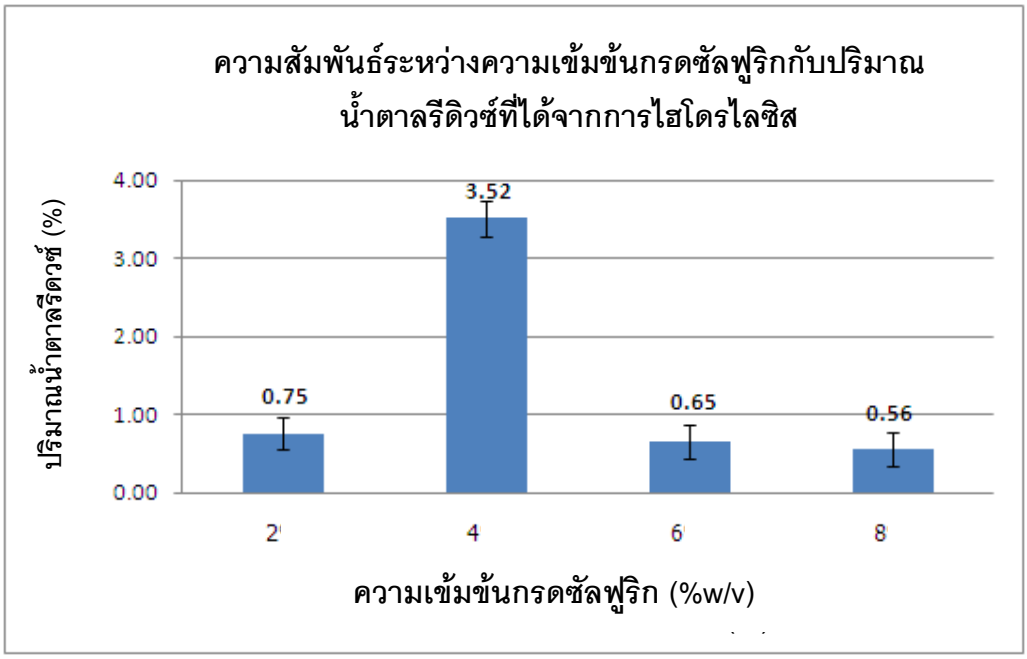
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของซางข้าวฟ่างหวาน แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของซางข้าวฟ่างหวาน

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
เซลลูโลส	32.5
เฮมิเซลลูโลส	15.5
ลิกนิน	5
เถ้า	2
น้ำตาลรีดิวซ์	13.44
ความชื้น	17.55
อื่นๆ	14.01

2. สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส

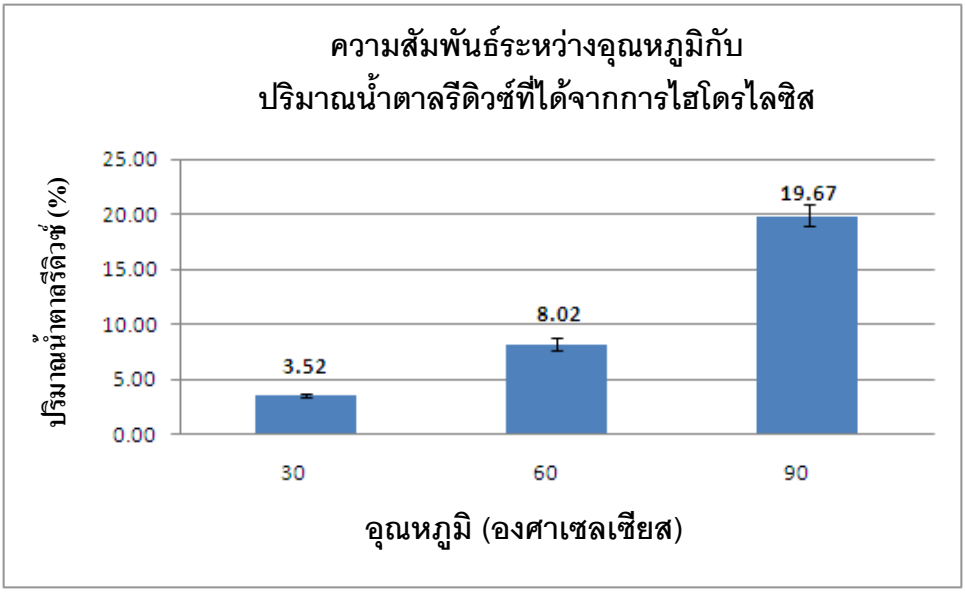
2.1 ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสซางข้าวฟ่างหวานด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2 4 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

จากภาพที่ 1 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเพิ่มขึ้นจาก 2% เป็น 4% w/v ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น แต่ที่ระดับความเข้มข้น 6% และ 8% w/v ของกรดซัลฟูริก ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง อาจเนื่องมาจากปริมาณความเข้มข้นของกรดที่มากเกินไปจะไปทำลายโครงสร้างของน้ำตาลรีดิวซ์ โดยดึงโมเลกุลของไฮโดรเจน และออกซิเจนออกจากโมเลกุลของน้ำตาลเกิดเป็นสารประกอบที่เป็นพิษ หรือ เฟอร์ฟิวรอล (ดุษฎี อุตภาพ, 2550) จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ในขณะเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของกรดต่ำๆ พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อย ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณกรดที่น้อยเกินไป ทำให้การย่อยด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสลดต่ำลง ดังนั้น ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริก คือ 4% w/v

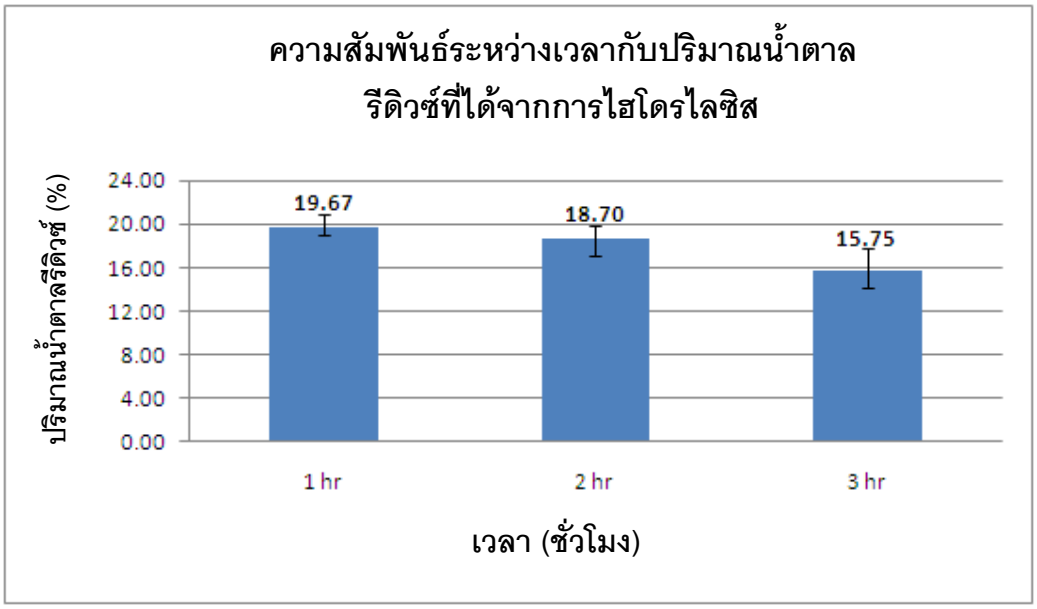
2.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสซางข้าวฟ่างหวานด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30, 60 และ 90 องศาเซลเซียส

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ที่อุณหภูมิ 90° C ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดคือ 19.67 เปอร์เซ็นต์ และคาดว่าถ้าอุณหภูมิสูงขึ้น ยิ่งมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย

2.3 เวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิส



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 2 และ 3 ชั่วโมง

เมื่อเวลาในการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง โดยเวลาที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสคือ 1 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 19.67 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเวลา 1 ชั่วโมงเพียงพอแล้วต่อการไฮโดรไลซิส

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

องค์ประกอบหลักของซางข้าวฟ่างหวาน ประกอบด้วย เซลลูโลส 32.5% เฮมิเซลลูโลส 15.5% และลิกนิน 5% และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟูริก คือ ที่ระดับความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 4% (w/v) เวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 19.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ดังนั้นการนำซางข้าวฟ่างหวานมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลนั้น จึงมีความเป็นไปได้สูง เนื่องจากมีวัตถุดิบมากพอที่จะป้อนเข้าโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากอายุการเก็บเกี่ยว 3-4 ครั้งต่อปี และต้องการน้ำน้อย เป็นต้น จึงถือได้ว่าซางข้าวฟ่างหวานเหมาะสมที่จะเป็นแหล่งของพลังงานทดแทนเมื่อเปรียบเทียบกับกากน้ำตาลที่มีราคาสูง มันสำปะหลังและชานอ้อยที่เป็นทั้งแหล่งอาหารของมนุษย์ และสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านปิโตรเลียม ปิโตรเคมีและวัสดุขั้นสูง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

กรมการพลังงานทหาร, ฉัตรชัย ไกรสรพงษ์, ศุภกานต์ วงศ์พานิช. 2548. การผลิตเอทานอลจากของเสียการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร. แหล่งที่มา : http://www.mod.go.th/opsd/dedweb/energy/home.htm, 27 สิงหาคม 2550.

ดุษฎี อุตภาพ. 2550. Carbohydrate Technology. Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut' s University of Technology.

ประสิทธิ์ ใจศิล. 2549. เอกสารคำแนะนำ เรื่องข้าวฟ่างหวานพันธุ์ มข. 40 เพื่อผลิตเอทานอล. ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุพัฒน์ อรรถธรรม. 2549. เชื้อเพลิงชีวภาพและพันธุวิศวกรรม. ศูนย์ข้อมูลเทคโนโลยีชีวภาพและความปลอดภัยทางชีวภาพ, ปีที่ 5 ฉบับที่ 16 สิงหาคม 2549.

Dawson L. and Boopathy R. 2006. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. Bioresource Technology. 98:1695-1699.

Goering, H.K. and Van Soest P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagent, Producers and Some Applications). *Agriculture Handbook No.379.* United States Department of Agriculture. Washington, D.C. 20402, U.S.A. 20 p.

Miller, G., 1959. Use of dinitrisalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry 31, 426-429.

Neureiter, M., Danner, H., Thomasser, C., Saidi, B., Braun, R., 2002. Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying condition. Applied Biochemistry and Biotechnology 98/100 (1/3), 49-58.