

การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและไมโครเวฟร่วมกับด่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ
การทำงานของเอนไซม์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและอาหาร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2559

**ALKALI AND MICROWAVE-ASSISTED ALKALI
PRETREATMENTS OF RICE STRAW FOR
ENHANCING THE EFFICIENCY OF
ENZYMATIC HYDROLYSIS**



Natthaporn Chatchavanthatri

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Engineering in Agricultural and Food Engineering**


Suranaree University of Technology

Academic Year 2016

การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและไมโครเวฟร่วมกับด่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการ
ทำงานของเอนไซม์


มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นักวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์




(ผศ. ดร. พงษ์ศักดิ์ จุลยุเสนา)

ประธานกรรมการ



(อ. ดร. ชีราพร จุลยุเสนา)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)



(ผศ. ดร. สุภกิตติ สายสุนทร)

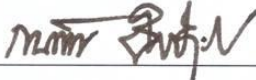
กรรมการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



(ศ. ดร. ชุกิจ ลิ้มปิงานงค์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและนวัตกรรม



(รศ. ร.อ. ดร. กนต์ธร ชำนิประศาสน์)

คณบดีสำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

ณัฐพร ชัชวาลชาติตรี : การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและไมโครเวฟร่วมกับด่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ (ALKALI AND MICROWAVE-ASSISTED ALKALI PRETREATMENTS OF RICE STRAW FOR ENHANCING THE EFFICIENCY OF ENZYMATIC HYDROLYSIS) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.ธีราพร จุลยุเสณ, 125 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างโดยใช้วิธีการพ่นผิวผลตอบที่มีการออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบห์นเคน สร้างแบบจำลองสำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส และศึกษาผลของการปรับสภาพต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของฟางข้าว ตัวอย่างควบคุมคือฟางข้าวไม่ผ่านการปรับสภาพซึ่งมีปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h เท่ากับ 34% และ 42% ตามลำดับ ฟางข้าวถูกนำมาปรับสภาพด้วย 1 - 5% NaOH ที่ 30 - 70°C เป็นเวลา 1 - 3 h พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพฟางข้าว คือ 1.5% NaOH ที่ 55°C เป็นเวลา 3 h โดยระยะเวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์อยู่ที่ 48 h ทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 83% นอกจากนี้การยืนยันผลแบบจำลองมีค่าความคลาดเคลื่อนของการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอยู่ระหว่าง 0.04 - 3.73% แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองสามารถนำมาใช้ทำนายการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากฟางข้าวที่ถูกรับสภาพได้ สภาวะในการปรับสภาพด้วยด่างที่รุนแรงมากขึ้นทำให้โครงสร้างของฟางข้าวมีลักษณะเป็นรูพรุน ความเป็นผลึกและอัดแน่น ปริมาตรรูพรุนทั้งหมด พื้นที่ผิวจำเพาะ และความเสถียรต่อความร้อนเพิ่มมากขึ้น โดยปริมาตรรูพรุนทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส การปรับสภาพฟางข้าวโดยใช้ไมโครเวฟร่วมกับด่าง พบว่าฟางข้าวที่ถูกรับสภาพด้วย 1 และ 3% NaOH ที่กำลังไฟ 800 W เป็นเวลา 10 min สามารถเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงถึง 89% จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและไมโครเวฟร่วมกับด่างเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ซึ่งทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น

สาขาวิชา วิศวกรรมเกษตร

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อนักศึกษา



ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา



NATTTHAPORN CHATCHAVANTHATRI : ALKALI AND
MICROWAVE-ASSISTED ALKALI PRETREATMENTS OF RICE
STRAW FOR ENHANCING THE EFFICIENCY OF ENZYMATIC
HYDROLYSIS. THESIS ADVISOR : TIRAPORN JUNYUSEN, Ph.D.,
125 PP.

RICE STRAW//ALKALI PRETREATMENT/MICROWAVE-ASSISTED ALKALI
PRETREATMENT/GLUCAN CONVERSION

The objectives of this study were to optimize the alkali pretreatment condition of rice straw using Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken design, to develop the mathematical model for prediction of glucan conversion and to study the effects of pretreatment on physicochemical properties of rice straw. The glucan conversion yields of enzymatic hydrolysis for 24 and 48 h of native rice straw (control) were 34% and 42%, respectively. Rice straw was pretreated with 1 – 5% NaOH at 30 – 70°C for 1 – 3 h. The results showed that alkali pretreatment of rice straw was achieved using the condition of 1.5% NaOH at 55°C for 3 h. The desirable glucan conversion yield was 83% by enzymatic hydrolysis for 48 h. The validation of models indicated the error of glucan conversion yields between experimental and model ranging from 0.04 – 3.73%. Thus, it suggests that the developed model can be used to predict glucan conversion yield in pretreated rice straw. More severe of alkali treatment resulted in increasing porosity, crystalline and amorphous regions, total pore volume, specific surface area and heating stability of pretreated rice straw. The total pore volume presented the positive correlation with the glucan conversion yield.

Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw with 1% and 3% NaOH at 800 W for 10 min resulted 89% glucan conversion. Therefore, these results indicate that alkali and microwave-assisted alkali pretreatment improve the efficiency of enzymatic hydrolysis due to increasing the glucan conversion yield.



School of Agricultural Engineering

Academic Year 2016

Student's Signature

A. Vithayakul

Advisor's Signature

D. T.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคล และกลุ่มบุคคลต่อไปนี้ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัย

อาจารย์ ดร.ชราพร จุลยุเสน อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่เมตตาให้โอกาสทางการศึกษา ให้การอบรม สั่งสอน ให้ความรู้ ชี้แนะ ช่วยเหลือในการทำการศึกษาวิจัยทุกสิ่งทุกอย่างและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด รวมทั้งให้คำแนะนำในการเขียนและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พวงศักดิ์ จุลยุเสน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทวรัตน์ ตรีอำนรรค อาจารย์ ดร.พรรษา ลิบลับ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภกิตติ สายสุนทร กรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านวิชาการอันเป็นประโยชน์

คณาจารย์สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีทุกท่าน ที่กรุณาที่ให้คำปรึกษาและแนะนำการทำวิจัย รวมถึงคุณกรรมธิการ ประเสริฐสังข์ที่ให้คำปรึกษาและช่วยอำนวยความสะดวกในด้านเอกสารตลอดการวิจัยนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่บุคลากรประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณเพื่อนพี่น้องบัณฑิตทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจมาโดยตลอด

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับครอบครัวและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนคณาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา จนทำให้ประสบความสำเร็จในชีวิต

ณัฐพร ชัชวาลชาติตรี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
2 ปรัชญาวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ศักยภาพชีวมวลประเทศไทย.....	4
2.2 วัสดุลิกโนเซลลูโลส.....	5
2.2.1 เซลลูโลส.....	6
2.2.2 เฮมิเซลลูโลส.....	7
2.2.3 ลิกนิน.....	7
2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	8
2.4 การปรับสภาพวัตถุดิบ.....	9
2.4.1 การปรับสภาพทางกายภาพ.....	10
2.4.2 การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี.....	10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.3	การปรับสภาพทางเคมี.....	10
2.4.4	การปรับสภาพทางชีวภาพ	10
2.5	การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่าง	12
2.6	เอนไซม์.....	15
2.6.1	หน้าที่ของเอนไซม์	15
2.6.2	การทำงานของเอนไซม์	15
2.6.3	ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์	16
2.6.4	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์	17
2.7	การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง	17
2.7.1	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	18
2.7.2	ไมโครเวฟ	18
2.8	การออกแบบพื้นที่ผิวผลตอบสนอง.....	21
2.8.1	วิธีการพื้นที่ผิวผลตอบสนอง.....	21
2.8.2	การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน.....	23
3	วิธีการดำเนินการวิจัย	25
3.1	การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง.....	25
3.1.1	การเตรียมฟางข้าว.....	25
3.1.2	การปรับสภาพ	26
3.1.3	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี.....	27
3.1.4	การย่อยสลายฟางข้าวด้วยเอนไซม์	29
3.1.5	การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส	30
3.1.6	การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ	30
3.1.7	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ	36
3.2	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง.....	41

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	42
4	ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ผล.....	46
4.1	การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง.....	46
4.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว.....	46
4.1.2	การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	48
4.1.3	ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส.....	64
4.1.4	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง.....	83
4.1.5	การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ.....	86
4.2	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	98
4.2.1	ส่วนประกอบทางเคมีของฟางข้าวจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	98
4.2.2	ผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	99
4.2.3	โครงสร้างระดับจุลภาคของฟางข้าว.....	101
5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	103
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	103
5.1.1	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง.....	103
5.1.2	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	104
5.2	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง.....	105
	รายการอ้างอิง.....	106
	ภาคผนวก	
	ภาคผนวก ก. ผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ.....	112
	ภาคผนวก ข. ตัวอย่างการคำนวณ.....	120
	ภาคผนวก ค. บทความที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่.....	123
	ประวัติผู้เขียน.....	125

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด..... 5
2.2	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรแสดงค่าเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง 5
2.3	จุดเด่นและจุดด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสที่แตกต่างกัน..... 10
2.4	ผลกระทบของกระบวนการปรับสภาพต่อองค์ประกอบทางเคมีและ โครงสร้างของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 12
2.5	การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ 24
3.1	ระดับของปัจจัยโดยการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken 31
3.2	สภาวะการปรับสภาพต่างๆ จากการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken 32
3.3	แบบการดูดกลืนแสง FTIR ในการศึกษาชีวมวล 39
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (%dry weight)..... 46
4.2	ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วย ต่าง..... 47
4.3	การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผิวดูดซับสนองของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก 50
4.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก 51
4.5	การยืนยันแบบจำลองเปรียบเทียบปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก..... 53
4.6	การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผิวดูดซับสนองของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก 55
4.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก 57
4.8	การยืนยันแบบจำลองเปรียบเทียบปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก 58
4.9	การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผิวดูดซับสนองของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก 60
4.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก 62
4.11	การยืนยันแบบจำลองเปรียบเทียบปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก..... 63
4.12	ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวก่อนการปรับสภาพด้วยต่าง 64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.13 ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วย ต่าง.....	64
4.14 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผิวผลตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็น น้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h.....	68
4.15 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นที่ผิวผลตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็น น้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h.....	69
4.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ที่ 24 h.....	71
4.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ที่ 48 h.....	72
4.18 การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h.....	75
4.19 ค่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h.....	76
4.20 การยืนยันแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยต่างต่อปริมาณการ เปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h.....	82
4.21 ปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและพื้นที่ผิวจำเพาะของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ	88
4.22 ค่าดัชนีความเข้มของผลึกของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ.....	93
4.23 ข้อมูลความเสถียรของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ	97
4.24 ปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับต่าง เป็นเวลา 10 min.....	98

สารบัญรูป

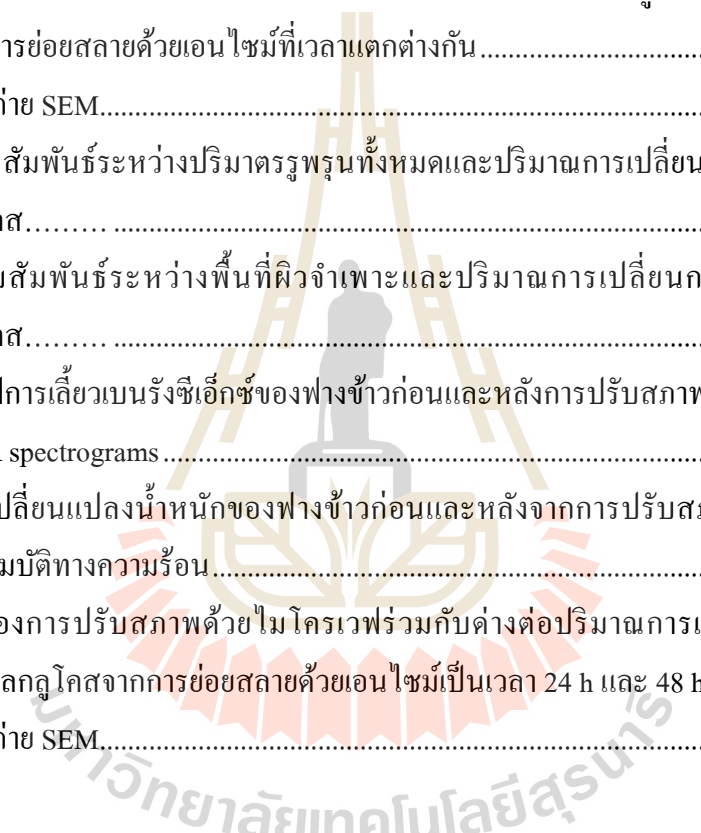
รูปที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส	6
2.2	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส	6
2.3	โครงสร้างโมเลกุลของไซแลน	7
2.4	สูตรโครงสร้างของลิกนิน	8
2.5	การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ	9
2.6	การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยด่าง	13
2.7	กลไกการทำปฏิกิริยาคิวบิกไฮดรอลิซิสในการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส	14
2.8	กลไกการทำงานของเอนไซม์แบบแยกสาร	16
2.9	ความยาวคลื่นต่างๆ	19
2.10	การทำงานของไมโครเวฟ	19
2.11	ภาพ 3 มิติของพื้นผิวผลตอบสนอง	23
2.12	การออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ	24
3.1	เครื่องมือที่ใช้สำหรับขั้นตอนการเตรียมฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ	25
3.2	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง	26
3.3	การกรองตัวอย่างด้วย gooch crucible	26
3.4	เครื่องมือและอุปกรณ์ในขั้นตอนการหาองค์ประกอบทางเคมี	28
3.5	การสกัดฟางข้าวอย่างต่อเนื่องด้วยน้ำและเอทานอล	28
3.6	การบ่มตัวอย่างด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า	29
3.7	การวิเคราะห์หาไอออนโดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี	30
3.8	ตัวอย่างกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง	33
3.9	ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างกับลำดับของข้อมูล	34
3.10	ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างในแต่ละระดับปัจจัย	34
3.11	กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด	37

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.12	เครื่องวิเคราะห์พื้นผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน..... 37
3.13	เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ 38
3.14	เครื่องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงของสาร ในช่วงอินฟราเรด รุ่น Tensor 27/Hyp2000..... 39
3.15	เครื่องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสาร โดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน 41
3.16	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง 44
3.17	เครื่องย่อยด้วยไมโครเวฟ Anton Paar..... 45
3.18	การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง 45
4.1	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก 49
4.2	กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก 52
4.3	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก..... 54
4.4	กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก 56
4.5	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก..... 59
4.6	กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก 61
4.7	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h 66
4.8	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h 67
4.9	กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส..... 73
4.10	พื้นผิวผลตอบสนองและกราฟโครงร่างปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h 78
4.11	พื้นผิวผลตอบสนองและกราฟโครงร่างปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h 79
4.12	การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h 80

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.13	การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h	81
4.14	ผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่เวลาแตกต่างกัน	85
4.15	ภาพถ่าย SEM.....	86
4.16	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส.....	90
4.17	ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ผิวจำเพาะและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส.....	91
4.18	กราฟการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของฟางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพด้วยต่าง	92
4.19	FTIR spectrograms	94
4.20	การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่างโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน	96
4.21	ผลของการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับต่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h	99
4.22	ภาพถ่าย SEM.....	101



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในแต่ละปีประเทศไทยมีฟางข้าวซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเฉลี่ยสูงถึงประมาณปีละ 25.45 ล้านตัน (ข้อมูลจากสำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน ปี 2555) โดยส่วนใหญ่หลังจากกระบวนการเก็บเกี่ยวข้าว เกษตรกรมักจะนำฟางข้าวไปใช้ประโยชน์เป็นปุ๋ย อาหารสัตว์ หรืออาจทำลายด้วยการเผาทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ แต่หากสามารถนำฟางข้าวมาเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) นอกจากจะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับฟางข้าวแล้วยังช่วยลดปัญหามลพิษให้กับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ฟางข้าวจัดเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและแข็งแรงประกอบด้วย 3 องค์ประกอบหลักคือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) โดยทั่วไปการนำวัสดุลิกโนเซลลูโลสมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ไบโเอทานอล (bioethanol) ก๊าซชีวภาพ (biogas) และพลาสติกชีวภาพ (bioplastic) เป็นต้น จำเป็นจะต้องผ่านขั้นตอนการปรับสภาพวัตถุดิบ (pretreatment) เสียก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis) เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส สำหรับการปรับสภาพวัตถุดิบนั้นมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงและช่วยกำจัดลิกนินที่ห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากลิกนินเป็นตัวหลักในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งการปรับสภาพวัตถุดิบทางเคมีโดยใช้ด่างนั้นเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้พลังงานมาก อีกทั้งยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส และช่วยเพิ่มความเป็นรูพรุนให้กับผิวของวัตถุดิบมีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Mosier et al., 2005) อย่างไรก็ตามการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยด่างในสถานะที่มีความรุนแรงต่ำอาจจะช่วยกำจัดลิกนินได้เพียงบางส่วนหรือในสถานะที่มีความรุนแรงสูงเกินไปอาจไปทำลายเซลลูโลสบางส่วนทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสในปริมาณต่ำกว่าที่ควร หากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดลิกนินออกและลดการทำลายเซลลูโลสลงโดยการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยด่างที่มีความเข้มข้นต่ำและระยะเวลาสั้น จึงควรเลือกใช้วิธีการให้ความร้อนที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น การใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุดิบได้อย่างรวดเร็วและทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสเปิดมาก

ขึ้น ส่งผลทำให้ลิกนินที่แทรกตัวอยู่ในโครงสร้างระหว่างสายเซลลูโลสถูกแยกออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การใช้คลื่นไมโครเวฟยังช่วยลดระยะเวลาของการปรับสภาพส่งผลทำให้ลดการทำลายเซลลูโลสลงได้อีกด้วย (Zhu et al., 2006; Hu and Wen, 2008) ดังนั้นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพวัตถุดิบจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสมากขึ้น

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนองที่มีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน นำแบบจำลองไปสร้างสมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส และศึกษาผลของการปรับสภาพต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของฟางข้าว รวมถึงทำการเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง สำหรับเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแหล่งพลังงานทดแทนต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ในส่วนของวัตถุประสงค์ของงานวิจัย มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.2.1 เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง

1.2.2 เพื่อสร้างสมการทางคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %)

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยด่างและไมโครเวฟร่วมกับด่างต่อการเปลี่ยนปริมาณกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสและสมบัติทางเคมีกายภาพของฟางข้าว

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างจะใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken)

1.3.2 งานวิจัยจะถูกดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น

1.3.3 ฟางข้าวที่ใช้ในงานวิจัยสำหรับทดลองเป็นฟางข้าวแบบพาลเลต (Rice straw pellets)

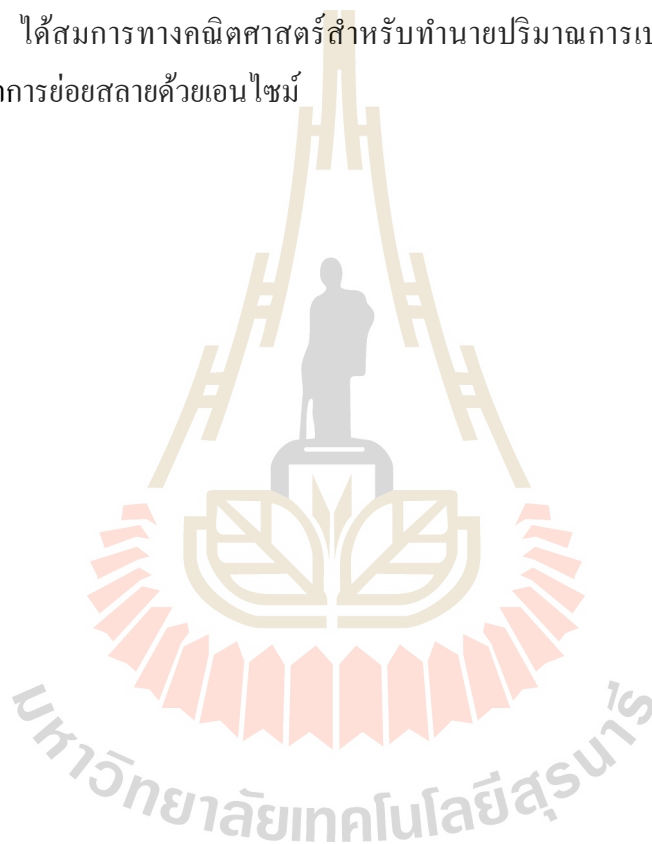
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้สถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง

1.4.2 สามารถเปรียบเทียบผลของการปรับสภาพด้วยด่างและการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส

1.4.3 สามารถเปรียบเทียบผลของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างและการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง

1.4.4 ได้สมการทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์



บทที่ 2

ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้กล่าวถึงรายละเอียดที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพ ฟางข้าวด้วยค่าังโดยใช้วิธีพ่นผิวผลตอบสนองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส (กลูแคน) ด้วยเอนไซม์ประกอบด้วย ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส วิธีของการปรับสภาพ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ การออกแบบการทดลองโดยใช้วิธีพ่นผิวผลตอบสนอง และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.1 ศักยภาพชีวมวลในประเทศไทย

ประเทศไทยถือเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สำคัญแห่งหนึ่ง ซึ่งประชากรโดยส่วนใหญ่จะประกอบอาชีพเกษตรกรรม นอกจากผลผลิตที่ได้ในแต่ละปีแล้วยังมีผลพลอยได้นอกเหนือจากการผลิตทางการเกษตร คือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย เหง้ามันสำปะหลัง และทะลายปาล์ม เป็นต้น (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, กระทรวงพลังงาน ปี 2557) โดยแสดงข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1 จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าสามารถนำฟางข้าวมาใช้ประโยชน์ได้อีกมากมาย เช่น บรรจุภัณฑ์ วัสดุกันกระแทก เฟอร์นิเจอร์ เป็นต้น ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับฟางข้าว นอกจากนี้สามารถใช้เป็นวัสดุตั้งต้นในการผลิตแหล่งพลังงานทดแทนรูปแบบต่างๆได้ หากต้องการพัฒนามูลค่าจึงจำเป็นต้องอาศัยการวิจัยค้นคว้าผลจากการทดลองมากขึ้น ซึ่งในปัจจุบันมีความหลากหลายของงานวิจัยที่สนใจศึกษาเพื่อเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมากขึ้น

ตารางที่ 2.1 ข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด

ชนิดชีวมวล	ปริมาณการเกิด (ตัน)	ปริมาณที่นำไปใช้ ประโยชน์แล้ว (ตัน)	ปริมาณคงเหลือ (ตัน)
ฟางข้าว	19,005,628.14	8,112,801.26	10,892,826.89
แกลบ	8,145,269.20	8,006,283.36	138,985.84
ชานอ้อย	28,026,761.54	28,026,761.54	0
ซังข้าวโพด	1,215,078.72	1,094,081.58	120,997.14
เหง้ามันสำปะหลัง	6,045,508.40	164,196.52	5,881,311.88
ทะลายปาล์มเปล่า	4,099,859.52	1,891,985.90	2,207,873.62

ที่มา : ข้อมูลของปีการเพาะปลูก พ.ศ. 2556

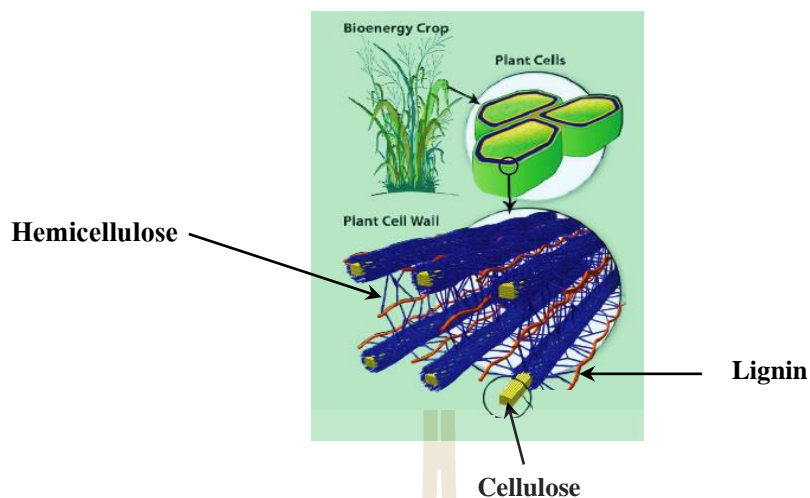
2.2 วัสดุลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic materials)

ลิกโนเซลลูโลส คือ ชีวมวล (biomass) หรือสารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติ ได้แก่ พืชทางการเกษตร (agricultural crops) วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (agricultural residues) ไม้และเศษไม้ (wood and wood residues) องค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) ดังแสดงใน Figure 2.1 ซึ่งงานวิจัยของ Lee, Parameswaran, Lee, and Park (2008) กล่าวว่าในอัตราส่วนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ตารางที่ 2.2) โดยทั่วไปพบเซลลูโลส 40-60% เฮมิเซลลูโลส 20-30% และลิกนิน 15-30%

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรแสดงค่าเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง

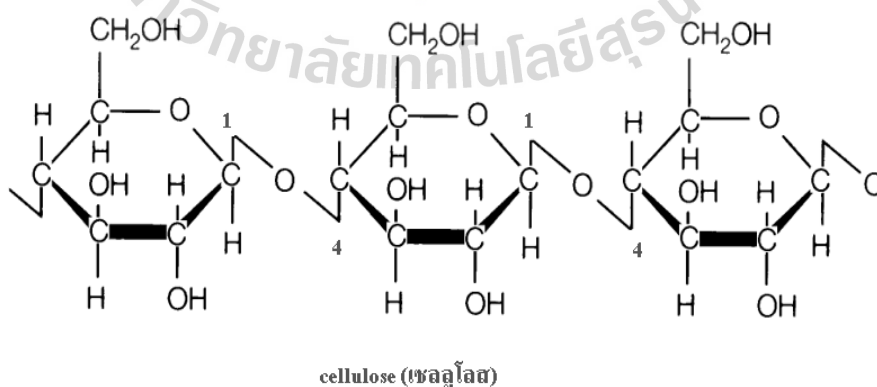
Agricultural residues	Cellulose	Hemicelluloses	Lignin
Wheat straw	38.6	32.6	14.1
Rice straw	36.5	27.7	12.3
Maize stems	38.5	28.0	15.0
Cassava rhizome*	32.2	13.9	27.0

ที่มา : (ข้อมูลจากกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน, 2555)



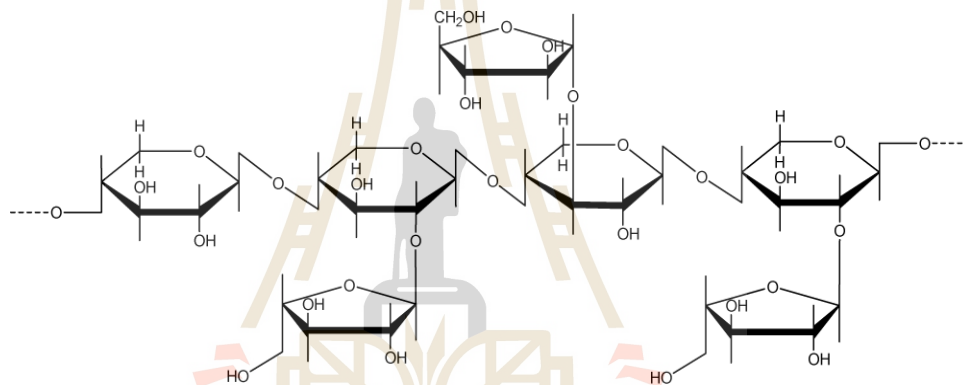
รูปที่ 2.1 องค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส (ที่มา : Yarris, 2010)

2.2.1 เซลลูโลส (cellulose) คือ พอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส (glucose) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic หรือเรียกพอลิเมอร์นี้ว่า พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) เป็นองค์ประกอบที่พบมากในวัสดุลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในผนังเซลล์พืช โดยจะอยู่ร่วมกับเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ปริมาณที่พบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนของพืช (Buranov and Mazza, 2008; Eriksson, Blanchette, and Ander, 1990; Goshadrou, Karimi, and Taherzadeh, 2011) โดยทั่วไปในธรรมชาติพบเซลลูโลส 2 แบบ คือ crystalline cellulose และ amorphous cellulose โดยส่วนของ crystalline cellulose จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ยากกว่า amorphous cellulose (รัชพล พะวงศรีรัตน์, 2558) โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (ที่มา : พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนปนนท์, 2553)

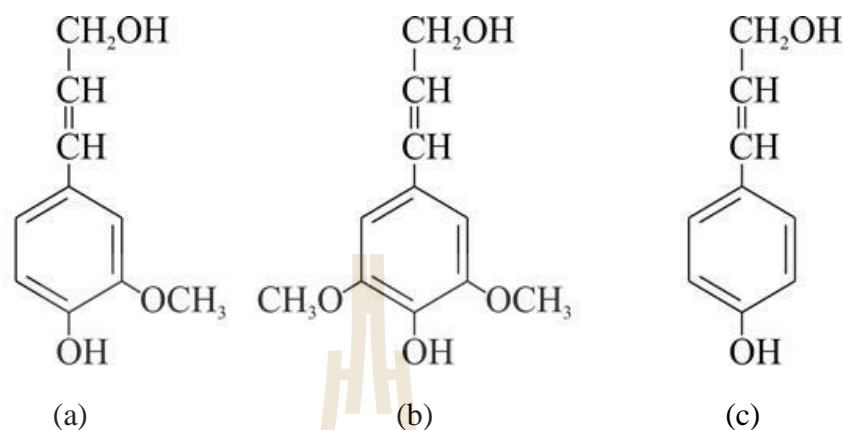
2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลายๆ ชนิดเชื่อมต่อกัน เป็นสายยาวและเป็นกิ่งก้านสาขา ได้แก่ น้ำตาลเฮกโซส (กลูโคส กาแลคโตส และแมนโนส) น้ำตาลเพนโตส (ไซโรส และอะราบิโนส) (Buranov and Mazza, 2008) นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบชนิดหนึ่งในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งพบอยู่ในรูปโพลิเมอร์ไซแลน แมนแนน กาแลคแตน และอะราบิแนน (Bastawde et al., 1992) ภายในโครงสร้างพบพอลิเมอร์ไวแลน ดี-ไซโลสมีปริมาณมากที่สุดคือ ร้อยละ 85-93 ส่วนองค์ประกอบอื่น เช่น กลูโคส กรดกลูควิโรนิก กรดกาแลคตุโรนิก จะพบปริมาณน้อย (Browing, 1963) โดยไซโลสที่พบจะเชื่อมด้วยพันธะเบตา 1,4 ไกลโคซิดิก (Browing, 1963; Bastawde et al., 1992; Altintas et al., 2002) สำหรับโครงสร้างทางเคมีของไซแลน โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของไซแลน (ที่มา : Bastawde et al., 1992).

2.2.3 ลิกนิน (lignin) เป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติกที่พบในส่วนผนังเซลล์ของพืช พบในปริมาณที่แตกต่างไปตามชนิดของพืช ในธรรมชาติลิกนินเป็นส่วนป้องกันเซลลูโลสไม่ให้ถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบ 3 มิติไม่ตกผลึก (Cheng et al., 2008) ประกอบด้วยสารประกอบอะโรมาติก 3 ชนิด ประกอบด้วย tran-p-coumaryl alcohol, trans-coniferyl alcohol และ trans-p-sinapyl alcohol (Eriksson et al., 1990) นอกจากนี้โมเลกุลของลิกนินยังเชื่อมต่อกับสารประกอบอะโรมาติกอื่นอีกมากมาย เช่น vanillin และ syringaldehyde (Yudkin and Offord, 1993) อีกทั้งยังเป็นพอลิเมอร์อยู่ลำดับที่สาม รองลงมาจากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ลิกนินมีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วยหน่วยของฟีนิลโพรเพน (phenylpropane units) ทำหน้าที่เป็นสารช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับต้นพืช โดยลิกนินห่อหุ้มเส้นใยของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Buranov and Mazza, 2008) สูตรโครงสร้างของ

tran-p-coumaryl alcohol, trans-coniferyl alcohol และ trans-p-sinapyl alcohol ดังแสดงในรูปที่ 2.4

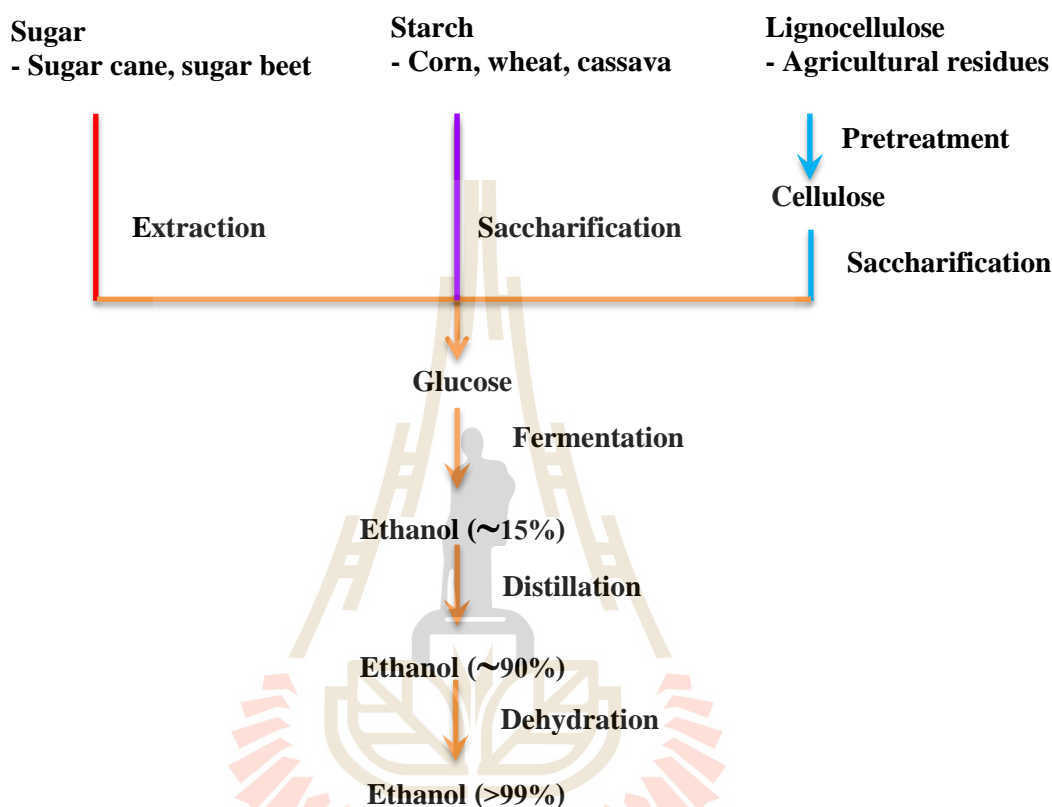


รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของลิกนิน (a) trans-coniferyl alcohol (b) trans-p-sinapyl alcohol และ (c) tran-p-coumaryl alcohol (ที่มา : Eriksson et al., 1990).

2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

เนื่องจากประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวนมากในแต่ละปี การวิจัยและพัฒนานำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่าโดยเฉพาะผลิตไบโอเอทานอล ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพกำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตไบโอเอทานอล (bioethanol) จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงานในปี 2555 พบว่า ชังข้าวโพด (corn stover) ฟางข้าว (rice straw) ชานอ้อย (sugar cane bagasse) ต้นปาล์ม (palm) และ เหง้ามันสำปะหลัง (cassava rhizome) มีความเหมาะสมทั้งด้านราคาและปริมาณในการผลิตไบโอเอทานอลในเชิงพาณิชย์ ชันันท์ นิवासวงษ์ และเฉลิม เรืองวิริยะชัย (2555) ได้นำเสนอการผลิตเซลลูโลสเอทานอลในประเทศไทย โดยเน้นความสำคัญในการเพิ่มปริมาณการผลิตไบโอเอทานอลให้เพียงพอกับความปริมาณความต้องการใช้ไบโอเอทานอลทั้งหมดภายในประเทศ โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งไบโอเอทานอลที่ผลิตจากวัสดุเหล่านี้มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับที่ผลิตจากพืชอาหารประเภทอ้อยและมันสำปะหลัง ดังแสดงการผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ ในรูปที่ 2.5 อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอลนั้นจำเป็นต้องมีการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน ทั้งนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส สุภาวดี ผลประเสริฐ (2557) ได้นำเสนอวิธีการปรับสภาพ

วัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล ได้แก่ การปรับสภาพวัตถุดิบทางกายภาพ ทางเคมีร่วมกับทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ พบว่าในแต่ละวิธีมีทั้งข้อดีและข้อเสียทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของลิกโนเซลลูโลสที่นำมาใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลด้วย



รูปที่ 2.5 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ (ที่มา : สุภาวดี ผลประเสริฐ, 2557)

2.4 การปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

การปรับสภาพวัตถุดิบเป็นการทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อกำจัดลิกนิน เนื่องจากโครงสร้างของลิกนินนั้นเชื่อมต่อกับเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะทางเคมีที่แข็งแรง ลิกนินจึงทำหน้าที่เสมือนเป็นผนังป้องกันการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากพวกจุลินทรีย์ กรด หรือด่าง เป็นต้น นอกจากนี้การปรับสภาพวัตถุดิบยังมีผลช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวภายในวัตถุดิบ และลดโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส ทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้ง่ายมากขึ้น รวมทั้งยังลดปริมาณการใช้เอนไซม์ที่ใช้

ในการย่อยสลายเซลลูโลสได้อีกด้วย โดย Sun และ Cheng (2002) และ Mosier et al. (2005) ได้รวบรวมวิธีการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสไว้ นอกจากนี้ Alvira et al. (2010) ได้รวบรวมจุดเด่นและจุดด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.3, 2.4 และ 2.5) อธิบายได้ดังนี้

2.4.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (physical pretreatment) เป็นการปรับสภาพโดยใช้เครื่องมือสับและบดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวและลดขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ โดยส่วนใหญ่วิธีนี้จะใช้ร่วมกับวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีอื่นๆ

2.4.2 การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (physicochemical pretreatment) เป็นการปรับสภาพโดยบดวัตถุดิบให้มีขนาดเล็กกลงแล้วนำไปปรับสภาพด้วยวิธีอื่นๆ ได้แก่การระเบิดด้วยไอน้ำ และการระเบิดด้วยแอมโมเนีย

2.4.3 การปรับสภาพทางเคมี (chemical pretreatment) ด้วยโอโซนเพื่อช่วยในการกำจัดลิกนิน การปรับสภาพด้วยกรด (acid pretreatment) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลส การปรับสภาพด้วยด่าง (alkali pretreatment) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลสและกำจัดลิกนิน และการกำจัดลิกนินโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative delignification)

2.4.4 การปรับสภาพทางชีวภาพ (biological pretreatment) เป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ช่วยกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากวัตถุดิบ

ตารางที่ 2.3 จุดเด่นและจุดด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสที่แตกต่างกัน

การปรับสภาพ	จุดเด่น	จุดด้อย
ทางชีวภาพ	ย่อยสลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ใช้พลังงานต่ำ	มีอัตราการย่อยสลายช้า
การบด การโม้	ลดขนาดของเซลลูโลส	ใช้พลังงานสูง
การระเบิดด้วยไอน้ำ	มีผลทำให้ลิกนินเปลี่ยนรูปและย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ดี คุ้มค่าการลงทุน ให้ผลผลิตของน้ำตาลกลูโคสและเฮมิเซลลูโลสสูง	มีองค์ประกอบของสารอื่นที่เป็นพิษเจือปน

ที่มา : Alvira et al. (2010)

ตารางที่ 2.3 จุดเด่นและจุดด้อยของกระบวนการปรับสภาพวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลสที่แตกต่างกัน (ต่อ)

การปรับสภาพ	จุดเด่น	จุดด้อย
AFEX	ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย เกิดตัวยับยั้งในขั้นตอนการย่อยน้อย	ไม่เหมาะสมกับวัสดุที่มีปริมาณ ลิกนินสูง การลงทุนสูง
การระเบิดด้วย CO ₂	ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย คุ้มค่าการลงทุน	ไม่มีผลต่อลิกนินและเฮมิ เซลลูโลสระบบต้องใช้แรงดัน สูง
ต่าง	กำจัดลิกนินออกได้และกระบวนการที่ง่าย ใช้พลังงานต่ำเมื่อเทียบกับปรับสภาพด้วย กรด เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีวมวล ใช้พลังงานต่ำ	จำเป็นต้องทำการปรับ pH ให้ เป็นกลางก่อนหลังจากทำการ ปรับสภาพเพื่อไม่ให้ขัดขวาง การทำงานของกระบวนการใน ขั้นต่อไป
ปฏิกิริยา ไอโซน	ลดปริมาณลิกนิน ไม่ก่อให้เกิดองค์ประกอบของสารอื่นที่เป็น พิษ	มีค่าใช้จ่ายสูง
สารละลาย อินทรีย์	ส่งผลต่อการย่อยสลายลิกนินและเฮมิ เซลลูโลส	การลงทุนสูงและการใช้ สารละลายอินทรีย์ต้องมีการ ดูแลและจัดการที่ดี
กรดเข้มข้นสูง	ให้ผลผลิตกลูโคสสูง เกิดปฏิกิริยาในสภาวะปกติ	ค่าใช้จ่ายสูงและการจัดการต้อง อยู่ภายใต้การควบคุม
กรดเจือจาง	ลดปัญหาการกัดกร่อนเมื่อเทียบกับกรดเข้มข้น เกิดองค์ประกอบของสารพิษต่ำ	ผลผลิตค่อนข้างหลากหลาย และให้ผลิตน้ำตาลต่ำ

ที่มา : Alvira et al. (2010)

ตารางที่ 2.4 ผลกระทบของกระบวนการปรับสภาพต่อองค์ประกอบทางเคมีและโครงสร้างของวัสดุ
เหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส

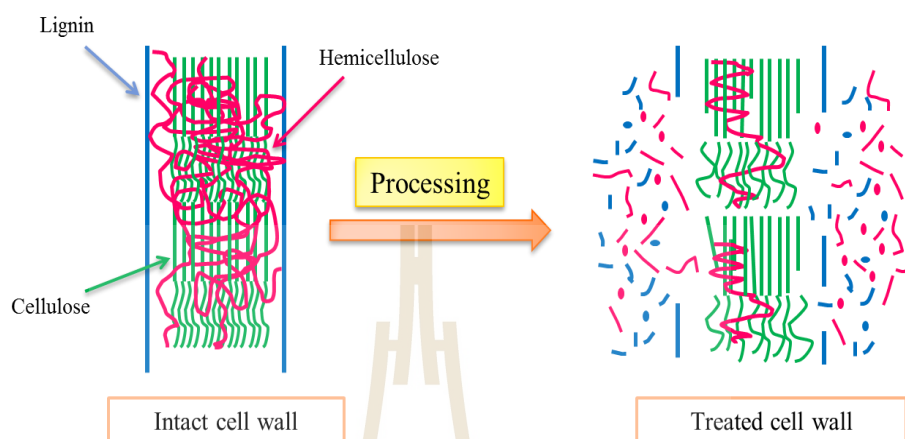
	การ การ บด	การ ระเหิด ด้วยไอ น้ำ	การ กรด	การ ด่าง	AFEX	การ ระเหิด ด้วย CO ₂
เพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยา	สูง	สูง	สูง	สูง	สูง	สูง
การย่อยสลายผลึกเซลลูโลส	สูง	-	-	-	สูง	-
การย่อยสลายผลึกเฮมิเซลลูโลส	-	สูง	สูง	ต่ำ	ปาน	สูง
การแยกลิกนิน	-	ปาน	ปาน	ปาน	สูง	-
เกิดองค์ประกอบของสารอื่นที่ พืษเจือปน	-	สูง	สูง	ต่ำ	ต่ำ	-
เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ของลิกนิน	-	สูง	สูง	สูง	สูง	-

ที่มา : Alvira et al. (2010)

2.5 การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่าง (Alkali pretreatment)

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่างเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้พลังงานมาก โดยได้รับความนิยมมากในอุตสาหกรรมต่างๆ ทั้งนี้เพื่อกำจัดลิกนิน (delignification) และเฮมิเซลลูโลส ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ปัจจุบันชนิดของด่างที่นิยมใช้ในการศึกษาการปรับสภาพมาก คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) ตามลำดับ (Kumar et al., 2009) นักวิจัยหลายท่านให้ความสนใจศึกษาการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสหลายประเภท โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์นั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้ปริมาณผลผลิตน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องจากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Chen et al., 2009; Gupta and Lee, 2010; McIntosh and Vancov, 2011; Pedersen et al., 2011) อย่างไรก็ตามการปรับสภาพลิกโน

เซลลูโลสด้วยด่างนั้นจะต้องมีการปรับค่า pH ของลิกโนเซลลูโลสหลังจากปรับสภาพให้เป็นกลางก่อน ทั้งนี้เพื่อให้ลิกโนเซลลูโลสมีสภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสในขั้นตอนต่อไป (สุภาวดี ผลประเสริฐ, 2557)

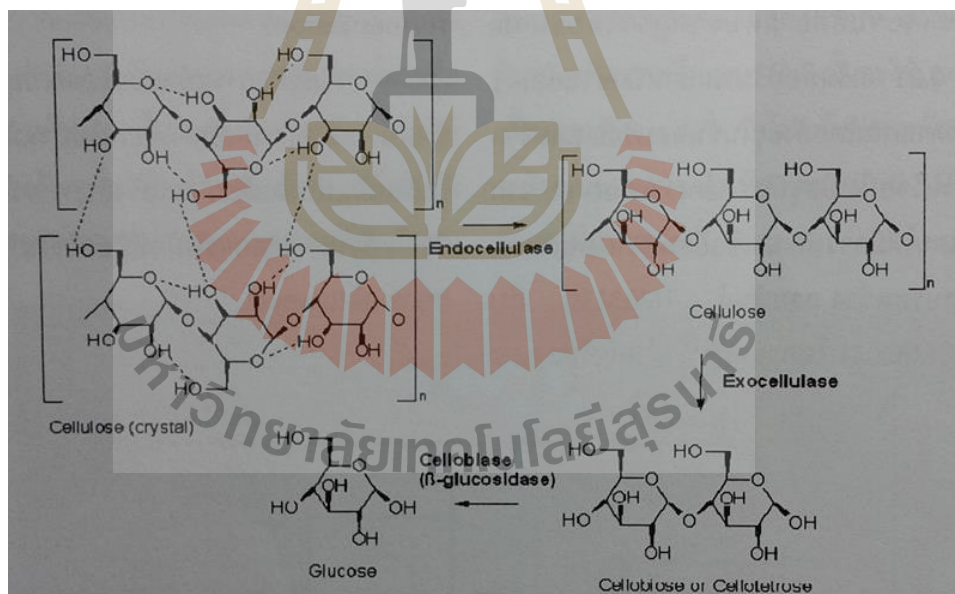


รูปที่ 2.6 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยด่าง (ที่มา : Mosier et al., 2005)

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่างเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการแยก (fractionation) ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส เพราะวิธีนี้สามารถใช้อุณหภูมิ ความดัน และเวลาในการปรับสภาพต่ำกว่าวิธีอื่นๆ การปรับสภาพด้วยด่างทำให้ลิกโนเซลลูโลสแยกออกเป็น 2 ส่วนคือ ของแข็งและของเหลว ส่วนที่เป็นของแข็งประกอบด้วยเซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และอื่นๆ ซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนที่เป็นของเหลวประกอบด้วยลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และอื่นๆ ทั้งนี้ส่วนของแข็งจะถูกนำไปผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยประสิทธิภาพการผลิตน้ำตาลกลูโคสจะขึ้นอยู่กับสภาวะในการปรับสภาพด้วยด่างและสภาวะในการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ส่วนของเหลวนั้นเป็นของเหลือทิ้งจากการปรับสภาพ การใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่างในการปรับสภาพวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลสเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุดิบได้อย่างรวดเร็วและทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสแตกออก ส่งผลให้ลิกนินที่แทรกตัวอยู่ภายในโครงสร้างระหว่างสายเซลลูโลสถูกแยกออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้คลื่นไมโครเวฟยังช่วยลดระยะเวลาของการปรับสภาพซึ่งทำให้ลดการทำลายเซลลูโลสลงได้อีกด้วย (Zhu et al., 2006; Hu and Wen, 2008)

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่างมีกลไกการย่อยสลายองค์ประกอบบางส่วนของลิกโนเซลลูโลส โดยการทำลายพันธะเอสเทอร์ (ester bond) ระหว่างลิกนินกับเฮมิเซลลูโลส และทำลายพันธะอีเทอร์ (ether bond) ภายในโครงสร้างของลิกนิน ซึ่งมีผลทำให้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินบางส่วนถูกย่อยสลายกลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กละลายลงในสารละลายด่าง ส่วนเซลลูโลสยังคง

เป็นองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลสที่ไม่ถูกย่อยสลาย สารละลายต่างยังทำให้โครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสเกิดการพองบวม (swollen) นำไปสู่การเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน อีกทั้งยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Sun and Cheng, 2002; Mosier et al., 2005; McIntosh and Vancov, 2011) การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (endocellulase, exocellulase, and β -glucosidase) เป็นวิธีการที่ให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงซึ่งเหมาะแก่การนำไปผลิตไบโอเอทานอล โดยเอนไซม์แต่ละชนิดนี้จะมีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยาสูง เช่น เอนไซม์ endocellulase จะย่อยเซลลูโลสจากโครงสร้างผลึกให้เป็นแบบสายโซ่ เอนไซม์ exocellulase จะย่อยเซลลูโลสแบบสายโซ่ให้เป็นเซลลูบิโอส (cellubiose) และเอนไซม์ β -glucosidase ก็จะย่อยเซลลูบิโอสให้เป็นกลูโคส ดังแสดงกลไกในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสในรูปที่ 2.7 (ชัชพันธ์ นีवासวงษ์ และ เฉลิม เรื่องวิริยะชัย, 2555)



รูปที่ 2.7 แสดงกลไกการทำปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส (ที่มา : ชัชพันธ์ และคณะ, 2555)

2.6 เอนไซม์ (enzyme)

เอนไซม์ คือ กลุ่มโปรตีน (protein) ที่ผลิตโดยเซลล์สิ่งมีชีวิต พบได้ทั้งในพืช สัตว์ และ จุลินทรีย์ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ เช่น การสังเคราะห์ฮอร์โมน ประกอบภายในเซลล์ ระบบการย่อยอาหาร โดยย่อยสลายโมเลกุลของอาหารที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลง

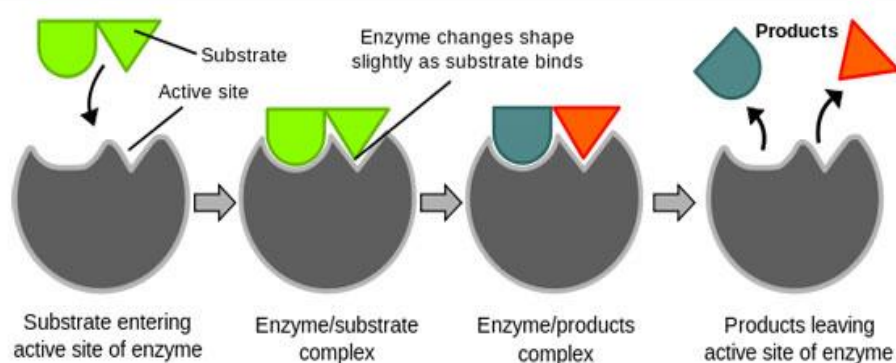
2.6.1 หน้าที่ของเอนไซม์

ช่วยในการย่อยอาหาร โดยเอนไซม์มีหน้าที่เป็นตัวเร่งในการย่อยอาหารให้สมบูรณ์ ทำให้ร่างกายของเราได้รับสารอาหารที่มีคุณภาพแล้วนำไปใช้ได้ ถ้าน้ำย่อยไม่ดีถึงรับประทานสิ่งที่มีประโยชน์เพียงใดก็ไม่เกิดประโยชน์ใดๆ กับร่างกายทั้งสิ้น นอกจากนี้เอนไซม์ยังมีหน้าที่ช่วยทำให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง ช่วยสร้างโปรตีนในกล้ามเนื้อ ช่วยทำให้กล้ามเนื้อหดตัว สลายสารพิษทำให้เลือดบริสุทธิ์ ช่วยกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากปอด และช่วยลดความเครียดของตับอ่อนและอวัยวะอื่นๆ ภายในร่างกาย

2.6.2 การทำงานของเอนไซม์

ในการทำงานของเอนไซม์ โครงสร้างของเอนไซม์ทั้งก่อนและหลังการเกิดปฏิกิริยาจะยังคงเหมือนเดิม แสดงว่า เอนไซม์ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับซับสเตรด แต่ในขณะที่เกิด เอนไซม์จะจับตัวกับซับสเตรดทำให้ซับสเตรดแปรสภาพไป โดยมีการสลายหรือสร้างพันธะของ ซับสเตรดขึ้นใหม่เกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาเคมี จากการรวมตัวระหว่างเอนไซม์ซับสเตรดจน กลายเป็นเอนไซม์-ซับสเตรดคอมเพล็กซ์ (enzyme-substrate complex) มีสมมติฐานที่อธิบายกลไกไว้ดังนี้ (รูปที่ 2.8)

- สมมติฐานแม่กุญแจกับลูกกุญแจ ที่เอนไซม์จะเปรียบเสมือนเป็นลูกกุญแจ ส่วนซับสเตรดคือแม่กุญแจ ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อไขด้วยลูกกุญแจ โดยแม่กุญแจจะต้องมีรูปร่างที่พอเหมาะเท่านั้น ถึงจะรวมกับเอนไซม์และเกิดปฏิกิริยากลายเป็นผลิตภัณฑ์ได้
- สมมติฐานการเหนี่ยวนำ แอคทีฟไซต์จะสามารถยืดหยุ่นและเปลี่ยนแปลงได้เมื่อซับสเตรดเข้าไปใกล้บริเวณแอคทีฟไซต์ของเอนไซม์ ซับสเตรดจะเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เปลี่ยนโครงรูปบริเวณแอคทีฟไซต์ให้มีรูปร่างและขนาดพอเหมาะที่จะรวมกับซับสเตรดได้



รูปที่ 2.8 กลไกการทำงานของเอนไซม์แบบแกลกสาร (ที่มา : พิชิตพล, 2553)

2.6.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ปฏิกิริยาของเอนไซม์จะดำเนินไปได้
อย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ ดังนี้

- อุณหภูมิ เอนไซม์แต่ละชนิด มีความไวต่ออุณหภูมิแตกต่างกัน อุณหภูมิที่เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุด (optimum temperature) โดยทั่วไปอยู่ประมาณ 25-40 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปปฏิกิริยาจะลดลงทั้งนี้เพราะเอนไซม์ซึ่งเป็น โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพ (denature) จึงเข้าร่วมกับซับสเตรทไม่ได้
- ความเป็นกรดเป็นด่าง มีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ เอนไซม์แต่ละชนิดจะทำงานได้ดีที่สุดในสถานะที่มีความเป็นกรดเป็นด่างพอเหมาะ (optimum pH) ซึ่งอาจแตกต่างกัน เช่น ซูเครสทำงานได้ดีที่สุดที่ pH 6.2
- ปริมาณของเอนไซม์ ถ้ามีเอนไซม์มากจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเอนไซม์มากเกินไป ความเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะไม่มีซับสเตรทเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา
- ปริมาณซับสเตรท มีผลเช่นเดียวกับปริมาณของเอนไซม์คือถ้าเพิ่มซับสเตรทมากเกินไป ปฏิกิริยาก็จะไม่เกิดเร็วขึ้น เพราะปริมาณเอนไซม์มีไม่เพียงพอ

นอกจากปัจจัยทั้งสี่ที่กล่าวมาแล้วยังมีสารบางชนิดที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เช่น สารที่ทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง เรียกว่า ตัวยับยั้ง (inhibitor) ส่วนสาร ที่เร่งการทำงานของเอนไซม์ได้ดีขึ้น เรียกว่า ตัวเร่งเอนไซม์ (activator) ตัวยับยั้งบางตัวจะรวมกับเอนไซม์ที่แหล่งกัมมันต์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถรวมกับ ซับสเตรทได้ ตัวยับยั้งแบบนี้เรียกว่า คอมเพทิทีฟอินฮิบิเตอร์ (competitive inhibitor) ซึ่งจะมีรูปร่างโมเลกุลคล้ายกับซับสเตรท

2.6.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์

จากผลการวิจัยของ Gong et. al. (2010) ได้ใช้ไมโครเวฟช่วยในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยกรดเพื่อช่วยในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าการย่อยสลายฟางข้าวหลังปรับสภาพด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลวเป็น 1:10 - 1:25 จะได้ปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นถึง 61% เทียบกับฟางข้าวก่อนปรับสภาพ อย่างไรก็ตามการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากการใช้ไมโครเวฟมาช่วยในการปรับสภาพด้วยกรดเป็นวิธีการสำหรับการย่อยสลายวัสดุชีวมวลที่มีประสิทธิภาพสูงและใช้พลังงานต่ำ นอกจากนี้ Ko et. al. (2009) ได้ใช้พื้นผิวผลตอบศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมการปรับสภาพฟางข้าวด้วยสารละลายแอมโมเนียต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในการผลิตเอทานอล พบว่าการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ให้สูงจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการปรับสภาพ คือ อุณหภูมิ เวลาและความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนีย โดยจะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเดสต่อกรัมกลูแคน ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 15 FPU 30 CBU ตามลำดับ ได้ปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น 69% เทียบกับฟางข้าวก่อนปรับสภาพ อย่างไรก็ตาม Bak et. al. (2009) ได้ใช้ลำแสงอิเล็กตรอนมาช่วยปรับสภาพเพื่อปรับปรุงการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าการปรับสภาพด้วยลำแสงอิเล็กตรอนสามารถเพิ่มการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจะถูกระบายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเบต้ากลูโคซิเดส ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 60 FPU 30 CBU ตามลำดับ จะได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 52.1% ซึ่งเพิ่มขึ้นถึง 57% เทียบกับฟางข้าวก่อนปรับสภาพ

2.7 การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับต่าง (Microwave – assisted alkali pretreatment)

ไมโครเวฟมีประสิทธิภาพการให้ความร้อนแก่วัตถุดิบสูง และมีความสะดวกในการใช้งาน การนำไมโครเวฟมาใช้ร่วมกับวิธีการปรับสภาพทางเคมีจะช่วยเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี (Caddick, 1995) การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับต่างสามารถช่วยปรับปรุงให้การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น เทคโนโลยีไมโครเวฟมีข้อได้เปรียบเพราะกระบวนการให้ความร้อนจะดำเนินภายในวัตถุดิบ ทำให้ความร้อนเข้าถึงได้อย่างรวดเร็วและไม่มีส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการ นอกจากนี้การใช้ไมโครเวฟยังสามารถปรับปรุงการเกิดปฏิกิริยาของโครงสร้างโมเลกุลของลิกโนเซลลูโลสให้ดีขึ้น (Zhu et. al., 2005a, 2005b, 2005c, 2006a, 2006b) ความร้อนที่ได้จากไมโครเวฟนั้นเป็นวิธีการทำความร้อนภายใน ซึ่งมีข้อได้เปรียบ คือ มีความสม่ำเสมอและใช้ระยะเวลาที่สั้น (Cheng et. al., 2008) จึงทำให้ใช้พลังงานในการทำความร้อน

น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ความร้อนแบบดั้งเดิม เช่น การปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส โดยการระเบิดด้วยไอน้ำ การปรับสภาพด้วยการใช้ความร้อนจากไมโครเวฟสามารถทำลายส่วนที่ซับซ้อนของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสลดลงได้ อีกทั้งช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวให้สามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้มากขึ้น (Ma et. al., 2009)

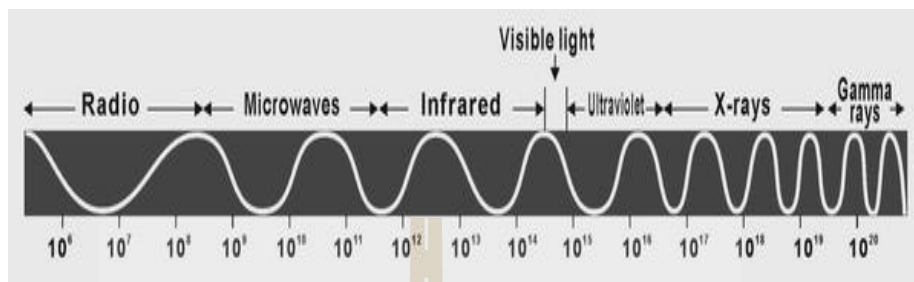
2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง

จากผลการวิจัยของ Zhu et. al. (2005) พบว่าการปรับสภาพที่ใช้กำลังของไมโครเวฟสูงและระยะเวลาสั้นกับใช้กำลังของไมโครเวฟต่ำและระยะเวลานานนั้น จะมีผลต่อการสูญเสียน้ำหนักและส่วนประกอบของฟางข้าวเหมือนกัน อย่างไรก็ตามการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างและระยะเวลาสั้นสามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสได้มากขึ้น อีกทั้งมีอัตราการย่อยสลายและปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้มากกว่าการปรับสภาพด้วยด่างเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ผลการวิจัยของ Zhu et. al. (2005a) พบว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง กรด และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพค่อนข้างนานสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสและน้ำหนักของฟางข้าวที่สูญเสียไปมากขึ้น อีกทั้งความชื้นมีค่าต่ำ เนื่องจากสามารถกำจัดปริมาณเถ้า ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกไปได้มาก นอกจากนี้ส่งผลต่อการเพิ่มพื้นที่ผิวภายในของฟางข้าว ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเข้าถึงของเอนไซม์จึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายของเอนไซม์ได้มากขึ้นและมีอัตราการย่อยสลายสูงสุด อีกทั้ง Zhu et. al. (2005b) พบว่าความเข้มข้นและปริมาณเอทานอลจากการหมักแบบ SSF ของการปรับสภาพที่ใช้ไมโครเวฟร่วมกับด่างจะมีค่ามากกว่าการปรับสภาพด้วยด่างเพียงอย่างเดียวถึง 8% อีกทั้งเอทานอลที่ผลิตได้จากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างจะใช้ปริมาณเอนไซม์ในการย่อยสลายน้อยและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาสั้น ซึ่งสามารถผลิตปริมาณเอทานอลที่มีความเข้มข้นที่สูงกว่าการปรับสภาพด้วยด่างเพียงอย่างเดียว Ma et. al. (2009) ได้ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken และใช้วิธีพื้นผิวผลตอบ พบว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด อย่างไรก็ตามการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟสามารถทำลายพื้นที่ผิวกับส่วนที่ซับซ้อนของลิกนินและเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้ยังกำจัดซิลิกอนและลิกนินออกไปได้บางส่วน

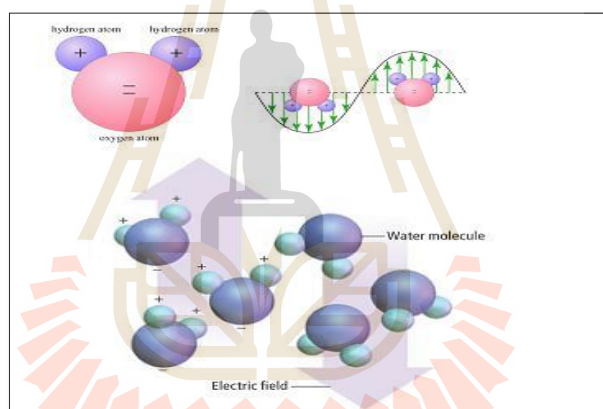
2.7.2 ไมโครเวฟ (Microwave)

ไมโครเวฟ (microwave) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic spectrum) ที่มีความยาวคลื่นอยู่ระหว่างคลื่นวิทยุ (radio wave) กับอินฟราเรด (infrared) มีความถี่ ระหว่าง 300 - 30,000 MHz แมกนีตรอน (magnetron) เป็นส่วนประกอบหลักทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นคลื่นไมโครเวฟ คลื่นไมโครเวฟที่นำมาใช้ประโยชน์กับอาหาร มีความถี่ 915 - 2,450 MHz หรือวัด

เป็นความถี่ได้ 915×10^6 ถึง 2.45×10^9 รอบต่อวินาทีที่กระทำต่ออาหาร (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2553)
(รูปที่ 2.9 และ 2.10)



รูปที่ 2.9 ความยาวคลื่นต่างๆ (ที่มา : พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2553)



รูปที่ 2.10 การทำงานของไมโครเวฟ (ที่มา : พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2553)

• อาหารใดๆ ที่จะร้อนได้ด้วยไมโครเวฟ จะต้องมีสมบัติข้อใดข้อหนึ่ง ดังนี้

- สารที่มีโมเลกุล 2 ขั้ว (dipolar molecules) เช่น โมเลกุลของน้ำซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้ว โดยออกซิเจนเป็นขั้วลบและไฮโดรเจนเป็นขั้วบวกน้ำพยายามจะเรียงตัวภายใต้สนามไฟฟ้า เมื่อได้รับคลื่นไมโครเวฟซึ่งมีความถี่ที่สูงมาก เหนียวน้ำให้โมเลกุลของน้ำเปลี่ยนทิศสลับไปมาอย่างรวดเร็ว ตามทิศทางของสนามไฟฟ้า เกิดการเสียดสีกันระหว่างโมเลกุลของน้ำที่สั่นสะเทือน หรือกับโมเลกุลอื่นๆ ภายในอาหารจะทำให้เกิดความร้อนขึ้นมา

- สารที่มีไอออนอยู่ในของเหลว สนามไฟฟ้าที่เกิดจากคลื่นไมโครเวฟจะทำให้เกิดการเสียดสี (Collisions) ทำให้เกิดความร้อนขึ้นมา (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2553)

● ปัจจัยที่มีผลต่อการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

- ความถี่ของคลื่น คลื่นไมโครเวฟที่มีความถี่ต่ำกว่า 816 และ 915 MHz จะทะลุผ่านชิ้นอาหารได้ดี และมีความสม่ำเสมอในการให้ความร้อนมากกว่า เมื่อใช้กับอาหารที่มี loss factor ต่ำ หรือมีขนาดชิ้นเล็ก ๆ อย่างไรก็ตาม ระดับความลึกของการทะลุผ่านของคลื่นไมโครเวฟเป็นสิ่งจำเป็น การเลือกความยาวคลื่นของไมโครเวฟที่ใช้จะขึ้นกับความเหมาะสมในการใช้พลังงาน

- ความเข้มของสนามไฟฟ้า เมื่อความเข้มของสนามไฟฟ้ามากขึ้น การให้ความร้อนกับอาหารจะใช้เวลาที่น้อยลง จึงเป็นตัวปรับอัตราเร็วในการให้ความร้อนกับอาหาร

- ความชื้นในอาหาร เนื่องจากน้ำมีค่า loss factor สูง อาหารที่มีความชื้นสูงจึงเพิ่มอุณหภูมิได้รวดเร็ว

- อุณหภูมิของอาหารจะมีผลต่อสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงพลังงาน และมีผลต่อสถานะขององค์ประกอบที่ดูดกลืนพลังงานได้ดีในอาหาร เช่น น้ำ ดังนั้นอุณหภูมิจึงมีผลต่อการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ

- ขนาดและรูปร่างของอาหาร อาหารที่มีขนาดใหญ่ หรือมีความหนาแน่นมาก เมื่อใช้ไมโครเวฟที่มีความถี่สูงเกินไป อาจทำให้ไมโครเวฟไม่สามารถทะลุผ่านเข้าไปถึงกึ่งกลางของอาหารได้ ทำให้การเพิ่มอุณหภูมิไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งชิ้น ความสม่ำเสมอของรูปร่างจึงมีผลต่อการให้ความร้อนเช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น อาหารที่มีรูปร่างกลมจะได้รับความร้อนอย่างสม่ำเสมอมากกว่าอาหารที่มีเหลี่ยมมุม

- การนำไฟฟ้า เนื่องจากการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จะเกิดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่มีประจุในอาหาร จึงมีความสัมพันธ์กับการนำไฟฟ้าในอาหาร เมื่อเพิ่มการนำไฟฟ้าให้กับอาหาร เช่น เติมน้ำเกลือ หรือสารอื่น (เช่น น้ำตาล) ที่สามารถแตกตัวให้ประจุ จะทำให้อัตราการให้ความร้อนสูงขึ้น

- การนำความร้อน (thermal conductivity) ของอาหาร ระหว่างการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟจะเกิดการถ่ายเทความร้อนโดยการนำความร้อนในชิ้นอาหารด้วย ซึ่งจะเห็นได้ชัดในกรณีที่อาหารมีชิ้นขนาดใหญ่ หรือมีความหนาแน่น ไมโครเวฟไม่

สามารถทะลุเข้าไปถึงกึ่งกลางได้ แต่สำหรับอาหารชิ้นเล็ก หรือมีความหนาไม่มาก การนำความร้อนจะไม่มีผลต่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิมากนัก

- ความร้อนจำเพาะ (specific heat) ของอาหาร ความร้อนจำเพาะของอาหารมีผลต่ออัตราเร็วในการเพิ่มอุณหภูมิ อาหารที่มีความร้อนจำเพาะสูงกว่า จะมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิช้ากว่า

2.8 การออกแบบพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface design)

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลนั้น จำเป็นต้องมีเครื่องมือที่ใช้สำหรับการออกแบบการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทดลองและเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความเหมาะสมที่สุด (optimization) สำหรับนำไปการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติซึ่งจะทำให้ได้ข้อสรุปที่สมเหตุสมผล อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematic model) เพื่อใช้ทำนายผลการทดลองที่เราต้องการศึกษาได้ อีกด้วย ทั้งนี้มีนักวิจัยบางท่านได้ใช้การออกแบบการทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสดังนี้ Kim และ Han (2012) ใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองสำหรับหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำตาลกลูโคสสำหรับนำไปใช้ผลิตไบโอเอทานอลต่อไป จากผลการวิจัยพบว่าการใช้ไซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.96% ที่ 81.79°C เป็นเวลา 56.66 min ทำให้ย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้ปริมาณผลผลิตกลูโคสสูงสุด นอกจากนี้ Dutta et al. (2014) ได้ศึกษาการสร้างสมการคณิตศาสตร์โดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองและหาสภาวะที่เหมาะสมเกี่ยวกับกำจัดลิกนินออกจากฟางข้าวเพื่อนำไปผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ ส่วน Bazargan et al. (2015) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเกี่ยวกับการปรับสภาพข้าวเปลือกด้วยด่างเพื่อนำไปผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบล็อก-เบห์นเคน และได้สร้างสมการคณิตศาสตร์โดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองสำหรับทำนายปริมาณซิลิกาที่ถูกกำจัดออกเนื่องจากซิลิกามีผลไปลดประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตพลังงานนั่นเอง

2.8.1 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)

วิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และทางสถิติที่มีประโยชน์สำหรับใช้ในการสร้างแบบจำลองและการวิเคราะห์ปัญหา โดยผลตอบ (response variable) จะขึ้นอยู่กับตัวแปรอิสระ (independent variables) โดยวิธีการนี้สามารถใช้หาจุดที่เหมาะสม (optimization) ต่อผลตอบ ในการนำเสนอแบบพื้นผิวผลตอบสนองนั้นต้องมีการออกแบบการทดลองที่เหมาะสม โดยการทดลองนั้นจะต้องมีตัวแปรอิสระ 2 ตัวขึ้นไป และมีตัว

แปรตามอย่างน้อย 1 ตัว ที่เป็นตัวแปรเชิงปริมาณ โดยทั่วไปวิธีการออกแบบการทดลองที่นิยมนำมาสร้างพื้นผิวผลตอบสนองได้แก่ Factorial Design, Central Composite Design และ Box-Behnken Design ข้อมูลของตัวแปรอิสระ (independent variables: X_1, X_2, X_3) ที่สัมพันธ์กับข้อมูลของตัวแปรตามหรือผลตอบ (response variable: Y) สามารถถูกนำมาสร้างเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (model) เพื่อใช้ในการทำนายหรือปรับกระบวนการให้เหมาะสม (process optimization) ได้ (อิสรพงษ์ พงษ์ศิริกุล, 2550) ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามหรือผลตอบเหล่านี้สามารถอธิบายโดยสมการที่ 2.1

$$Y = f(x_1 + x_2) + \varepsilon \quad (2.1)$$

โดยกำหนดให้ ε คือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นในค่าผลตอบ Y ซึ่งค่า Y นี้ได้มาจากการทดลองและถ้าแสดงค่าคาดหวังของผลตอบเป็น

$$E(Y) = f(x_1 + x_2) = \eta \quad (2.2)$$

จะสามารถเขียนสมการของพื้นผิวผลตอบได้ดังสมการที่ 2.3

$$\eta = f(x_1 + x_2) \quad (2.3)$$

การแสดงผลของพื้นผิวผลตอบสนองนั้นส่วนมากจะแสดงในรูปของกราฟิก โดยนำค่า η มา plot กับค่าของตัวแปรอิสระ X_1 และ X_2 ซึ่งจะช่วยให้มองรูปร่างของพื้นผิวผลตอบสนองได้ดียิ่งขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.11 แต่ในการศึกษาเกี่ยวกับพื้นผิวผลตอบสนอง ส่วนใหญ่จะไม่ทราบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและผลตอบ ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและผลตอบโดยหาตัวประมาณที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวแทนสำหรับแสดงความสัมพันธ์ได้โดยใช้ฟังก์ชันพหุนาม (polynomial) ที่มีกำลังต่ำๆ ถ้าแบบจำลองของค่าผลตอบมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับตัวแปรอิสระ ฟังก์ชันที่ใช้ในการประมาณค่าความสัมพันธ์คือแบบจำลองกำลังหนึ่ง (first order model) (อิสรพงษ์ พงษ์ศิริกุล, 2550) ดังแสดงในสมการที่ 2.4

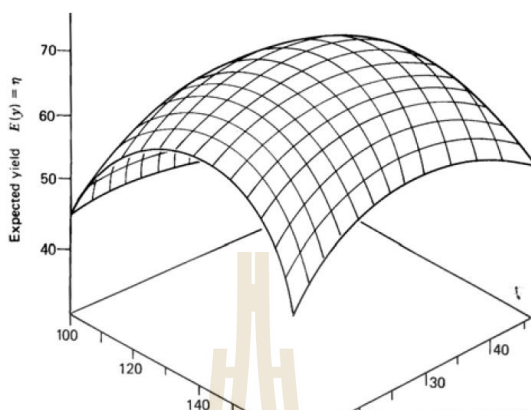
$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon \quad (2.4)$$

ถ้าความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นโค้งจะต้องใช้ฟังก์ชันพหุนามที่มีกำลังสูงขึ้น เช่น แบบจำลองกำลังสอง (second order model) ดังแสดงในสมการที่ 2.5

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.5)$$

อีกทั้งวิธีการพื้นผิวผลตอบสนองเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพกับกระบวนการที่มีความซับซ้อน ทำให้ง่ายในการจัดการและอธิบายผลเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น (Box and Behnken, 1960; Gan and Latiff, 2011) ข้อดีของ RSM คือ ช่วยลดจำนวนชุดทดลองที่ใช้ในการประเมินตัวแปร

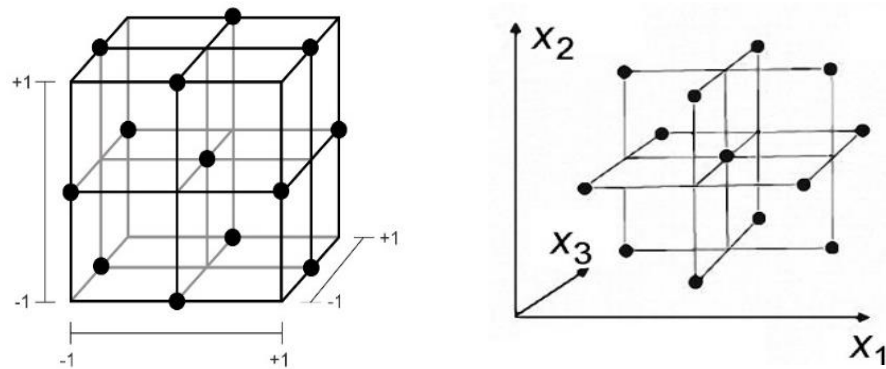
หลายตัว รวมทั้งปฏิสัมพันธ์ของตัวแปรเหล่านั้น ดังนั้นการใช้ RSM จึงช่วยประหยัดแรงงานและเวลากว่าวิธีการอื่นที่ต้องการสภาวะที่เหมาะสม (Giovanni, 1983)



รูปที่ 2.11 ภาพ 3 มิติของพื้นผิวผลตอบแทน (ที่มา : อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล, 2550)

2.8.2 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken experimental design)

การออกแบบการทดลองเป็นกระบวนการวางแผนการทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความเหมาะสมที่สุด (optimization) เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลด้วยวิธีทางสถิติทำให้ได้ข้อสรุปที่สมเหตุสมผล การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน เป็นการออกแบบการทดลองแบบสามระดับหรือสามปัจจัยเพื่อใช้สำหรับพิตแบบจำลองกำลังสองในการหาค่าผลตอบแทน ข้อดีของการออกแบบการทดลองด้วยวิธีนี้ คือ มีประสิทธิภาพในด้านการออกแบบจำนวนการทดลองที่ต้องการ โดยการออกแบบเป็นรูปทรงกลมที่ทุกจุดวางอยู่บนรูปทรงกลมรัศมี 2 ดังแสดงในรูปที่ 2.12 ตัวอย่างของการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระแสดงในตารางที่ 2.6 โดยจำนวนการทดลองทั้งหมดจะเท่ากับ 15 การทดลอง กำหนดให้พารามิเตอร์อยู่ในรูป -1, 0, และ +1 (ปารเมศ ชูติมา, 2545) นอกจากนี้การออกแบบการทดลองดังกล่าวมีจำนวนครั้งการทดลองที่น้อย รวมถึงมีต้นทุนที่ถูกกว่าเมื่อเทียบกับการออกแบบการทดลองแบบ fractional factorial design (FFD) หรือ central composite design (CCD) ในกรณีที่จำนวนปัจจัยเท่ากัน และสามารถมองได้ภาพกว้าง (Rotatable) เมื่อไม่สนใจจำนวนของปัจจัยภายใต้สภาวะที่ศึกษา (สมเกียรติ ตั้งจิตตติเจริญ และ ภูมินทร์ แจ่มเชื้อ, 2554; รัชฎา แยมสรวล และคณะ, 2555; Ray et al., 2010)



รูปที่ 2.12 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ
(ที่มา : ปารเมศ ชุติมา, 2545)

ตารางที่ 2.5 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ
(ที่มา : ปารเมศ ชุติมา, 2545)

Box-Behnken Experimental Design			
Run	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	-1	0	1
7	1	0	-1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	-1	1
11	0	1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในบทนี้กล่าวถึงรายละเอียดของตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย อุปกรณ์และเครื่องมือซึ่งประกอบด้วย ชื่อ รุ่น และเงื่อนไขของการใช้งาน (conditions of equipment) รวมถึงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง และการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังต่อไปนี้

3.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง (Optimization of alkali pretreatment of rice straw)

มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง โดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ซึ่งรายละเอียดของขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย มีดังนี้

3.1.1 การเตรียมฟางข้าว (Rice straw preparation)

ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ (native rice straw) ถูกนำมาบดและคัดแยกขนาดให้มีขนาดเล็กกว่า 1.7 mm โดยใช้ขนาดตะแกรง 212 μm (รูปที่ 3.1) โดยฟางข้าวก่อนปรับสภาพมีความชื้นอยู่ระหว่าง 5-8% (มาตรฐานเปียก) จากนั้นฟางข้าวจะถูกเก็บไว้ในภาชนะพลาสติกปิดสนิทสำหรับรอทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป



A



B

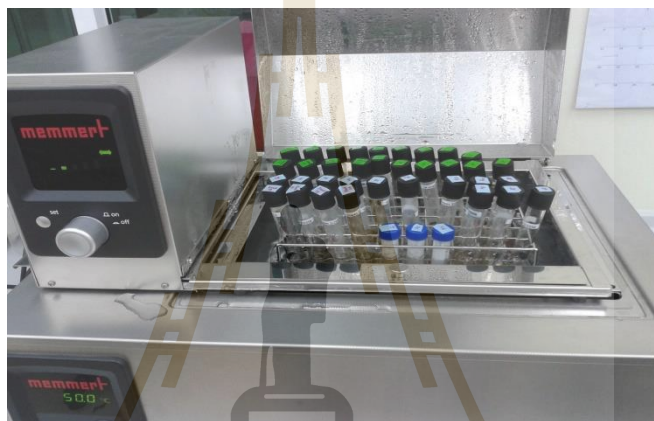


C

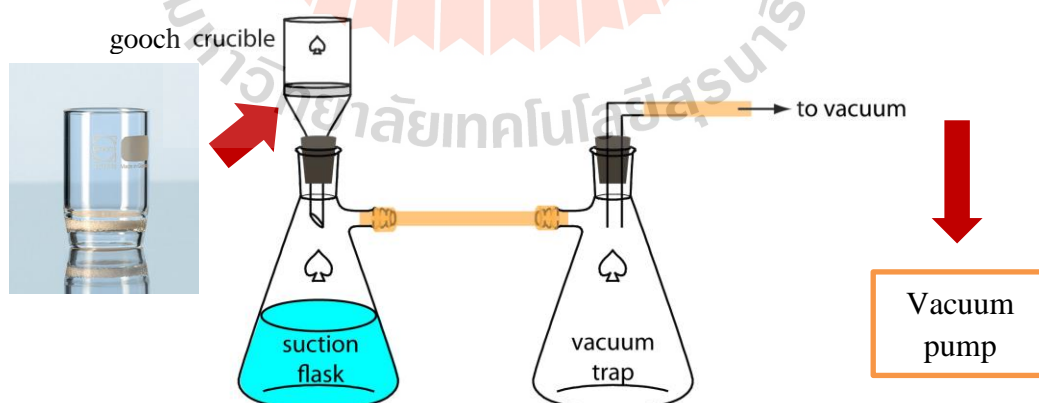
รูปที่ 3.1 เครื่องมือที่ใช้สำหรับขั้นตอนการเตรียมฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (A) เครื่องบดตัวอย่างแบบหยาบ; (B) เครื่องบดตัวอย่างแบบละเอียด; (C) เครื่องร่อนแยกขนาด

3.1.2 การปรับสภาพ (Pretreatment)

ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ (native rice straw) ขนาดน้อยกว่า 1.7 mm ถูกนำมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1-5% (3% solid loading) ที่อุณหภูมิ 30-70°C เป็นเวลา 1-3 h ใน shaking water bath ที่มีความเร็วรอบ 100 rpm (รูปที่ 3.2) จากนั้นนำของผสมมากรองด้วย gooch crucible ขนาดของรูพรุน (pore size) 13 μm ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ (pretreated rice straw) ถูกทำให้เป็นกลางด้วยน้ำสะอาด (รูปที่ 3.3) และผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) และถูกนำมาเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (dessicator)



รูปที่ 3.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าง

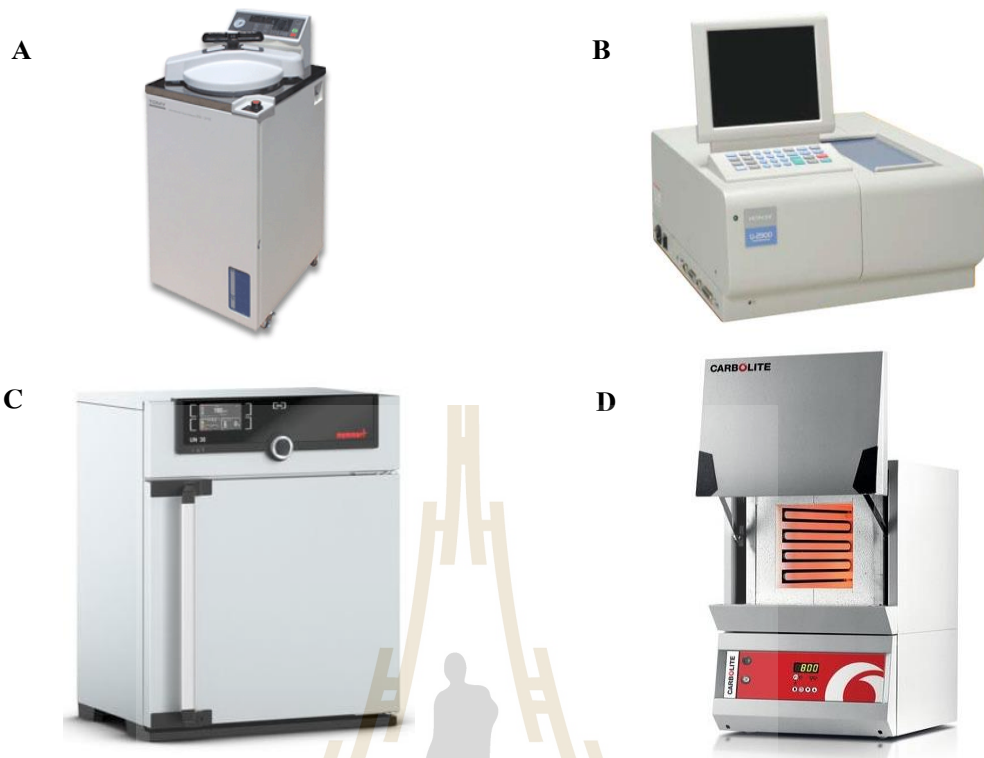


รูปที่ 3.3 การกรองตัวอย่างด้วย gooch crucible

3.1.3 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical compositions analysis)

ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ (native rice straw) และฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ (pretreated rice straw) ถูกนำมาหาส่วนประกอบทางเคมีด้วยวิธีของ National Renewable Energy Laboratory (NREL) ดังนี้ ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ (native rice straw) ขนาดน้อยกว่า 1.7 mm ถูกนำมาสกัดแบบต่อเนื่องด้วยน้ำเป็นเวลา 12 h และถูกสกัดต่อด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 12 h (รูปที่ 3.5) จากนั้นฟางข้าวที่ผ่านการสกัดแล้ว (extracted rice straw) จะถูกระเหยน้ำออกที่อุณหภูมิห้อง ก่อนเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท

ฟางข้าวที่ผ่านการสกัดแล้วและฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพถูกนำมาย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 72% (H_2SO_4) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 1 h จากนั้นเติมน้ำกลั่นเพื่อเจือจางกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้น 4% นำของผสมเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 1 h หลังจากผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อถูกนำมากรองด้วย gooch crucible ขนาดของรูพรุน (pore size) 13 μm เพื่อแยกของแข็งและของเหลว ส่วนที่เป็นของแข็งจะถูกทำให้เป็นกลางด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 4 h และนำไปเผาด้วยเตาเผา (furnace) ที่อุณหภูมิ 520°C เป็นเวลา 18 h เพื่อหาปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble lignin, AIL) และส่วนที่เป็นของเหลวจะถูกแบ่งเพื่อใช้หาปริมาณน้ำตาลและปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (acid soluble lignin, ASL) ซึ่งแสดงดังรูปที่ 3.4 สำหรับการหาปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ของเหลวถูกนำมาปรับสภาพให้เป็นกลาง (neutralization) ด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) จากนั้นนำไปหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (ion chromatography) สำหรับการหาปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (ASL) ของเหลวจะถูกนำไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 320 nm ภายในระยะเวลา 4 h



รูปที่ 3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ในขั้นตอนการหาค่าประกอบทางเคมี: (A) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave); (B) ตู้อบลมร้อน (hot air oven); (C) สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)



รูปที่ 3.5 การสกัดฟางข้าวแบบต่อเนื่องด้วยน้ำและเอทานอล

3.1.4 การย่อยสลายฟางข้าวด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis)

ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ (pretreated rice straw) ถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส (Cellic[®] Ctec2, Novozymes A/S, Denmark) ด้วยวิธีการของ NREL (Selig et al., 2008) ดังนี้ นำฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพปริมาณ 0.1 g ของปริมาณเซลลูโลสหรือปริมาณ 0.15 g ของน้ำหนักฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพใส่ลงใน glass scintillation vial จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรท (sodium citrate buffer) ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 4.8 ปริมาตร 5 ml จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (NaNO₂) ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 100 µl และเติมน้ำสะอาดให้ครบปริมาตรรวม 10 ml โดยคำนวณปริมาตรหลังจากเติมเอนไซม์ ตัวอย่างที่เตรียมเสร็จจะถูกนำไปบ่มด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (shaking incubator, KS4000 I control, IKA[®] Werke GmbH & Co. KG, Germany) (รูปที่ 3.6) ที่อุณหภูมิ 50°C ก่อนเติมเอนไซม์เซลลูเลส (60 FPU/g cellulose) จากนั้นบ่มต่อด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 h และ 48 h ตามลำดับ จากนั้นตัวอย่างถูกกรองแยกของแข็งและของเหลวด้วย nylon syringe filter ขนาดรูพรุน (pore size) 0.45 µm เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ ส่วนที่เป็นของเหลวถูกเก็บไว้ในหลอด microcentrifuge ภายใต้อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 3.6 การบ่มตัวอย่างด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (shaking incubator)

3.1.5 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส (Glucose analysis)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี ดังนี้ การวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี (ICS3000, Chromeleon(C) Dionex1996-2001, V.6.70 Buid 1820 software, CarboPac TM PA20 column, Electrochemical detector ED40, Thermoscientific, USA) ดังแสดงในรูปที่ 3.7 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 250 mM เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ด้วยอัตราการไหล 0.25 ml/min ปริมาตรตัวอย่าง 34 μ l ที่ อุณหภูมิของคอลัมน์ 30°C โดยผลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแสดงเป็นพื้นที่ใต้กราฟเพื่อใช้ในการคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างและปริมาณน้ำตาลกลูโคส



รูปที่ 3.7 การวิเคราะห์หาไอออน โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี (Ion chromatography)

3.1.6 การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ (Experiment design and statistic analysis)

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างจะใช้การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ที่มีปัจจัย 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และเวลาในการปรับสภาพ (X_3) ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้ (ดาริกา อวะภาค, นพรัตน์ มะเห และ คลฤดี พิษย์รัตน์, 2556)

- **การกำหนดระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง**

การกำหนดระดับปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยโดยพิจารณาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องสามารถกำหนดระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองมี 3 ระดับ คือระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ระดับของปัจจัยโดยการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behken

Factor/ Level	-1	0	1
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) (%)	1	3	5
อุณหภูมิ (X_2) (°C)	30	50	70
เวลาในการปรับสภาพ (X_3) (h)	1	2	3

- **การออกแบบการทดลอง (Experimental design)**

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าต่างๆจะใช้การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab 16.2.1 ซึ่งมีปัจจัย 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ สามารถออกแบบการทดลองได้ทั้งหมด 15 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สภาวะการปรับสภาพต่างๆ จากการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behken

Run order	Box-Behnken Experimental			Conc.(%)	Temp. (°C)	Time (h)
	X1	X2	X3			
1	0	0	0	3	50	2
2	-1	1	0	1	70	2
3	0	1	-1	3	70	1
4	1	0	1	5	50	3
5	-1	0	1	1	50	3
6	1	-1	0	5	30	2
7	1	0	-1	5	50	1
8	0	1	1	3	70	3
9	1	1	0	5	70	2
10	0	0	0	3	50	2
11	-1	0	-1	1	50	1
12	0	-1	-1	3	30	1
13	0	-1	1	3	30	3
14	-1	-1	0	1	30	2
15	0	0	0	3	50	2

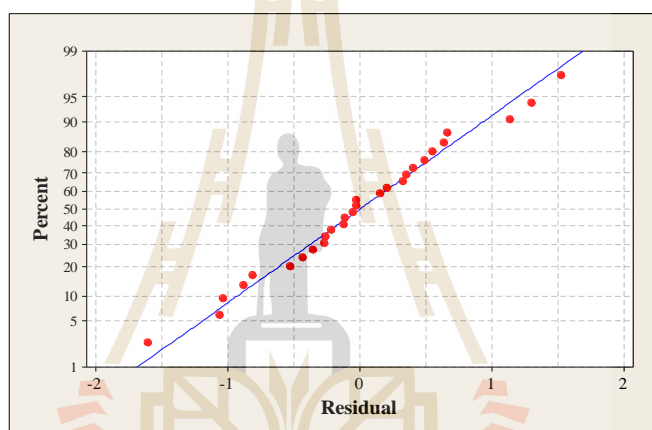
● การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic Analysis)

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสั้นใจ (R-square, R-Sq) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (คาริกา อวะภาค และคณะ, 2556)

- การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง (Diagnostics and adequacy checking) เป็นการตรวจสอบข้อมูลที่ไดจากการทดลองก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสั้นใจและวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยข้อมูลที่ได้จากการทดลองต้องเป็นไปตามสมมติฐาน 3 ข้อ คือ (1) ส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ (2) ค่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน และ(3) ค่าความแปรปรวนมีเสถียรภาพ ถ้าหากค่าส่วนตกค้างเป็นไปตาม

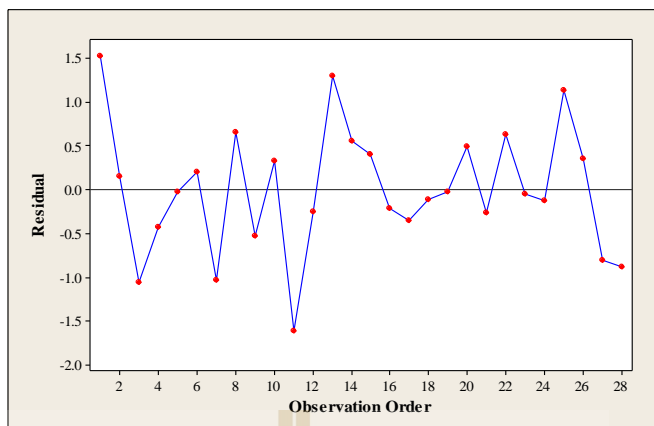
สมมติฐานทั้ง 3 ข้อ จะถือว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวน ซึ่งมีรายละเอียดของสมมติฐานดังต่อไปนี้

- **การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติของส่วนตกค้าง (Normal probability plot)** การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติของค่าส่วนตกค้างของข้อมูลโดยพิจารณาการกระจายของค่าส่วนตกค้างจากกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง หากค่าส่วนตกค้างมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงว่าค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ ดังแสดงในรูปที่ 3.8



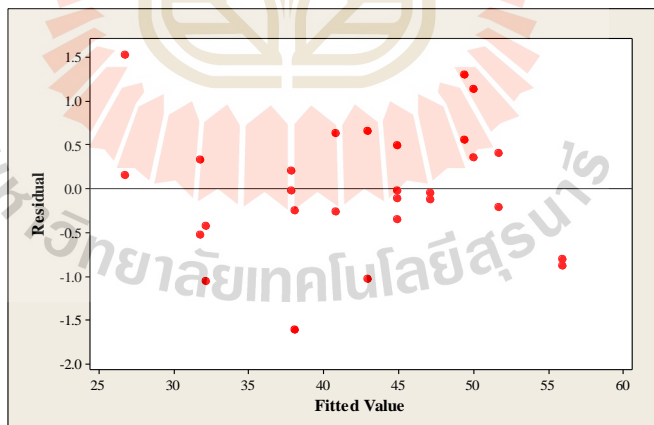
รูปที่ 3.8 ตัวอย่างกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง

- **การตรวจสอบความเป็นอิสระของส่วนตกค้าง (Independent)**
การตรวจสอบความเป็นอิสระของค่าส่วนตกค้างของข้อมูลโดยใช้แผนภูมิการกระจาย (Scatter plot) เพื่อสังเกตลักษณะการกระจายของจุดที่แทนข้อมูลบนแผนภูมิว่ามีรูปแบบอิสระหรือไม่ หากส่วนตกค้างไม่มีรูปแบบที่แน่นอนหรือไม่สามารถประมาณรูปแบบที่แน่นอนได้ มีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ แสดงว่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน (รูปที่ 3.9)



รูปที่ 3.9 ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างกับลำดับของข้อมูล

- การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวนของส่วนตกค้าง (Variance stability) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน โดยพิจารณาจากแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างในแต่ละระดับของปัจจัย หากส่วนตกค้างมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอทั้งทางบวกและทางลบแสดงว่าส่วนตกค้างมีความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 3.10)



รูปที่ 3.10 ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายส่วนตกค้างในแต่ละระดับปัจจัย

- การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R-square) เป็นการวิเคราะห์ว่าการออกแบบที่ใช้การทดลองมีความเหมาะสมหรือไม่ ซึ่งในการทดลองทุกครั้งจะต้องมีความผันแปรที่อธิบายไม่ได้หรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ การออกแบบการทดลองที่ดีจะต้องทำให้เกิดความผันแปรที่อธิบายไม่ได้ให้น้อยที่สุด โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3.1 (Hu, 1999)

$$\text{สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ} = \frac{\text{ความผันแปรที่อธิบายได้} \times 100}{\text{ความผันแปรทั้งหมด}} \quad (3.1)$$

- การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นการตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองโดยพิจารณาจากค่า p-value ของเทอมต่างๆ ในตารางของการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้เปรียบเทียบกับค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด

- การสร้างสมการทำนายตัวแปรต้นที่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เป็นการสร้างสมการทำนายตัวแปรตามที่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ รวมถึงสมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของตัวแปรตามดังกล่าวมาเขียนให้อยู่ในรูปแบบของสมการที่ 3.2 (ดาริกา อวะภาค และคณะ, 2556; น้ำฝน ไชยลังกา, นักรบ นาคประสม และ ฤทธิชัย อัสวราชันย์, 2556)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^N \beta_i X_i + \sum_{i=1}^N \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.2)$$

เมื่อ $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์

X_i คือ ตัวแปรต้นปัจจัยที่เป็นปัจจัยหลักในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่าง

Y คือ ตัวแปรตามที่มีอิทธิพลต่อการหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่าง

จากการสร้างสมการทำนายของตัวแปรตามที่กล่าวไปข้างต้น ซึ่งผ่านการวิเคราะห์ทางสถิติและความถูกต้องของข้อมูลแล้ว จึงนำผลการทดลองสามารถมาสร้างพื้นผิวผลตอบแทนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ได้

- **การสร้างพื้นผิวผลตอบแทนของปริมาณกลูแคนที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Response surface of glucan conversion, %)** เมื่อได้สมการสำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสแล้วจึงนำมาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบแทน (response surface plot) และกราฟโครงร่าง (contour plot) ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้เทียบกับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง คือ ความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab

- **การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (Optimization of alkali pretreatment)** การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าวที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสและวัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (Composite desirability, D) โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab ซึ่งค่าความพึงพอใจของผลตอบมีค่าระหว่าง 0-1 ซึ่งถ้าค่า D มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ผลตอบนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ (ดารีกา อวะภาค และคณะ, 2556)

3.1.7 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ (Physicochemical changes)

- **โครงสร้างระดับจุลภาคของฟางข้าว (Microstructure of rice straw)**

ฟางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมาวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) รุ่น JSM 6010 LV (JEOL, Tokyo, Japan) (รูปที่ 3.11) ซึ่งทำการเตรียมตัวอย่างโดยนำมาผ่านการเคลือบด้วยทองคำก่อนจากนั้นเข้าเครื่อง ซึ่งทำงานภายใต้เงื่อนไขโดยที่ใช้โหมดแสง SEI ระดับพลังงาน 10-12 kV และระดับกำลังขยายของภาพเท่ากับ 100-500X



รูปที่ 3.11 กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) รุ่น JSM 6010LV

- **พื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน (Surface area pore size and zeta pore volume distribution analysis)**

พางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมาวิเคราะห์พื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโนด้วยเครื่องวิเคราะห์พื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน (Surface area Pore size and Zeta Pore Volume Distribution analyzer, BET) รุ่น Bel Sorp mini II (BEL Japan, Osaka, Japan) (รูปที่ 3.12) ตัวอย่างจะถูกนำไปลดปริมาณแก๊สในตัวอย่าง (degas) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 h จากนั้นนำเข้าเครื่อง BET ซึ่งทำงานภายใต้เงื่อนไขโดยที่ใหตัวอย่างมีการดูดซับแก๊สไนโตรเจน (N_2) ที่อุณหภูมิ 77 K



รูปที่ 3.12 เครื่องวิเคราะห์พื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน

- การวิเคราะห์ความเป็นผลึกการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (Crystallinity analysis by X-ray diffraction, XRD)

พางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมาบดให้ละเอียดก่อนนำมาวิเคราะห์ความเป็นผลึกการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ด้วยเครื่อง Powder X-ray Diffraction (XRD) รุ่น XRD - D2 phaser (Bruker, USA) (รูปที่ 3.13) ตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องภายใต้เงื่อนไขที่ ช่วงของมุมที่ใช้งานในมุม 2 θ มีค่าตั้งแต่ 5-50 องศา โดยที่ 1 องศา / นาที ที่กระแสไฟฟ้า 30 kV และ 10 mA และความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์ (CuK α radiation) 0.154 nm (1.54 $^{\circ}$ A)



รูปที่ 3.13 เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

• การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงของสาร ในช่วงอินฟราเรด (FTIR characterization)

ฟางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมาบดให้ละเอียดก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงของสาร ในช่วงอินฟราเรด (Fourier Transform Infrared spectrophotometer, FTIR) รุ่น Tensor 27/Hyp2000 (Bruker, USA) (รูปที่ 3.14) ตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องภายใต้เงื่อนไขที่จำนวนคลื่นระหว่าง $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ที่ความละเอียด 4 cm^{-1} และจำนวนการสแกน 30 สแกน นอกจากนี้สามารถดูลักษณะของจำนวนคลื่นที่แสดงแถบของการดูดกลืนแสง FTIR ของวัสดุชีวมวลได้ดังแสดงในตารางที่ 3.3



รูปที่ 3.14 เครื่องวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงอินฟราเรด รุ่น Tensor 27/Hyp2000

ตารางที่ 3.3 แถบการดูดกลืนแสง FTIR ในการศึกษาชีวมวล

Wave number (cm^{-1})	Assignment/functional group	Polymer
875	Glycosidic linkage	Hemicellulose ^a
930	Glycosidic linkage	Cellulose, hemicellulose ^a
990	C-O valence vibration	Cellulose ^b
1035	C-O, C=C, and C-C-O stretching	Cellulose, hemicellulose, lignin ^a

ตารางที่ 3.3 แถบการดูดกลืนแสง FTIR ในการศึกษาชีวมวล (ต่อ)

Wave number (cm ⁻¹)	Assignment/functional group	Polymer
1160	C-C-O asymmetrical stretching	Cellulose, hemicellulose ^a
1200	O-H bending	Cellulose, hemicellulose ^a
1215	C-C + C-O stretch	Lignin (wood) ^c
1270	Aromatic ring vibration	Guaicyl lignin ^a
1280	C-H bending	Crystalline cellulose ^a
1310	CH ₂ wagging	Cellulose, hemicellulose ^a
1327	C-O of syringl ring	Lignin (wood) ^c
1335	C-H vibration, O-H in plane bending	Cellulose, hemicellulose, lignin ^a
1380	C-H bending	Cellulose, hemicellulose, lignin ^a
1425	C-H in plane deformation	Lignin (wood) ^c
1440	O-H in plane bending	Cellulose, hemicellulose, lignin ^a
1465	C-H deformation	Lignin ^a
1500	Aromatic ring vibration	Lignin ^a
1595	Aromatic ring vibration + C=O stretch	Lignin ^a
1682	C=O stretching (unconjugated)	Lignin (wood) ^c
1730	Ketone/aldehyde C=O stretch	Hemicellulose ^a
1750	Free ester	Hemicellulose ^a
2840, 2937	C-H stretching	Lignin (wood) ^c
3421	O-H stretching	Lignin (wood) ^c

^a adapted from Sills and Gossett, 2012; ^b Schwanninger et al., 2004; ^c Kubo et al., 2005.

- การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric Analysis)

ฟางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสาร โดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric Analysis, TGA) รุ่น TGA/DSC 1 STAR^o System (Mettler Toledo, Switzerland) (รูปที่ 3.15) นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความร้อนภายในบรรยากาศก๊าซไนโตรเจนที่อัตราการไหล 10-20 ml/min ซึ่งภายใต้เงื่อนไขโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิตั้งแต่ 25-800°C โดยที่อัตราการให้ความร้อนคงที่ 20°C /min



รูปที่ 3.15 เครื่องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสาร โดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน

3.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง (Sequential alkali pretreatment of rice straw)

การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างสามารถทำลายพันธะทางเคมีระหว่าง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ โดยเฮมิเซลลูโลสและลิกนินจะถูกกำจัดออกหลังจากการปรับสภาพ ส่วนเซลลูโลสยังคงเป็นองค์ประกอบหลักของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ อย่างไรก็ตามฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพยังคงมีลิกนินที่แทรกตัวอยู่ระหว่างสายเซลลูโลส ซึ่งทำให้การทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสถูกจำกัดได้ (Moister, 2005) ทั้งนี้จากผลการทดลองการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างที่แสดงในตารางที่ 4.13 พบว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 85% หากลิกนินเป็นปัจจัยสำคัญในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการเข้าถึงซับริสเทท

(เซลลูโลส) ดังนั้นการกำจัดลิกนินที่ยังคงแทรกตัวอยู่ระหว่างสายเซลลูโลสออกไป อาจมีผลทำให้ เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดลองการปรับสภาพฟางข้าว ด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง กล่าวคือ ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างจะถูกนำมาย่อยสลายกลูแคน ด้วยเอนไซม์ในระยะเวลาที่กำหนด จากนั้นของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะถูก นำมาปรับสภาพด้วยด่างอีกครั้งและถูกนำไปย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ในระยะเวลาที่กำหนด

ฟางข้าวถูกปรับสภาพด้วยสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยด่าง จากนั้นนำมาย่อย สลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธีการของ NREL (Selig et al., 2008) ซึ่งแบ่งระยะเวลาออกเป็น 3 ส่วน คือ

3.2.1 ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนื่องด้วยสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นเวลา 24 h โดยของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลายถูก นำมาปรับสภาพด้วยด่างที่สภาวะเดิมและถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h

3.2.2 ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนื่องด้วยสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นฟางถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นเวลา 48 h โดยของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลาย ถูกนำมาปรับสภาพด้วยด่างที่สภาวะเดิมและถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h

3.2.3 ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างด้วยสภาวะที่เหมาะสมจากนั้นฟาง ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นเวลา 72 h

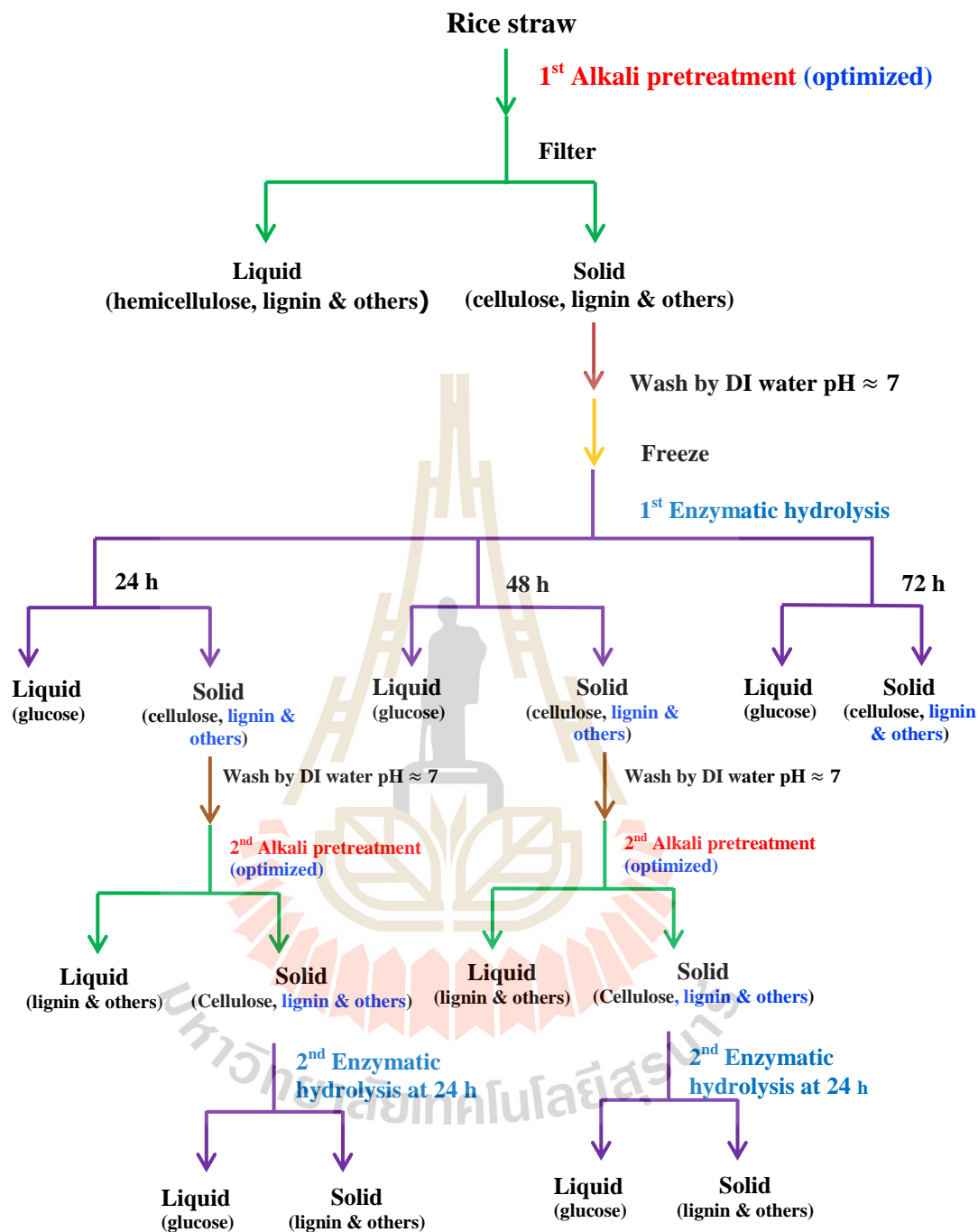
หลังจากการปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนื่องและผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส สามารถนำตัวอย่างมาผ่านการกรองสามารถแยกออกเป็นของแข็งและของเหลว ซึ่งส่วนที่เป็น ของเหลวจะถูกเก็บไว้ในหลอด microcentrifuge ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลกลูโคสในขั้นตอนต่อไป สำหรับวิธีการทดลองสามารถอธิบายดังแสดงในรูปที่ 3.16

3.3 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยกับไมโครเวฟร่วมกับด่าง (Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw)

การใช้คลื่นไมโครเวฟเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถทำให้เกิดความร้อนภายในวัตถุดิบได้ อย่างรวดเร็วและทำให้โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสแตกออก ส่งผลให้ลิกนินที่แทรกตัวอยู่ใน โครงสร้างระหว่างสายเซลลูโลสถูกแยกออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้คลื่นไมโครเวฟยังช่วย ลดระยะเวลาของการปรับสภาพซึ่งทำให้อุณหภูมิการทำลายเซลลูโลสลดลงอีกด้วย ดังนั้นจึงทำการศึกษา การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างร่วมกับไมโครเวฟเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายเซลลูโลส ด้วยเอนไซม์ ทั้งนี้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์จากฟางข้าวที่

ถูกปรับสภาพด้วยด่างร่วมกับไมโครเวฟจะถูกนำมาเปรียบเทียบการปรับสภาพทางข้าวด้วยด่างขั้นต่อไป

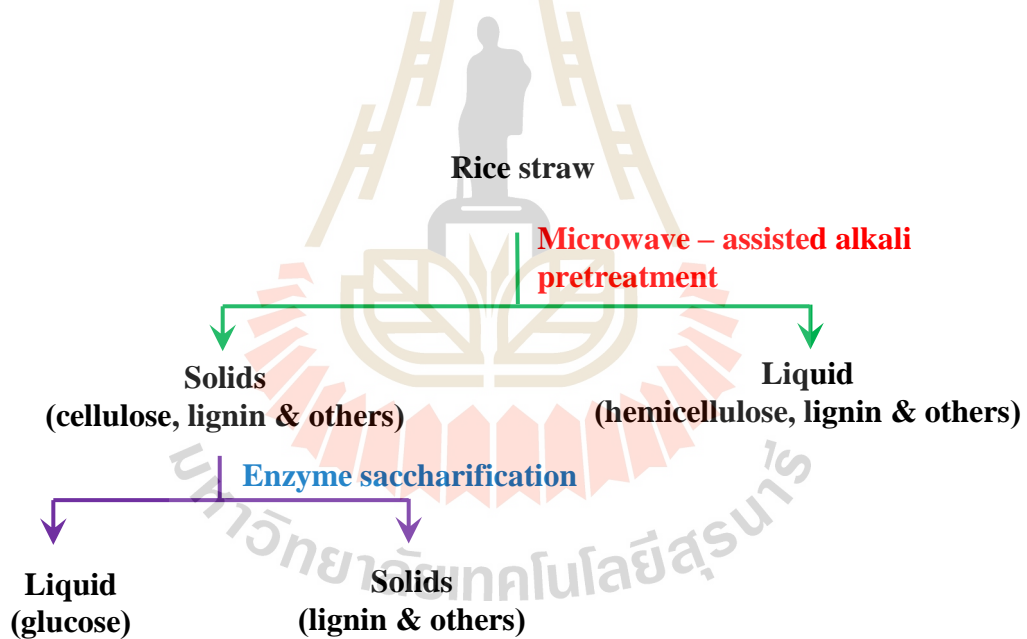
ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ (native rice straw) ขนาดน้อยกว่า 1.7 mm ถูกแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 % ตามลำดับ (3% solid loading) จากนั้นนำมาบ่มใน water bath เป็นเวลา 10 min เมื่อครบเวลาดำหนดของผสมจะถูกนำมาปรับสภาพด้วยเครื่องย่อยไมโครเวฟร่วมกับด่าง โดยใช้เครื่องไมโครเวฟ รุ่น Multiwave 3000 SOLV (Anton Paar, Austria) (รูปที่ 3.17) ที่กำลังไมโครเวฟ 400 และ 800 W ตามลำดับ เป็นเวลา 10 min จากนั้นของผสมถูกนำมากรองด้วย gooch crucible ขนาดรูพรุน (pore size) 13 μm สามารถแยกออกเป็นของแข็งและของเหลว ซึ่งส่วนที่เป็นของแข็ง คือ ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ (pretreated rice straw) ถูกทำให้เป็นกลาง (neutralized) ด้วยน้ำสะอาดและผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) จากนั้นนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธีการของ NREL (Selig et al., 2008) โดยส่วนที่เป็นของเหลวเก็บไว้ในหลอด microcentrifuge ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสในขั้นตอนต่อไป สำหรับวิธีการทดลองสามารถอธิบายดังแสดงในรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.16 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าต่างๆต่อเนื่อง



รูปที่ 3.17 เครื่องย่อยด้วยไมโครเวฟ Anton Paar



รูปที่ 3.18 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง

บทที่ 4

ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ผล

ในบทนี้กล่าวถึงรายละเอียดของผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างโดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบ เพื่อสร้างสมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ โดยผลการศึกษาประกอบด้วย การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี การวิเคราะห์ทางเคมีกายภาพ การวิเคราะห์ทางสถิติของตัวแปรต้นที่มีผลต่อการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างและการปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง ซึ่งแสดงข้อมูลที่ได้อ้างต่อไปนี้

4.1 การหาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง (Optimization of alkali pretreatment of rice straw)

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว (Chemical composition of rice straw)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (%dry weight)

Biomass	Composition (%)				
	Glucan	Xylan	Lignin	Ash	Extractives
Rice straw	34.4 ± 1.3	18.3 ± 2.9	13.5 ± 0.1	15.8 ± 0.1	12.2 ± 2.0

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวพบว่า ฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) มีปริมาณกลูแคน (glucan) ไชแลน (xylan) ลิกนิน (lignin) เถ้า (ash) และ extractives เท่ากับ 34.4, 18.3, 13.5, 15.8 และ 12.2% ตามลำดับ ผลการทดลองนี้จึงสอดคล้องกับผลงานวิจัยของนักวิจัยหลายท่าน เช่น งานวิจัยของ Kim and Han (2012) ซึ่งได้รายงานว่ามีปริมาณกลูแคน ไชแลน และลิกนิน โดยเฉลี่ยเท่ากับ 36.5, 20.8 และ 16.9% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Deng, Wang, Zhang, and Ma (2007) และ Arpathsara Sangnark and Athapol Noomhorm (2004) พบว่าฟางข้าวมีปริมาณกลูแคนเฉลี่ยสูงถึง 44.0% ปริมาณ ไชแลน และลิกนินเฉลี่ย 20.1-26.0% และ 18.0-19.0% ตามลำดับ ทั้งนี้วิธีการทดลองและวัตถุดิบเริ่มต้นของ

แต่ละงานวิจัยอาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งส่งผลให้ปริมาณส่วนประกอบทางเคมีของฟางข้าวนั้นมีความแตกต่างกันไปด้วย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากฟางข้าวหลังการปรับสภาพด้วย

ค่า

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Removal (%)		
			Solid	Lignin	Glucan
3.0	50.0	2.0	44.7 ± 0.2	47.0 ± 0.0	13.8 ± 0.0
1.0	70.0	2.0	42.8 ± 1.2	45.6 ± 1.1	7.4 ± 2.6
3.0	70.0	1.0	50.4 ± 0.5	58.3 ± 0.3	18.5 ± 0.7
5.0	50.0	3.0	50.8 ± 0.5	55.0 ± 1.3	18.7 ± 3.3
1.0	50.0	3.0	38.0 ± 0.2	32.7 ± 5.6	8.8 ± 4.6
5.0	30.0	2.0	41.1 ± 0.6	44.4 ± 1.6	17.3 ± 4.7
5.0	50.0	1.0	47.0 ± 0.1	46.7 ± 0.6	18.7 ± 3.5
3.0	70.0	3.0	51.8 ± 0.4	65.1 ± 0.2	19.4 ± 1.4
5.0	70.0	2.0	55.3 ± 0.1	65.0 ± 0.3	18.3 ± 3.1
3.0	50.0	2.0	45.1 ± 0.4	47.0 ± 0.0	13.8 ± 0.0
1.0	50.0	1.0	31.4 ± 0.5	28.0 ± 2.9	4.0 ± 1.7
3.0	30.0	1.0	31.7 ± 0.6	32.2 ± 4.6	3.9 ± 4.8
3.0	30.0	3.0	37.2 ± 1.0	39.2 ± 1.5	13.7 ± 0.2
1.0	30.0	2.0	27.6 ± 1.0	20.1 ± 6.1	1.8 ± 2.3

ฟางข้าวถูกผ่านการปรับสภาพด้วยค่าที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1-5% อุณหภูมิ 30-70°C เป็นเวลา 1-3 h จากนั้นถูกนำมาย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) ความเข้มข้น 72% อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 1 h สามารถหาปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยค่า แสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 27.6-55.3%, 20.1-65.1% และ 3.9-19.4% ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่าปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกแปรผัน โดยตรงกับระดับความรุนแรงของสภาวะในการปรับสภาพ ทั้งนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Kim and Han (2012) และ Ko et al. (2009) ซึ่งได้รายงานว่าการเพิ่มระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพด้วยค่า เช่น การเพิ่มความเข้มข้น

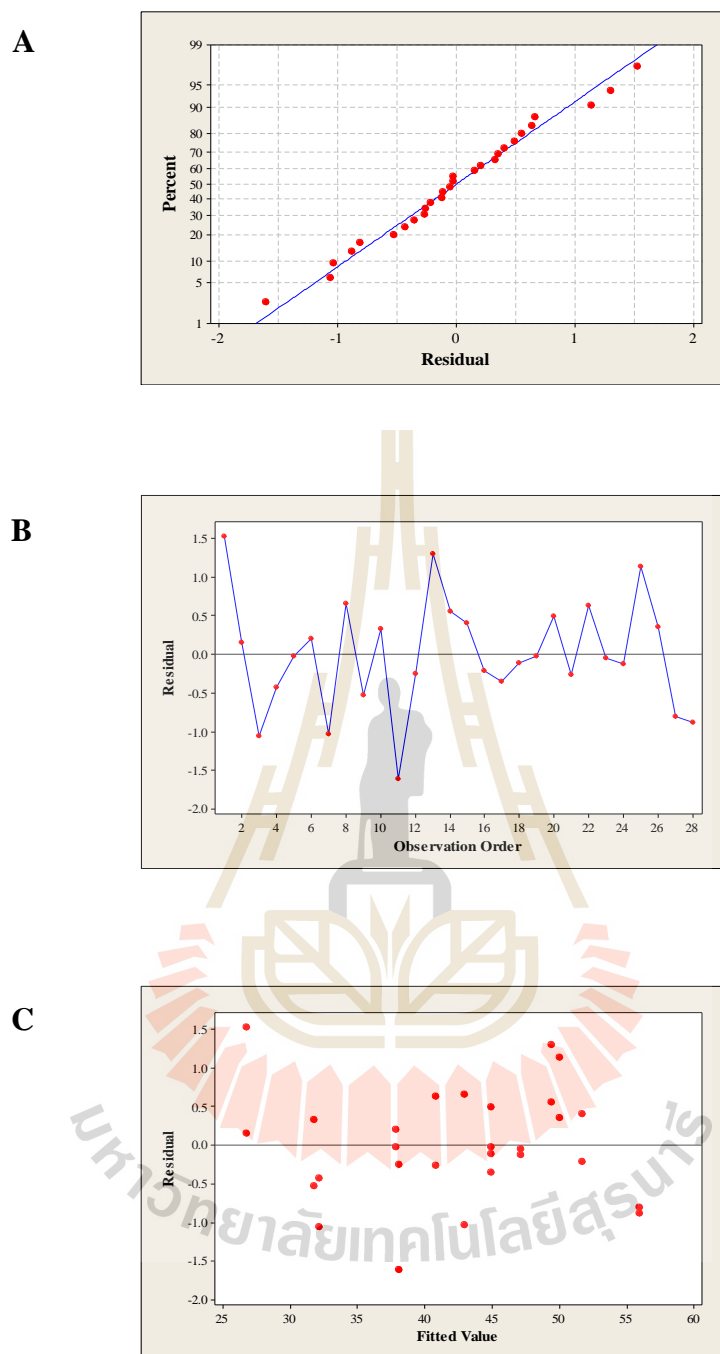
ของต่าง เป็นต้น ส่งผลให้ลิกนินถูกกำจัดออกได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่างที่มีความเข้มข้นปานกลาง อุณหภูมิสูงและเวลานานสามารถกำจัดลิกนิน ออกไปได้มากขึ้นเช่นกัน นอกจากนี้ Zhu et al. (2006) ได้ศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่างที่มีความเข้มข้นเท่ากัน พบว่าเวลามีผลต่อการกำจัดลิกนินออกด้วย จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสภาวะการปรับสภาพที่มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นมีผลต่อการกำจัดปริมาณของแข็ง ลิกนินและกลูแคน

4.1.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical Analysis)

ผลจากการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างถูกนำมาตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลว่ามีความเหมาะสมหรือไม่ด้วยการวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลอง หากข้อมูลมีความเหมาะสมจึงนำมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-Square, R-Sq) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ต่อไป โดยการตรวจสอบคุณภาพข้อมูลมีเงื่อนไข 3 ข้อ คือ (1) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ หากค่าส่วนตกค้างมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรงแสดงว่าค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ (2) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล หากส่วนตกค้างไม่มีรูปแบบที่แน่นอนหรือไม่สามารถประมาณรูปแบบที่แน่นอนได้ และมีการกระจายสม่ำเสมอ แสดงว่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน และ (3) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน หากส่วนตกค้างมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอทั้งทางบวกและทางลบ แสดงว่าส่วนตกค้างมีความเสถียรของความแปรปรวน (ดาริกา อวะภาค, นพรัตน์ มะเห และ ดลฤดี พิษัยรัตน์, 2556)

- ปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก (Solid removal, %)

การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก (Diagnostics and adequacy checking of solid removal)



รูปที่ 4.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณของแข็งที่ถูกลำจัดออก: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน

จากการตรวจสอบความถูกต้องแบบจำลองของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัด ออก ดังแสดงใน รูปที่ 4.1 พบว่า ส่วนตกค้างของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นไปตามเงื่อนไขทั้ง 3 ข้อ คือ การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (รูปที่ 4.1A) การตรวจสอบความเป็นอิสระของ ข้อมูล (รูปที่ 4.1B) และ การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 4.1C) แสดงให้เห็น ว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์หาค่า สัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวนต่อไป (ดารีกา อวะภาค และคณะ, 2556)

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R-square)

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกไป

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	44.91	0.44	101.26	0.000
Concentration	6.78	0.22	30.55	0.000
Temperature	7.81	0.22	35.23	0.000
Time	2.15	0.22	9.71	0.000
Concentration*Concentration	-2.11	0.35	-6.01	0.000
Temperature*Temperature	-1.16	0.35	-3.30	0.004
Time*Time	-1.01	0.35	-2.88	0.010
Concentration*Temperature	-0.26	0.31	-0.83	0.416
Concentration*Time	-0.70	0.31	-2.24	0.038
Time*Temperature	-1.02	0.31	-3.27	0.004

S = 0.88, R-Sq = 99.23%, R-Sq (adj) = 98.85%

จากการวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจในตารางที่ 4.3 พบว่า ค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 99.23% แสดงให้เห็นว่า ตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 99.23% และสามารถนำแบบจำลองมาสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม นอกจากนี้ตัวแปรต้นดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสามารถนำแบบจำลองไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าปริมาณ

ของแข็งที่ถูกกำจัดออกได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สมการทำนายแสดงดัง
สมการที่ 4.1

สมการทำนายปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก

$$\%Y_s = -13.294 + 7.578 X_1 + 0.802 X_2 + 9.796 X_3 - 0.527 X_1^2 - 0.003 X_2^2 - 1.008 X_3^2 - 0.007 X_1 X_2 - 0.351 X_1 X_3 - 0.051 X_2 X_3 \quad (4.1)$$

เมื่อ Y_s คือ ปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก (%)

X_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (%)

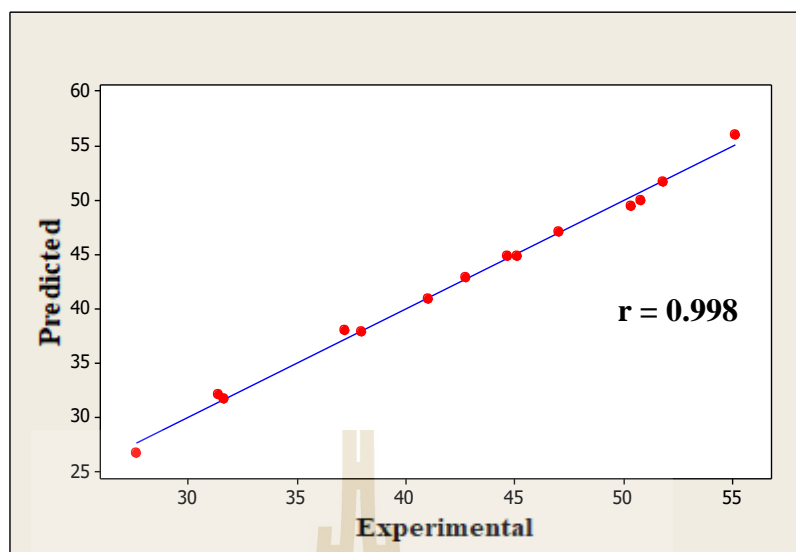
X_2 คือ อุณหภูมิ (°C)

X_3 คือ เวลา (h)

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกไป

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	1831.48	1831.48	203.50	258.67	0.000
Linear	3	1785.10	1785.10	595.04	756.36	0.000
Concentration	1	734.41	734.41	734.41	933.52	0.000
Temperature	1	976.56	976.56	976.56	1241.32	0.000
Time	1	74.13	74.13	74.13	94.23	0.000
Square	3	33.51	33.51	11.17	14.20	0.000
Concentration*Concentration	1	20.94	28.44	28.44	36.15	0.000
Temperature*Temperature	1	6.07	8.55	8.55	10.86	0.004
Time*Time	1	6.50	6.50	6.50	8.27	0.010
Interaction	3	12.86	12.86	4.29	5.45	0.008
Concentration*Temperature	1	0.55	0.55	0.55	0.69	0.416
Concentration*Time	1	3.93	3.93	3.93	5.00	0.038
Temperature*Time	1	8.38	8.38	8.39	10.66	0.004
Residuals Error	18	14.16	14.16	0.79		
Lack-of-Fit	3	8.72	8.72	2.91	8.02	0.002
Pure Error	15	5.44	5.44	0.36		
Total	27	1845.64				



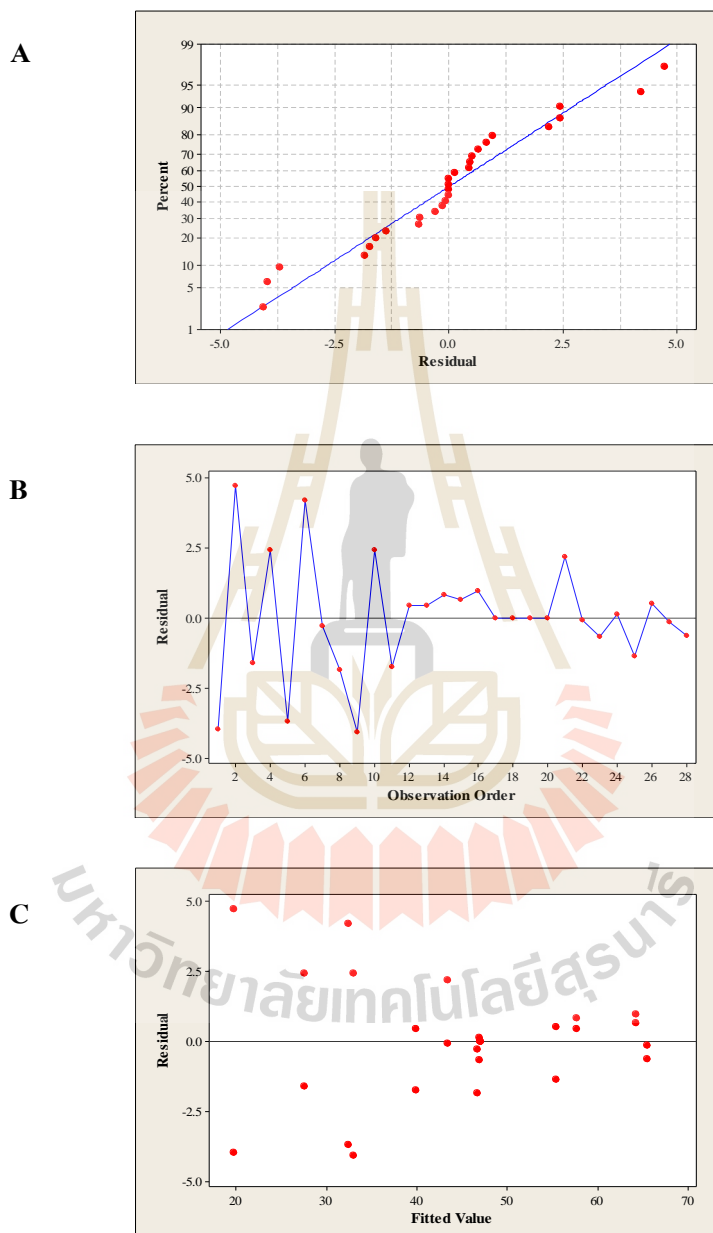
รูปที่ 4.2 กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าค่า p-value ของตัวแปรต้นโดยส่วนใหญ่มีอิทธิพลต่อปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ตัวแปรต้นดังกล่าวยังมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่พื้นผิวผลตอบ (ดารีกา อวะภาค และคณะ, 2556) และในเทอมอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก ทั้งนี้เมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) ซึ่งจะพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.002 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทางคณิตศาสตร์ที่ได้ไม่สมรूपกับข้อมูล ใดๆก็ตามเมื่อทำการยืนยันแบบจำลอง โดยเปรียบเทียบปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่ามีค่าความคลื่อนน้อยกว่า 5% ดังนั้นสมการข้างต้นสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกได้ (สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และ ภูมินทร์ แจ่มเชื้อ, 2554) นอกจากนี้จากรูปที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริงและจากการทำนาย พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.998 ซึ่งหมายความว่า ปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออกที่ได้จากการทดลองจริงและจากการทำนายมีความสัมพันธ์กันในระดับดีมาก (อโนทัย ตรีวานิช, 2551)

ตารางที่ 4.5 การยืนยันแบบจำลองเปรียบเทียบปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Solid removal (%)		Error (%)
			Experimental	Predicted	
3.0	50.0	2.0	44.7	44.9	0.5
1.0	70.0	2.0	42.8	42.9	0.4
3.0	70.0	1.0	50.4	49.4	1.9
5.0	50.0	3.0	50.8	50.0	1.5
1.0	50.0	3.0	38.0	37.9	0.2
5.0	30.0	2.0	41.1	40.9	0.5
5.0	50.0	1.0	47.0	47.1	0.2
3.0	70.0	3.0	51.8	51.7	0.2
5.0	70.0	2.0	55.1	56.0	1.5
3.0	50.0	2.0	45.1	44.9	0.5
1.0	50.0	1.0	31.4	32.2	2.4
3.0	30.0	1.0	31.7	31.8	0.3
3.0	30.0	3.0	37.2	38.1	2.5
1.0	30.0	2.0	27.6	26.8	3.1

- ปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก (Lignin removal, %)
การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก (Diagnostics and adequacy checking of lignin removal)



รูปที่ 4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน

จากการตรวจสอบความถูกต้องแบบจำลองของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัด ออก ดังแสดงในรูปที่ 4.3 พบว่า ส่วนตกค้างของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นไปตามเงื่อนไขทั้ง 3 ข้อ คือ การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (รูปที่ 4.3A) การตรวจสอบความเป็นอิสระของ ข้อมูล (รูปที่ 4.3B) และ การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 4.3C) แสดงให้เห็น ว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์หาค่า สัมประสิทธิ์ของการตัดสั่นใจและวิเคราะห์ความแปรปรวนต่อไป

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสั่นใจ (Coefficient of determination, R-square)

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกไป

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	47.02	1.27	36.90	0.000
Concentration	10.59	0.64	16.62	0.000
Temperature	12.26	0.64	19.24	0.000
Time	3.34	0.64	5.24	0.000
Concentration*Concentration	-5.64	1.01	-5.60	0.000
Temperature*Temperature	2.45	1.01	2.43	0.026
Time*Time	-0.77	1.01	-0.76	0.456
Concentration*Temperature	-1.21	0.90	-1.34	0.197
Concentration*Time	0.90	0.90	1.00	0.330
Time*Temperature	-0.06	0.90	-0.07	0.948

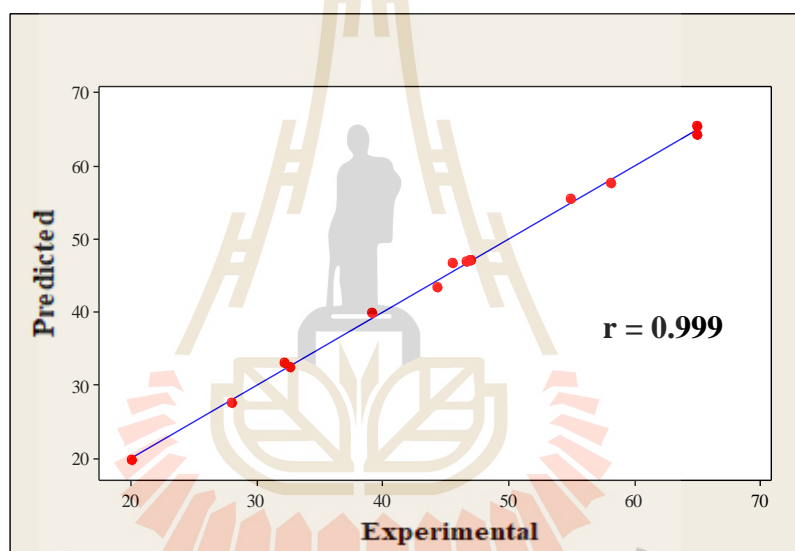
S = 2.55, R-Sq = 97.57%, R-Sq (adj) = 96.35%

จากการวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสั่นใจในตารางที่ 4.6 พบว่า ค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 97.57% แสดงให้เห็นว่า ตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 97.57% และสามารถนำแบบจำลองมาสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม นอกจากนี้ตัวแปรต้นดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสามารถนำแบบจำลองไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สมการทำนายแสดงดังสมการที่ 4.2

สมการทำนายปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก

$$\begin{aligned} \%Y_1 = & - 8.78 + 14.367 X_1 + 0.097 X_2 + 5.209 X_3 - 1.411 X_1^2 + 0.006 X_2^2 - 0.768 X_3^2 - 0.030 X_1X_2 \\ & + 0.451 X_1X_3 - 0.003 X_2X_3 \end{aligned} \quad (4.2)$$

เมื่อ	Y_1	คือ ปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก (%)
	X_1	คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (%)
	X_2	คือ อุณหภูมิ (°C)
	X_3	คือ เวลา (h)



รูปที่ 4.4 กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก

จากตารางที่ 4.7 นำผลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 พบว่า ค่า p-value ของตัวแปรต้น โดยส่วนใหญ่มีอิทธิพลต่อปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ตัวแปรต้นดังกล่าวยังมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่พื้นผิวผลตอบ (ดารีกา อะระภาค และคณะ, 2556) และในทอมกำลังสองของเวลาและทอมอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และเวลา อีกทั้งอุณหภูมิและเวลานั้น ไม่มีผลต่อปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก ทั้งนี้เมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) ซึ่งพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.701 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทางคณิตศาสตร์ที่ได้มีความสมบูรณ์

กับข้อมูล หมายความว่า สมการที่ได้เพียงพอต่อการทำนายปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก และเมื่อทำการยืนยันแบบจำลองโดยเปรียบเทียบปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่ามีค่าความคลื่อนน้อยกว่า 5% ดังนั้นสมการข้างต้นมาใช้ในการทำนายปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกได้ (สมเกียรติ ตั้งจิตตติเจริญ และคณะ, 2554) นอกจากนี้รูปที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกของค่าที่ได้จากการทดลองจริงและการจากทำนาย พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.999 หมายความว่าปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกที่ได้จากการทดลองและการทำนายมีความสัมพันธ์กันในระดับดีมาก (อโนทัย ตรีวานิช, 2551)

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

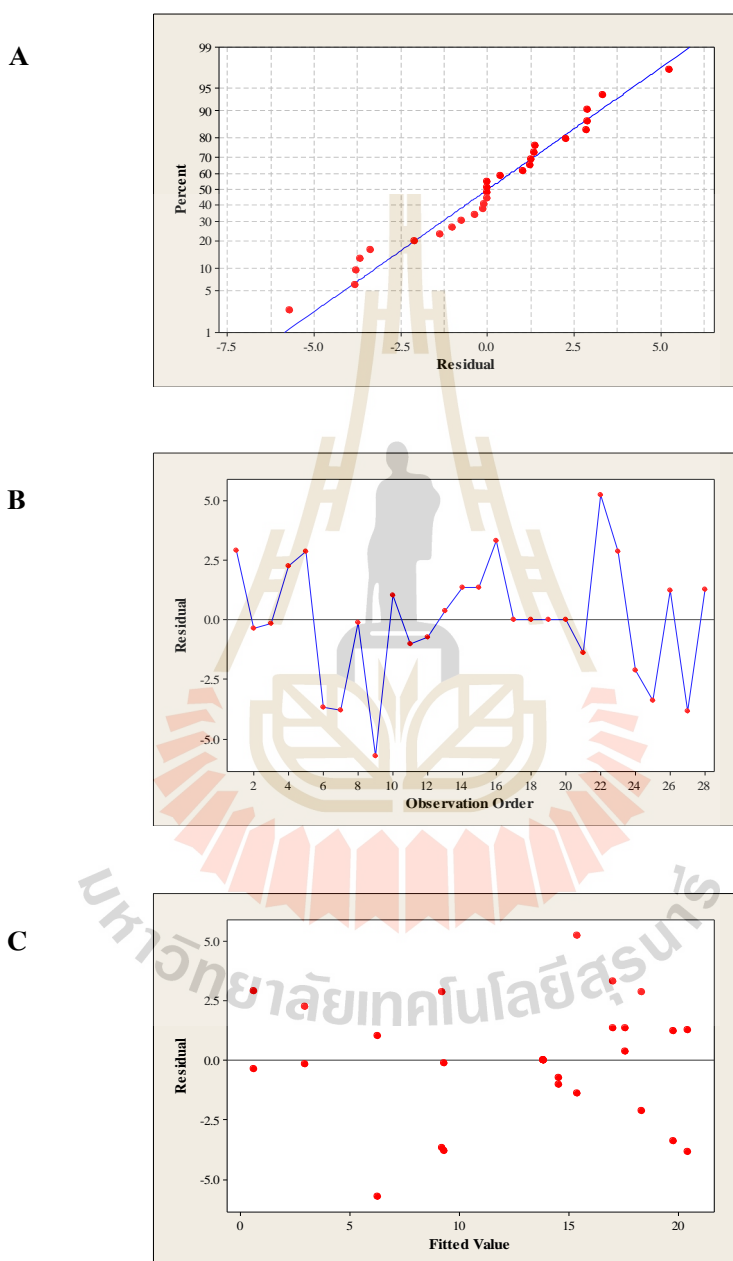
ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกไป

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	4685.09	4685.09	520.57	80.14	0.000
Linear	3	4377.32	4377.32	1459.11	224.64	0.000
Concentration	1	1794.16	1794.16	1794.16	276.22	0.000
Temperature	1	2404.68	2404.68	2404.68	370.22	0.000
Time	1	178.49	178.49	178.49	27.48	0.000
Square	3	289.58	289.58	96.53	14.86	0.000
Concentration*Concentration	1	240.67	203.90	203.90	31.39	0.000
Temperature*Temperature	1	45.13	38.36	38.36	5.91	0.026
Time*Time	1	3.78	3.78	3.78	0.58	0.456
Interaction	3	18.19	18.19	6.06	0.93	0.445
Concentration*Temperature	1	11.64	11.64	11.64	1.79	0.197
Concentration*Time	1	6.52	6.52	6.52	1.00	0.330
Temperature*Time	1	0.03	0.03	0.03	0.00	0.948
Residuals Error	18	116.92	116.92	6.50		
Lack-of-Fit	3	10.24	10.24	3.41	0.48	0.701
Pure Error	15	106.67	106.67	7.11		
Total	27	4802.00				

ตารางที่ 4.8 การยืนยันแบบจำลองปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Lignin removal (%)		Error (%)
			Experimental	Predicted	
3.0	50.0	2.0	47.0	47.0	0.0
1.0	70.0	2.0	45.6	46.7	2.3
3.0	70.0	1.0	58.2	57.7	0.9
5.0	50.0	3.0	55.0	55.4	0.8
1.0	50.0	3.0	32.7	32.5	0.8
5.0	30.0	2.0	44.4	43.4	2.4
5.0	50.0	1.0	46.7	47.0	0.6
3.0	70.0	3.0	65.1	64.2	1.3
5.0	70.0	2.0	65.1	65.5	0.6
3.0	50.0	2.0	47.0	47.0	0.0
1.0	50.0	1.0	28.0	27.6	1.5
3.0	30.0	1.0	32.2	33.0	2.5
3.0	30.0	3.0	39.2	39.8	1.6
1.0	30.0	2.0	20.1	19.8	1.8

- ปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก (Glucan removal, %)
การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัด
ออก (Diagnostics and adequacy checking of glucan removal)



รูปที่ 4.5 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน

จากการตรวจสอบความถูกต้องแบบจำลองของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัด ออก ดังแสดงในรูปที่ 4.5 พบว่าส่วนตกค้างของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นไปตามเงื่อนไขทั้ง 3 ขั้นตอน คือ การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (รูปที่ 4.5A) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล (รูปที่ 4.5B) และ การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 4.5C) แสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวนต่อไป

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R-square)

ตารางที่ 4.9 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกไป

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	13.83	1.54	8.99	0.000
Concentration	6.49	0.77	8.43	0.000
Temperature	3.45	0.77	4.48	0.000
Time	1.93	0.77	2.50	0.022
Concentration*Concentration	-1.86	1.22	-1.53	0.143
Temperature*Temperature	-0.55	1.22	-0.45	0.657
Time*Time	0.57	1.22	0.47	0.647
Concentration*Temperature	-0.91	1.09	-0.84	0.413
Concentration*Time	-1.21	1.09	-1.11	0.282
Time*Temperature	-2.21	1.09	-2.03	0.058

S = 3.08, R-Sq = 85.54%, R-Sq (adj) = 78.31%

จากการวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจในตารางที่ 4.9 พบว่าค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 85.54% แสดงให้เห็นว่าตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 85.54% และสามารถนำแบบจำลองมาสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม นอกจากนี้ตามตัวแปรต้นดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และสามารถนำแบบจำลองไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สมการทำนายแสดงดังสมการที่ 4.3

สมการทำนายปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก

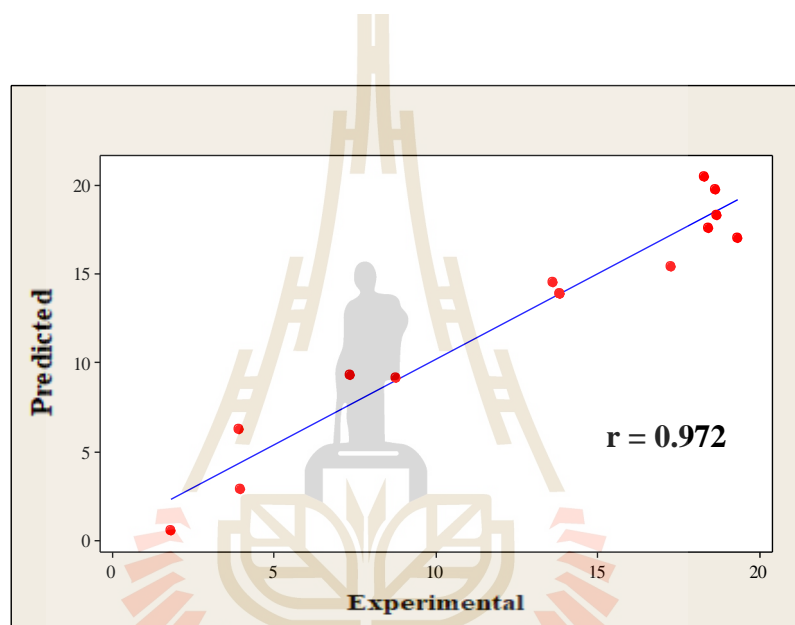
$$\%Y_g = -31.803 + 8.385 X_1 + 0.599 X_2 + 6.979 X_3 - 0.466 X_1^2 - 0.001 X_2^2 + 0.5675 X_3^2 - 0.023 X_1 X_2 - 0.603 X_1 X_3 - 0.110 X_2 X_3 \quad (4.3)$$

เมื่อ Y_g คือ ปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก (%)

X_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (%)

X_2 คือ อุณหภูมิ (°C)

X_3 คือ เวลา (h)



รูปที่ 4.6 กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก

จากตารางที่ 4.10 นำผลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 พบว่าค่า p-value ของตัวแปรต้นมีผลต่อปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นตัวแปรต้นดังกล่าวยังมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่พื้นผิวผลตอบ (คาริกา อวะภาค และคณะ, 2556) และในเทอมกำลังสองของตัวแปรต้นทั้ง 3 ตัว และเทอมอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และเวลาอีกทั้งอุณหภูมิและเวลานั้น ไม่มีผลต่อปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

ตารางที่ 4.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกไป

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	1009.39	1009.09	112.15	11.83	0.000
Linear	3	923.32	923.32	307.77	32.47	0.000
Concentration	1	673.40	673.40	673.40	71.05	0.000
Temperature	1	190.51	190.51	190.51	20.10	0.000
Time	1	59.41	59.41	59.41	6.27	0.022
Square	3	28.89	28.89	9.63	1.02	0.409
Concentration*Concentration	1	23.89	22.23	22.23	2.35	0.144
Temperature*Temperature	1	2.93	1.94	1.94	0.20	0.657
Time*Time	1	2.06	2.06	2.06	0.22	0.647
Interaction	3	57.18	57.18	19.06	2.01	0.148
Concentration*Temperature	1	6.64	6.64	6.64	0.70	0.413
Concentration*Time	1	11.64	11.64	11.64	1.23	0.282
Temperature*Time	1	38.90	38.9	38.90	4.10	0.058
Residuals Error	18	170.60	170.6	9.48		
Lack-of-Fit	3	51.53	51.53	17.18	2.16	0.135
Pure Error	15	106.67	119.06	7.94		
Total	27	1179.98				

เมื่อทำการยืนยันแบบจำลอง โดยเปรียบเทียบปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงใน ตารางที่ 4.11 ที่สภาวะการปรับสภาพบางส่วนที่มีค่าความคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) ซึ่งพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.135 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทาง คณิตศาสตร์ที่ได้มีความสมบูรณ์กับข้อมูล ทั้งนี้เมื่อทำการยืนยันแบบจำลอง โดยเปรียบเทียบปริมาณ กลูแคนที่ถูกกำจัดออกระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง(experimental) และจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนมากกว่า 5% เห็นได้ว่าสมการข้างต้น อาจไม่เพียงพอต่อการทำนายปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก

อย่างไรก็ตามจากรูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณกลูแคนที่ถูก กำจัดออกของค่าที่ได้จากการทดลองจริงและจากการทำนาย พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ

(Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.972 หมายความว่าปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกที่ได้จากการทดลองและการทำนายมีความสัมพันธ์กันในระดับดีมาก (อโนทัย ตรีวานิช, 2551) ดังนั้นสมการข้างต้นน่าจะมาใช้ในการทำนายปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกได้

ตารางที่ 4.11 การยืนยันแบบจำลองปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan removal (%)		Error (%)
			Experimental	Predicted	
3.0	50.0	2.0	13.8	13.8	0.0
1.0	70.0	2.0	7.4	9.3	26.4
3.0	70.0	1.0	18.5	17.6	4.7
5.0	50.0	3.0	18.7	19.7	5.7
1.0	50.0	3.0	8.8	9.2	4.6
5.0	30.0	2.0	17.3	15.4	11.2
5.0	50.0	1.0	18.7	18.3	2.1
3.0	70.0	3.0	19.4	17.0	12.1
5.0	70.0	2.0	18.3	20.4	11.5
3.0	50.0	2.0	13.8	13.8	0.0
1.0	50.0	1.0	4.0	2.9	26.8
3.0	30.0	1.0	3.9	6.3	59.4
3.0	30.0	3.0	13.7	14.5	6.4
1.0	30.0	2.0	1.8	0.6	69.0

4.1.3 ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (Glucan conversion, %)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณการเปลี่ยนกลูให้เป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวก่อนปรับสภาพด้วยด่าง

Condition	Glucan conversion (%) ¹	
	24 h	48 h
Native rice straw	33.6 ± 1.2 ^a	42.0 ± 2.8 ^b

¹แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งตัวอักษรที่มีความต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างของการปรับสภาพที่ค่า $p < 0.05$

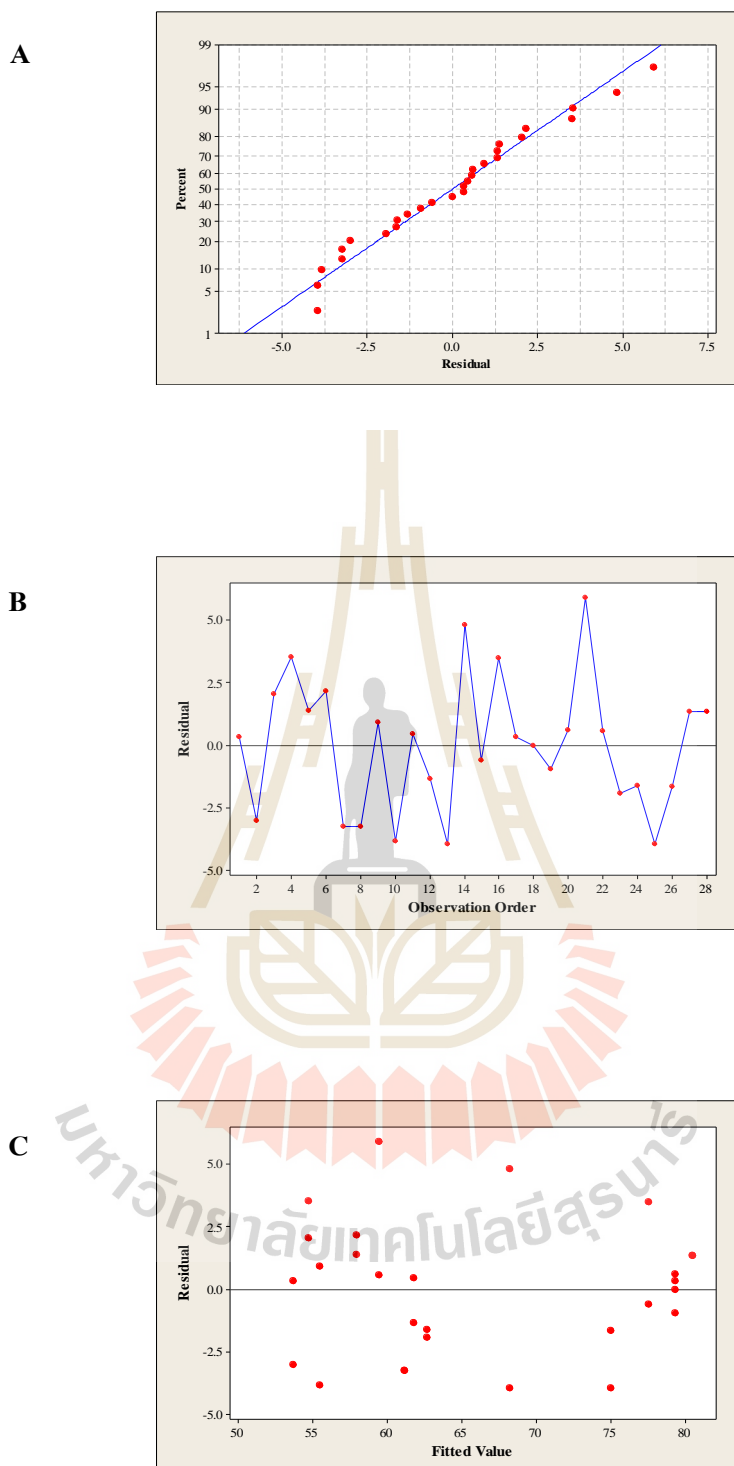
ตารางที่ 4.13 ปริมาณการเปลี่ยนกลูให้เป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยด่าง

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%)	
			24 h	48 h
3.0	50.0	2.0	79.5 ± 0.2	85.3 ± 2.6
1.0	70.0	2.0	57.9 ± 0.0	81.9 ± 7.6
3.0	70.0	1.0	68.7 ± 6.2	79.1 ± 5.4
5.0	50.0	3.0	72.3 ± 1.6	83.7 ± 3.7
1.0	50.0	3.0	59.8 ± 0.6	81.7 ± 2.3
5.0	30.0	2.0	62.7 ± 3.8	78.6 ± 6.5
5.0	50.0	1.0	60.9 ± 0.2	81.4 ± 1.8
3.0	70.0	3.0	79.0 ± 2.9	83.2 ± 3.2
5.0	70.0	2.0	81.8 ± 0.0	82.8 ± 0.5
3.0	50.0	2.0	79.2 ± 1.1	81.1 ± 5.2
1.0	50.0	1.0	57.5 ± 1.0	79.4 ± 5.8
3.0	30.0	1.0	54.1 ± 3.4	79.5 ± 2.8
3.0	30.0	3.0	61.3 ± 1.3	82.3 ± 5.2
1.0	30.0	2.0	52.4 ± 2.3	74.9 ± 5.3

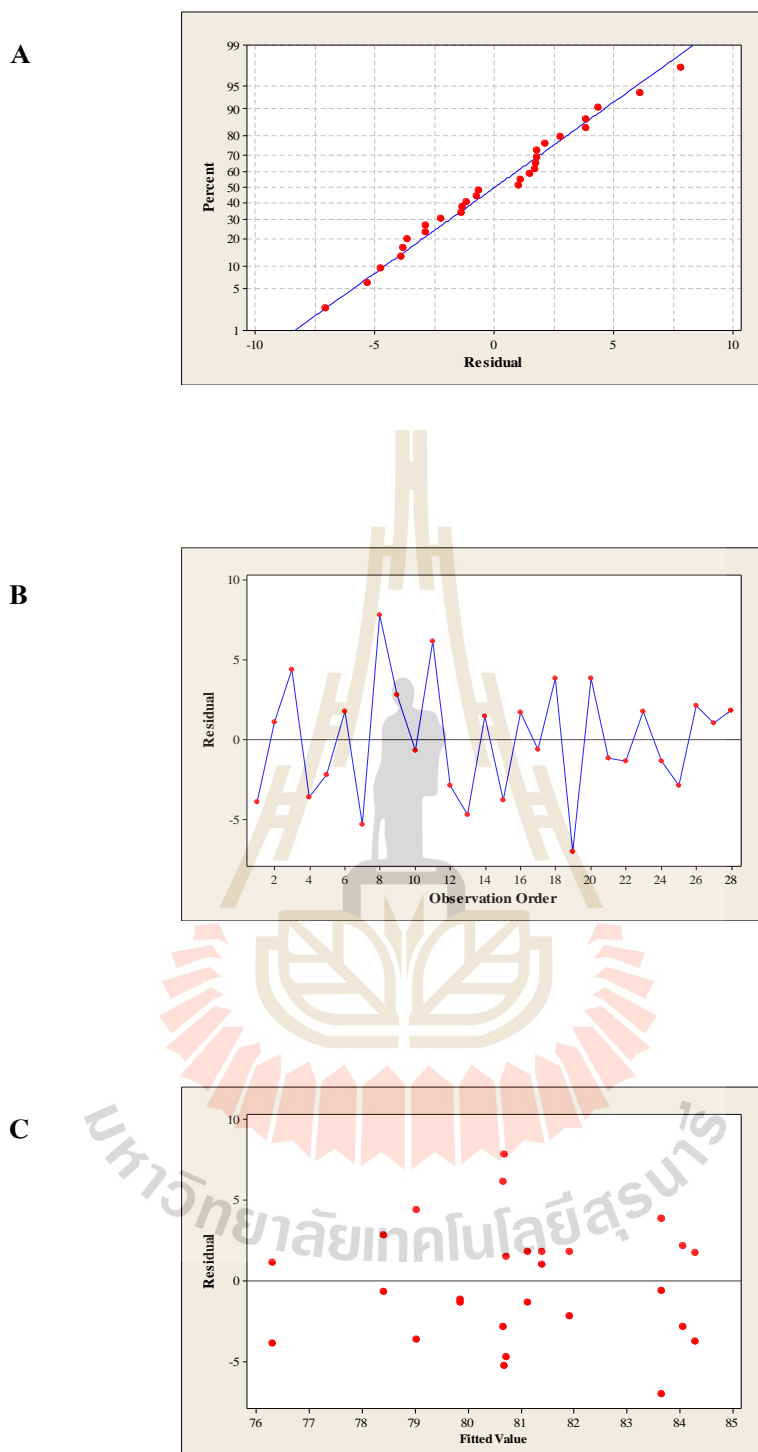
จากตารางที่ 4.12 และ 4.13 แสดงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h ของฟางข้าวก่อนและหลังการปรับสภาพตามลำดับ สำหรับฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) เมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวด้วยเอนไซม์จาก 24 h เป็น 48 h ทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส เพิ่มขึ้น 20% ส่วนฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสภาวะที่มีความรุนแรงมากขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดที่ 24 h และ 48 h เท่ากับ 81.8% และ 82.8% ตามลำดับ เนื่องจากการปรับสภาพสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบ โครงสร้างของพืช (ลิกนินและเฮมิเซลลูโลส) ส่งผลให้ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ง่ายขึ้น (Mosier et al., 2005) ทั้งนี้เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์และระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพมีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yun et al. (2016) ที่ได้รายงานว่าปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่ลดลงส่งผลต่อการเพิ่มของพื้นที่ผิวของเซลลูโลส นอกจากนี้งานวิจัยของ Bak et al. (2009) พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมากขึ้น

- **การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (Diagnostics and adequacy checking of glucan conversion)**

จากการตรวจสอบความถูกต้องแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และ รูปที่ 4.8 ตามลำดับ พบว่า ส่วนตกค้างของข้อมูลที่ได้จากการทดลองเป็นไปตามเงื่อนไขทั้ง 3 ข้อ คือ การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (รูปที่ 4.7A และ รูปที่ 4.8A) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล (รูปที่ 4.7B และ รูปที่ 4.8B) และ การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 4.7C และรูปที่ 4.8C) แสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวนต่อไป



รูปที่ 4.7 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน



รูปที่ 4.8 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน

ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R-square)

ตารางที่ 4.14 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	79.35	1.61	49.17	0.000
Concentration	6.26	0.81	7.76	0.000
Temperature	7.12	0.81	8.82	0.000
Time	3.90	0.81	4.83	0.000
Concentration*Concentration	-9.39	1.28	-7.36	0.000
Temperature*Temperature	-6.24	1.28	-4.89	0.000
Time*Time	-7.34	1.28	5.75	0.000
Concentration*Temperature	3.39	1.14	2.97	0.008
Concentration*Time	2.27	1.14	1.99	0.062
Time*Temperature	0.76	1.14	0.67	0.512

S = 3.23, R-Sq = 93.42%, R-Sq (adj.) = 90.14%

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจในตารางที่ 4.14 พบว่า ค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 93.42% แสดงให้เห็นว่า ตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 93.42% และสามารถนำแบบจำลองมาสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม นอกจากนี้ตัวแปรต้นดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสามารถนำแบบจำลองไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยสมการทำนายแสดงดังสมการที่ 4.4

ตารางที่ 4.15 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	83.65	2.19	38.13	0.000
Concentration	1.06	1.10	0.97	0.346
Temperature	1.48	1.10	1.35	0.194
Time	1.46	1.10	1.33	0.201
Concentration*Concentration	-1.79	1.73	-1.03	0.316
Temperature*Temperature	-2.30	1.73	-1.33	0.201
Time*Time	-0.33	1.73	-0.19	0.853
Concentration*Temperature	-0.71	1.55	-0.46	0.652
Concentration*Time	0.01	1.55	0.01	0.994
Time*Temperature	0.33	1.55	0.21	0.836

S = 4.39, R-Sq = 28.55%, R-Sq (adj) = 0.00%

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจในตารางที่ 4.15 พบว่า ค่า R-Sq มีค่าเท่ากับ 28.55% แสดงให้เห็นว่าตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ในระดับดีปานกลาง (อโนทัย ตรีวานิช, 2551) ทั้งนี้สามารถนำแบบจำลองมาสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม (ดาริกา อวะภาค และคณะ, 2556) อย่างไรก็ตามตัวแปรต้นนั้น ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หากนำไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย สมการทำนายแสดงดังสมการที่ 4.5

สมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h

$$Y_1 \% = -21.795 + 10.714 X_1 + 1.586 X_2 + 27.927 X_3 - 2.348 X_1^2 - 0.016 X_2^2 - 7.335 X_3^2 + 0.085 X_1 X_2 + 1.133 X_1 X_3 + 0.038 X_2 X_3 \quad (4.4)$$

$$Y_2 \% = 54.734 + 4.091 X_1 + 0.670 X_2 + 1.925 X_3 - 0.447 X_1^2 - 0.006 X_2^2 - 0.325 X_3^2 - 0.018 X_1 X_2 + 0.006 X_1 X_3 + 0.016 X_2 X_3 \quad (4.5)$$

โดยที่ Y_1, Y_2 คือ ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ตามลำดับ

X_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์

X_2 คือ อุณหภูมิ

X_3 คือ เวลา

จากตารางที่ 4.16 นำผลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 พบว่า ค่า p-value ของตัวแปรต้นมีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นตัวแปรต้นดังกล่าวยังมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่พื้นผิวผลตอบ (ดารีกา อวะภาค และคณะ, 2556) และในทอมอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์และเวลา รวมถึงอุณหภูมิและเวลาที่ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณดังกล่าว อีกทั้งเมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) ซึ่งจะพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.007 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทางคณิตศาสตร์ที่ได้ไม่สมรูปกับข้อมูล อย่างไรก็ตามเมื่อทำการยืนยันแบบจำลองโดยเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) (ตารางที่ 4.18) ซึ่งมีความคลาดเคลื่อนมากกว่า 5% (ตารางที่ 4.19) ดังนั้นสรุปได้ว่าไม่สามารถนำสมการข้างต้นมาใช้ในการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h ได้ (สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และคณะ, 2556)

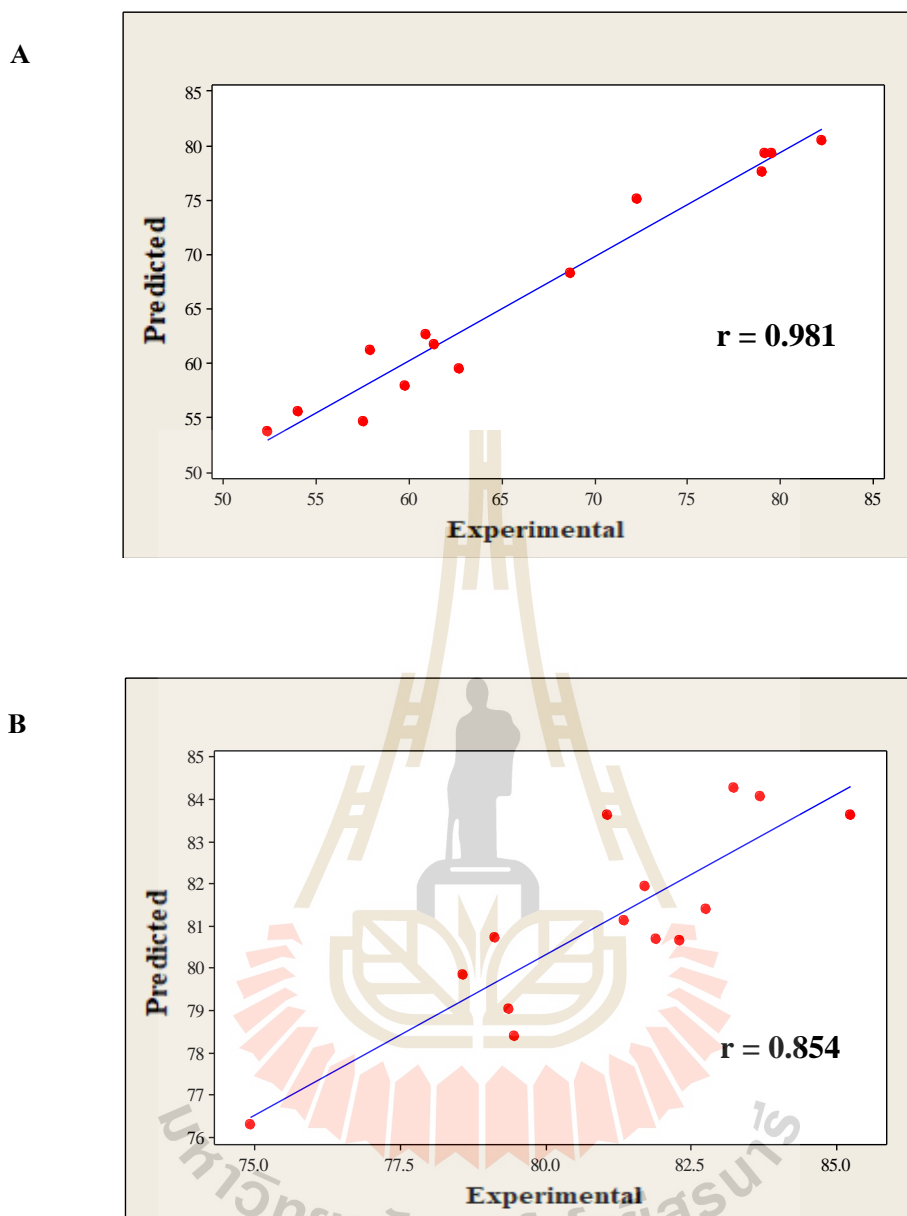
การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

ตารางที่ 4.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ที่ 24 h

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	2663.83	2663.83	295.98	28.42	0.000
Linear	3	1681.16	1681.16	560.39	53.80	0.000
Concentration	1	626.93	626.93	626.93	60.19	0.000
Temperature	1	811.07	811.07	811.07	77.87	0.000
Time	1	243.15	243.15	243.16	23.34	0.000
Square	3	844.95	844.95	281.65	27.04	0.000
Concentration*Concentration	1	348.56	564.62	564.62	54.21	0.000
Temperature*Temperature	1	152.09	249.46	249.46	23.95	0.000
Time*Time	1	344.29	344.29	344.29	33.05	0.000
Interaction	3	137.72	137.72	45.91	4.41	0.017
Concentration*Temperature	1	91.96	91.96	91.96	8.83	0.008
Concentration*Time	1	41.09	41.09	41.09	3.94	0.062
Temperature*Time	1	4.67	4.67	4.67	0.45	0.512
Residuals Error	18	187.48	187.48	10.42		
Lack-of-Fit	3	102.15	102.15	34.05	5.99	0.007
Pure Error	15	85.33	85.33	5.69		
Total	27	2851.31				

ตารางที่ 4.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย
เอนไซม์ที่ 48 h

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	138.48	138.48	15.39	0.80	0.622
Linear	3	87.10	87.10	29.03	1.51	0.246
Concentration	1	18.06	18.06	18.06	0.94	0.346
Temperature	1	35.11	35.11	35.11	1.82	0.194
Time	1	33.93	33.93	33.93	1.76	0.201
Square	3	46.48	46.48	15.49	0.80	0.508
Concentration*Concentration	1	12.50	20.45	20.45	1.06	0.316
Temperature*Temperature	1	33.30	33.86	33.86	1.76	0.201
Time*Time	1	0.68	0.68	0.68	0.04	0.853
Interaction	3	4.91	4.91	1.64	0.08	0.967
Concentration*Temperature	1	4.06	4.06	4.06	0.21	0.652
Concentration*Time	1	0.001	0.001	0.001	0.00	0.994
Temperature*Time	1	0.85	0.85	0.85	0.04	0.836
Residuals Error	18	346.52	346.52	19.25		
Lack-of-Fit	3	29.83	29.83	9.94	0.47	0.707
Pure Error	15	316.69	316.69	21.12		
Total	27	485.00				

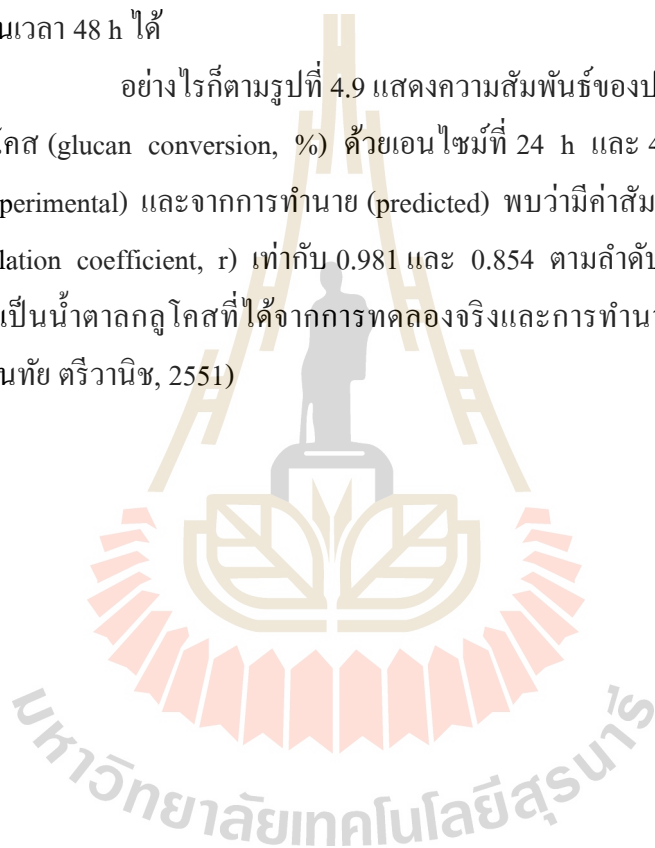


รูปที่ 4.9 กราฟวิเคราะห์ความถูกต้องของแบบจำลองปริมาณกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส: (A) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h; (B) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 48 h

จากตารางที่ 4.17 นำผลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ด้วยเอนไซม์ที่ 48 h ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 พบว่า ค่า p-value ของตัวแปรต้นไม่มีอิทธิพลปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) ซึ่งพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.707 ซึ่งมีค่า

มากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทางคณิตศาสตร์ที่ได้มีความสมรूपกับข้อมูล รวมถึงสมการที่ได้เพียงพอต่อการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นสมการข้างต้นสามารถนำมาใช้ในการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ นอกจากนี้ทำการยืนยันแบบจำลองโดยเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และการทำนาย (predicted) (ตารางที่ 4.18) ซึ่งมีค่าความคลื่อนน้อยกว่า 5% ดังแสดงในตารางที่ 4.19 (สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และคณะ, 2556) ทำให้สรุปได้ว่าสามารถนำสมการมาใช้ในการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h ได้

อย่างไรก็ตามรูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h ของค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.981 และ 0.854 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลองจริงและการทำนายมีความสัมพันธ์กันในระดับดีมาก(อโนทัย ตีรวานิช, 2551)



ตารางที่ 4.18 การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%)			
			Experimental		Predicted	
			24 h	48 h	24 h	48 h
3.0	50.0	2.0	79.5 ± 0.2	85.3 ± 2.6	79.4	83.2
1.0	70.0	2.0	57.9 ± 0.0	81.9 ± 7.6	61.2	80.7
3.0	70.0	1.0	68.7 ± 6.2	79.1 ± 5.4	68.2	82.9
5.0	50.0	3.0	72.3 ± 1.6	83.7 ± 3.7	75.1	85.1
1.0	50.0	3.0	59.8 ± 0.6	81.7 ± 2.3	58.0	82.9
5.0	30.0	2.0	62.7 ± 3.8	78.6 ± 6.5	59.5	79.7
5.0	50.0	1.0	60.9 ± 0.2	81.4 ± 1.8	62.7	80.2
3.0	70.0	3.0	79.0 ± 2.9	83.2 ± 3.2	77.6	83.3
5.0	70.0	2.0	81.8 ± 0.0	82.8 ± 0.5	80.5	80.2
3.0	50.0	2.0	79.2 ± 1.1	81.1 ± 5.2	79.4	83.2
1.0	50.0	1.0	57.5 ± 1.0	79.4 ± 5.8	54.7	80.9
3.0	30.0	1.0	54.1 ± 3.4	79.5 ± 2.8	55.5	78.1
3.0	30.0	3.0	61.3 ± 1.3	82.3 ± 5.2	61.8	84.7
1.0	30.0	2.0	52.4 ± 2.3	74.9 ± 5.3	53.7	77.8

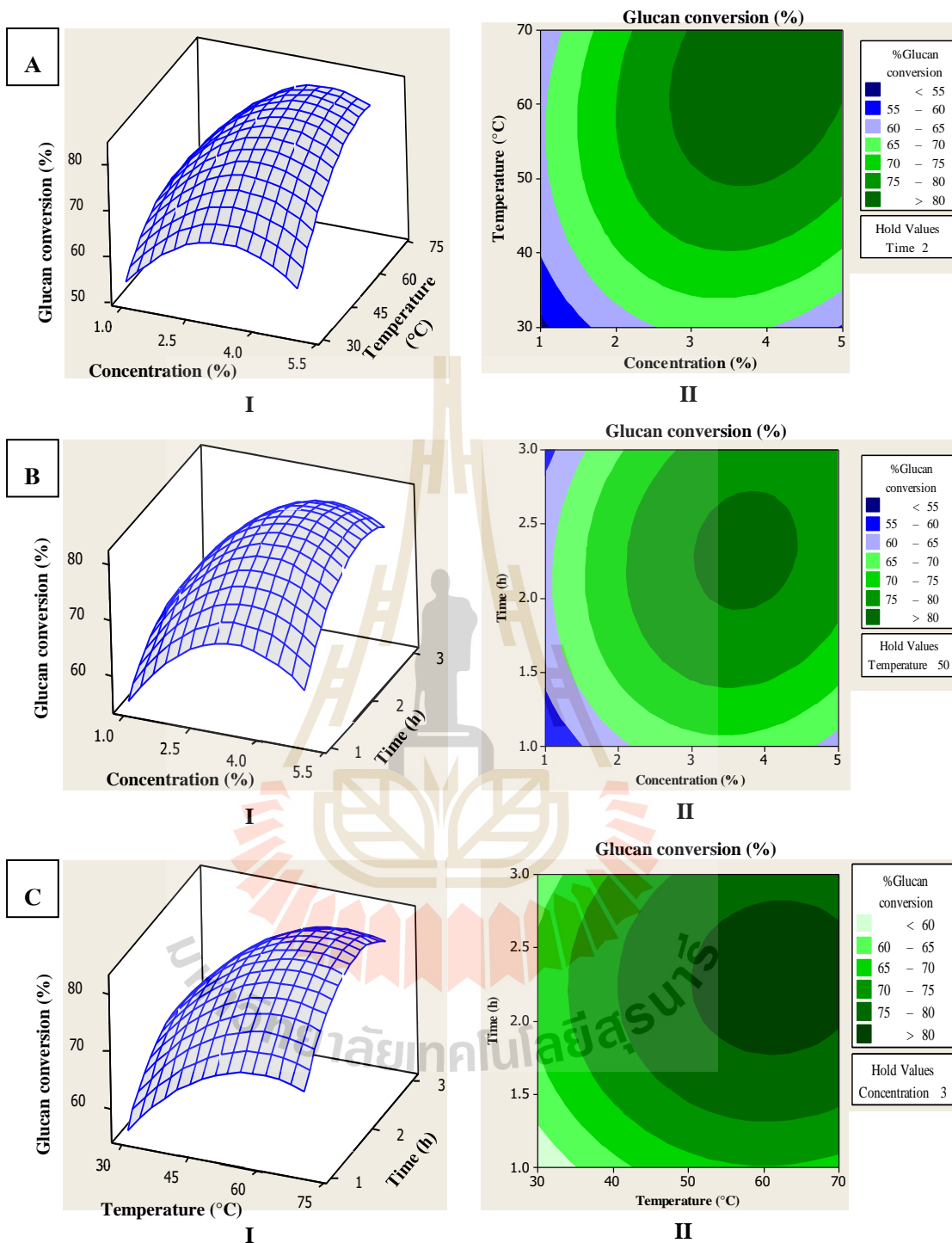
ตารางที่ 4.19 ค่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส
ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Error (%)	
			24 h	48 h
3.0	50.0	2.0	0.2	1.9
1.0	70.0	2.0	5.6	1.5
3.0	70.0	1.0	0.6	2.0
5.0	50.0	3.0	3.8	0.5
1.0	50.0	3.0	3.0	0.3
5.0	30.0	2.0	5.2	1.6
5.0	50.0	1.0	2.9	0.3
3.0	70.0	3.0	1.8	1.3
5.0	70.0	2.0	1.6	1.7
3.0	50.0	2.0	0.2	3.2
1.0	50.0	1.0	4.9	0.4
3.0	30.0	1.0	2.7	1.3
3.0	30.0	3.0	0.7	2.0
1.0	30.0	2.0	2.6	1.8

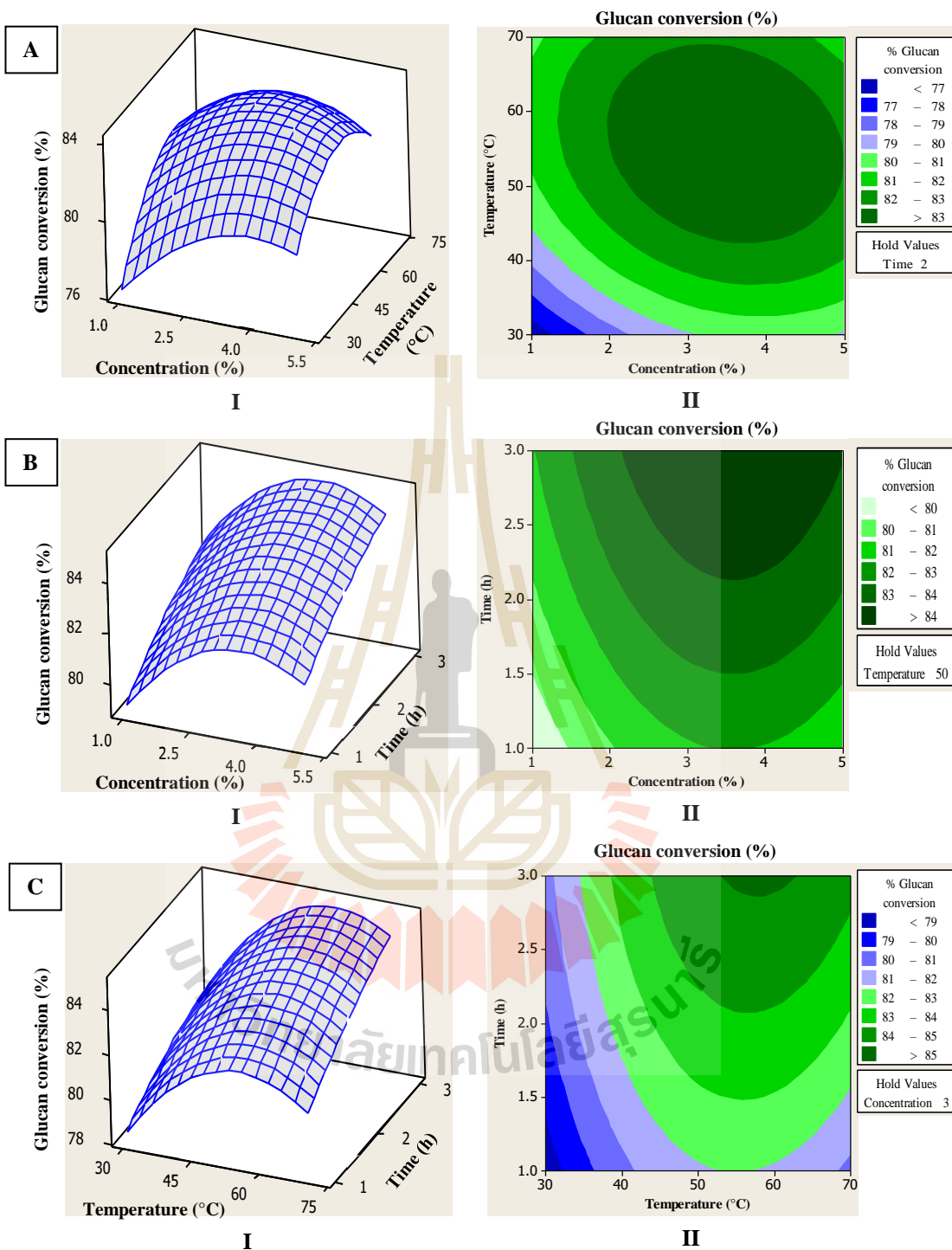
- การสร้างพื้นผิวผลตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Response surface of glucan conversion, %)

จากผลปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h สามารถนำมาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบสนอง (response surface plot) และกราฟโครงร่าง (contour plot) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้น คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ ตัวแปรตาม คือ ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h และ 48 h รูปร่างของกราฟทั้งสองรูปนี้บ่งบอกถึงลักษณะและขอบเขตของการปฏิสัมพันธ์ของตัวแปรต้นและตัวแปรตามที่เป็นปัจจัยต่างๆ (Prakash, Talat, Hasan and Pandey, 2008) ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และ 4.11

จากรูปที่ 4.10 และ 4.11 แสดงความสัมพันธ์ของอิทธิพลร่วมของตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ) ที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ซึ่งแสดงด้วยกราฟพื้นผิวผลตอบสนองและกราฟโครงร่าง โดยหนึ่งตัวแปรต้นจะถูกเก็บเป็นค่าคงที่และอีกสองตัวแปรต้นมีความแตกต่างกันในช่วงที่กำหนด (Prakash et al., 2008) เมื่อพิจารณากราฟพื้นผิวผลตอบสนอง พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลา และอุณหภูมิกับเวลา มีปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h สูงสุดอยู่ที่ค่ามากกว่า 80% (รูปที่ 4.10AI-CI และ 4.10AII-CII) นอกจากนี้เป็นอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิกับเวลา มีปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h สูงสุดอยู่ที่ 85% (รูปที่ 4.11AI-CI และ 4.11AII-CII) เห็นได้ว่า เวลาในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bak et al. (2009) พบว่าเมื่อเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นส่งผลให้การย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์มากขึ้นเช่นกัน



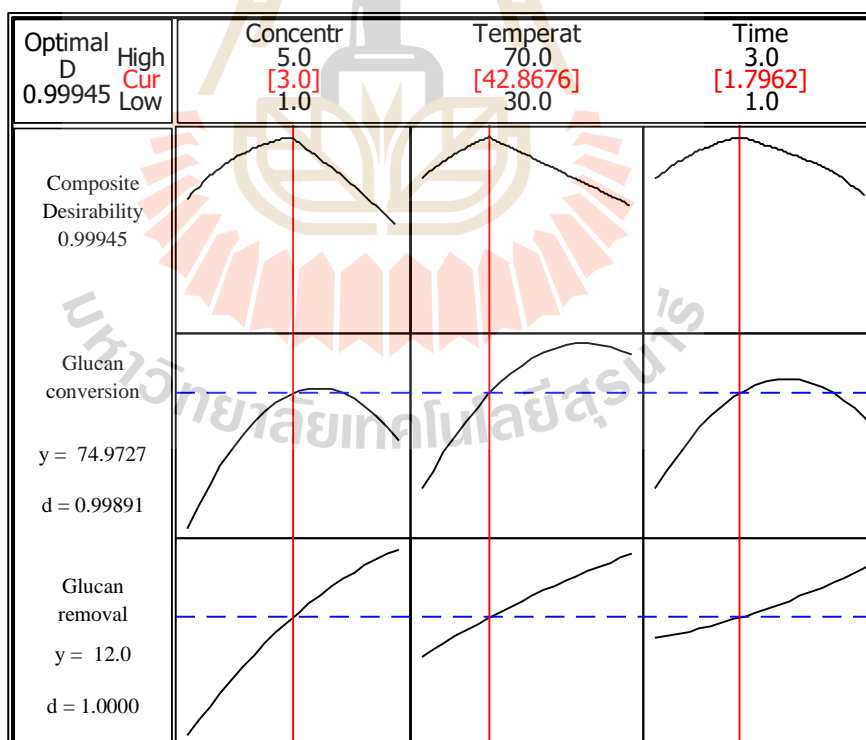
รูปที่ 4.10 พื้นผิวผลตอบสนอง (I) และกราฟโครงร่าง (II) ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h ความสัมพันธ์ระหว่าง: (A) ความเข้มข้นและอุณหภูมิ; (B) ความเข้มข้นและเวลา; (C) อุณหภูมิและเวลา



รูปที่ 4.11 พื้นผิวผลตอบสนอง (I) และกราฟโครงร่าง (II) ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h ความสัมพันธ์ระหว่าง: (A) ความเข้มข้นและอุณหภูมิ; (B) ความเข้มข้นและเวลา; (C) อุณหภูมิและเวลา

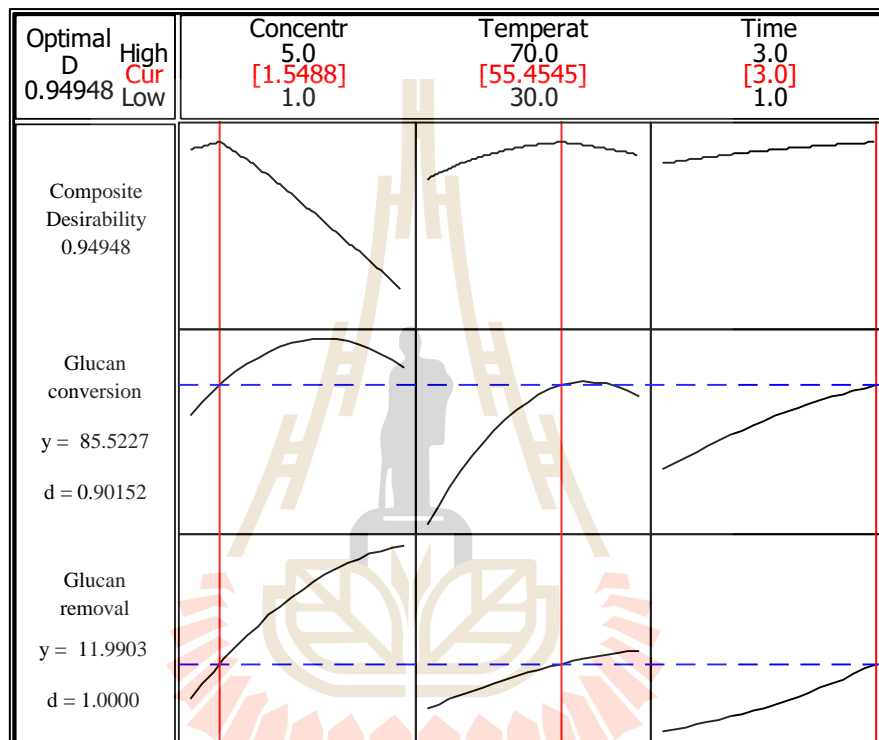
● การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (Optimization of alkali pretreatment)

จากผลปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างสามารถนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าวและวัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (composite desirability, D) โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab ซึ่งค่าความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบมีค่าอยู่ระหว่าง 0-1 ซึ่งถ้าค่า D มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ผลตอบนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ (ดริกา อวระภาค และคณะ, 2556) การหาค่าปัจจัย (ตัวแปรต้น) ที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h โดยคำนึงถึงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสและปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก ดังแสดงในรูปที่ 4.12 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 3% ที่อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h โดยค่าความพึงพอใจโดยรวมเท่ากับ 0.995



รูปที่ 4.12 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h (y = ตัวแปรตอบสนอง, d = ค่าพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ)

การหาค่าปัจจัยของสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าว ด้วยค่าต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่เป็นเวลา 48 h ดังแสดงใน รูปที่ 4.13 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่า คือ ความเข้มข้นของ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1.5% ที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 3 h โดยค่าความพึงพอใจ โดยรวมเท่ากับ 0.9495



รูปที่ 4.13 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็น น้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h (y = ตัวแปรตอบสนอง, d = ค่าพึงพอใจโดยรวม ของผลตอบ)

● การยืนยันผลแบบจำลอง (Validation experiments of models)

ตารางที่ 4.20 การยืนยันแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยต่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h

Condition ¹	Predicted		Experimental		Error (%)	
	24 h	48h	24 h	48h	24 h	48h
A	75.07	82.57	75.04 ± 0.04	80.58 ± 1.73	0.00	2.47
B	65.18	83.41	77.43 ± 2.15	80.41 ± 4.24	15.82	3.73
C	69.56	83.00	78.97 ± 0.63	79.63 ± 1.58	32.27	0.04

¹A คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h (สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h); B คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5% อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 3 h (สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h); C ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

จากสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างข้างต้น (รูปที่ 4.12 และ 4.13) สามารถนำมายืนยันผลแบบจำลองด้วยการทวนสอบ ทั้งนี้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของสมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ โดยสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพสำหรับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h ได้แก่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h (condition A) สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพสำหรับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5% อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 3 h (condition B) และสภาวะการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h (condition C) ดังแสดงในตารางที่ 4.20 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) ที่ 24 h และ 48 h ตามลำดับ พบว่าแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h มีค่าความคลาดเคลื่อนมากกว่า 5% (condition B และ condition C) แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองดังกล่าวไม่สมรูปกับผลการทดลอง อีกทั้งไม่สามารถนำมาทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ อย่างไรก็ตามแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h มีความคลาดเคลื่อนที่น้อยกว่า 5% ทั้ง condition A, B และ C แสดงว่าแบบจำลองดังกล่าวมีความสมรูปกับผล

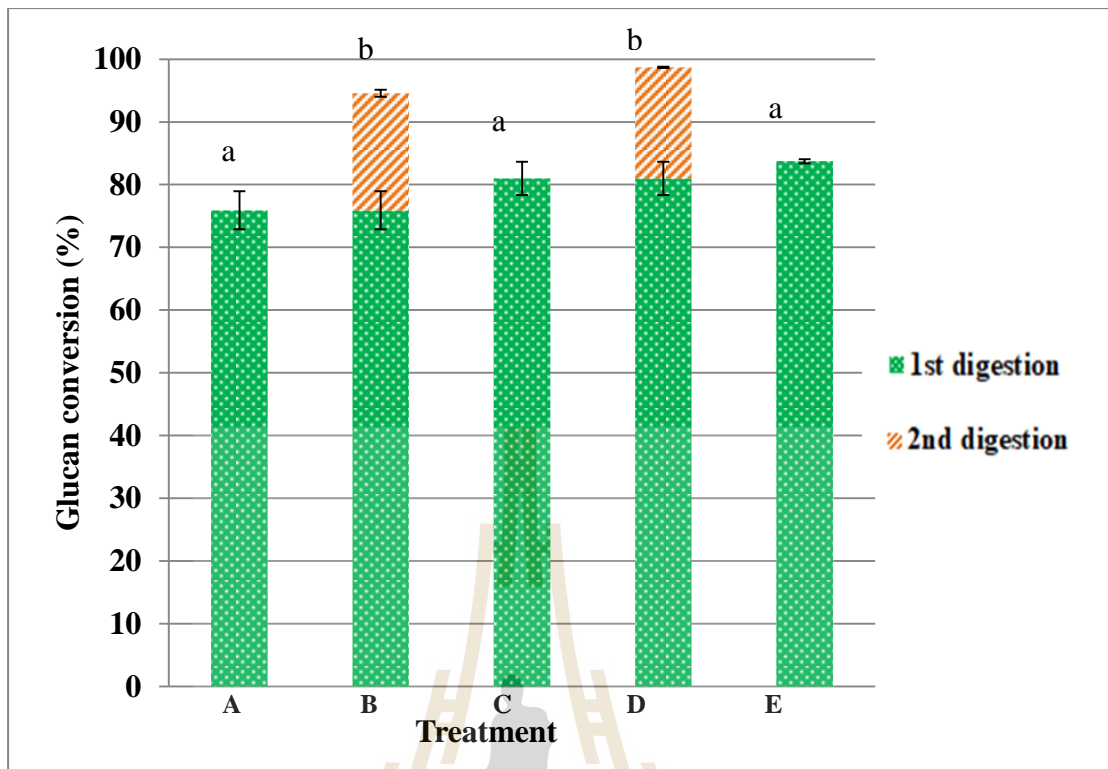
การทดลอง ดังนั้นแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพสำหรับการย่อยสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้

4.1.4 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างอย่างต่อเนื่อง (Sequential alkali pretreatment of rice straw)

การปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างสามารถทำลายพันธะทางเคมีระหว่าง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้ โดยเฮมิเซลลูโลสและลิกนินจะถูกกำจัดออกหลังจากการปรับสภาพ ส่วนเซลลูโลสยังคงเป็นองค์ประกอบหลักของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ อย่างไรก็ตามฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพยังคงมีลิกนินที่แทรกตัวอยู่ระหว่างสายเซลลูโลส ซึ่งทำให้การทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสถูกจำกัดได้ (Moister, 2005) ทั้งนี้จากการทดลองการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างที่แสดงในตารางที่ 4.13 พบว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 85% หากลิกนินเป็นปัจจัยสำคัญในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในการเข้าถึงชั้นเสต (เซลลูโลส) ดังนั้นการกำจัดลิกนินที่ยังคงแทรกตัวอยู่ระหว่างสายเซลลูโลสออกไปอาจมีผลทำให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดลองการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างอย่างต่อเนื่อง กล่าวคือ ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างจะถูกนำมาย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ในระยะเวลาที่กำหนด จากนั้นของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะถูกนำมาปรับสภาพด้วยต่างอีกครั้งและถูกนำไปย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ในระยะเวลาที่กำหนด

จากรูปที่ 4.19 แสดงผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างเพียงครั้งเดียวเปรียบเทียบกับปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างอย่างต่อเนื่องต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส โดย รูปที่ 4.14A, 4.14C และ 4.14E เป็นปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างเพียงครั้งเดียวที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h และถูกนำมาย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h 48 h และ 72 h ตามลำดับ พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างแบบต่อเนื่องด้วยสภาวะความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h จากนั้นฟางข้าวถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h โดยของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลายถูกนำมาปรับสภาพด้วยต่างที่สภาวะเดิมและถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h ซึ่งรวมระยะเวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์เป็น 48 h (รูปที่ 4.14B) และฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่าง

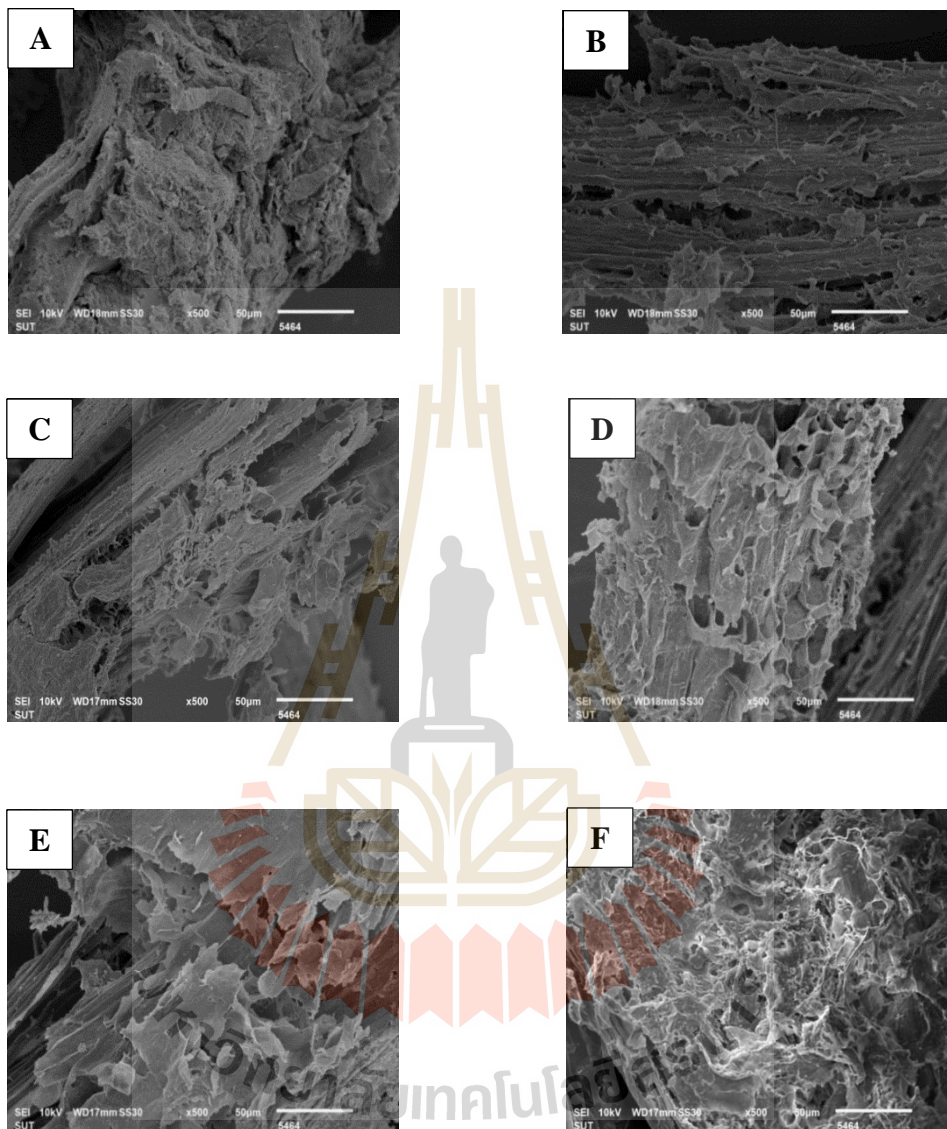
แบบต่อเนื่องด้วยสภาวะความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h จากนั้นฟางข้าวถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h โดยของแข็งที่เหลือจากการย่อยสลายถูกนำมาปรับสภาพด้วยค่าที่สภาวะเดิมและถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h ซึ่งรวมระยะเวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์เป็น 72 h (รูปที่ 4.14D) พบว่าเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสในรูปที่ 4.14B และ 4.14C ซึ่งใช้เวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์เท่ากันคือ 48 h พบว่า ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพแบบต่อเนื่อง (รูปที่ 4.14B) มีค่าสูงกว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพเพียงครั้งเดียว (รูปที่ 4.14C) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของการปรับสภาพด้วยค่าอย่างต่อเนื่องมีค่าเพิ่มขึ้น 21% นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสในรูปที่ 4.14D และ 4.14E ซึ่งใช้เวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์เท่ากันคือ 72 h พบว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพแบบต่อเนื่อง (รูปที่ 4.14D) มีค่าสูงกว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพเพียงครั้งเดียว (รูปที่ 4.14E) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของการปรับสภาพด้วยค่าอย่างต่อเนื่องมีค่าเพิ่มขึ้น 15% จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าอย่างต่อเนื่องมีผลต่อการเพิ่มปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ อย่างไรก็ตามการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าอย่างต่อเนื่องใช้ระยะเวลาการปรับสภาพนานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าเพียงครั้งเดียว



รูปที่ 4.14 ผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง (ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h) ต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่เวลาแตกต่างกัน: (A) การปรับสภาพด้วยด่างและถูกมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h; (B) การปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนืองแล้วถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h; (C) การปรับสภาพด้วยด่างและถูกมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 48 h; (D) การปรับสภาพด้วยด่างอย่างต่อเนืองแล้วถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 48 h และย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลาอีก 24 h; (E) การปรับสภาพด้วยด่างและถูกมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 72 h ($p < 0.05$)

4.1.5 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ (Physicochemical changes)

- โครงสร้างระดับจุลภาคของฟางข้าว (Microstructure of rice straw)



รูปที่ 4.15 ภาพถ่าย SEM: (A) ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ; (B) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; (C) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; (D) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; (E) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 5% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; (F) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 43°C เป็นเวลา 1.8 h (ระดับกำลังขยายของภาพ 500X และความยาว 50 µm)

ฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่างอุณหภูมิวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) โดยฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (รูปที่ 4.15A) ฟางข้าวที่ถูกปรับสภาพด้วยค่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h (รูปที่ 4.15B) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h (รูปที่ 4.15C) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h (รูปที่ 4.15D) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h (รูปที่ 4.15E) และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 1.8 h (รูปที่ 4.15F) พบว่าโครงสร้างของฟางข้าวที่ถูกปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h เริ่มถูกทำลาย นอกจากนี้โครงสร้างที่ถูกการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 43°C และ 50°C เป็นเวลา 1.8 h และ 2 h ถูกทำลายมากขึ้นและพื้นที่ผิวมีความเป็นรูพรุนบางส่วน ทั้งนี้เมื่อเพิ่มความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% และ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h และ 3 h พบว่าโครงสร้างของฟางข้าวถูกทำลายและมีความเป็นรูพรุนมากขึ้น ลักษณะโครงสร้างเช่นนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 4.13 ลักษณะโครงสร้างของฟางข้าวก่อนและที่ผ่านการปรับสภาพนั้นมีความแตกต่างกัน ฟางข้าวก่อนปรับสภาพจะมีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสอยู่หนาแน่นรอบเส้นใยเซลลูโลส ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพจะมีความเป็นรูพรุนเพิ่มขึ้นเนื่องจากการกำจัดส่วนที่ไม่เป็นระเบียบของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกไป (Chen et al., 2011; Gong et al., 2010)

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของฟางข้าวจะถูกทำลายมากขึ้นที่ระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อความเป็นรูพรุนภายในโครงสร้างของฟางข้าวและเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสในฟางข้าวเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

● การวิเคราะห์พื้นผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน (Surface area pore size and zeta pore volume distribution analysis)

จากรายงานวิจัยของ Hsu et al. (2010) พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาตรรูพรุนทั้งหมด (total pore volume) และพื้นที่ผิวจำเพาะ (specific surface area) ในตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพมีผลทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งทำให้สามารถสรุปได้ว่าการปรับสภาพวัตถุดิบมีผลในการเพิ่มค่าปริมาตรรูพรุน ซึ่งจะช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสให้ย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้นเนื่องจากเอนไซม์สามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้ง่ายนั่นเอง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าต่อการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและพื้นที่ผิวจำเพาะ รวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและพื้นที่ผิวจำเพาะต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %)

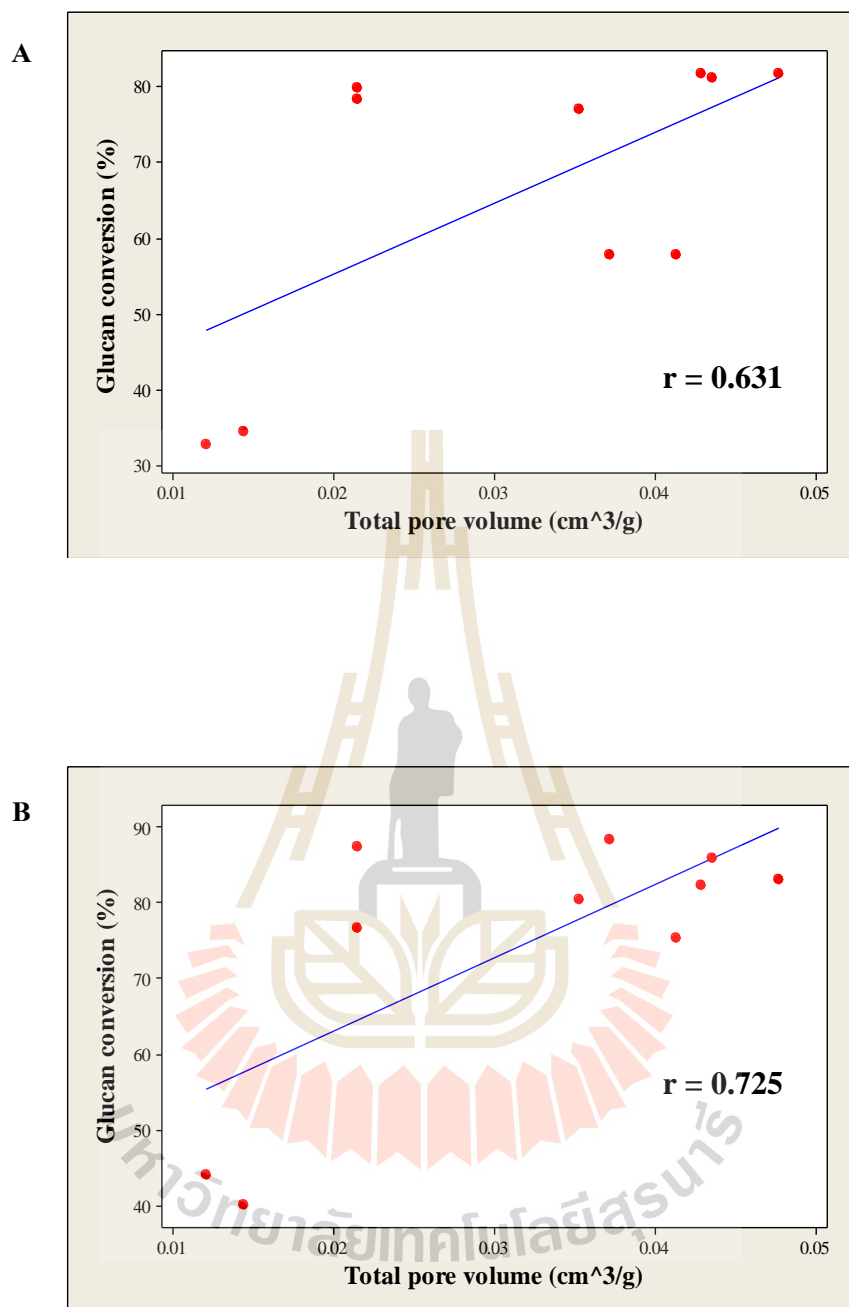
ตารางที่ 4.21 ปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและพื้นที่ผิวจำเพาะของฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพ

Treatment ¹	Total pore volume ² (cm ³ /g)	Specific surface area ³ (m ² /g)
A	0.013 ± 0.001 ^a	2.88 ± 0.52 ^a
B	0.039 ± 0.003 ^b	3.36 ± 0.01 ^a
C	0.021 ± 0.001 ^b	4.21 ± 0.01 ^b
D	0.039 ± 0.006 ^b	20.23 ± 5.79 ^c
E	0.045 ± 0.003 ^b	21.11 ± 7.14 ^c

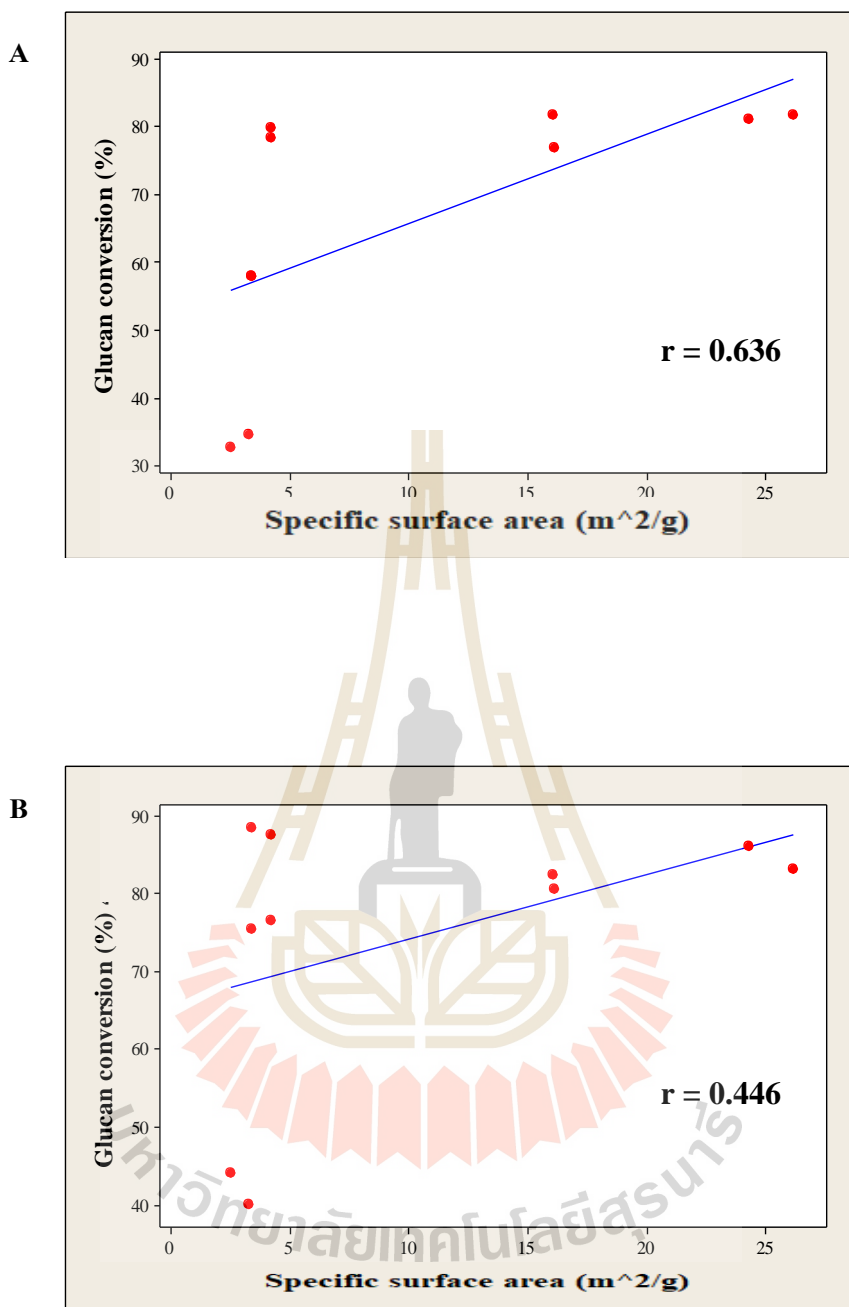
¹A คือ ฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ; B คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; C คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; D คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; E คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

^{2,3} แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งตัวอักษรที่มีความต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างของการปรับสภาพที่ค่า $p < 0.05$

จากตารางที่ 4.21 แสดงค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและพื้นที่ผิวจำเพาะของ ฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยด่าง ทั้งนี้ค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.013 – 0.045 cm³/g เห็นได้ว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างที่สภาวะรุนแรงมากขึ้นมีผลทำให้ค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ รวมถึงทำให้พื้นที่จำเพาะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็น น้ำตาลกลูโคส (รูปที่ 4.16) พบว่าเมื่อค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณการเปลี่ยน กลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h (รูปที่ 4.16A) และ 48 h (รูปที่ 4.16B) มีค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.63 และ 0.73 ตามลำดับ ซึ่งหมายความว่า ค่าปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมีความสัมพันธ์กันใน ระดับปานกลางและระดับสูง ตามลำดับ (อโนทัย ตรีวานิช, 2551) จากผลการทดลองนี้สอดคล้อง กับงานวิจัยของ Hsu et al. (2010) พบว่าสภาวะในการปรับสภาพที่รุนแรงมากขึ้นมีผลทำให้ ปริมาตรรูพรุนเพิ่มสูงขึ้นและปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น ด้วย นอกจากนี้จากรูปที่ 4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ผิวจำเพาะและปริมาณการเปลี่ยน กลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h (รูปที่ 4.17A) และ 48 h (รูปที่ 4.17B) พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.63 และ 0.45 ตามลำดับ หมายความว่า พื้นที่ผิวจำเพาะและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส มีความสัมพันธ์กันในระดับปาน กลาง (อโนทัย ตรีวานิช, 2551) อย่างไรก็ตามพื้นที่ผิวจำเพาะที่มีค่ามากกว่า 5 m²/g ไม่มีแนวโน้ม การเพิ่มขึ้นของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มขึ้นของค่าพื้นที่ผิวจำเพาะอาจจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายกลู แคนด้วยเอนไซม์น้อยกว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาตรรูพรุนทั้งหมด (Hsu et al., 2010)



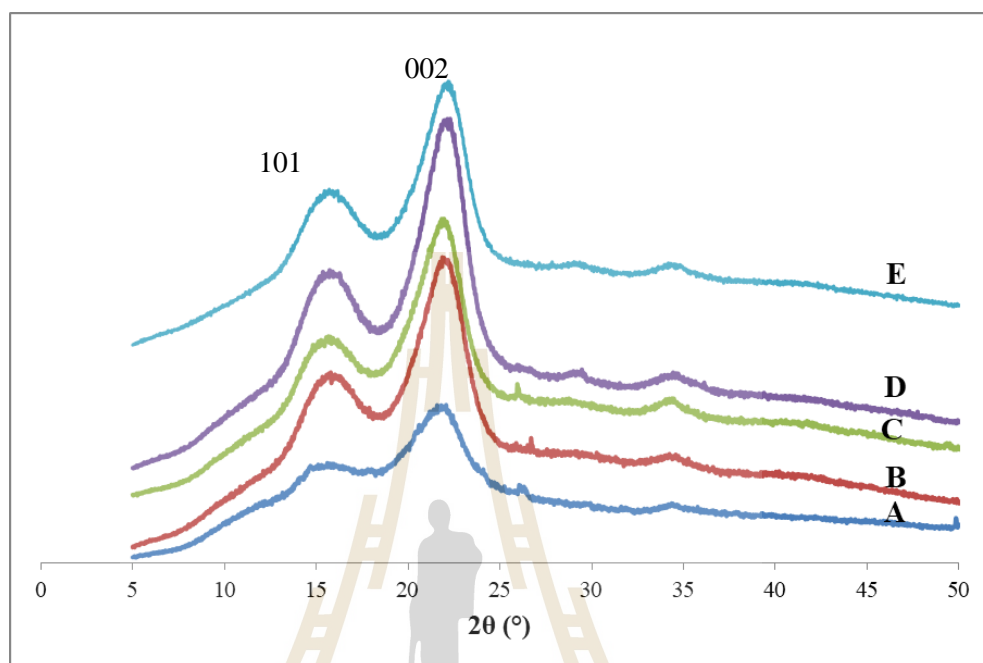
รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรรูพรุนทั้งหมดและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส: (A) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ (B) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ผิวจำเพาะและปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส: (A) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ (B) จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h

● การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์

(Crystallinity analysis by XRD)



รูปที่ 4.18 กราฟการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่าง:

- (A) ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ; (B) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; (C) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; (D) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; (E) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 5% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

จากรูปที่ 4.18 แสดงกราฟการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่าง โดยความเข้มบริเวณที่เป็นส่วนอสัณฐานและส่วนผลึก (amorphous and crystalline regions) จะอยู่ที่ $2\theta = 18.7^\circ$ และ 22.4° ตามลำดับ ซึ่งโดยทั่วไปส่วนประกอบโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินจะถูกพิจารณาเป็นแบบอสัณฐาน (amorphous component) ส่วนเซลลูโลสจะมีส่วนประกอบของโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystalline component) ค่าความเข้มของผลึก (intensity of crystalline region) ของฟางข้าวหลังการปรับสภาพจะเพิ่มสูงขึ้นมากโดยเฉพาะฟางข้าวที่ปรับสภาพด้วยความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสและลิกนินถูกกำจัดออกไปได้มากขึ้นนั่นเอง (Chen, Yu, Zhang, and Lu, 2011) นอกจากนี้ค่าความเข้มของอสัณฐาน (intensity of

amorphous region) เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นผลึกของเซลลูโลส โดยพิกที่ $2\theta = 22.4^\circ$ (002) หมายถึงความเข้มข้นของความเป็นผลึก และพิกที่ $2\theta = 18.7^\circ$ (101) หมายถึงความเข้มข้นของความเป็นอสัณฐาน

ตารางที่ 4.22 ค่าดัชนีความเข้มของผลึกของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ

Treatment ¹	CrI (%) ²
A	34.4 ± 0.5 ^a
B	49.7 ± 0.2 ^b
C	50.0 ± 0.2 ^b
D	57.8 ± 0.2 ^d
E	54.1 ± 1.3 ^c

¹ A denotes the native rice straw; B denotes rice straw treated with 1% NaOH at 70°C for 2 h; C denotes rice straw treated with 3% NaOH at 50°C for 2 h; D denotes rice straw treated with 3% NaOH at 70°C for 3 h; E denotes rice straw treated with 5% NaOH at 70°C for 2 h.

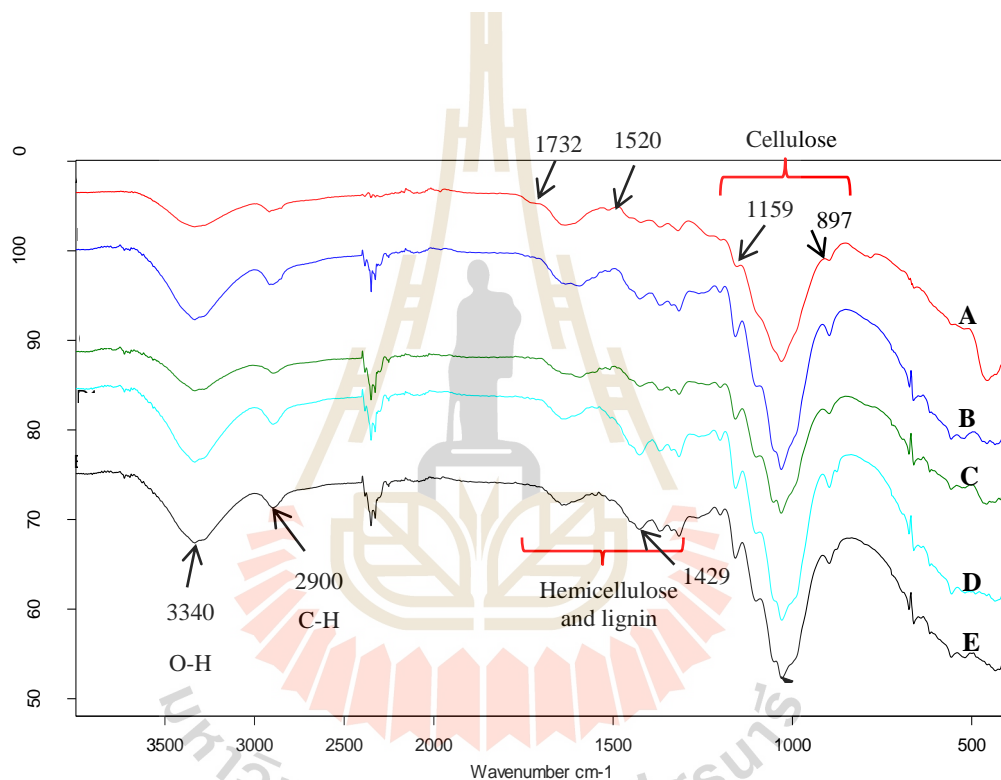
² The values present the mean of duplicate ± standard deviations. The different letters in the same column represent the difference among treatment at $p < 0.05$.

จากตารางที่ 4.22 แสดงค่าดัชนีความเข้มของผลึก (crystallinity index, CrI) ของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ พบว่าฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยด่างมีค่าดัชนีความเข้มของผลึกเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับฟางข้าวก่อนการปรับสภาพโดยฟางข้าวที่ถูกปรับสภาพด้วยความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h มีค่าดัชนีความเข้มของผลึกสูงที่สุดอยู่ที่ 57.8% ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากระหว่างการปรับสภาพฟางข้าวมีผลทำให้ส่วนประกอบของฟางข้าวบางชนิด เช่น เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า เป็นต้น ถูกกำจัดออกไป ซึ่งเซลลูโลสที่ยังคงอยู่ในโครงสร้างของฟางข้าวถูกเปิดเผยออกมากขึ้นทำให้ค่าดัชนีความเข้มของผลึกสูงขึ้น จากงานวิจัยของ Bak et al. (2009) ได้รายงานความสัมพันธ์ในเชิงผกผัน (negative correlation) ระหว่างความเป็นผลึกของเซลลูโลสกับการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยหากค่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสต่ำลงความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์จะสูงขึ้น แต่จากการทดลองนี้พบว่าผลที่ได้ตรงกันข้ามกับรายงานข้างต้น กล่าวคือ ค่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสต่ำลงความสามารถในการย่อยสลาย

เซลลูโลสด้วยเอนไซม์จะต่ำลงด้วย อย่างไรก็ตามเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสที่เป็นอสัณฐาน (Bertran and Dale, 1985) ซึ่งหากพิจารณาตารางที่ 4.18 พบว่าส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous region) ของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับฟางข้าวก่อนการปรับสภาพทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่มขึ้นนั่นเอง

- การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงของ สาร

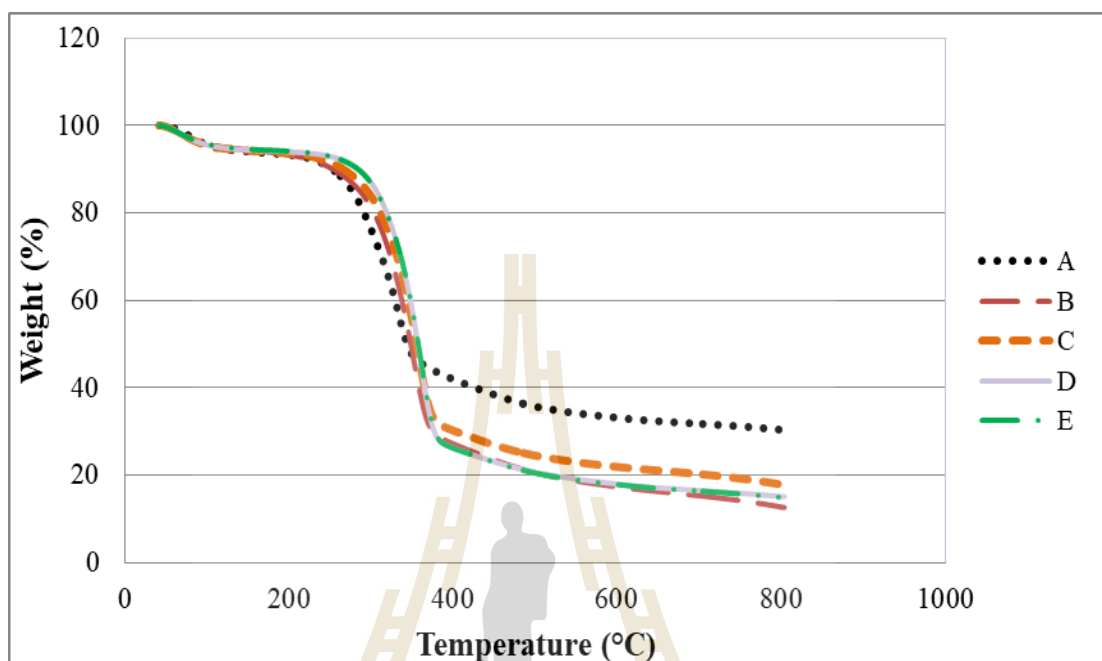
ในช่วงอินฟราเรด (FTIR characterization)



รูปที่ 4.19 FTIR spectrograms: (A) ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ; (B) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; (C) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; (D) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; (E) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 5% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

จากรูปที่ 4.19 แสดง FTIR spectra ระหว่างจำนวนคลื่น $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ โดยช่วงของ FTIR spectra ระหว่างจำนวนคลื่น $1900 - 800 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นช่วงที่พบการดูดกลืนของคาร์โบไฮเดรตและลิกนิน (Umagiliyage, Choudhary, Liang, Haddock, and Watson, 2015) นอกจากนี้ส่วนที่พบลิกนินพบที่การดูดกลืนสูงสุด (absorption peak) อยู่ที่ประมาณจำนวนคลื่น 3340 cm^{-1} และ 2900 cm^{-1} ตามลำดับ คือ การยืดหดพันธะ (stretching vibration) ของหมู่ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$ group) และ $-\text{CH}$ ตามลำดับ (Xu, Yu, Tesso, Dowell, and Wang, 2013) และในส่วนใหญ่ที่เล็ก ๆ ที่จำนวนคลื่น 1732 cm^{-1} พบเฉพาะฟางข้าวที่ก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) คือ aliphatic ester ในโครงสร้างของลิกนินและเฮมิเซลลูโลส (Umagiliyage et al., 2015) อย่างไรก็ตามส่วนของที่เล็ก ๆ นี้ไม่พบในตัวอย่างฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพแล้วทั้ง 4 ตัวอย่าง ทั้งนี้จะเนื่องจากการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างนั้นมีผลทำให้ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสถูกกำจัดออกไป ซึ่งจากผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Chen, Yu, Zhang, and Lu (2011) พบว่าใหญ่ที่เล็ก ๆ ที่จำนวนคลื่น 1732 cm^{-1} เริ่มหายไปเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการปรับสภาพฟางข้าว นอกจากนี้ที่เล็ก ๆ ที่จำนวนคลื่น 1520 cm^{-1} ที่พบในตัวอย่างฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) แสดงถึงการยืดหดพันธะของสารประกอบอะโรมาติก คาร์บอน-คาร์บอน (aromatic C-C stretch) ที่พบในโครงสร้างของลิกนิน (Chen et al., 2011) แต่เมื่อฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยด่างแล้ว 2 ที่เล็ก ๆ นี้หายไป แสดงให้เห็นว่าลิกนินบางส่วนได้ถูกกำจัดออกไปหลังจากการปรับสภาพด้วยด่าง ที่จำนวนคลื่น 1429 cm^{-1} คือ การสั่น (vibration) ของพันธะ CH_2 ซึ่งหมายถึง crystalline band ของเซลลูโลส (Karimi and Taherzadeh, 2016) และที่จำนวนคลื่น 1159 cm^{-1} และ 897 cm^{-1} คือ พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond, C-O-C stretching) ซึ่งหมายถึง amorphous band ของเซลลูโลส (Pan and Sano, 2005; Xu et al., 2013; Umagiliyage et al., 2015; Karimi and Taherzadeh, 2016) ฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพจะมีความเข้มของพิกนี้เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างมีผลทำให้ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสถูกกำจัดออกไปส่งผลทำให้มีปริมาณเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้น

• การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric Analysis)



รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่าง โดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน: (A) ฟางข้าวก่อนปรับสภาพ; (B) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; (C) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; (D) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; (E) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 5% NaOH อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยต่างโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อนหรือ Thermogravimetric Analysis (TGA) ดังแสดงในรูปที่ 4.20 พบว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยต่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นส่งผลทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการทำลาย (degradation temperature) สูงขึ้น โดยเฉพาะการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Chen et al. (2011) และ Xu et al. (2006) โดยกราฟ A คือฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (native rice straw) เริ่มเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ (onset decomposition temperature) ประมาณ

216°C อย่างไรก็ตามฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h และความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h พบว่าการสลายตัวเริ่มที่อุณหภูมิประมาณ 234°C, 247°C, 258°C และ 258°C ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพมีความเสถียรต่อความร้อนมากกว่าฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ (Chen et al., 2011) นอกจากนี้การให้ความร้อนสูงกว่า 530°C พบว่าทุกตัวอย่างยังคงมีส่วนตกค้าง (residues) แสดงให้เห็นว่าฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพมีวัสดุที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน (carbonaceous materials) หลงเหลืออยู่ โดยเฉพาะฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ พบว่ามีปริมาณ ส่วนตกค้างที่สูงกว่าฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพ เห็นได้ว่าการปรับสภาพฟางข้าวมีผลทำให้เกิดการกำจัดองค์ประกอบจำพวกเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้าออกไป ยิ่งการปรับสภาพที่รุนแรงมากขึ้น จะทำให้ปริมาณส่วนตกค้างต่ำลง จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen et al. (2011) และ Sun et al. (2000) รายงานว่าการสลายตัวของวัสดุที่อุณหภูมิระหว่าง 100-500°C ส่วนใหญ่เกิดจากการออกซิเดชัน (oxidation) ของ extractives เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส ส่วนการสลายตัวของ ลิกนินจะเกิดที่อุณหภูมิสูงกว่า 500°C (Liang et al., 2014)

ตารางที่ 4.23 ข้อมูลความเสถียรของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพ

Treatment ¹	T _{10%} ² (°C)	T _{20%} ³ (°C)	T _{50%} ⁴ (°C)	Residue at 530°C (%)
A	252.73	291.23	343.66	34.70
B	253.28	303.52	348.00	19.36
C	265.78	311.26	354.90	23.52
D	284.41	318.91	356.88	19.66
E	283.74	318.58	357.23	19.47

¹ A คือ ฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ; B คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h; C คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 2 h; D คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 3 h; E คือ ฟางข้าวปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 2 h

^{2,3,4} T_{10%-50%} แสดงค่าอุณหภูมิที่ทำให้วัสดุสลายตัว 10%, 20% และ 50% ของน้ำหนักที่สูญเสียไป

จากตารางที่ 4.23 แสดงถึงข้อมูลความเสถียรของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพเมื่อได้รับความร้อน พบว่า อุณหภูมิที่ทำให้วัสดุสลายตัว 10%, 20% และ 50% ของน้ำหนักที่สูญเสียไป โดยฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพมีค่าอุณหภูมิที่สูงกว่าฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ นอกจากนี้ปริมาณส่วนตกค้างที่อุณหภูมิ 530°C (residues) ของตัวอย่างฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพมีค่าต่ำกว่าฟางข้าวก่อนการปรับสภาพ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพฟางข้าวมีผลต่อการเพิ่มความเสถียรต่อความร้อนของฟางข้าว เพราะการปรับสภาพสามารถกำจัดลิกนิน เฮมิเซลลูโลสและส่วนที่เป็น extractive ออกไปได้บางส่วน

4.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง (Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw)

4.2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง (Chemical composition of microwave-assisted alkali pretreated rice straw)

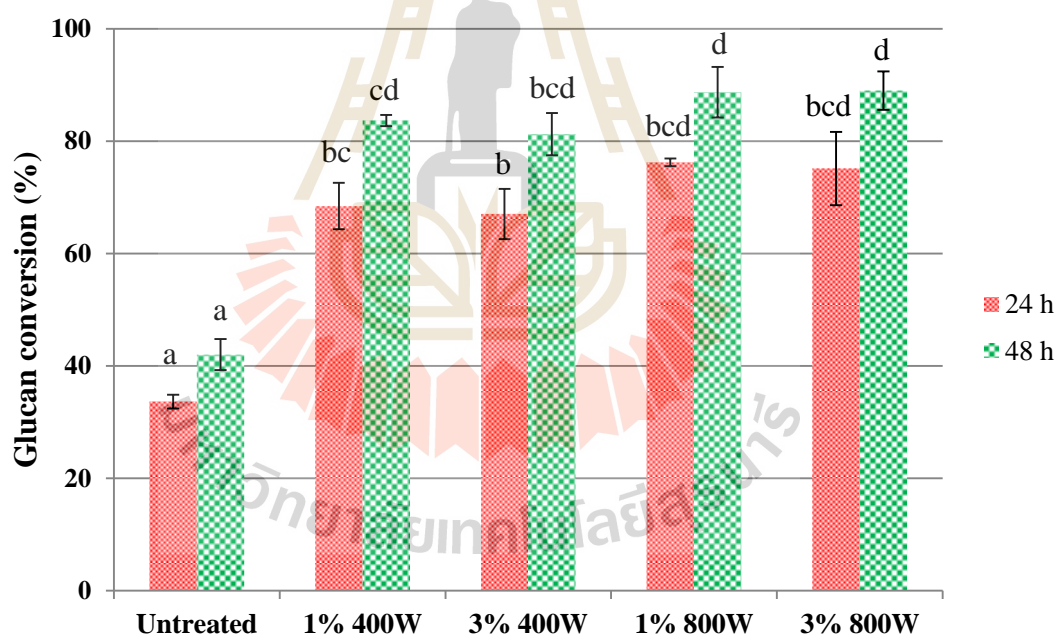
ตารางที่ 4.24 ปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างเป็นเวลา 10 min

NaOH (%)	Power (W)	Removal (%)	
		Solid	Lignin
1.00	400.00	41.07 ± 0.17 ^a	63.52 ± 5.20 ^a
	800.00	55.42 ± 4.00 ^b	70.67 ± 0.00 ^b
3.00	400.00	52.52 ± 3.36 ^b	73.82 ± 2.80 ^b
	800.00	68.66 ± 0.00 ^c	77.88 ± 0.60 ^c

จากตารางที่ 4.23 แสดงปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกจากการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง พบว่าปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกจะแปรผันตรงกับสภาวะการปรับสภาพ โดยสภาวะการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% ที่กำลังไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 10 min มีปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.66% และ 77.88% ตามลำดับ เห็นได้ว่าสภาวะการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นสามารถกำจัดปริมาณของแข็งและลิกนินออกได้เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลทำให้เพิ่มปริมาณกลูแคน อาจเนื่องมาจากปริมาณของแข็ง ลิกนินและส่วนประกอบอื่นๆสามารถละลายในสารละลายด่างได้ทำให้ปริมาณเซลลูโลสมี

ค่ามากขึ้น (Singh, Tuteja, Singh, and Bishnoi, 2011) อีกทั้งความรุนแรงของการปรับสภาพชีวมวลสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสและการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี (Ma, Liu, Chen, Wu, and Yu, 2009) ผลการทดลองที่กล่าวมาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh et al. (2011) ได้รายงานว่าผลของการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างสามารถทำลายโครงสร้างของลิกนินได้บางส่วนและทำให้พื้นที่ผิวของเซลลูโลสเข้าถึงได้มากขึ้น นอกจากนี้งานวิจัยของ Lu et al. (2002) พบว่าการกำจัดลิกนินอาจลดผลผูกพันของเซลลูโลสและลิกนินได้ และงานวิจัยของ Hu and Wen (2008) รายงานว่าการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มากขึ้น

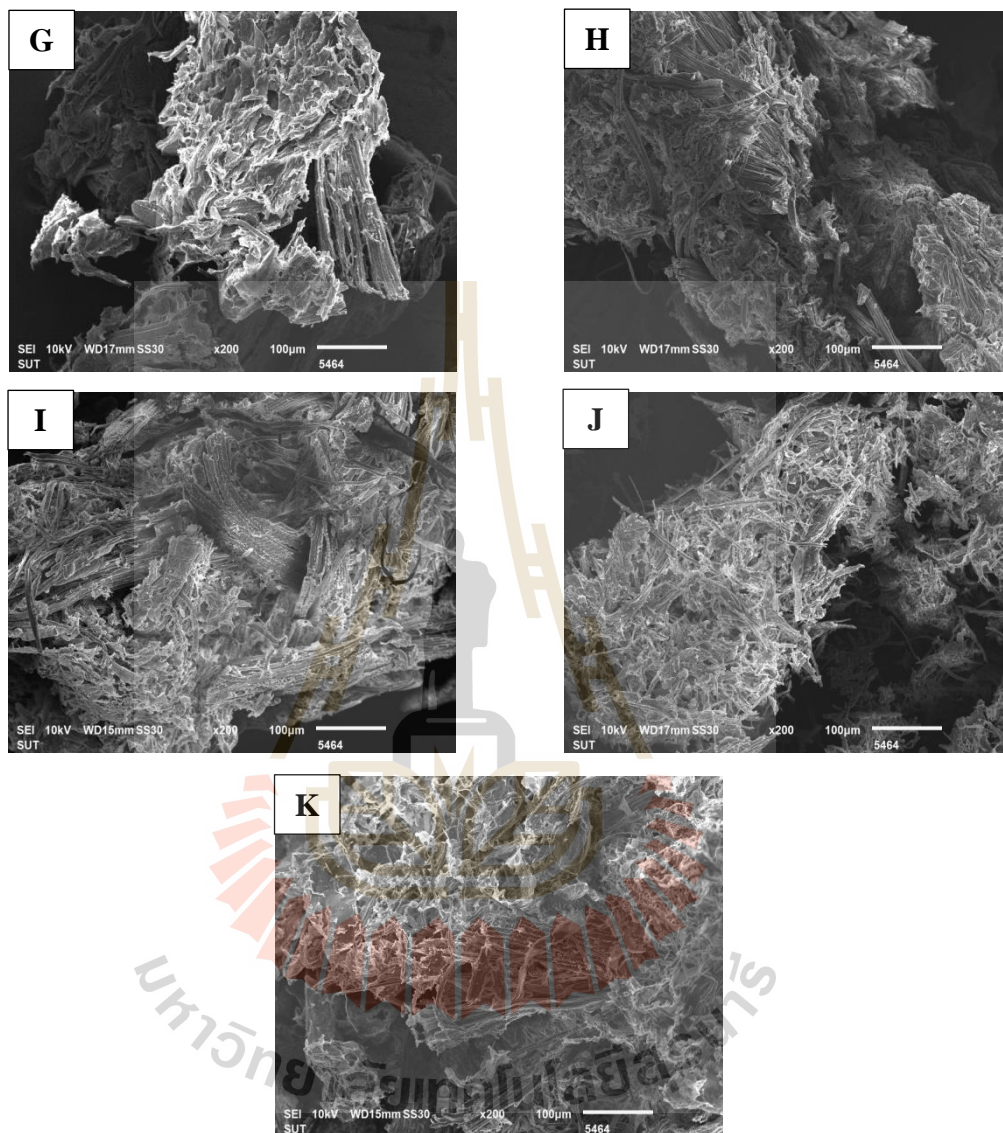
4.2.2 ผลของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง (Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw)



รูปที่ 4.21 ผลของการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (ที่ $p < 0.05$)

จากรูปที่ 4.21 แสดงความสัมพันธ์ของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟ ร่วมกับค่าที่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ของฟางข้าวก่อนและฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 และ 3% ที่กำลังไมโครเวฟ 400 และ 800 W เป็นเวลา 10 min พบว่าการปรับสภาพที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 และ 3% กำลังไมโครเวฟ 800 W มีปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุดจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h เท่ากับ 76.22 และ 88.99% ตามลำดับ เห็นได้ว่าสภาวะการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค่าที่มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมากขึ้นด้วย เนื่องจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค่าสามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสและลิกนินได้มากกว่าการปรับสภาพด้วยค่าเพียงอย่างเดียว ซึ่งกำลังของไมโครเวฟช่วยเพิ่มการละลายของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Zhu et al., 2005) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ตามลำดับ ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค่าของแต่ละสภาวะการปรับสภาพ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มสภาวะความรุนแรงของการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

4.2.3 โครงสร้างระดับจุลภาคของฟางข้าว (Microstructure of microwave-assisted alkali pretreated rice straw)



รูปที่ 4.22 ภาพถ่าย SEM: (G) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH กำลังไมโครเวฟ 400W เป็นเวลา 10 min; (H) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 1% NaOH กำลังไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 10 min; (I) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH กำลังไมโครเวฟ 400 W เป็นเวลา 10 min; (J) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 3% NaOH กำลังไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 10 min; (K) ฟางข้าวหลังการปรับสภาพที่ 5% NaOH กำลังไมโครเวฟ 400 W เป็นเวลา 10 min (ระดับกำลังขยายของภาพ 200X และความยาว 50 µm)

ฟางข้าวก่อนและหลังจากการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค้างถูกนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) โดยฟางข้าวหลังจากผ่านการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับค้างที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% กำลังไมโครเวฟ 400 W เป็นเวลา 10 min (รูปที่ 4.22G) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% กำลังไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 10 min (รูปที่ 4.22H) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% กำลังไมโครเวฟ 400 W เป็นเวลา 10 min (รูปที่ 4.22I) ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3% กำลังไมโครเวฟ 800 W เป็นเวลา 10 min (รูปที่ 4.22J) และความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5% กำลังไมโครเวฟ 400 W เป็นเวลา 10 min (รูปที่ 4.22K) ดังแสดงในรูปที่ 4.22 พบว่าลักษณะของโครงสร้างของฟางข้าวหลังจากการปรับสภาพที่กำลังไมโครเวฟ 400 W มีพื้นที่ผิวบางส่วนถูกทำลาย นอกจากนี้เมื่อเพิ่มความรุนแรงของการปรับสภาพเป็นกำลังไมโครเวฟ 800 W เห็นได้ว่าโครงสร้างของฟางข้าวถูกทำลายและมีความเป็นรูพรุนมากขึ้น ลักษณะดังกล่าวนี้อาจจะส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในรูปที่ 4.21 เช่น ที่สภาวะการปรับสภาพ 3% ที่กำลัง 400 W และ 800 W มีปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h โดยเฉลี่ยเท่ากับ 67.04 และ 75.13% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น 10.8% ทั้งนี้ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพจะมีความเป็นรูพรุนเพิ่มขึ้นเนื่องจากการกำจัดส่วนที่ไม่เป็นระเบียบของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกไป (Chen et al., 2011; Gong et al., 2010)

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของฟางข้าวจะถูกทำลายมากขึ้นที่ระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับค้างเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อความเป็นรูพรุนภายในโครงสร้างมากขึ้นและประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสในฟางข้าวเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง (Conclusions)

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 หัวข้อ ดังนี้

5.1.1 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่าง (Alkali pretreatment of rice straw)

5.1.1.1 ฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยด่างมีปริมาณของแข็ง ลิกนินและกลูแคนที่ถูกกำจัดออกแปรผันโดยตรงกับระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพด้วยด่าง

5.1.1.2 บั๊จจัยหรือสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างซึ่งทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) หลังจากย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h เท่ากับ 85% คือ ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.5% อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 3.0 h ค่าความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (composite desirability) เท่ากับ 0.94 การยืนยันผลแบบจำลอง (validation experiments of models) ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ที่ระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 48 ชั่วโมง มีค่าคลาดเคลื่อนเท่ากับ 3.73%

5.1.1.3 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างอย่างต่อเนื่อง (sequential alkali pretreatment) ทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h และ 72 h เท่ากับ 94.5% และ 98.7% ตามลำดับ

5.1.1.4 สภาวะในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นทำให้ความเป็นรูพรุนของโครงสร้างฟางข้าวมากขึ้น ปริมาตรรูพรุนทั้งหมด (total pore volume) และพื้นที่ผิวจำเพาะ (specific surface area) เพิ่มมากขึ้น โดยปริมาตรรูพรุนทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ (efficiency of enzymatic hydrolysis) ซึ่งทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น

5.1.1.5 จากการวิเคราะห์โครงสร้างและตรวจสอบความเป็นผลึกของเซลลูโลส พบว่าสถานะในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นทำให้ความเข้มของส่วนผลึก และ อสัณฐานของเซลลูโลส (intensity of crystalline and amorphous regions) เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจาก ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสถูกกำจัดออกจากโครงสร้างของฟางข้าวมากขึ้น นอกจากนี้การวิเคราะห์ การดูดกลืนในช่วงอินฟราเรด (FTIR) มีความสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น

5.1.1.6 สถานะในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยด่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นทำให้ ฟางข้าวมีความเสถียรต่อความร้อนเพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิเริ่มต้นที่เกิดการสลายตัว (onset decomposition temperature) สูงขึ้น

5.1.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่าง (Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw)

5.1.2.1 สถานะในการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่มีความ รุนแรงมากขึ้นทำให้ปริมาณของแข็งและลิกนินถูกกำจัดออกไปมากขึ้น

5.1.2.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่สถานะต่าง ๆ ไม่มีผล ต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของการย่อยสลาย กลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์

5.1.2.3 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับด่างที่ความเข้มข้นของ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% และ 3% กำลังไฟ 800 W เป็นเวลา 10 min ทำให้ปริมาณการ เปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 48 h มีค่าสูงถึง 89%

5.1.2.4 ความเข้มข้นของด่างและกำลังไฟของไมโครเวฟสูงขึ้นไปผลทำให้ความ เป็นรูปพรุนของ โครงสร้างฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งความเป็นรูปพรุนส่งผลต่อ ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการย่อยสลายฟางข้าวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ สามารถศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มเติม เช่น การเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 96 h

5.2.2 การปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าอย่างต่อเนืองอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถเพิ่มปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ อย่างไรก็ตามการปรับสภาพดังกล่าวจะใช้เวลานานกว่าการปรับสภาพด้วยค่าเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของผู้วิจัยที่จะศึกษาในอนาคตที่อาจต้องเปรียบเทียบในส่วนของความคุ้มค่า

5.2.3 จากการปรับสภาพฟางข้าวด้วยไมโครเวฟร่วมกับค่า สามารถศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มเติมได้ เช่น การใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่ำเพื่อศึกษากำลังไฟและเวลาที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส

5.2.4 ผลผลิตที่ได้จากการวิจัยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในส่วนของ การเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแหล่งพลังงานเชื้อเพลิง เช่น ไบโอดีเซล ไบโอดีทานอล เป็นต้น



รายการอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2557). **ศักยภาพชีวมวลประเทศไทย [ออนไลน์]**
ได้จาก: http://www.dede.go.th/ewt_w3c/ewt_news.php?nid=486
- ชันันท์ นิवासวงษ์ และ เฉลิม เรื่องวิริยะชัย. (2555). การผลิตเซลล์ลูโลสจากเอทานอลในประเทศไทย.
วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40 (4): 1073-1088.
- คาริกา อวะภาค, นพรัตน์ มะเห, และ คลฤดี พิชัยรัตน์. (2556). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการ
สกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผสมนางโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง. **วารสาร
วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น** 41 (2): 414-430.
- นพรัตน์ มะเห, คาริกา อวะภาค, และ คลฤดี พิชัยรัตน์. (2558). สภาวะที่เหมาะสมในการ
สกัดโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีปริมาณโปรตีนสูงจากหอยดัลบ (*Meretrix casta*) โดยใช้วิธี
พื้นผิวผลตอบสนอง. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น** 43 (3): 425-438.
- น้ำฝน ไชยลังกา, นักรบ นาคประสพ, และ กุทธิชัย อัสวราชันย์. (2556). การหาสภาวะที่เหมาะสม
สำหรับการอบแห้งแครอทแผ่นโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง. **ว.ม.ท.ส.** 1(2): 92-102.
- ปารเมศ ชูติมา. (2545). **การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์ และ นิธิยา รัตนานพนนท์. (2553). **ไมโครเวฟ [ออนไลน์]** ได้จาก:
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0401/microwave>
- รัชฎา แยมสรवल, รณชัย วังรัก, วิกานดา แก้วยอด, ดวงพร อมรเลิศพิศาล, ชันันท์ ราษฎร์นิยม และ
กุทธิชัย อัสวราชันย์ (2555). สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมใน
เปลือกทับทิมอบแห้ง. **การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย
ระดับชาติครั้งที่ 15 และระดับนานาชาติครั้งที่ 7**. จังหวัดพระนครศรีอยุธยา.
- สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และ ภูมินทร์ แจ่มเชื้อ (2554). การลดฟองอากาศในกระบวนการผลิต
บรรจุภัณฑ์พลาสติกโดยการประยุกต์ใช้การออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบ้หันแกน.
การประชุมวิชาการช่างงานวิศวกรรมอุตสาหกรรม ประจำปี 2554. จังหวัดชลบุรี.
- สุภาวดี ผลประเสริฐ. (2557). การปรับสภาพวัตถุดิบพอลิกลูโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (5): 641.

- อินทัย ตีรวานิช. (2551). คู่มือการใช้โปรแกรม SPSS for Windows. ขอนแก่น. หจก. ขอนแก่นการพิมพ์.
- อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล. (2550). การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 4 . ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาลิขิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Altintas, M.M., U lgen, K.O., Kirdar, B.O., nsan, Z.I., and Oliver, S.G. 2002. Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. **Enzyme Microb Technol.** 31: 640-647.
- Alvira, Tomas-Pejo., P.E., Ballesteros., M., and Nergro., M.J. 2010. Pretreatment technology for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Biosoure. Techonol.** 101: 4851-4861.
- Bak, J.S., Ko, J.K., Han, Y.H., Lee, B.C., Choi, I.G., and Kim, K.H. 2009. Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment. **Bioresource Technology.** 100: 1285-1290.
- Bastawde, K.B. 1992. Xylan structure, microbial xylanase and their mode of action. **World J. of Microbol. and Biotechnol.** 8: 355-368.
- Bazargan, A., Bazargan, M., and McKay G. 2015. Optimization of rice husk pretreatment for energy production. **Renewable Energy.** 77: 512-520.
- Bertran, M.S., Dale, B.E. 1985. Enzymatic hydrolysis and recrystallization behavior of initially amorphous cellulose. **Biotechnol Bioeng.** 27: 177-181.
- Box, G. E. P., and Behnken, D. W. 1960. Some new three level design for the study of quantitative variables. **Technometrics.** 2: 455-475.
- Browning, B.L. 1963. Methods of wood chemistry. Interscience Publishers, New York, London. pp. 389-407.
- Buranov, A.U., and Mazza, G. 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. **Industrial Crops Products.** 28: 237-259.
- Caddick, S. 1995. Microwave assisted organic reactions. **Tetrahedron.** 51: 10403-10432.
- Chen, M., Zhao, J., and Xia, L. 2009. Comparison of four different chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Biomass and Bioenergy.** 33: 1381-1385.

- Chen, X., Yu, J., Zhang, Z., and Lu, C. 2011. Study on structure and thermal stability properties of cellulose fibers from rice straw. **Journal of Carbohydrate polymers**. 85: 245-250.
- Cheng, J., Su, H., Zhou, J., Song, W., and Cen, K. 2011. Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw to promote enzymatic hydrolysis and hydrogen production in dark-and photo-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**. 36: 2093-2101.
- Deng, L., Wang, Y., Zhang, Y., Ma, R. 2007. The enhancing of ammonia pre-treatment on the fermentation of rice straw hydrolysate to xylitol. **Journal of Food biochemistry**. 31: 195-205.
- Dutta, S.K., Halder, G., and Mandal, M.K. 2014. Modeling and optimization of bi-directional delignification of rice straw for production of bio-fuel feedstock using central composite design approach. **Energy**. 71: 579-587.
- Eriksson, K.E.L., Blanchette, R.A., Ander, P. 1990. Microbial and Enzymatic degradation of Wood and Wood Component. **Springer Verlag**, Berlin. p. 407.
- Gan, C. Y., and Latiff, A. A. 2011. Extraction of antioxidant pectic-polysaccharide from mangosteen (*Garcinia mangostana*) rind: optimization using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**. 83: 600-607.
- Giovanni, M. 1983. Response surface methodology and product optimization. **Food Technology**. 37: 41-45.
- Gong, G., Liu, D., and Huang, Y. 2010. Microwave-assisted organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of rice straw. **Journal of Biosystems engineering**. 107: 67-73.
- Goshadrou, A., Karimi, K., Taherzadeh, M.J. 2011. Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*. **Ind Crops Prod**. 34: 1219-1225.
- Gupta, R., and Lee, Y.Y. 2010. Pretreatment of corn stover and hybrid poplar by sodium hydroxide and hydrogen peroxide. **Biotechnology Progress**. 26: 1180-1186.
- Hu, R. 1999. Food Product Design: A Computer Aided Statistical Approach. Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc. pp. 79-80.
- Hu, Z., and Wen, Z. 2008. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. **Biochemical Engineering Journal**. 38: 369-378.

- Hsu, T.-C., Guo, G.-L., Chen, W.-H., and Hwang, W.-S. 2010. Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**. 101: 4907-4913.
- Karimi, K., and Taherzadeh, M.J. 2016. A critical review of analytical methods in pretreatment of lignocellulose: Composition, imaging, and crystallinity. **Bioresource Technology**. 200: 1008-1018.
- Kim, I., and Han, J.I. 2012. Optimization of alkaline pretreatment conditions for enhancing glucose yield of rice straw by response surface methodology. *Biomass Bioenergy*, 46: 210-217.
- Ko, J.K., Bak, J.S., Jung, M.W., Lee, H.J., Choi, I.G. and Kim, T.H. 2009. Ethanol production from rice straw using optimized aqueous-ammonia soaking pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation processes. **Bioresource Technology**. 100: 4374-4380.
- Kubo, S., and Kadla, JF. 2005. Hydrogen bonding in lignin: a Fourier transform infrared model compound study. **Biomacromolecules**. 6: 21-2815.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M., and Stroeve, P. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial Engineering Chemistry Research**. 48: 3713-3729.
- Lee, J.S., Parameswaran, B., Lee, J.P., and Park, S.C. 2008. Recent developments of key technologies on cellulosic ethanol production. **Journal of Scientific and Industrial Research**. 67: 865-873.
- Liang, Y.-G., Cheng, B., Si, Y.B., Cao, D.J., Nie, E., Tang, J., et al. 2014. Physicochemical change of rice straw after lime pretreatment and mesophilic dry digestion. **Biomass and Bioenergy**. 71: 106-112.
- McIntosh, S., and Vancov, T. 2011. Optimization of dilute alkaline pretreatment for enzymatic saccharification of wheat straw. **Biomass and Bioenergy**. 35: 3094-3103.
- Ma, H., Liu, W.-W., Chen X., Wu Y.J., and Yu, Z.-L. 2009. Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment. **Biomass Technology**. 100: 1279-1284.

- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., et al. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**. 96: 673-686.
- Pan, X.J., and Sano, Y.S. 2005. Fractionation of wheat straw by atmospheric acetic acid process. **Bioresource Technology**. 96:1256-1263.
- Pedersen, M., Johansen, K. S., and Meyer, A. S. 2011. Low temperature lignocellulose pretreatment: effects and interactions of pretreatment pH are critical for maximizing enzymatic monosaccharide yields from wheat straw. **Biotechnology for Biofuels**. 4: 11.
- Ray, S., Reaume, S.J., and Lalman, J.A. 2010. Developing a statistical model to predict hydrogen production by a mixed anaerobic mesophilic culture. **International Journal of Hydrogen Energy**. 35: 5332-5342.
- Sangnak, A., Noomhorm, A. 2004. Chemical, physical and baking properties of dietary fiber prepared from rice straw. *Journal of Food research international*. 37: 66–74.
- Schwanninger, M., Rodrigues, J., Pereira, H., Hinterstoisser, B. 2004. Effects of short time vibratory ball milling in the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. **Vib Spectrasc**. 36: 23-40.
- Selig, M., Weiss, N., and Ji, Y. 2008. Chemical Analysis and Testing Task: Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass. **National Renewable Energy Laboratory**, Golden, Co., USA.
- Sills, DL, and Gossett, JM. 2012. Using FTIR to predict saccharification from enzymatic hydrolysis of alkali pretreated biomass. **Biotechnol Bioeng**. 109: 62-353.
- Singh, A., Tuteja, S., Singh, N., and Bishnoi, N. 2011. Enhanced saacharification of rice straw and hull by microwave-alkali pretreatment and lignocellulolytic enzyme production. **Bioresource Technology**. 102: 1773-1782.
- Sluiter, A., Hames, B, Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., et al. 2011. Chemical Analysis and Testing Task: Determination of structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **National Renewable Energy Laboratory**, Golden, Co., USA.
- Sun, R.C., Tomkinson, J., Ma, P.L., and Liang, S.F. 2000. Comparative study if hemicellulose from rice straw by alkali and hydrogen peroxide treatment. **Carbohydrate Polymer**. 42: 111-122.

- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**. 83: 1-11.
- Umagiliyage, A.L., Choudhary, R., Liang, Y., Haddock, J., and Watson, D. G. 2015. Laboratory scale optimization of alkali pretreatment improving enzymatic hydrolysis of sweet sorghum bagasse. **Industrial Crops and Products**. 74: 977-986.
- Xu, F., Liu, C.F., Geng, Z.C., Sun, J.X., Sun, R.C., Hei, B.H., et al. 2006. Characterisation of degraded organosolv hemicellulose from wheat straw. **Polymer Degradation and Stability**. 91: 1880-1886.
- Xu, F., Yu, J., Tesso, T., Dowell, F., and Wang, D. 2013. Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: A mini-review. **Applied Energy**. 104: 801-809.
- Yudkin, M., and Offord, R. 1973. *Comprehensive biochemistry*. **American ed, Biochemistry Bibliography**. p. 547-550.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu Z., Liao, J., and Zhang, Y. 2005. Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymatic hydrolysis. **Process Biochemistry**. 40: 3082-3086.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu Z., Liao, J., and Zhang, Y. 2005a. Pre-treatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymatic hydrolysis. **Process Biochemistry**. 40: 3082-3086.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu Z., Zhang, X., Wang, C., Yu, F., et al. 2005b. Simultaneous saccharification and fermentation of microwave/alkali pre-treated rice straw to ethanol. **Biosystems Engineering**. 92: 229-235.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu Z., Zhang, X., Zhang, X., Li, H., et al. 2005c. Enhancing enzymatic hydrolysis of rice straw by microwave pre-treatment. **Chemical Engineering communications**. 192: 1559-1566.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Wang, C., Yu, F., Jin, S., et al. 2006b. Comparison of three microwave/chemical pretreatment process for enzymatic hydrolysis of rice straw. **Biosystems Engineering**. 93: 279-283.

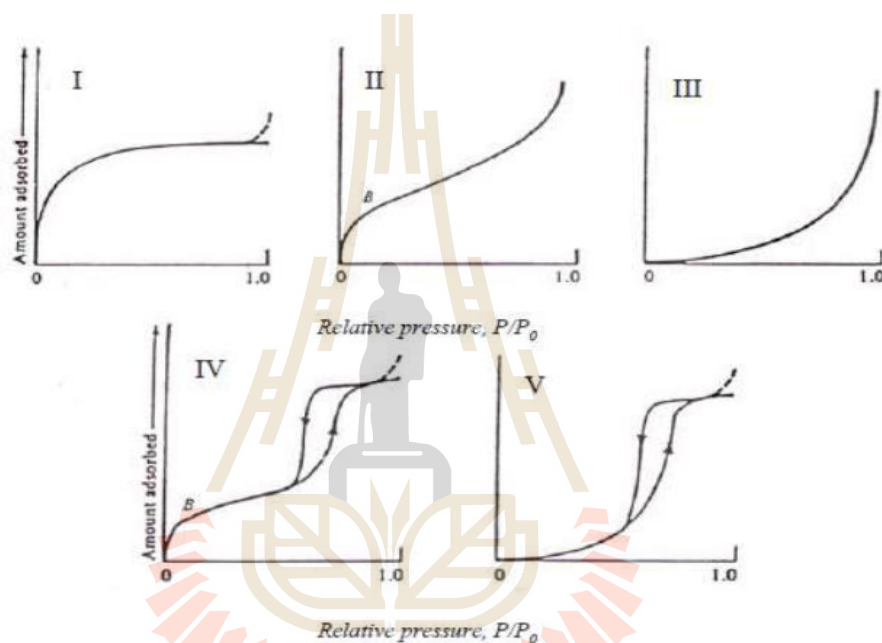


ภาคผนวก ก

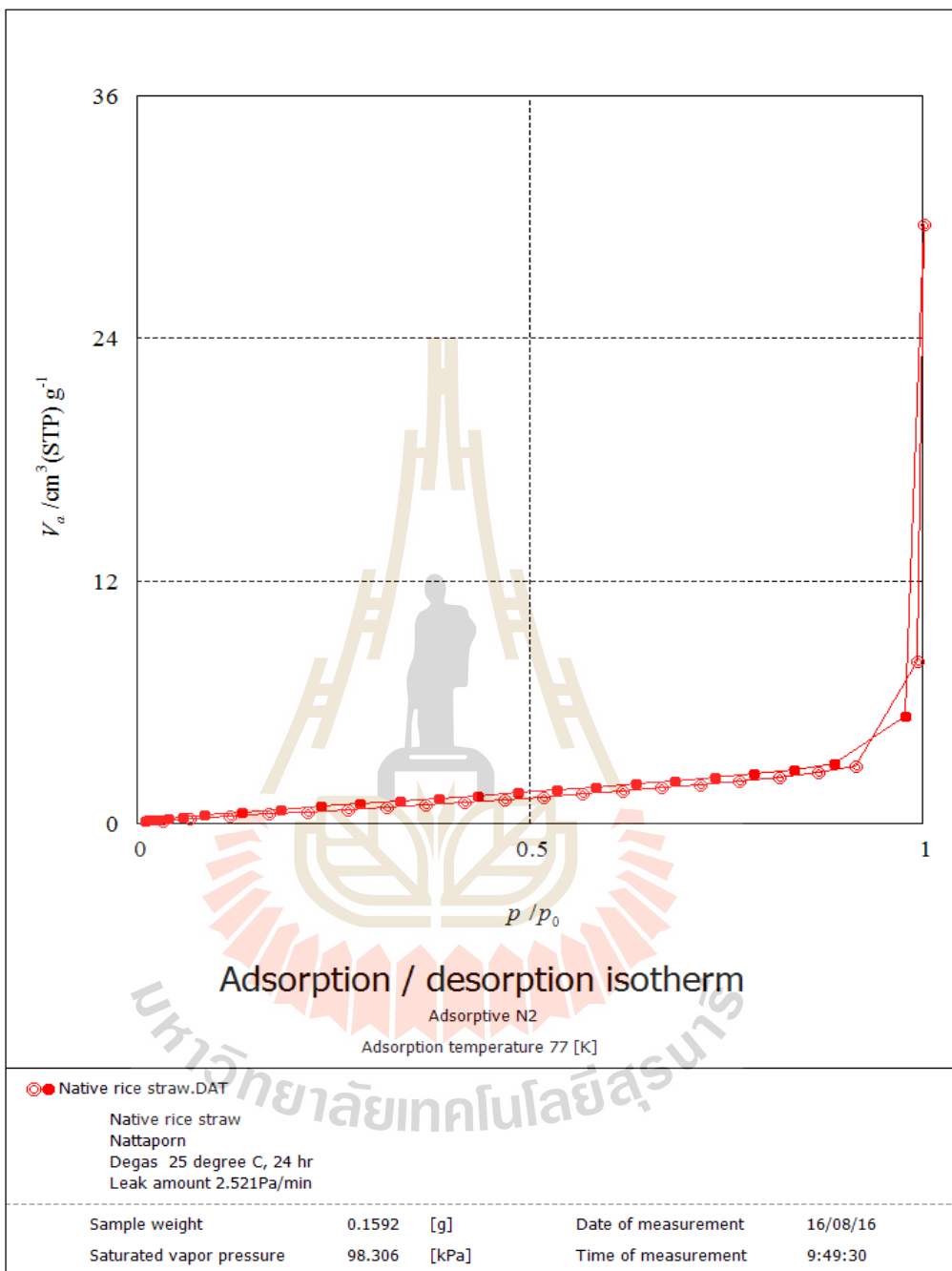
ผลของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ

1. การวิเคราะห์พื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุขนาดนาโน (Surface area pore size and zeta pore volume distribution analysis, BET)

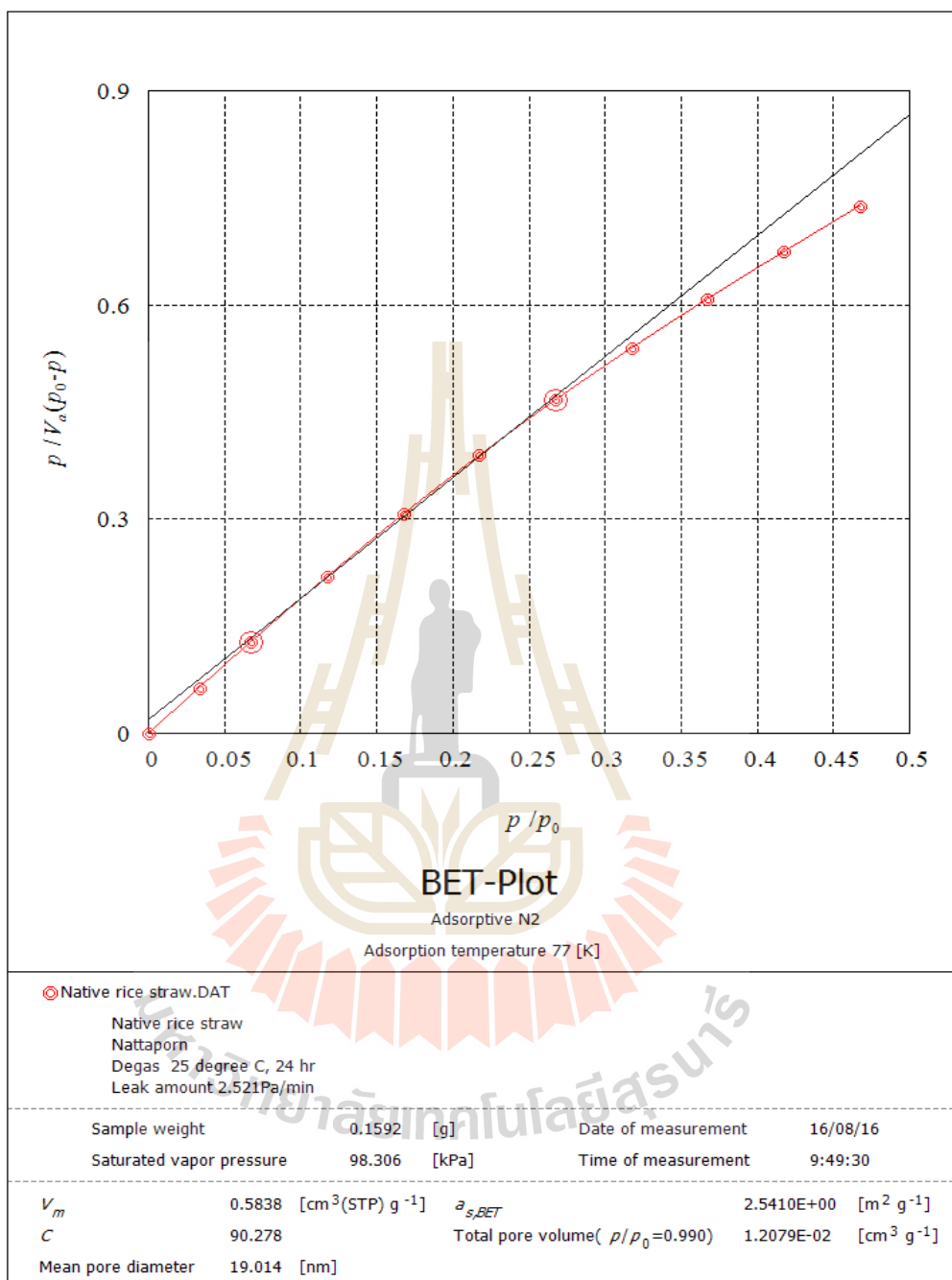
จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง BET ซึ่งอาศัยการพิจารณาลักษณะของไอโซเทอมการดูดซับ (adsorption isotherm) ซึ่งสามารถแบ่งไอโซเทอมพื้นฐานออกเป็น 5 ประเภทดังแสดงใน รูปที่ 1 ซึ่งลักษณะของไอโซเทอมนั้นมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะและชนิดของตัวอย่าง เมื่อผ่านการวิเคราะห์สามารถแสดงผลดังแสดงในรูปที่ 2 และ 3



รูปที่ 1 ไอโซเทอมพื้นฐาน (ที่มา : Wang et al., 2012)



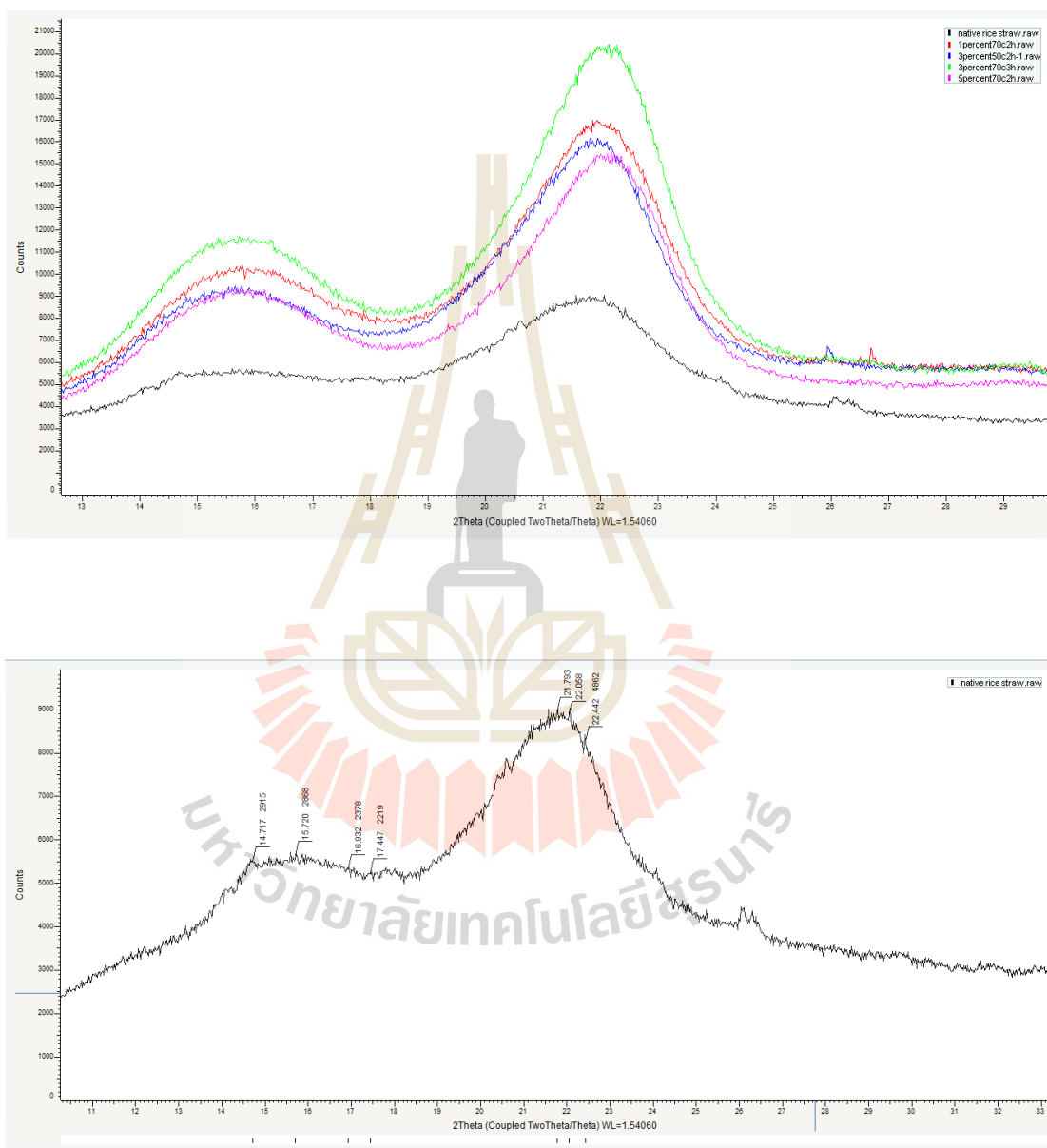
รูปที่ 2 ตัวอย่างของไอโซเทอมจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง BET



รูปที่ 3 ข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง BET

2. การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (Crystallinity analysis by X-ray diffraction, XRD)

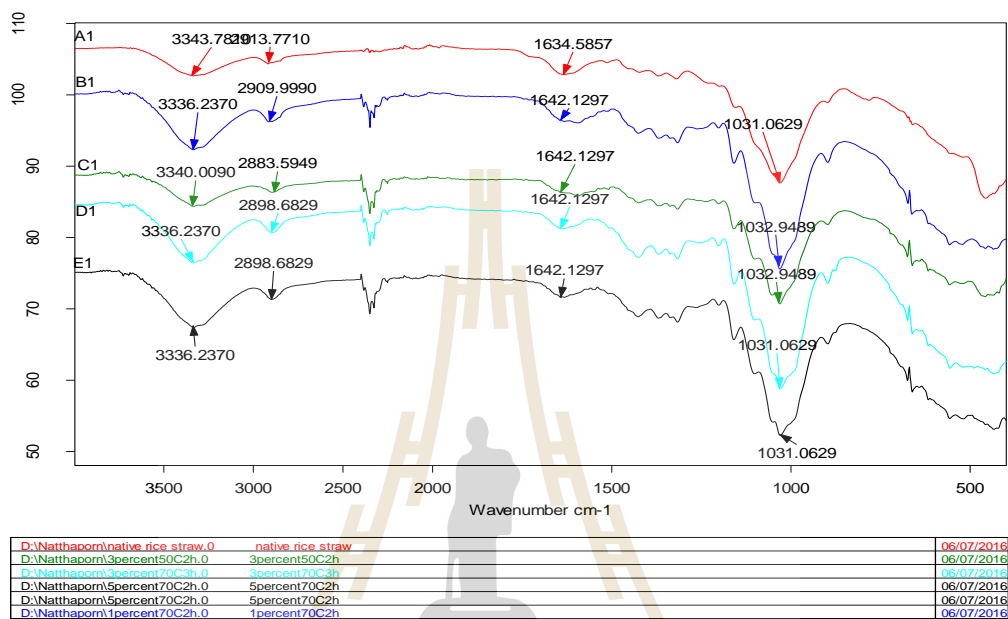
จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง XRD ดังแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบที่ 4



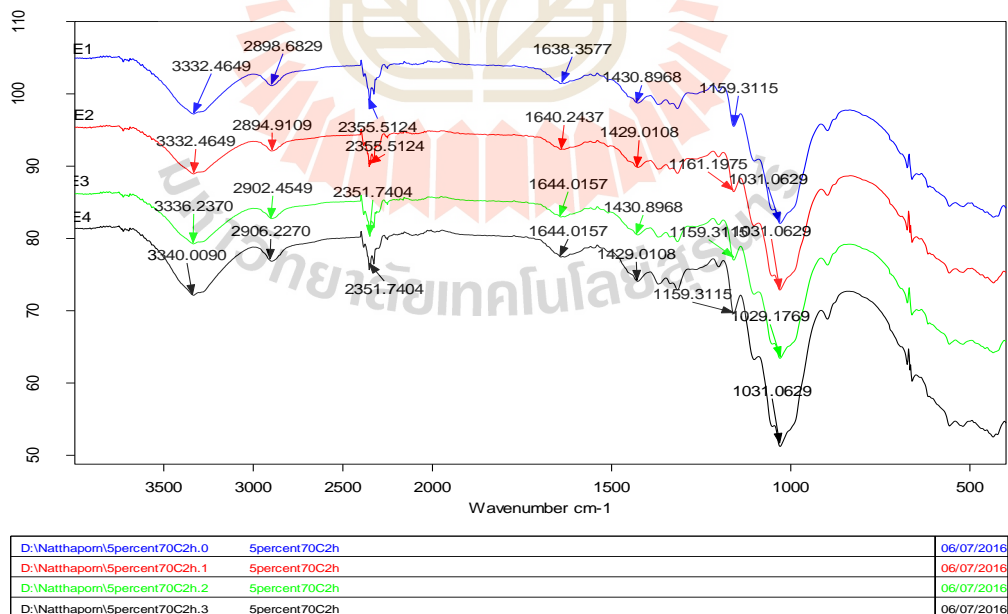
รูปที่ 4 ตัวอย่างผลข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง XRD

3. การวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารโดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารในช่วงอินฟราเรด (FTIR characteristic)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง FTIR ดังแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบที่ 5



Seite 1 von 1

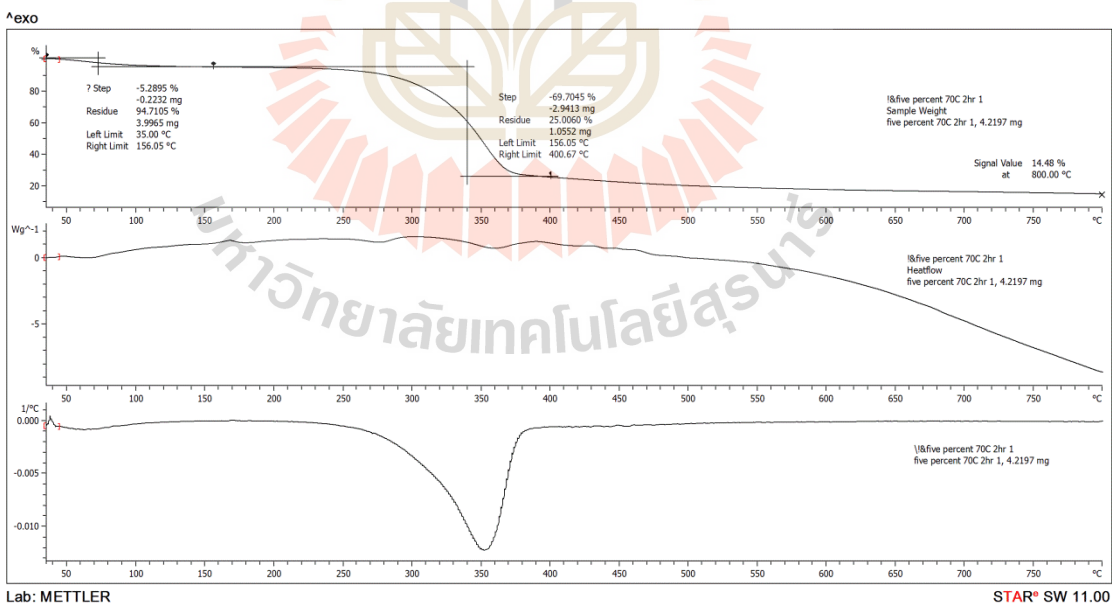
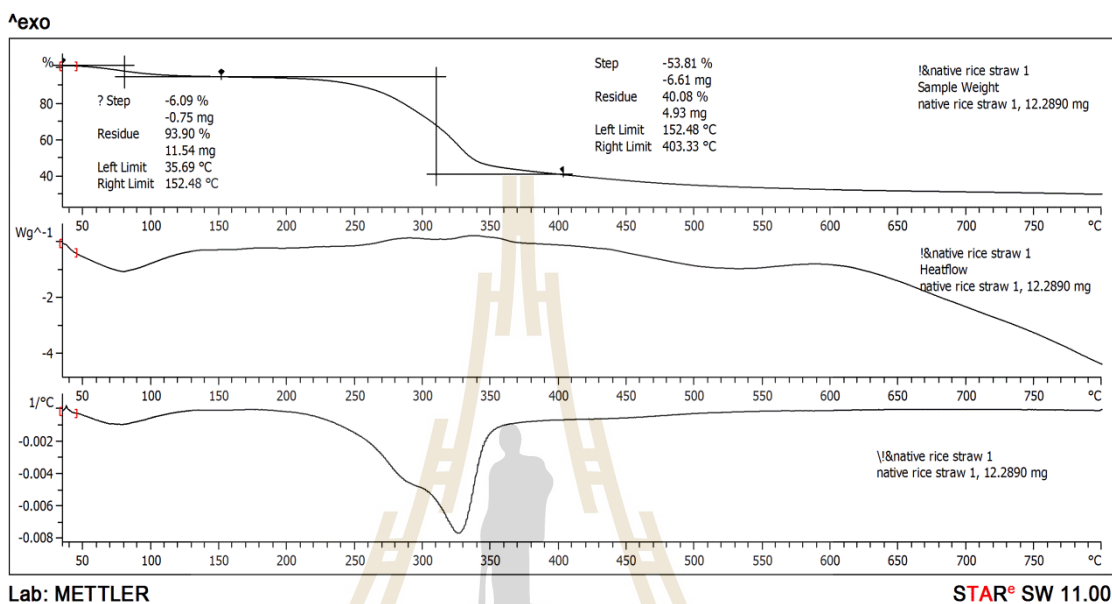


Seite 1 von 1

รูปที่ 5 ตัวอย่างผลข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR

4. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis, TGA)

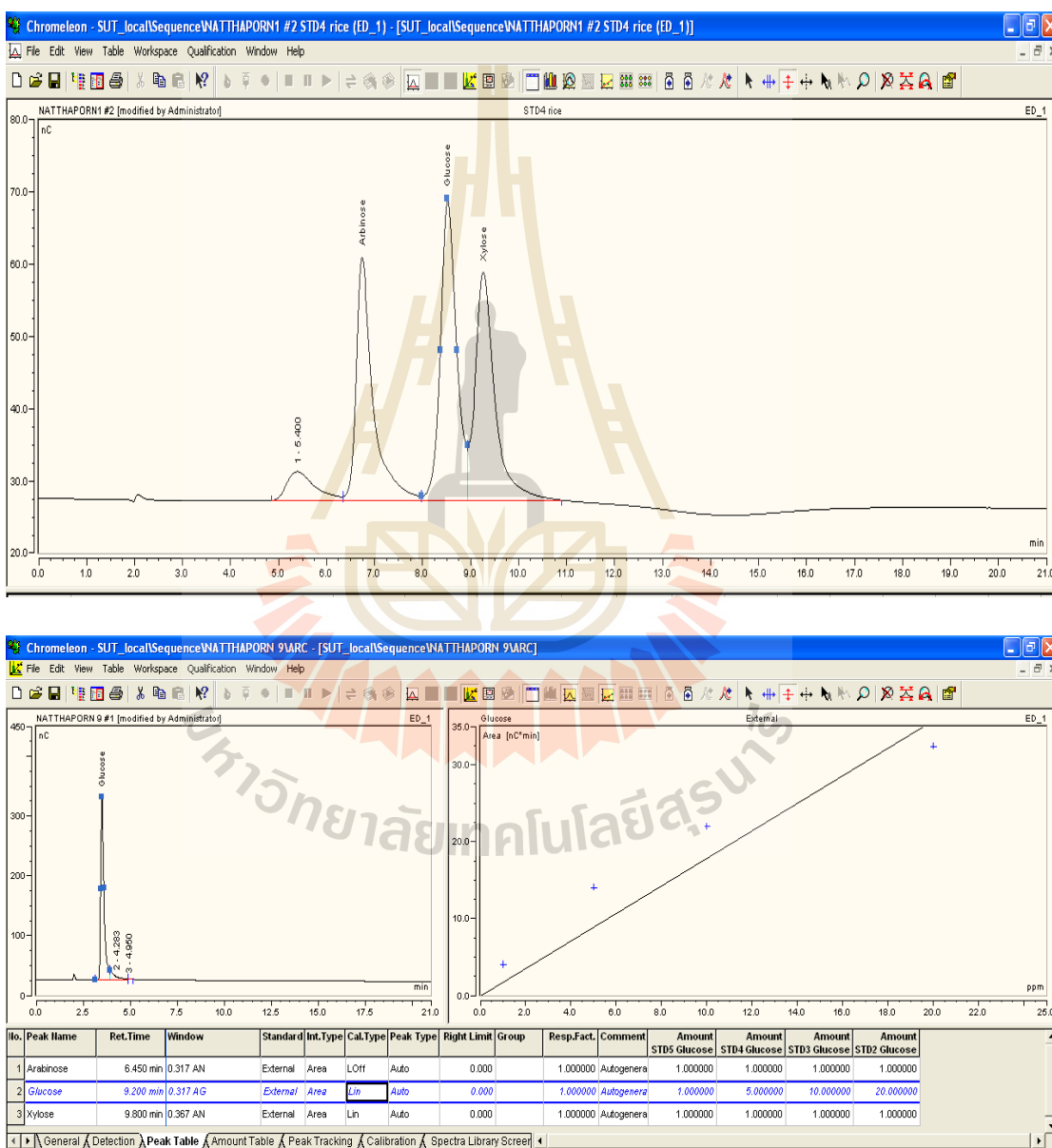
การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่อง TGA ดังแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบที่ 6



รูปที่ 6 ตัวอย่างผลข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TGA

5. การวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (Ion chromatography, IC)

ในการใช้เครื่องมือจะสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่ประกอบด้วย ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และสารละลายมาตรฐานเพื่อนำมาเทียบกับตัวอย่าง ผลของข้อมูลจะแสดงในลักษณะเป็น พิกของตัวอย่างที่ระยะเวลาที่คอลัมน์กวัดได้ ดังแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบที่ 7



รูปที่ 7 ตัวอย่างผลของสารละลายมาตรฐานจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง IC



ภาคนวค ข

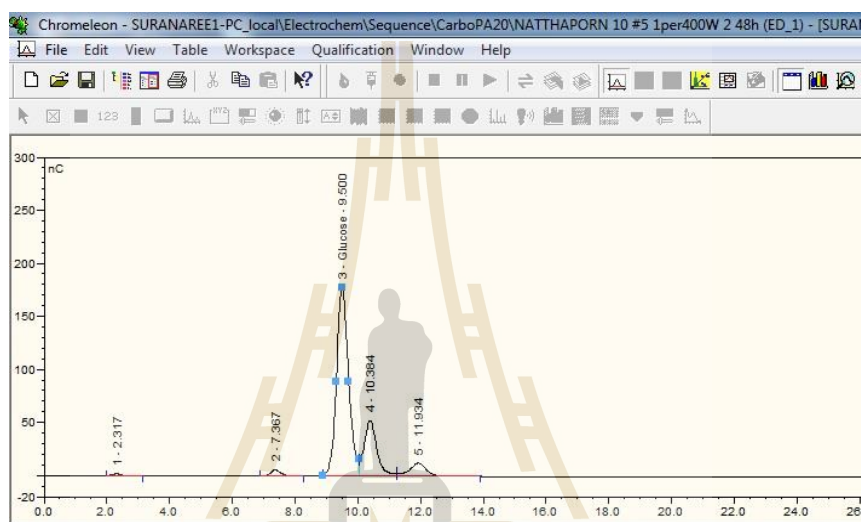
ตัวอย่างการคำนวณ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. การวิเคราะห์น้ำตาลด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี

ผลของข้อมูลที่ได้จากเครื่อง IC ดังแสดงในรูปที่ 1A และ B สามารถทำการอินทิเกรตพื้นที่ได้กราฟ ซึ่งจะได้อินทิเกรตพื้นที่ได้กราฟของตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน เพื่อนำมาคำนวณความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาล ซึ่งสามารถแสดงตัวอย่างการคำนวณ ดังนี้

A

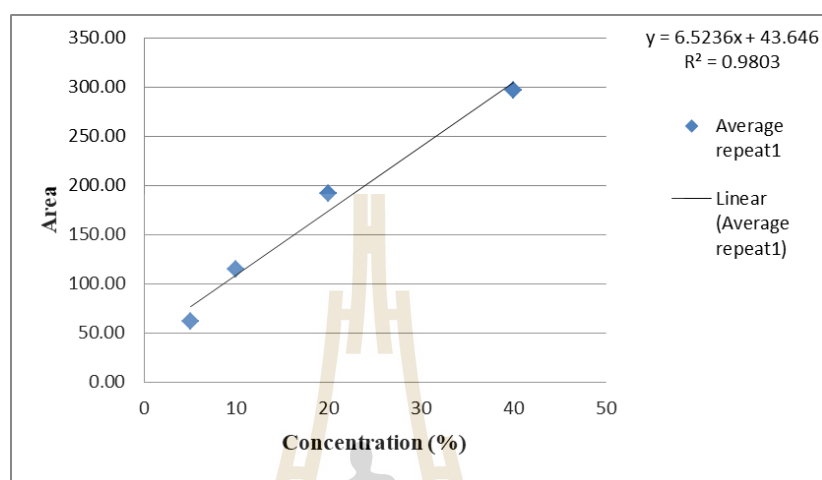


B

A	B	C	D	E	F	G	H
Sample No.	Sample Name	Ret.Time min	Area nC*min	Height nC	Amount ppm	Type	Plates (EP)
		Glucose ED 1	Glucose ED 1	Glucose ED 1	Glucose ED 1	Glucose ED 1	Glucose ED 1
1	STD4glucose	7.484	33.4399	89.9615	4.8685	BMB [™]	3133
2	STD3glucose	7.450	57.5211	141.9316	10.6015	BMB [™]	2606
3	STD2glucose	7.400	94.6576	204.1267	21.6642	BMB [™]	2019
4	STD1glucose	7.333	139.8447	264.2832	37.9243	BMB [™]	1490
5	native rice straw 48h 1	7.334	88.9577	214.0599	19.8174	bM [™]	2111
6	1%,30C,2h 48h 1	7.300	130.4441	289.8647	34.3208	bM [™]	1619
7	1%,50C,1h 48h 1	7.300	137.9127	301.6990	37.1749	bM [™]	1568
8	checkSTD4glucose	7.350	33.2324	93.1357	4.8253	BM [™]	3359
9	1%,50C,3h 48h 1	7.267	134.2785	295.7126	35.7775	bM [™]	1556
10	1%,70C,2h 48h 1	7.267	128.7265	287.4419	33.6743	M [™]	1651
11	checkSTD3glucose	7.467	61.6141	152.3018	11.7004	BM [™]	2714
12	close	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Average:		7.359	94.6027	212.2289	22.9408		2166
Rel.Std.Dev:		1.073 %	44.782 %	38.598 %	58.179 %		31.408 %

รูปที่ 1 ผลของข้อมูลจากเครื่อง IC

การคำนวณความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาล โดยแทนค่าพื้นที่ใต้กราฟเข้าไปในสมการเชิงเส้นของสารละลายมาตรฐานที่ได้จากสร้างความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของตัวอย่างออกมา ดังแสดงตัวอย่าง รูปที่ 2



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ของสารละลายมาตรฐาน

สมมติว่า ตัวอย่างมีพื้นที่ใต้กราฟ 30 nC*min จะมีความเข้มข้น (Y) เท่ากับ

$$Y = 6.5236(30) + 43.646 = 239.35 \text{ ppm}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %)

การคำนวณปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ตามวิธีการของ NREL ดังแสดงในสมการที่ 1

$$\% \text{ Digestion or glucan conversion} = \frac{\text{gram cellulose digested}}{\text{gram cellulose added}} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ ถ้าค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหน่วยของ mg/ml จะต้องคำนวณปริมาณ gram cellulose digested ก่อนดังตัวอย่างต่อไปนี้

ถ้าค่าน้ำตาลกลูโคสที่อ่านค่าได้เท่ากับ 9.9 mg/ml ดังนั้นปริมาณ cellulose digested เท่ากับ

$$0.0099 \text{ g/ml} \times 10\text{ml} \times 0.9 = 0.0891 \text{ g}$$



รายชื่อบทความทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ในระหว่างศึกษา

ณัฐพร ชัชวาลชาติตรี, ธีราพร จุลยุเสณ. (2559). การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่าต่าง. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทยระดับชาติ ครั้งที่ 17 และระดับนานาชาติครั้งที่ 9. อิมแพค เมืองทองธานี จังหวัดกรุงเทพมหานคร วันที่ 8-10 กันยายน 2559.

ธีราพร จุลยุเสณ กฤษฎาองค์ กั้นรั้วกลาง ณัฐพร ชัชวาลชาติตรี นาฏนภางค์ พามขุนทด และเมวิกา สมบัติไทย. (2560). ผลของวิธีการอบแห้งต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและปริมาณสารพิษที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของกล้วยดิบ. การประชุมวิชาการวิศวกรรมอาหารแห่งชาติ ครั้งที่ 3 (The 3rd Food Engineering National Conference) “Food Industry 4.0: Moving forward with creativity and innovation”. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ วันที่ 4 เมษายน 2560.

ประวัติผู้เขียน

นางสาวณัฐพร ชัชวาลชาติตรี เกิดเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม พ.ศ. 2535 ศึกษาในชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4-6 ที่โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2557

ปี พ.ศ.2558 เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัย: ได้นำเสนอบทความเข้าร่วมในการประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทยครั้งที่ 17 และระดับนานาชาติครั้งที่ 9 2559 เรื่องการหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยค่า

ได้นำเสนอบทความเข้าร่วมการประชุมวิชาการวิศวกรรมอาหารครั้งที่ 3 2560 เรื่องผลของวิธีการอบแห้งต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและปริมาณสารที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ของกล้วยดิบ

