



รายงานการวิจัย

การพัฒนาการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยด่างเพื่อเพิ่มผลผลิต
น้ำตาลกลูโคสและลิกนิน
(A development of alkali pretreatment of cassava rhizome
for enhancing glucose and lignin yields)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การพัฒนาการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยด่างเพื่อเพิ่มผลผลิต
น้ำตาลกลูโคสและลิกนิน
(A development of alkali pretreatment of cassava rhizome
for enhancing glucose and lignin yields)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีราพร จุลยุเสณ

สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีรชัย อัจหาญ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พยุงค์ศักดิ์ จุลยุเสณ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

พฤษภาคม 2564

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2560 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร ศูนย์ความเป็นเลิศด้านชีวมวล และศูนย์เครื่องมือมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่อนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่สำหรับการวิจัย นางสาวณัฐพร ชัชวาลธাত্রี และนายศัทยะ สมบัติไพรวิน ที่ช่วยทำการทดลองและเก็บรวบรวมข้อมูลงานวิจัยนี้



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างโดยใช้วิธีการพ่นผิวผลตอบสนองที่มีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน สร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส และศึกษาผลของการปรับสภาพต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของเหง้ามันสำปะหลัง นอกจากนี้ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินจากการตกตะกอนสารละลายต่างที่เหลือทิ้งจากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง โดยตัวแปรต้นในการปรับสภาพได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% 5% และ 10% ที่อุณหภูมิ 40°C 60°C และ 80°C เป็นเวลา 1 3 และ 5 h พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง คือ 10% NaOH ที่ 40°C เป็นเวลา 1 h โดยระยะเวลาในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ 24 h และ 48 h ทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 57.72% และ 65.97% ตามลำดับ เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ และ 16.07% และ 19.15% ตามลำดับ เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น การยืนยันผลแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายมีค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 10% (0.85 – 6.41%) และมีค่า RMSE ต่ำ (0.0889 – 0.4708) แสดงว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกับผลการคำนวณที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ นอกจากนี้สภาวะในการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างที่รุนแรงมากขึ้นทำให้โครงสร้างของเหง้ามันสำปะหลังมีลักษณะเป็นรูพรุนและความเป็นผลึกของเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส นอกจากนี้ปริมาณผลผลิตของลิกนิน (CPL) ที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วย 10% NaOH 40°C 1 h (CPL) เท่ากับ 0.67% ของน้ำหนักเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของ CPL มีค่า 65.47 mg GAE/g, 146.23 TEAC/g และ 173.29 mg TEAC/g ตามลำดับ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ CPL มีลักษณะใกล้เคียงกับลิกนินมาตรฐาน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างในสภาวะที่เหมาะสมเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ซึ่งทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น และลิกนิน CPL สามารถถูกนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มได้

คำสำคัญ: การปรับสภาพด้วยต่าง ออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน เหง้ามันสำปะหลัง น้ำตาลกลูโคส ลิกนิน

Abstract

The objectives of this study were to optimize the alkali pretreatment condition of cassava rhizome (CR) using Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken design, to develop the mathematical models for prediction of glucan conversion to glucose, and to study the effects of pretreatment on physicochemical properties of CR. In addition, physicochemical properties of lignin obtained by precipitation from optimum pretreatment black liquor (CPL) were also characterized and compared with standard lignin (STDL). CR was pretreated with 1%, 5%, and 10% at 40°C, 60°C, and 80°C for 1, 3, and 5 h. The results showed that optimal alkali pretreatment of CR was achieved by 10% NaOH at 40°C for 1 h. The glucan conversion to glucose were 57.72% and 65.97% (based on pretreated CR, PCR) and 16.07% and 19.15% (based on native CR, NCR) by enzymatic hydrolysis for 24 h and 48 h, respectively. The validation of models showed that the errors of glucan conversion to glucose between experimental and model were less than 10% (0.85 – 6.41%) indicating good agreement. More severe of alkali treatment resulted in increasing porosity and crystalline regions of PCR and positively correlation with the glucan conversion to glucose. In addition, the CPL yield was 0.67% based on NCR. Total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activities of DPPH and ABTS assays of CPL were 65.47 mg GAE/g, 146.23 TEAC/g and 173.29 mg TEAC/g, respectively. Chemical structure of CPL was similar to that of STDL. Essentially, the findings suggested that the optimal alkaline pretreatment of CR improved the efficiency of enzymatic hydrolysis due to increasing the glucan conversion to glucose. CPL could be developed to be a potential value-added product.

Keywords: alkali pretreatment, Box-Behnken design, cassava rhizome, glucose, lignin

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป	ฅ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ทฤษฎีและสมมติฐาน.....	2
1.6 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
2 ปรัชญาบรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในประเทศไทย.....	6
2.2 วัสดุลิกโนเซลลูโลส	7
2.2.1 เซลลูโลส.....	8
2.2.2 เฮมิเซลลูโลส.....	8
2.2.3 ลิกนิน	9
2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	10
2.4 กาปรับสภาพวัสดุดิบ	12
2.5 ลิกนิน	13
2.5.1 การแยกลิกนิน	13
2.5.2 การใช้ประโยชน์จากลิกนิน.....	14
2.6 การออกแบบพื้นที่ผิวผลตอบสนอง.....	15
2.6.1 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง.....	16
2.6.2 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน.....	18
2.6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	19
2.6.3.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง	19
2.6.3.2 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ	21
2.6.3.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3	วิธีการดำเนินการวิจัย 22
3.1	การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง 22
3.1.1	การเตรียมเหง้ามันสำปะหลัง..... 22
3.1.2	การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง 23
3.1.3	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี..... 25
3.1.4	การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 26
3.1.5	การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส 27
3.1.6	การออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ทางสถิติ..... 27
3.1.6.1	การกำหนดระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง..... 27
3.1.6.2	การออกแบบการทดลอง 27
3.1.6.3	การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ 29
3.1.6.4	การวิเคราะห์ทางสถิติและตรวจสอบแบบจำลอง 29
3.1.7	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ..... 30
3.1.7.1	โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง 30
3.1.7.2	การวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ 31
3.2	การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามัน สำปะหลังด้วยสารละลายต่าง..... 32
3.2.1	การตกตะกอนลิกนิน..... 32
3.2.2	การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ..... 33
3.2.3	การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของลิกนิน..... 34
3.2.4	การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโครงสร้างเคมีของลิกนินโดยใช้ความยาวคลื่น ช่วงอินฟราเรด 34
3.2.5	การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของลิกนินโดยอาศัยสมบัติทางความร้อน 34
4	ผลการศึกษาและวิจารณ์..... 35
4.1	การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง 35
4.1.1	องค์ประกอบทางเคมีของเหง้ามันสำปะหลัง..... 35
4.1.2	ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากเหง้ามันสำปะหลังที่ ผ่านการปรับสภาพด้วยต่าง 36
4.1.3	ผลของตัวแปรต้นต่อปริมาณการเปลี่ยนแปลงกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส 37
4.1.4	ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ..... 60

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน.....	45
4.1.6 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด.....	54
4.1.7 การยืนยันผลแบบจำลอง.....	56
4.1.8 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเหง้ามันสำปะหลังหลังการปรับสภาพ.....	57
4.1.8.1 โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง.....	57
4.1.8.2 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์.....	59
4.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง.....	61
4.2.1 ปริมาณผลผลิตลิกนินและลักษณะทางกายภาพ.....	61
4.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ.....	61
4.2.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	61
4.2.2.2 ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS.....	62
4.2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของลิกนิน.....	64
4.2.4 การวิเคราะห์ห่องค์ประกอบทางโครงสร้างเคมีของลิกนินโดยใช้ความยาวคลื่นช่วงอินฟราเรด.....	65
4.2.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของลิกนินโดยอาศัยสมบัติทางความร้อน.....	68
5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....	70
5.1 สรุปผล.....	70
5.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง.....	70
5.1.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง.....	71
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	71
เอกสารอ้างอิง.....	72
ภาคผนวก.....	82
ประวัติหัวหน้าโครงการ.....	84
การเผยแพร่งานวิจัย.....	84

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด 6
2.2	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรแสดงค่าเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง 7
2.3	ตัวอย่างความเป็นไปได้เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ของลิกนินในอุตสาหกรรมอาหารและ พอลิเมอร์..... 15
2.4	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken 19
3.1	ระดับค่าตัวแปรอิสระหรือปัจจัยต้นที่ใช้ทดลอง 28
3.2	การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken สำหรับการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลัง.... 28
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของแห้งมันสำปะหลังก่อนการปรับสภาพ (NCR)..... 35
4.2	ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากแห้งมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับ สภาพ..... 36
4.3	ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของแห้งมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (การคำนวณเทียบกับน้ำหนักของแห้งมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ, based on PCR).. 39
4.4	ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของแห้งมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (การคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของแห้งมันสำปะหลัง, based on NCR) 40
4.5	การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาล กลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (based on PCR)..... 41
4.6	การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาล กลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (based on NCR)..... 43
4.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR) 45
4.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on NCR) 46
4.9	การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR) 49
4.10	การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on NCR)..... 50
4.11	ค่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ 24 h และ 48 h 51
4.12	การยืนยันแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (10% NaOH, 40°C, 1 h) ต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลาย ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h..... 56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.13	ค่าดัชนีความเป็นผลึก (CrI) ของเหง้ามันสำปะหลังก่อน (NCR) และหลังปรับสภาพ (PCR) 60	
4.14	ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของลิกนิน	63
4.15	หมู่ฟังก์ชัน (functional group) ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่ตรวจวัดด้วย FTIR	67
4.16	ผลความเสถียรของลิกนินเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิระหว่าง 100°C - 1,000°C	69
4.17	ร้อยละของมวลคงเหลือ (solid residue) ที่อุณหภูมิ 800°C และ 1,000°C	69



สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1.1	แนวคิดการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสจำพวกวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เป็นพลังงานและผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม 4
1.2	การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังและการตกตะกอนแยกลิกนิน 5
2.1	องค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส 7
2.2	โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส 8
2.3	โครงสร้างโมเลกุลของไซแลน 8
2.4	สูตรโครงสร้างของ (a) trans-coniferyl alcohol (b) trans-p-sinapyl alcohol และ (c) tran-p- coumaryl alcohol และลิกนิน 9
2.5	การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ 11
2.6	ส่วนประกอบของต้นมันสำปะหลัง 11
2.7	การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่าง 13
2.8	ผลพลอยได้ลิกนินจากการผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ 14
2.9	ภาพ 3 มิติของพื้นที่ผิวผลตอบสนอง 17
2.10	การออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ 18
2.11	ตัวอย่างกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง 20
2.12	ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างกับลำดับของข้อมูล 20
2.13	ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายส่วนตกค้างในแต่ละระดับปัจจัย 21
3.1	ตัวอย่างเหง้ามันสำปะหลังจากแปลงมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 22
3.2	เครื่องมือที่ใช้สำหรับบดเหง้ามันสำปะหลัง 23
3.3	การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง 24
3.4	การแยกของแข็งออกจากของเหลวด้วย gooch crucible โดยการกรองแบบสุญญากาศ .. 24
3.5	การสกัดเหง้ามันสำปะหลัง (NCR) แบบต่อเนื่องด้วยน้ำและเอทานอล 25
3.6	การบ่มตัวอย่างด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า 26
3.7	การวิเคราะห์หาไอออนโดยอาศัยเทคนิคโครมาโตกราฟี (Ion chromatography) 27
3.8	กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) รุ่น JSM 6010LV 30
3.9	เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ 31
3.10	Black liquor ที่นำมาแยกลิกนิน 32
4.1	กราฟเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) based on PCR 52
4.2	กราฟเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) based on NCR 53

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.3	การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (based on PCR)54
4.4	การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (based on NCR).....55
4.5	โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง.....58
4.6	X-ray diffractograms ของเหง้ามันสำปะหลัง.....59
4.7	ผลึกนินมาตรฐาน (STDL) และผลึกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง (CPL) 62
4.8	โครงสร้างระดับจุลภาคของ: (I) ผลึกนินมาตรฐาน (STDL); (II) ผลึกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง (CPL).....64
4.9	FTIR spectrograms ที่ wavenumber ระหว่าง 4000-400 cm^{-1} ของผลึกนินมาตรฐาน (STDL) และผลึกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามัน (CPL).....66
4.10	การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของผลึกนินมาตรฐาน (STDL) และผลึกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามัน (CPL).....68
ก1	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h 82
ก2	การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h83

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำพวกเหง้ามันสำปะหลังเฉลี่ยสูงถึงประมาณปีละ 1.83 ล้านตัน (Prakobbon and Vahdati, 2013) โดยส่วนใหญ่หลังจากการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังเกษตรกรมักจะทิ้งเหง้ามันสำปะหลังค้างไว้ในแปลงเพาะปลูกเพื่อช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้กับดินหรืออาจทำลายด้วยการเผาทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ แต่หากมีการนำเหง้ามันสำปะหลังมาเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเหง้ามันสำปะหลังแล้วยังช่วยลดปัญหามลพิษให้กับสิ่งแวดล้อมด้วย เหง้ามันสำปะหลังจัดเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนและแข็งแรงประกอบด้วย 3 องค์ประกอบหลักคือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) โดยทั่วไปการนำลิกโนเซลลูโลสมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ไบโอดีทานอล และพลาสติกชีวภาพ เป็นต้น จำเป็นต้องมีขั้นตอนการปรับสภาพวัตถุดิบ (pretreatment) ก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยสลาย (hydrolysis) เซลลูโลสด้วยเอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส การปรับสภาพวัตถุดิบนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อทำลายโครงสร้างที่แข็งแรง และช่วยกำจัดลิกนินที่ห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากลิกนินเป็นตัวหลักในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลส การปรับสภาพวัตถุดิบทางเคมีโดยใช้ต่างจัดว่าเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้พลังงานมาก อีกทั้งยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส และช่วยเพิ่มความเป็นรูพรุนให้กับผิวของวัตถุดิบ มีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Mosier et al., 2005) อย่างไรก็ตามการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่างในสถานะที่มีความรุนแรงต่ำอาจช่วยกำจัดลิกนินได้เพียงบางส่วนหรือในสถานะที่มีความรุนแรงสูงเกินอาจไปทำลายเซลลูโลสบางส่วนทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสในปริมาณต่ำกว่าที่ควร ดังนั้นการศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่างจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสมากขึ้น

การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่างจะกำจัดลิกนินออกโดยการแตกพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ของลิกนินให้กลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กซึ่งมีผลทำให้โมเลกุลเหล่านี้ละลายในสารละลายต่าง ส่วนใหญ่ลิกนินเหล่านี้จะถูกนำกลับมาใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงด้วยการเผาไหม้โดยตรง อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีการวิจัยศึกษาการนำลิกนินเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีนั้น พบว่าลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถนำมาสังเคราะห์เป็นสารวานิลลิน (vanillin) ส่วนลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงสามารถนำมาใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ถ่านกัมมันต์ (activated carbon materials) สารเชื่อมติด (binding) และสารช่วยกระจาย (dispersing agent) ในอุตสาหกรรมกระดาษ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการวิจัยศึกษาคุณสมบัติของลิกนินเพื่อนำลิกนินไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารช่วยลดสารก่อมะเร็งในอาหารบางประเภท สารช่วยลดคอเลสเตอรอล และสารช่วย

ปรับปรุงคุณสมบัติของพลาสติกชีวภาพในด้าน thermal stability การใช้ประโยชน์จากลิกนินในลักษณะต่างๆ เหล่านี้จะเป็นการนำลิกนินกลับมาใช้ใหม่ได้อย่างคุ้มค่า

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส รวมทั้งยังศึกษาปริมาณผลผลิตและสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากสารละลายต่างหลังจากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง
- 1.2.2 เพื่อสร้างสมการทางคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์
- 1.2.3 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากสารละลายต่างหลังจากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างจะใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken)
- 1.3.2 งานวิจัยจะถูกดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) เท่านั้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนองสอง และได้สมการทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
- 1.4.2 นักศึกษาทั้งในระดับปริญญาตรี และระดับบัณฑิตศึกษาของสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรที่เข้ามาช่วยในโครงการวิจัยนี้จะได้รับความรู้ในการวิจัยซึ่งเป็นโอกาสอันดีในการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ต่อไป

1.5 ทฤษฎีและสมมติฐาน

แนวคิดในการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสชนิดต่างๆ ให้เป็นพลังงานและผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม (Biorefinery concept) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 เป็นหนึ่งในแนวความคิดที่ใช้ประโยชน์จากลิกโนเซลลูโลสได้อย่างคุ้มค่า การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยต่างเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการแยก (fractionation) ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเซลลูโลส เพราะวิธีนี้สามารถใช้อุณหภูมิ ความดัน และเวลาในการปรับสภาพต่ำกว่าวิธีอื่นๆ การปรับสภาพด้วยต่างทำให้ลิกโนเซลลูโลสแยกออกเป็นสองส่วนคือ ของแข็งและของเหลว ส่วนที่เป็นของแข็งประกอบด้วยเซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส

และอื่น ๆ ซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนที่เป็นของเหลวประกอบด้วยลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และอื่น ๆ ทั้งนี้ส่วนของแข็งจะถูกนำไปผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ โดยประสิทธิภาพการผลิตน้ำตาลกลูโคสจะขึ้นอยู่กับสถานะในการปรับสภาพด้วยต่างและสถานะในการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ ส่วนของเหลวนั้นเป็นของเหลือทิ้งจากการปรับสภาพ

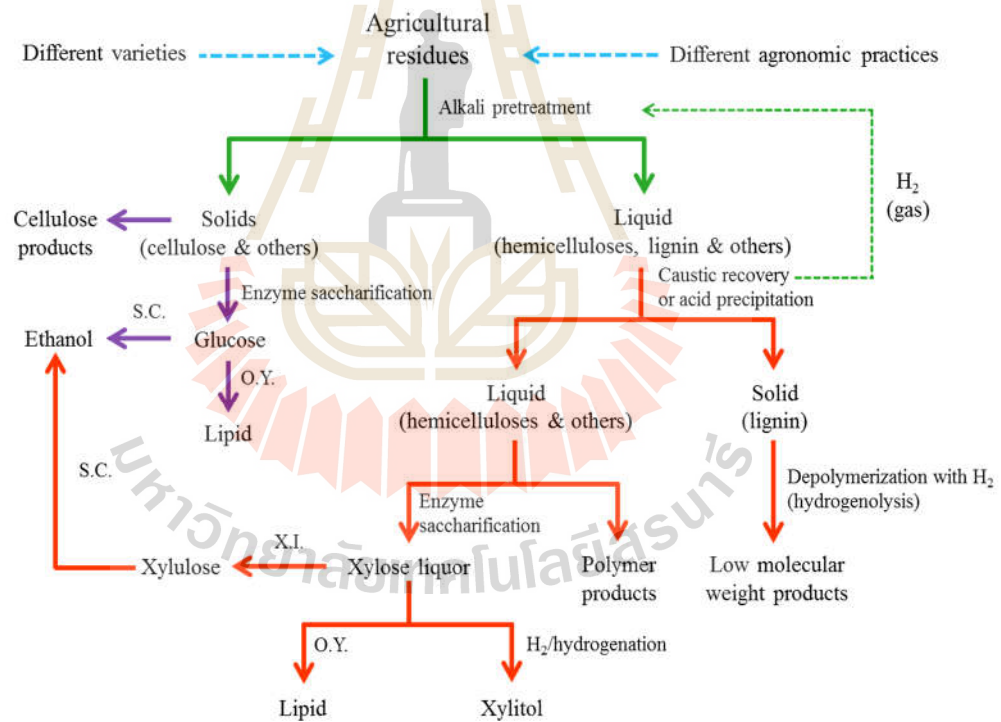
การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยต่างมีกลไกการย่อยสลายองค์ประกอบบางส่วนของลิกโนเซลลูโลส โดยการทำลายพันธะเอสเทอร์ (ester bond) ระหว่างลิกนินกับเฮมิเซลลูโลส และทำลายพันธะอีเทอร์ (ether bond) ภายในโครงสร้างของลิกนิน ซึ่งมีผลทำให้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินบางส่วนถูกย่อยสลายกลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กละลายลงในสารละลายต่าง ส่วนเซลลูโลสยังคงเป็นองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลสที่ไม่ถูกย่อยสลาย สารละลายต่างยังทำให้โครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสเกิดการพองบวม (swollen) นำไปสู่การเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน อีกทั้งยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Sun and Cheng, 2002; Mosier et al., 2005; McIntosh and Vancov, 2011)

ลิกนินที่ถูกย่อยสลายกลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กสามารถละลายในสารละลายต่างได้นั้น เนื่องจากแรงผลัทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ระหว่างโมเลกุลลิกนินด้วยกันเอง และระหว่างโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งทำให้ลิกนินแต่ละโมเลกุลอยู่ห่างกันและไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ การลดค่าพีเอชของสารละลายต่างเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดแรงผลัทางไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลลิกนิน และระหว่างโมเลกุลอื่นๆ ได้ ซึ่งส่งผลให้แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลลิกนิน (hydrophobic interaction) เพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายของโมเลกุลลิกนิน ลดลง และโมเลกุลลิกนินรวมกันตกตะกอนแยกออกมาในที่สุด (Dimmel and Gellerstedt, 2010; Ghatak, 2008; Sun et al., 1999)

1.6 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

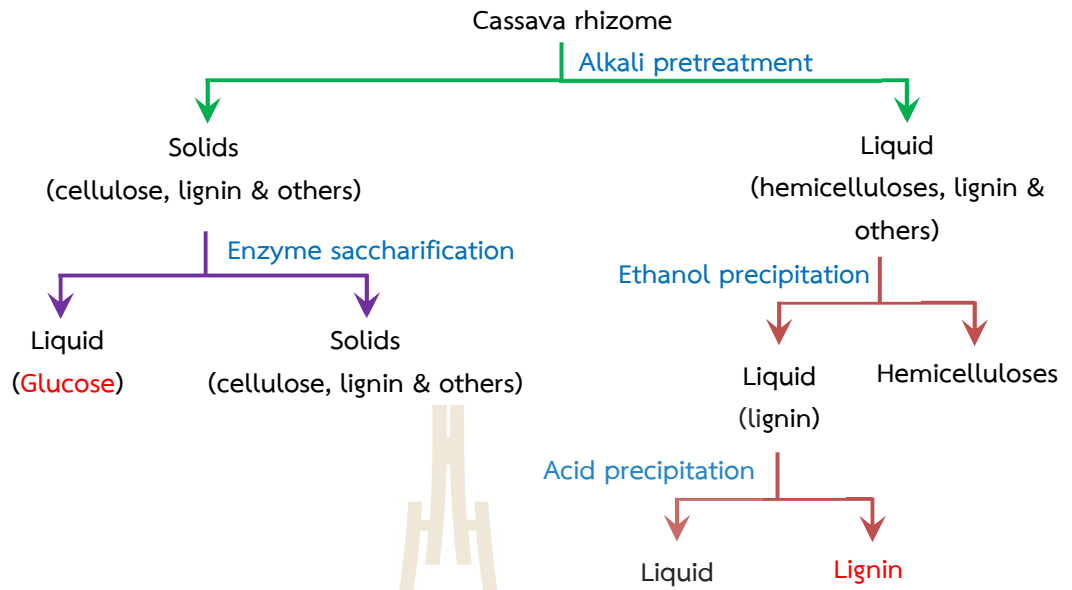
ตัวแปรหลักที่มีอิทธิพลต่อสถานะการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยต่าง เช่น ความเข้มข้นของต่าง อุณหภูมิ และเวลา เป็นต้น โดยค่าความเข้มข้นของต่าง อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในลิกโนเซลลูโลสเป็นหลัก โดยการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสที่มีปริมาณลิกนินสูงมักจะต้องใช้ค่าความเข้มข้นของต่างและอุณหภูมิที่สูงขึ้น และใช้เวลามากขึ้นด้วย เหม้มน้ำสำหรับเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบในสัดส่วนที่สูง การนำเหม้มน้ำสำหรับปรับสภาพในสถานะที่มีความเข้มข้นของต่างและอุณหภูมิสูง และใช้เวลานานจะสามารถแยกลิกนินออกได้มากขึ้นแต่ก็อาจทำให้เซลลูโลสถูกทำลายได้ การลดความเข้มข้นของต่างและอุณหภูมิลด และใช้เวลาน้อยลงจะทำให้แยกลิกนินออกจากเหม้มน้ำสำหรับได้ น้อย อย่างไรก็ตามวิธีการนี้สามารถทำได้ง่าย ต้นทุนต่ำ มีความปลอดภัย และที่สำคัญเซลลูโลสไม่ถูก

ทำลาย ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการวิจัยและพัฒนาวิธีการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังเพื่อให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูง งานวิจัยนี้จะเริ่มจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง โดยศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระ (independent variables) 3 ตัวแปร ได้แก่ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลา ต่อตัวแปรตาม (response variable) คือ ปริมาณผลผลิตน้ำตาลกลูโคส โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อก-เบห์นเคน (Box Behnken design) จากนั้นจะศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพของเหง้ามันสำปะหลังก่อนและหลังปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง นอกจากนี้โครงการวิจัยยังต้องการใช้ประโยชน์จากส่วนของเหลวซึ่งจัดว่าเป็นของเหลือทิ้งจากการปรับสภาพ ด้วยการนำมาศึกษาวิธีการแยกลิกนินออกด้วยการตกตะกอนโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (acid precipitation) ทั้งนี้ผลผลิตลิกนินที่เอากลับคืนมาได้นั้นจะถูกนำไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการวิจัยและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าต่อไป (รูปที่ 1.2)



Note: S.C. = *Saccharomyces cerevisiae*, O.Y. = *Oleagenous yeast*, X.I. = Xylose isomerase

รูปที่ 1.1 แนวคิดการเปลี่ยนลิกนินเซลลูโลสจำพวกวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เป็นพลังงานและผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม



รูปที่ 1.2 การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังและการตกตะกอนแยกลิกนิน

บทที่ 2

ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในประเทศไทย

ประเทศไทยถือเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สำคัญแห่งหนึ่ง ซึ่งนอกจากผลผลิตที่ได้ในแต่ละปีแล้วยังมีผลพลอยได้นอกเหนือจากการผลผลิตทางการเกษตร คือวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย เหง้ามันสำปะหลัง และทะลายปาล์ม เป็นต้น (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, กระทรวงพลังงาน, 2557) โดยแสดงข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1 จากข้อมูลในตารางจะเห็นได้ว่าปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เหง้ามันสำปะหลัง และ ทะลายปาล์ม เป็นต้น สามารถถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อีกมากมาย เช่น บรรจุภัณฑ์ วัสดุกันกระแทก เฟอร์นิเจอร์ เป็นต้น ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นวัสดุตั้งต้นในการผลิตพลังงานทดแทนรูปแบบต่าง ๆ ได้ ซึ่งในปัจจุบันพบว่า มีความหลากหลายของงานวิจัยที่ศึกษาวิธีการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมากขึ้น

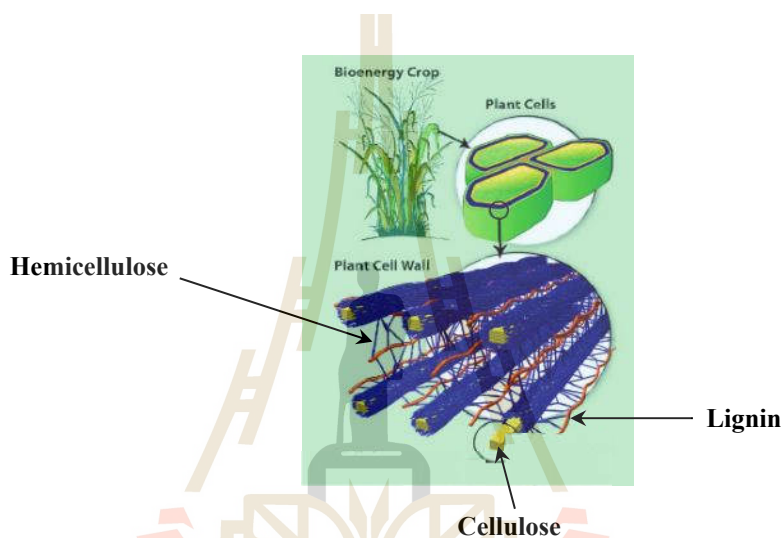
ตารางที่ 2.1 ข้อมูลการประเมินศักยภาพการใช้ประโยชน์จากวัสดุชีวมวลแต่ละชนิด

ชนิดชีวมวล	ปริมาณการเกิด (ตัน)	ปริมาณที่นำไปใช้ประโยชน์แล้ว (ตัน)	ปริมาณคงเหลือ (ตัน)
ฟางข้าว	19,005,628	8,112,801	10,892,826
เหง้ามันสำปะหลัง	6,045,508	164,196	5,881,311
ทะลายปาล์มเปล่า	4,099,859	1,891,985	2,207,873
แกลบ	8,145,269	8,006,283	138,985
ซังข้าวโพด	1,215,078	1,094,081	120,997
ชานอ้อย	28,026,761	28,026,761	0

ที่มา : ดัดแปลงจากข้อมูลของกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน (2557)

2.2 วัสดุลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic materials)

ลิกโนเซลลูโลส คือ ชีวมวล (biomass) หรือสารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติได้แก่ พืชทางการเกษตร (agricultural crops) วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (agricultural residues) ไม้และเศษไม้ (wood and wood residues) โดยองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ปริมาณเซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุลิกโนเซลลูโลส (ตารางที่ 2.2) โดยทั่วไปพบเซลลูโลส 40-60 % เฮมิเซลลูโลส 20-30% และลิกนิน 15-30%



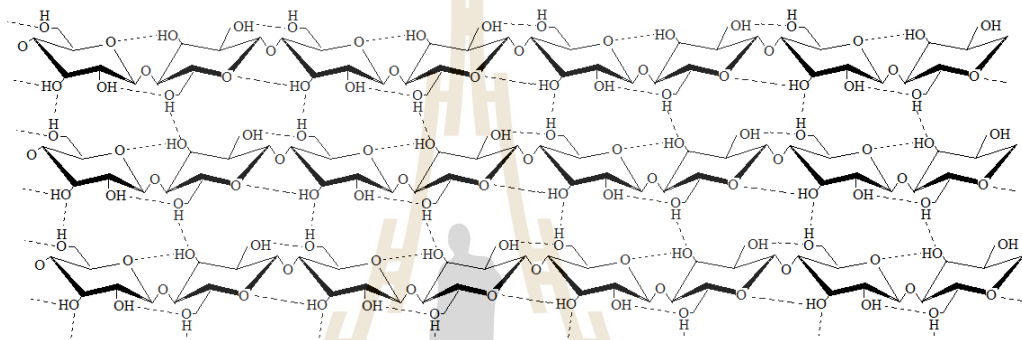
รูปที่ 2.1 องค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลส (ที่มา : Yarris, 2010)

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

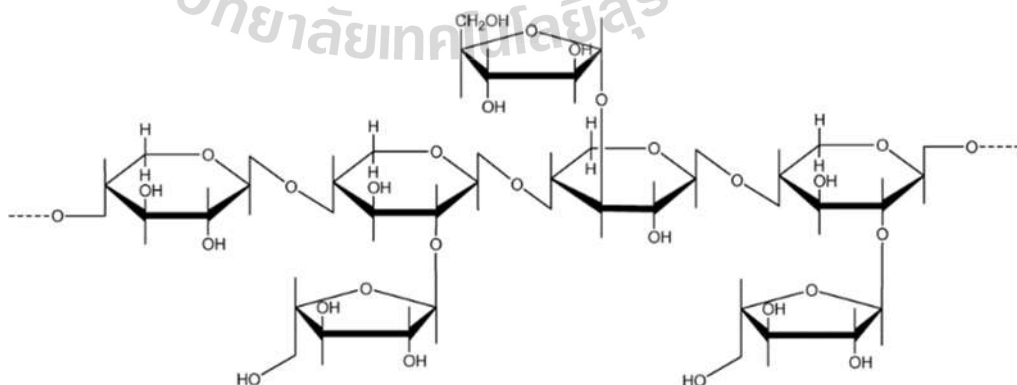
ที่มา : ข้อมูลจากกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน พ.ศ. 2557

2.2.1 เซลลูโลส (Cellulose) คือพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส (glucose) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic หรือเรียกพอลิเมอร์นี้ว่า พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharides) เป็นองค์ประกอบที่พบมากในวัสดุเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในผนังเซลล์พืช โดยจะอยู่ร่วมกับเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ปริมาณที่พบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนของพืช (Buranov and Mazza, 2008; Eriksson, Blanchette, and Ander, 1990; Goshadrou, Karimi, and Taherzadeh, 2011) โดยทั่วไปในธรรมชาติพบเซลลูโลส 2 แบบ คือ เซลลูโลสแบบผลึก (crystalline cellulose) และเซลลูโลสอสัณฐาน (amorphous cellulose) โดยส่วนของ crystalline cellulose จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ยากกว่า amorphous cellulose โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสดังแสดงในรูปที่ 2.2



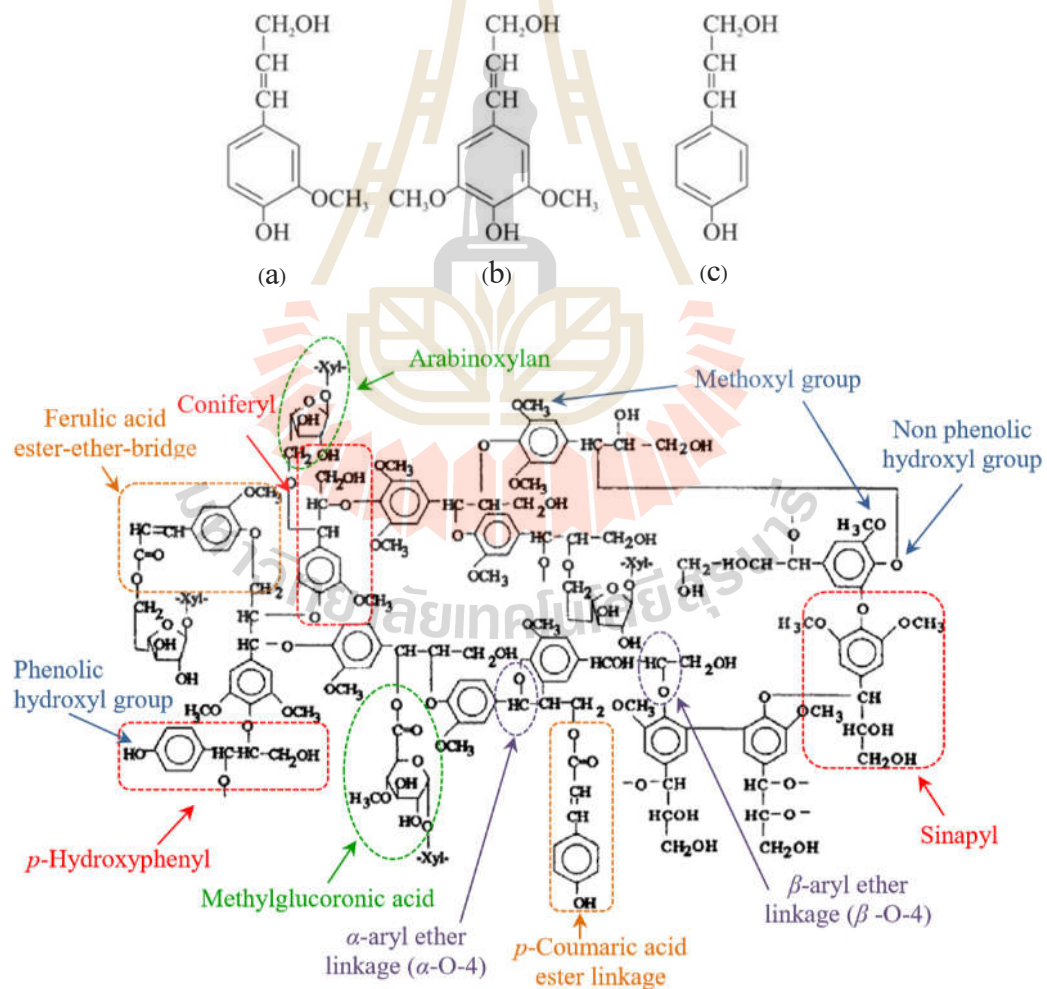
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (ที่มา : ศักยะ, 2562)

2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลหลาย ๆ ชนิดเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวและเป็นกิ่งก้านสาขา ได้แก่ น้ำตาลเฮกโซส ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส และแมนโนส น้ำตาลเพนโตส ได้แก่ ไซโรส และอะราบิโนส เป็นต้น (Buranov and Mazza, 2008) นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบชนิดหนึ่งในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งพบอยู่ในรูปโพลิเมอร์ไซแลน แมนแนน กาแลกแตนและอะราบิแนน (Bastawde et al., 1992) โครงสร้างทางเคมีของไซแลน แสดงรูปที่ 2.3



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

2.2.3 ลิกนิน (Lignin) เป็นสารประกอบประเภทอะโรมาติกที่พบในส่วนผนังเซลล์ของพืช ซึ่งไม่จัดเป็น polysaccharide หรือ heteropolysaccharide ลิกนินพบในปริมาณที่แตกต่างไปตามชนิดของพืช ในธรรมชาติลิกนินเป็นส่วนป้องกันเซลล์ลูโลสไม่ให้ถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบ 3 มิติ (Cheng et al., 2008) ประกอบด้วยสารประกอบอะโรมาติก 3 ชนิด ประกอบด้วย *trans*-*p*-coumaryl alcohol, *trans*-coniferyl alcohol และ *trans*-*p*-sinapyl alcohol (Eriksson et al., 1990) นอกจากนี้โมเลกุลของลิกนินยังเชื่อมต่อกับสารประกอบอะโรมาติกอื่นอีกมากมาย เช่น vanillin และ syringaldehyde (Yudkin and Offord, 1993) นอกจากนี้พอลิเมอร์อยู่ลำดับที่สามารถลงมาจากเซลล์ลูโลสและเฮมิเซลล์ลูโลส ลิกนินมีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วยหน่วยของฟีนิลโพรเพน (phenylpropane units) ทำหน้าที่เป็นสารช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับต้นพืช โดยลิกนินห่อหุ้มเส้นใยของเซลล์ลูโลสและเฮมิเซลล์ลูโลส (Buranov and Mazza, 2008) สูตรโครงสร้างของ *trans*-*p*-coumaryl alcohol, *trans*-coniferyl alcohol และ *trans*-*p*-sinapyl alcohol ดังแสดงในรูปที่ 2.4



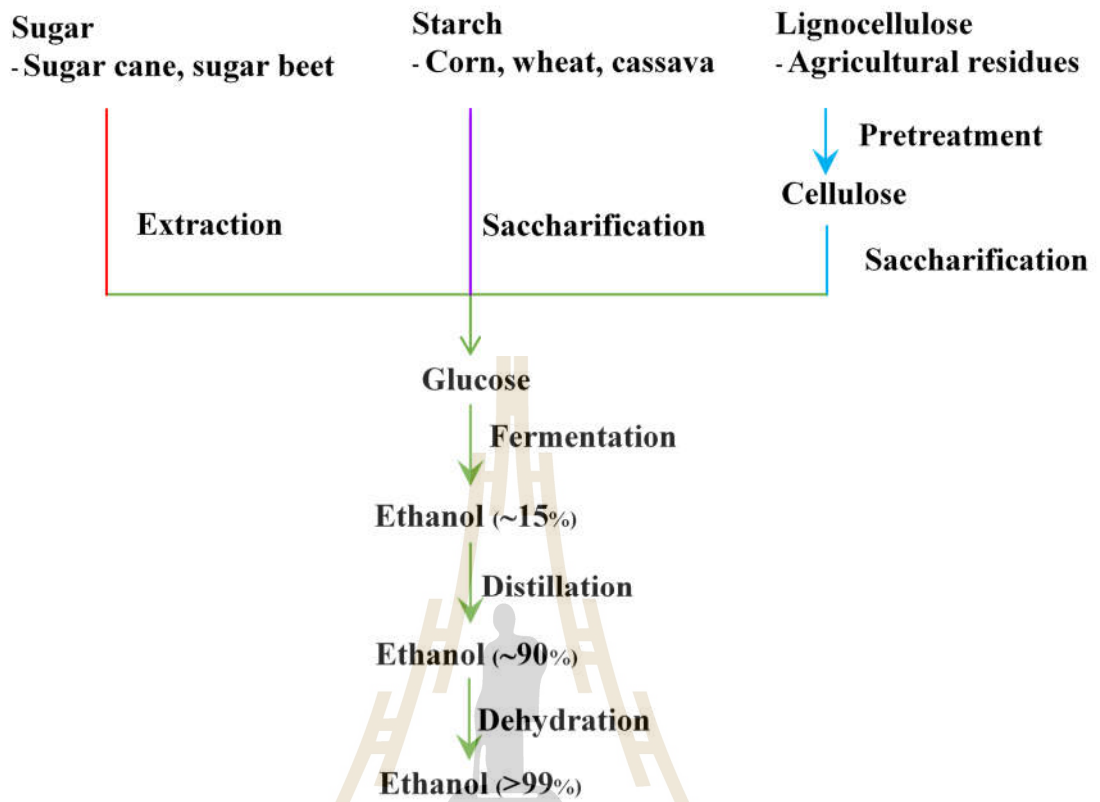
รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างของ (a) *trans*-coniferyl alcohol (b) *trans*-*p*-sinapyl alcohol และ (c) *trans*-*p*-coumaryl alcohol และลิกนิน (ที่มา : ดัดแปลงจาก Sun et al., 1997)

2.3 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

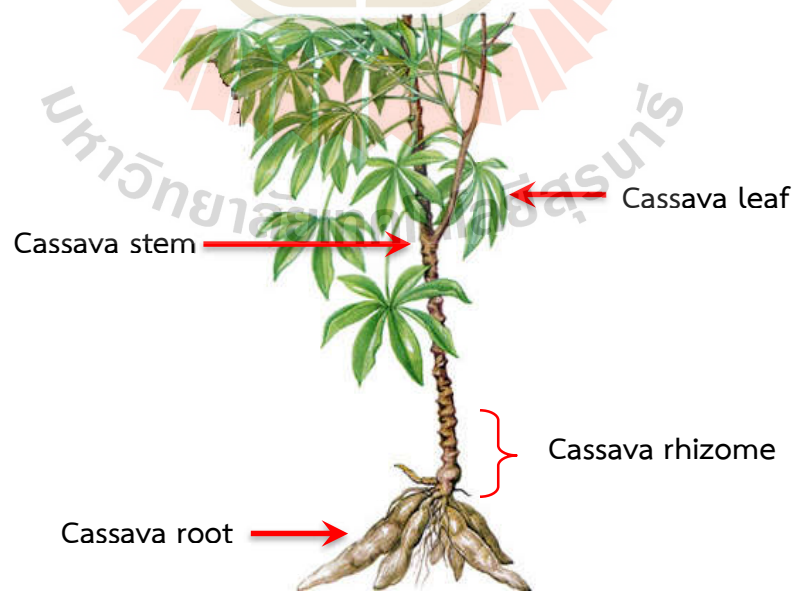
เนื่องจากประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวนมากในแต่ละปี การวิจัยและพัฒนานำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่าโดยเฉพาะผลิตไบโอเอทานอลซึ่งเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพกำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตไบโอเอทานอล (bioethanol) จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงานในปี 2557 พบว่า ชังข้าวโพด (corn stover) ฟางข้าว (rice straw) ชานอ้อย (sugar cane bagasse) ต้นปาล์ม (palm) และเหง้ามันสำปะหลัง (cassava rhizome) มีความเหมาะสมทั้งด้านราคาและปริมาณในการผลิตไบโอเอทานอลในเชิงพาณิชย์ ชัชชนันท์ และเฉลิม (2555) ได้นำเสนอการผลิตเซลลูโลสเอทานอลในประเทศไทย โดยเน้นความสำคัญในการเพิ่มปริมาณการผลิตไบโอเอทานอลให้เพียงพอกับความต้องการใช้ไบโอเอทานอลทั้งหมดภายในประเทศโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งไบโอเอทานอลที่ผลิตจากวัสดุเหล่านี้มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับที่ผลิตจากพืชอาหารประเภทอ้อยและมันสำปะหลัง ดังแสดงการผลิตไบโอเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ ในรูปที่ 2.5 อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสไปเป็นเอทานอลนั้นจำเป็นต้องมีการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน ทั้งนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส สุภาวดี (2557) ได้นำเสนอวิธีการปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล ได้แก่ การปรับสภาพวัตถุดิบทางกายภาพ ทางเคมีร่วมกับทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ พบว่าในแต่ละวิธีมีทั้งข้อดีและข้อเสียทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของลิกโนเซลลูโลสที่นำมาใช้ในการผลิตไบโอเอทานอลด้วย

การใช้ประโยชน์จากเหง้ามันสำปะหลัง (Utilization of cassava rhizome)

มันสำปะหลังถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับที่ 3 ของประเทศไทย ซึ่งมีผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 22 ล้านตันต่อปี ในพื้นที่เพาะปลูก 7.30 ล้านไร่ โดยจังหวัดที่มีการเพาะปลูกมากที่สุดได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา การปลูกมันสำปะหลัง 1 ไร่ นั้น จะให้ผลผลิตหัวมันสำปะหลังสดเฉลี่ย 3.59 ตันต่อไร่ และมีเหง้ามันสำปะหลังเหลือทิ้งประมาณ 0.40 ตันต่อไร่ หรือเฉลี่ยสูงถึงประมาณปีละ 1.83 ล้านตัน (Prakobbon and Vahdati, 2013) ดังแสดงส่วนประกอบของต้นมันสำปะหลังในรูปที่ 2.6 โดยส่วนใหญ่หลังจากการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลัง เกษตรกรมักจะทิ้งเหง้ามันสำปะหลังค้างไว้ในแปลงเพาะปลูกเพื่อช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้กับดินหรืออาจทำลายด้วยการเผาทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ ได้มีนักวิจัยหลายท่านให้ความสนใจศึกษาการใช้ประโยชน์จากเหง้ามันสำปะหลังเพื่อผลิตพลังงานชีวมวล Prakobbon และ Vahdati (2013) ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับเหง้ามันสำปะหลังเพื่อใช้ในการผลิตความร้อนและพลังงานสำหรับอุตสาหกรรมไบโอเอทานอลในประเทศไทย ส่วน Suttibak et al. (2012) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยงานวิจัยเน้นการผลิตไบโอออยล์ (Bio-oil) จากเหง้ามันสำปะหลังและต้นมันสำปะหลังด้วยกระบวนการไพโรไลซิสแบบเร็ว (fast pyrolysis) ทั้งนี้เพื่อนำไบโอออยล์ไปใช้เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตไฟฟ้า เครื่องกังหันแก๊ส และเครื่องยนต์ดีเซลได้ เป็นต้น นอกจากนี้ Meesukanun และ Satirapipathkul (2014) ได้ศึกษาการผลิตอะซิโตน บิวทานอล และเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง โดยเปรียบเทียบวิธีการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยความร้อนและด้วยด่าง จากผลงานวิจัยพบว่า การปรับสภาพด้วยด่างมีประสิทธิภาพการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากเหง้ามันสำปะหลังได้ดีกว่าการปรับสภาพด้วยความร้อนเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 2.5 การผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบประเภทต่างๆ (ที่มา : สุภาวดี ผลประเสริฐ, 2557)



รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบของต้นมันสำปะหลัง (ดัดแปลงจาก Prakobbon and Vahdati, 2013)

2.4 การปรับสภาพวัตถุดิบ (Pretreatment)

การปรับสภาพวัตถุดิบเป็นการทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อกำจัดลิกนิน เนื่องจากโครงสร้างของลิกนินนั้นเชื่อมต่อกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะทางเคมีที่แข็งแรง ลิกนินจึงทำหน้าที่เสมือนเป็นผนังป้องกันการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากพวกจุลินทรีย์ กรด หรือต่าง เป็นต้น นอกจากนี้การปรับสภาพวัตถุดิบยังมีผลช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวภายในวัตถุดิบ และลดโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystalline structure) ของเซลลูโลส ทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้ง่ายมากขึ้น รวมทั้งยังลดปริมาณการใช้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสได้อีกด้วย โดย Sun และ Cheng (2002) และ Mosier et al. (2005) ได้รวบรวมวิธีการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสไว้ดังนี้

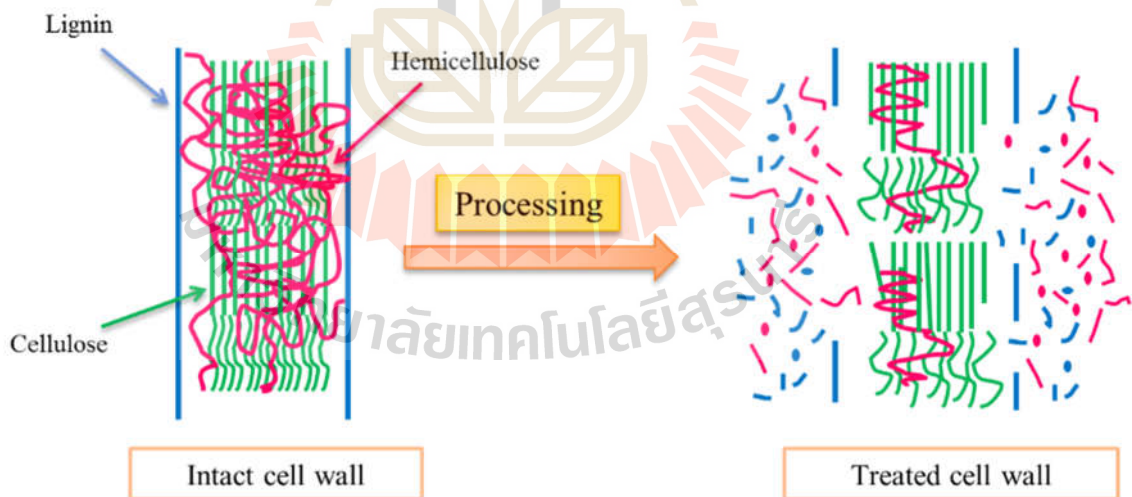
1. การปรับสภาพทางกายภาพ (physical pretreatment) เป็นการปรับสภาพโดยใช้เครื่องมือสับและบดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวและลดขนาดอนุภาคของวัตถุดิบ โดยส่วนใหญ่วิธีนี้จะใช้ร่วมกับวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น ๆ
2. การปรับสภาพทางกายภาพร่วมกับเคมี (physicochemical pretreatment) เป็นการปรับสภาพโดยบดวัตถุดิบให้มีขนาดเล็กกลงแล้วนำไปปรับสภาพด้วยวิธีอื่น ๆ ได้แก่ การระเบิดด้วยไอน้ำ และการระเบิดด้วยแอมโมเนีย
3. การปรับสภาพทางเคมี (chemical pretreatment) ด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เพื่อช่วยในการกำจัดลิกนิน การปรับสภาพด้วยกรด (acid pretreatment) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลส การปรับสภาพด้วยด่าง (alkali pretreatment) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลสและกำจัดลิกนิน และการกำจัดลิกนินโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative delignification)
4. การปรับสภาพทางชีวภาพ (biological pretreatment) เป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ช่วยกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากวัตถุดิบ

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยด่าง (Alkali pretreatment)

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายด่างมีกลไกการย่อยสลายองค์ประกอบบางส่วนของลิกโนเซลลูโลสโดยทำลายพันธะเอสเทอร์ (ester bond) ระหว่างลิกนินกับเฮมิเซลลูโลส และทำลายพันธะอีเทอร์ (ether bond) ซึ่งมีผลทำให้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินบางส่วนถูกย่อยสลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กละลายในสารละลายด่าง ส่วนเซลลูโลสยังคงเป็นองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลสส่วนที่ไม่ถูกย่อยสลาย สารละลายด่างยังทำให้โครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสเกิดการพองบวม (swollen) นำไปสู่การเพิ่มพื้นที่ผิวภายใน อีกทั้งยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึกของเซลลูโลส ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

(Sun and Cheng, 2002; Mosier et al., 2005; Hu and Wen, 2008; McIntosh and Vancov, 2011; and Chen et al. 2011)

การปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยต่างเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้พลังงานมาก โดยได้รับความนิยมมากในอุตสาหกรรมต่างๆ ทั้งนี้เพื่อกำจัดลิกนิน (delignification) และเฮมิเซลลูโลส ดังแสดงในรูปที่ 2.7 ปัจจุบันชนิดของต่างที่นิยมใช้ในการศึกษาการปรับสภาพมากคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) ตามลำดับ (Kumar et al., 2009) นักวิจัยหลายท่านให้ความสนใจศึกษาการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสหลายประเภทโดยใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ นั้นขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้ปริมาณผลผลิตน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องการย่อยสลายเซลลูโลสด้วย เอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Chen et al., 2009; Gupta and Lee, 2010; McIntosh and Vancov, 2011; Pedersen et al.; 2011) อย่างไรก็ตามการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยต่างนั้น จะต้องมีการปรับค่า pH ของลิกโนเซลลูโลสหลังจากปรับสภาพให้เป็นกลางก่อน ทั้งนี้เพื่อให้ลิกโนเซลลูโลสมีสภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสใน ขั้นตอนต่อไป (สุภาวดี, 2557)



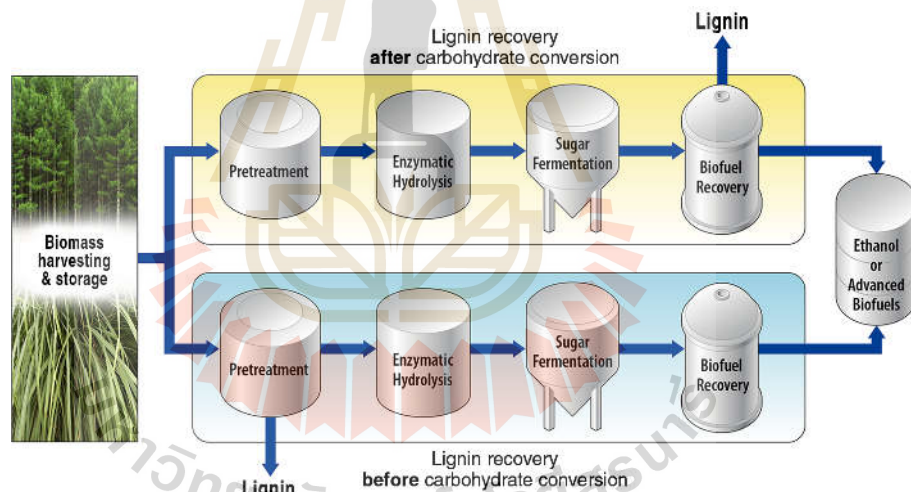
รูปที่ 2.7 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยต่าง (ดัดแปลงจาก Mosier et al., 2005)

2.5 ลิกนิน (Lignin)

2.5.1 การแยกลิกนิน (Recovery of lignin)

จากแนวความคิดการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสให้เป็นเชื้อเพลิง พลังงาน และสารเคมีที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น จากการศึกษาโดย Ragauskas et al. (2014) พบว่าลิกนินซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตไบ

โอเอทานอลนั้น (รูปที่ 2.8) มีปริมาณสูงถึง 100,000-200,000 ตันต่อปี ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์จากลิกนินอย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพนั้นมีความสำคัญอย่างยิ่ง จากการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มีผลทำให้ลิกนินบางส่วนถูกย่อยสลายกลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็กละลายลงในสารละลายต่าง (Sun and Cheng, 2002; Buranov and Mazza, 2008) โมเลกุลลิกนินเหล่านี้สามารถละลายในสารละลายต่างได้เนื่องจากแรงผลัทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ระหว่างโมเลกุลลิกนินด้วยกันเอง และระหว่างโมเลกุลอื่นๆ ทำให้ลิกนินแต่ละโมเลกุลอยู่ห่างกันและไม่สามารถรวมตัวเข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วตกตะกอนลงมาได้ นักวิจัยหลายท่านได้มีการศึกษาหาวิธีการนำลิกนินกลับคืนมาจากสารละลายต่าง โดยพบว่าการใช้กรดในการตกตะกอนเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด (Dimmel and Gellerstedt, 2010; Ghatak, 2008; Sun et al., 1999) โดยได้มีการศึกษาเปรียบเทียบชนิดของกรดที่ใช้ได้แก่ กรดซัลฟูริก กรดฟอสฟอริก และกรดไฮโดรคลอริก และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในการลดค่าพีเอชของสารละลายเพื่อให้ลิกนินตกตะกอน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาการแยกลิกนินด้วยวิธีการกรองโดยใช้เยื่อบาง (ultrafiltration) และวิธีอิเล็กโทรไลต์ (electrolytic methods) (Ghatak, 2008; Sun et al., 1999)



รูปที่ 2.8 ผลพลอยได้ลิกนินจากการผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ (Ragauskas et al., 2014)

2.5.2 การใช้ประโยชน์จากลิกนิน (Utilization of lignin)

ส่วนใหญ่ผลพลอยได้ลิกนินจากกระบวนการผลิตไบโอเอทานอลนั้นจะถูกนำกลับมาใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงด้วยการเผาไหม้โดยตรง อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีนักวิจัยศึกษาการนำลิกนินเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีนั้น พบว่าลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถนำมาสังเคราะห์เป็นสารวานิลลิน (vanillin) ส่วนลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงสามารถนำมาใช้ผลิตถ่านกัมมันต์ (activated carbon materials) สารเชื่อมติด (binding) และสารช่วยกระจาย

(dispersing agent) ในอุตสาหกรรมกระดาษ (Calvo-Flores and Dobado, 2010; Fellows et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีการวิจัยศึกษาคุณสมบัติของลิกนินเพื่อนำลิกนินไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารช่วยลดสารก่อมะเร็งในอาหารบางประเภท สารช่วยลดคลอเลสเทอรอล และสารช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของพลาสติกย่อยสลายได้ในด้าน thermal stability ดังสรุปในตารางที่ 2.3 ซึ่งนอกจากการนำลิกนินกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่ได้อย่างคุ้มค่าโดยเฉพาะผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) แล้ว ยังเป็นการส่งเสริมการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่พวกพลาสติกชีวภาพที่จะนำมาใช้เพื่อทดแทนการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลได้มากขึ้นอีกด้วย

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างความเป็นไปได้เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์ของลิกนินในอุตสาหกรรมอาหารและพอลิเมอร์

คุณสมบัติของลิกนิน	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
1. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)	Dizhbite et al., 2004; Pan et al., 2006; Wen et al., 2013
2. สารลดสารก่อมะเร็ง (heterocyclic aromatic amines)	Funk et al., 2006
3. สารช่วยลดคลอเลสเทอรอล	Goddik and Penner, 1999; Sayar et al., 2006; Cornfine et al., 2010
4. สารช่วยปรับปรุงคุณภาพของพลาสติกชีวภาพ	Chung et al., 2013; Duval and Lawoko, 2014; Gordobil et al., 2014

2.6 การออกแบบพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface design)

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตไบโอเอทานอลนั้น จำเป็นต้องมีเครื่องมือที่ใช้สำหรับการออกแบบการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทดลองและเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความเหมาะสมที่สุด (optimization) สำหรับนำไปการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติซึ่งจะทำให้ได้ข้อสรุปที่สมเหตุสมผล อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลมาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematic model) เพื่อใช้ทำนายผลการทดลองที่เราต้องการศึกษาได้อีกด้วย ทั้งนี้มีนักวิจัยบางท่านได้ใช้การออกแบบการทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสดังนี้ Kim and Han (2012) ใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองสำหรับหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพฟางข้าวด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำตาลกลูโคสสำหรับนำไปใช้ผลิตไบโอเอทานอลต่อไป จากผลการวิจัยพบว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2.96% ที่ 81.79°C เป็นเวลา 56.66 นาที ทำให้ย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้ปริมาณผลผลิตกลูโคสสูงสุด นอกจากนี้ Dutta et al. (2014) ได้ศึกษาการสร้างสมการคณิตศาสตร์โดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองและหาสภาวะที่เหมาะสมเกี่ยวกับกำจัดลิกนินออกจากฟางข้าวเพื่อนำไปผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ ส่วน

Bazargan et al. (2015) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเกี่ยวกับการปรับสภาพข้าวเปลือกด้วยต่าง เพื่อนำไปผลิตพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพโดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบล็อก-เบห์นเคน และได้สร้างสมการคณิตศาสตร์โดยใช้วิธีการพื้นผิวผลตอบสนองสำหรับทำนายปริมาณซิลิกาที่ถูกลำจัดออก เนื่องจากซิลิกามีผลไปลดประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตพลังงานนั่นเอง

2.6.1 วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology, RSM)

วิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และทางสถิติที่มีประโยชน์สำหรับใช้ในการสร้างแบบจำลองและการวิเคราะห์ปัญหา โดยผลตอบสนอง (response variable) จะขึ้นอยู่กับตัวแปรอิสระ (independent variables) โดยวิธีการนี้สามารถใช้หาจุดที่เหมาะสม (optimization) ต่อผลตอบสนอง ในการนำเสนอแบบพื้นผิวผลตอบสนองนั้นต้องมีการออกแบบการทดลองที่เหมาะสม โดยการทดลองนั้นจะต้องมีตัวแปรอิสระ 2 ตัวขึ้นไป และมีตัวแปรตามอย่างน้อย 1 ตัว ที่เป็นตัวแปรเชิงปริมาณ โดยทั่วไปวิธีการออกแบบการทดลองที่นิยมนำมาสร้างพื้นผิวผลตอบสนองได้แก่ Factorial Design, Central Composite Design และ Box-Behnken Design ข้อมูลของตัวแปรอิสระ (independent variables: X_1, X_2, X_3) ที่สัมพันธ์กับข้อมูลของตัวแปรตามหรือผลตอบสนอง (response variable: Y) สามารถถูกนำมาสร้างเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (model) เพื่อใช้ในการทำนายหรือปรับกระบวนการให้เหมาะสม (process optimization) ได้ (อิศรพงษ์, 2550) ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามหรือผลตอบสนองเหล่านี้ สามารถอธิบายโดยสมการ 2.1

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

โดยกำหนดให้ ε คือความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นในค่าผลตอบสนอง y ซึ่งค่า y นี้ได้มาจากการทดลอง และถ้าแสดงค่าคาดหวังของผลตอบสนองเป็น

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

จะสามารถเขียนสมการของพื้นผิวผลตอบสนองได้ดังสมการที่ 2.3

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

การแสดงผลของพื้นผิวผลตอบสนองนั้นส่วนมากจะแสดงในรูปของกราฟิก โดยนำค่า η มา plot กับค่าของตัวแปรอิสระ X_1 และ X_2 ซึ่งจะช่วยให้มองเห็นรูปร่างของพื้นผิวผลตอบสนองได้ดียิ่งขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.9 แต่ในการศึกษาเกี่ยวกับพื้นผิวผลตอบสนองนั้น ส่วนใหญ่จะไม่ทราบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและผลตอบสนอง ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและผลตอบสนองโดยหาตัวประมาณที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวแทนสำหรับแสดงความสัมพันธ์ได้โดยใช้ฟังก์ชันพหุนาม (polynomial) ที่มีกำลังต่ำ ๆ ถ้าแบบจำลองของค่าผลตอบสนองมีความสัมพันธ์

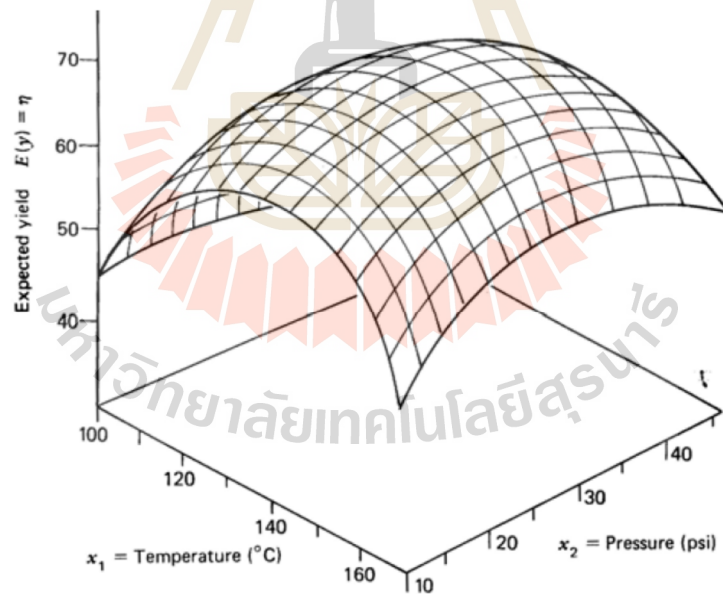
เชิงเส้นกับตัวแปรอิสระ ฟังก์ชันที่ใช้ในการประมาณค่าความสัมพันธ์คือแบบจำลองกำลังหนึ่ง (first order model) (อิศรพงษ์, 2550) ดังแสดงในสมการที่ 2.4

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

ถ้าความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นโค้งจะต้องใช้ฟังก์ชันพหุนามที่มีกำลังสูงขึ้น เช่น แบบจำลองกำลังสอง (second order model) ดังแสดงในสมการที่ 2.5

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

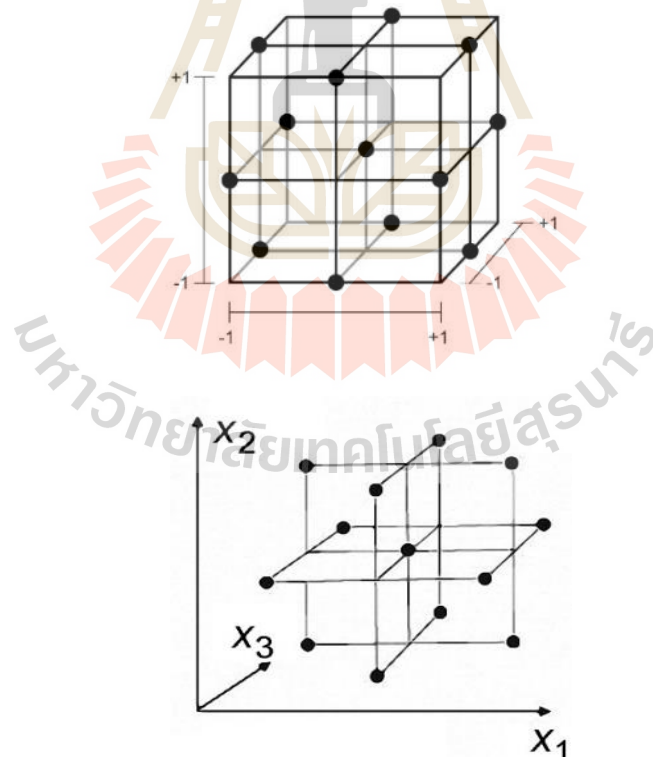
อีกทั้งวิธีการพื้นผิวผลตอบสนองเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพกับกระบวนการที่มีความซับซ้อน ทำให้ง่ายในการจัดการและอธิบายผลเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น (Box and Behnken, 1960; Gan and Latiff, 2011) ข้อดีของ RSM คือ ช่วยลดจำนวนชุดทดลองที่ใช้ในการประเมินตัวแปรหลายตัว รวมทั้งปฏิสัมพันธ์ของตัวแปรเหล่านั้น ดังนั้นการใช้ RSM จึงช่วยประหยัดแรงงานและเวลากว่าวิธีการอื่นที่ต้องการสถานะที่เหมาะสม (Giovanni, 1983)



รูปที่ 2.9 ภาพ 3 มิติของพื้นผิวผลตอบสนอง (ที่มา : อิศรพงษ์, 2550)

2.6.2 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken experimental design)

การออกแบบการทดลองเป็นกระบวนการวางแผนการทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความเหมาะสมที่สุด (optimization) เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ผลด้วยวิธีทางสถิติให้ได้ข้อสรุปที่สมเหตุสมผล การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน เป็นการออกแบบการทดลองแบบสามระดับหรือสามปัจจัยเพื่อใช้สำหรับพิตแบบจำลองกำลังสองในการหาค่าผลตอบสนอง ข้อดีของการออกแบบการทดลองด้วยวิธีนี้ คือ มีประสิทธิภาพในด้านการออกแบบจำนวนการทดลองที่ต้องการ โดยการออกแบบเป็นรูปทรงกลมที่ทุกจุดวางอยู่บนรูปทรงกลมรัศมี 2 ดังแสดงในรูปที่ 2.10 ตัวอย่างของการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระแสดงในตารางที่ 2.4 โดยจำนวนการทดลองทั้งหมดจะเท่ากับ 15 การทดลอง กำหนดให้พารามิเตอร์อยู่ในรูป -1 , 0 , และ $+1$ (ปารเมศ, 2545) นอกจากนี้การออกแบบการทดลองดังกล่าวมีจำนวนครั้งการทดลองที่น้อย รวมถึงมีต้นทุนที่ถูกกว่าเมื่อเทียบกับการออกแบบการทดลองแบบ fractional factorial design (FFD) หรือ central composite design (CCD) ในกรณีที่จำนวนปัจจัยเท่ากัน และสามารถมองได้ภาพกว้าง (Rotatable) เมื่อไม่สนใจจำนวนของปัจจัยภายใต้สถานะที่ศึกษา (สมเกียรติ และภูมิินทร์, 2554; รัชฎา และคณะ, 2555; Ray et al., 2010)



รูปที่ 2.10 การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนแบบสามตัวแปรอิสระ (ที่มา : ปารเมศ, 2545)

ตารางที่ 2.4 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken

Run	Box-Behnken Experimental Design		
	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

ที่มา : (ปารเมศ, 2545)

2.6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

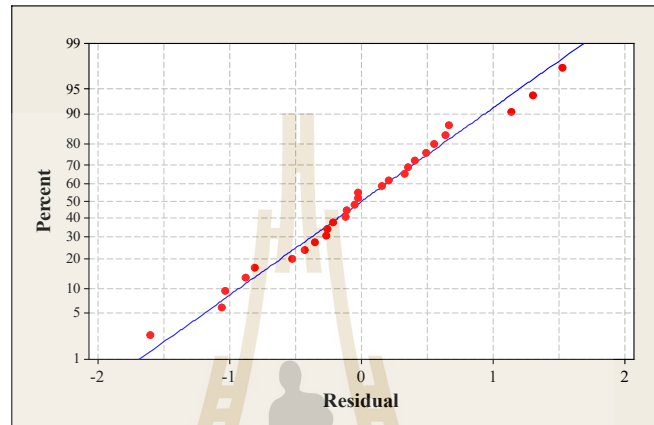
การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R-square, R²) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.6.3.1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง (Diagnostics and adequacy checking)

เป็นการตรวจสอบข้อมูลที่ได้จากการทดลองก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยข้อมูลที่ได้จากการทดลองต้องเป็นไปตามสมมติฐาน 3 ข้อ คือ (1) ค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ (2) ค่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน และ(3) ค่าความแปรปรวนมีเสถียรภาพ ถ้าหากค่าส่วนตกค้างเป็นไปตามสมมติฐานทั้ง 3 ข้อ จะถือว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความแปรปรวน ซึ่งมีรายละเอียดของสมมติฐานดังต่อไปนี้

การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติของส่วนตกค้าง (Normal probability plot)

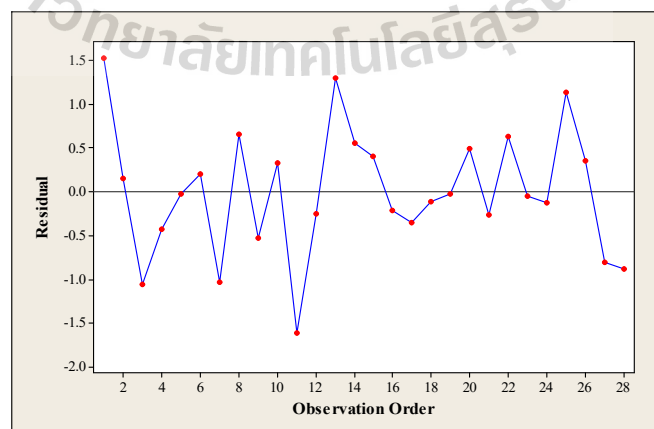
การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติของค่าส่วนตกค้างของข้อมูลโดยพิจารณาการกระจายของค่าส่วนตกค้างจากกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง หากค่าส่วนตกค้างมีการกระจายตัวตามแนวเส้นตรง แสดงว่าค่าส่วนตกค้างมีการแจกแจงแบบปกติ ดังแสดงในรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 ตัวอย่างกราฟความน่าจะเป็นแบบปกติของส่วนตกค้าง

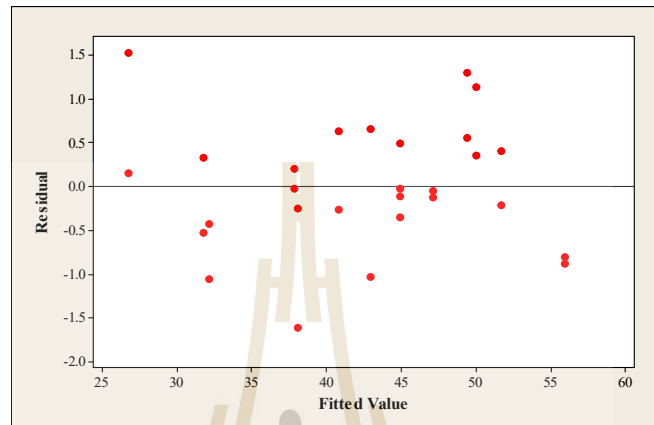
การตรวจสอบความเป็นอิสระของส่วนตกค้าง (Independent)

การตรวจสอบความเป็นอิสระของค่าส่วนตกค้างของข้อมูลโดยใช้แผนภูมิการกระจาย (Scatter plot) เพื่อสังเกตลักษณะการกระจายของจุดที่แทนข้อมูลบนแผนภูมิว่ามีรูปแบบอิสระหรือไม่ หากส่วนตกค้างไม่มีรูปแบบที่แน่นอนหรือไม่สามารถประมาณรูปแบบที่แน่นอนได้ มีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ แสดงว่าส่วนตกค้างมีความเป็นอิสระต่อกัน (รูปที่ 2.12)



รูปที่ 2.12 ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้างกับลำดับของข้อมูล

การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวนของส่วนตกค้าง (Variance stability)
 การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวนโดยพิจารณาจากแผนภูมิการกระจายของส่วนตกค้าง
 ในแต่ละระดับของปัจจัย หากส่วนตกค้างมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอทั้งทางบวกและทางลบแสดงว่า
 ส่วนตกค้างมีความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ 2.13)



รูปที่ 2.13 ตัวอย่างแผนภูมิการกระจายส่วนตกค้างในแต่ละระดับปัจจัย

2.6.3.2 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R^2)

เป็นการวิเคราะห์ว่าการออกแบบที่ใช้การทดลองมีความเหมาะสมหรือไม่ ซึ่งในการทดลอง
 ทุกครั้งจะต้องมีความผันแปรที่อธิบายไม่ได้หรือความคลาดเคลื่อนเกิดขึ้นเสมอ การออกแบบการ
 ทดลองที่ดีจะต้องทำให้เกิดความผันแปรที่อธิบายไม่ได้น้อยที่สุด โดยที่ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ
 สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.6 (Hu, 1999)

$$\text{สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ} = \frac{\text{ความผันแปรที่อธิบายได้} \times 100}{\text{ความผันแปรทั้งหมด}} \quad (2.6)$$

2.6.3.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนเป็นการตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองโดยพิจารณา
 จากค่า p-value ของเทอมต่างๆ ในตารางของการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้เปรียบเทียบกับค่า
 นัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การหาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยด่าง (Optimization of alkali pretreatment of cassava rhizome)

3.1.1 การเตรียมเหง้ามันสำปะหลัง (Cassava rhizome preparation)

การศึกษานี้ได้ใช้เหง้ามันสำปะหลังจากมันสำปะหลังพันธุ์ระยองที่มีอายุการปลูกนาน 14 เดือน ทั้งนี้ได้เก็บเกี่ยวเหง้ามันสำปะหลังสดจากแปลงปลูกในจังหวัดนครราชสีมา ปี 2560 สภาพปลูกดินร่วนปนทราย (coarse-loamy) ส่วนล่างของเหง้ามันสำปะหลังจะตัดส่วนที่เป็นรากสะสมแป้ง (starchy tuberous root) ออก ส่วนบนตัดส่วนที่เป็นลำต้นใหม่ที่ออกจากเหง้าออก เพื่อไม่ให้ปะปนกับส่วนที่เป็นลำต้นใหม่ที่เจริญจากท่อนพันธุ์ในรอบปีปลูก (รูปที่ 3.1) นำเหง้ามันสำปะหลังดังกล่าวซึ่งมีขนาด 26.50 ± 3.04 cm (จากการเก็บเกี่ยวในงานวิจัยนี้) มาล้างด้วยน้ำประปา ชัดด้วยแปรงขนอ่อนให้สะอาดจากทรายและดิน ตัดเป็นแว่นหนา 3 – 5 mm อบแห้งชั้นบาง 40°C 72 h (Memmert Universal Oven UF 110, Germany) กระบวนการตั้งแต่ตัดเหง้าสดจากต้นกระทั่งเข้าตู้อบได้ทำในระยะเวลาไม่เกิน 12 h โดยไม่เก็บเหง้ามันสำปะหลังที่เกษตรกรทิ้งคาแปลง นำเหง้ามันสำปะหลังหั่นแว่นแห้งดังกล่าวบดผ่านเครื่องบด (Cross Beater Mill SK 300, Retsch, Germany) ตะแกรงทางออกของเครื่องขนาด 2.0 mm นำมวลที่ได้ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1.0 mm ใช้เฉพาะส่วนคงค้าง (1.0 – 2.0 mm) (รูปที่ 3.2) ตามมาตรฐานการวิเคราะห์ของ National Renewable Energy Laboratory (NREL) ความชื้นสุดท้ายหลังบดมีค่า $7 \pm 1\%$ (wet basis, w.b.) โดยวิเคราะห์ความชื้นด้วยการอบลมร้อน 105°C จนน้ำหนักคงที่ (5 h) เหง้ามันสำปะหลังที่ได้ (native cassava rhizome, NCR) เก็บในถุงพลาสติกปิดสนิทในตู้ทำแห้งอัตโนมัติที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 3.1 ตัวอย่างเหง้ามันสำปะหลังจากแปลงมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง



A



B



C



D



E

รูปที่ 3.2 เครื่องมือที่ใช้สำหรับบดเหง้ามันสำปะหลัง (A) เครื่องบดตัวอย่างแบบหยาบ; (B) เครื่องบดตัวอย่างแบบละเอียด; (C) เครื่องร่อนแยกขนาด; (D) แวนเหง้ามันสำปะหลัง; และ (E) เหง้ามันสำปะหลังบดขนาด 1.0 – 2.0 mm

3.1.2 การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยด่าง (Alkali pretreatment of NCR)

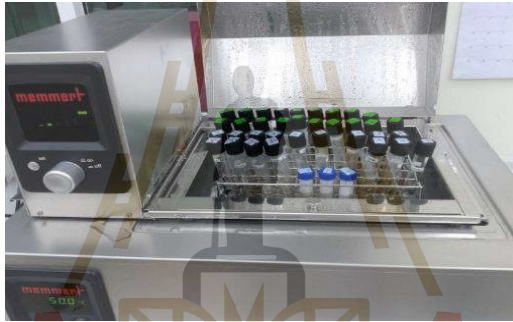
เหง้ามันสำปะหลัง (native cassava rhizome, NCR) ขนาด 1.0 – 2.0 mm ถูกนำมาปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1% 5% และ 10% (3% solid loading) ที่อุณหภูมิ 40°C 60°C และ 80°C เป็นเวลา 1 3 และ 5 h ใน shaking water bath ที่มีความเร็วรอบ 100 rpm (รูปที่ 3.3) โดยสามารถดูการกำหนดระดับของปัจจัยและออกแบบการทดลองได้ในตารางที่ 3.1 และ 3.2 จากนั้นนำของผสมมากรองด้วย gooch crucible ขนาดของรูพรุน (pore size) 13 μm (รูปที่ 3.4) เหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ (pretreated cassava rhizome, PCR) ถูกทำให้เป็นกลางด้วยน้ำสะอาด และผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) และถูกนำมาเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น (desiccator) เพื่อรอการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป การคำนวณร้อยละของปริมาณของแข็งที่ถูกกำจัดออก (solid removal, %), ร้อยละของปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออก (lignin removal, %) และร้อยละของปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออก (glucan removal, %) สามารถคำนวณตามสมการที่ (3.1 – 3.3) ดังต่อไปนี้

$$\text{Solid removal (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Weight of PCR (g)}}{\text{Weight of initial NCR (g)}}\right) \times 100 \quad (3.1)$$

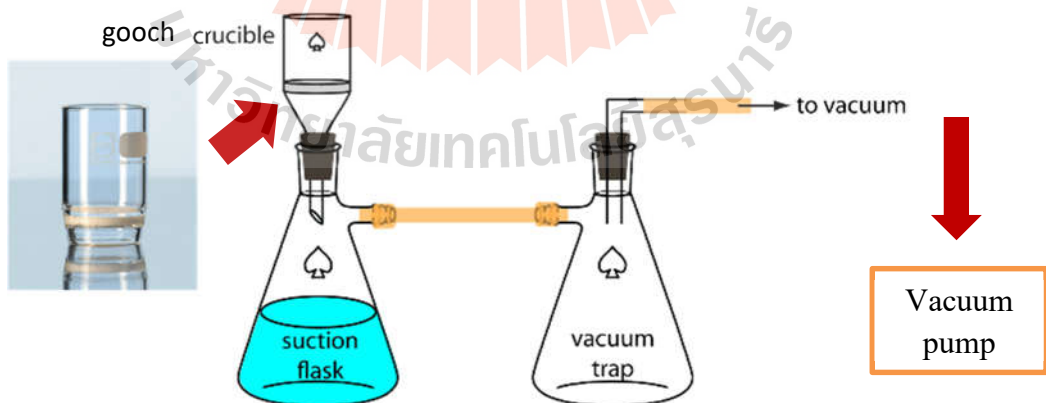
$$\text{Lignin removal (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Lignin content in PCR (g)}}{\text{Lignin content in NCR (g)}}\right) \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{Glucan removal (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Glucan content of PCR (g)}}{\text{Glucan content of NCR (g)}}\right) \times 100 \quad (3.3)$$

โดย PCR คือ เหน้้ำมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว
NCR คือ เหน้้ำมันสำปะหลังก่อนการปรับสภาพ



รูปที่ 3.3 การปรับสภาพเหน้้ำมันสำปะหลังด้วยต่าง



รูปที่ 3.4 การแยกของแข็งออกจากของเหลวด้วย gooch crucible โดยการกรองแบบ

สุญญากาศ

3.1.3 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (Chemical composition analysis)

เหง้ามันสำปะหลังก่อนปรับสภาพ (NCR) และเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ (PCR) ถูกนำมาหาส่วนประกอบทางเคมีด้วยวิธีของ NREL (Sluiter et al., 2008; Sluiter et al., 2012) สำหรับตัวอย่าง NCR ซึ่งมีขนาด 1.0 – 2.0 mm ถูกนำมาสกัดแบบต่อเนื่องด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 12 h และถูกสกัดต่อด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 12 h (รูปที่ 3.5) จากนั้นเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแล้ว (extracted cassava rhizome, ECR) จะถูกทำให้แห้งโดยการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 h ก่อนเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท

ECR และ PCR ถูกนำมาย่อยด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 72% ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 1 h จากนั้นเติมน้ำกลั่นเพื่อเจือจางกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้น 4% นำมาย่อยในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นเวลา 1 h จากนั้นนำมากรองด้วย gooch crucible เพื่อแยกของแข็งและของเหลว (1) ส่วนที่เป็นของแข็งจะถูกทำให้เป็นกลางด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 4 h และนำไปเผาด้วยเตาเผา (furnace) ที่อุณหภูมิ 520°C เป็นเวลา 18 h เพื่อหาปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble lignin, AIL) และ (2) ส่วนที่เป็นของเหลวจะถูกแบ่งเพื่อใช้หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (acid soluble lignin, ASL) สำหรับการหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส (glucose, %) ของเหลวที่ถูกแยกข้างต้นถูกนำมาปรับสภาพให้เป็นกลาง (neutralization) ด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) จากนั้นนำไปหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (ion chromatography) ส่วนการหาปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (ASL) ของเหลวจะถูกนำไปหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 320 nm ภายในระยะเวลา 4 h หลังจากการย่อยด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ



รูปที่ 3.5 การสกัดเหง้ามันสำปะหลัง (NCR) แบบต่อเนื่องด้วยน้ำและเอทานอล

3.1.4 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis)

PCR ถูกนำมาย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Cellic® Ctec2, Novozymes A/S, Denmark) ด้วยวิธีการของ NREL (Sluiter et al., 2008) ดังนี้ นำ PCR ที่มีปริมาณเซลลูโลสหรือกลูแคนทั้งหมด 0.1 g ใส่ลงใน glass scintillation vial จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมซิเตรท (sodium citrate buffer) ความเข้มข้น 0.1 M ที่ pH 4.8 ปริมาตร 5 ml จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมเอไซด์ (NaN₃) ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 100 µl และเติมน้ำสะอาดให้ครบปริมาตรรวม 10 mL (1.5% solid loading) จากนั้นนำไปป้อนด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (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 จากนั้นกรองแยกของแข็งและของเหลวด้วย nylon syringe filter ขนาดรูพรุน (pore size) 0.45 µm เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ ส่วนที่เป็นของเหลวถูกเก็บไว้ใน microcentrifuge tube ภายใต้อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสในขั้นตอนต่อไป สำหรับการคำนวณหาปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion to glucose, %) สามารถคำนวณได้ตามสมการ 3.4

$$\text{Glucan conversion to glucose (\%)} = \frac{\text{Glucose (mg/mL)} \times 10 \text{ mL}}{\text{GC} \times M \text{ (mg)} \times 1.1} \times 100 \quad (3.4)$$

โดย	Glucose (mg/mL)	คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่วิเคราะห์ได้
	10 (mL)	คือ ปริมาตรรวมในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
	GC	คือ Glucan content (%) ของ PCR
	M (mg)	คือ มวลของ PCR ที่ใช้สำหรับการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
	1.1	คือ conversion factor for glucan to glucose



รูปที่ 3.6 การบ่มตัวอย่างด้วยเครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า (shaking incubator)

3.1.5 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส (Glucose analysis)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส ด้วยเครื่องไอออนโครมาโตกราฟี ดังนี้ การวิเคราะห์ด้วยเครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (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 ที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 30°C โดยผลจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแสดงเป็นพื้นที่ใต้กราฟเพื่อใช้ในคำนวณปริมาณน้ำตาลกลูโคส



รูปที่ 3.7 การวิเคราะห์หาไอออนโดยอาศัยเทคนิคโครมาโตกราฟี (Ion chromatography)

3.1.6 การออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ (Experiment design and statistical analysis)

วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (RSM, response surface methodology) ถูกใช้ในการศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพแห้งน้ำมันสำปะหลังด้วยต่างโดยการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ที่มีปัจจัย 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) อุณหภูมิ (X_2) และเวลาในการปรับสภาพ (X_3) ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

3.1.6.1 การกำหนดระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง

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

3.1.6.2 การออกแบบการทดลอง (Experimental design)

การศึกษาหาสถานะที่เหมาะสมของการปรับสภาพแห้งน้ำมันสำปะหลังด้วยต่างจะใช้ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab[®] 17 (Minitab LLC, State College, PA, USA) ซึ่งมีปัจจัย 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ สามารถออกแบบการทดลองได้ทั้งหมด 15 การทดลอง ซึ่งมีจุดกลาง (center point) 3 จุดถูกสุ่มลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 ระดับค่าตัวแปรอิสระหรือปัจจัยต้นที่ใช้ทดลอง

Factor/Level	-1	0	1
ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (X_1) (%)	1	5	10
อุณหภูมิ (X_2) ($^{\circ}\text{C}$)	40	60	80
เวลาในการปรับสภาพ (X_3) (h)	1	3	5

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken สำหรับการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง

Run order	Box-Behnken experimental design			NaOH (%)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Time (h)
	X1	X2	X3			
1	0	0	0	5	60	3
2	-1	0	-1	1	60	1
3	1	0	-1	10	60	1
4	-1	1	0	1	80	3
5	1	1	0	10	80	3
6	0	0	0	5	60	3
7	0	-1	-1	5	40	1
8	1	0	1	10	60	5
9	-1	0	1	1	60	5
10	0	1	-1	5	80	1
11	-1	-1	0	1	40	3
12	0	-1	1	5	40	5
13	1	-1	0	10	40	3
14	0	1	1	5	80	5
15	0	0	0	5	60	3

3.1.6.3 การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์หรือสมการทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายตัวแปรตาม (ผลตอบสนอง)

การสร้างสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยนำค่าของปัจจัยที่ได้จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของตัวแปรตามดังกล่าวมาเขียนให้อยู่ในรูปแบบของสมการที่ 3.5 (ดารีกา และคณะ, 2556; น้ำฝน และคณะ, 2556)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^N \beta_i x_i + \sum_{i=1}^N \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \beta_{ij} x_i x_j \quad (3.5)$$

เมื่อ $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ คือ ค่าสัมประสิทธิ์
 X_i คือ ตัวแปรต้นที่เป็นปัจจัยหลักในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง
 Y คือ ตัวแปรตามที่มีอิทธิพลต่อการหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง

จากการสร้างสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามดังกล่าวไปข้างต้น ซึ่งผ่านการวิเคราะห์ทางสถิติและความถูกต้องของข้อมูลแล้ว จึงนำผลการทดลองสามารถสร้างพื้นผิวผลตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ได้

3.1.6.4 การวิเคราะห์ทางสถิติและตรวจสอบแบบจำลอง

การประมวลผลข้อมูลที่ได้จากการทดลองด้วยโปรแกรม Minitab® 17 (Minitab LLC, State College, PA, USA) โดยในการสร้างแบบจำลองผิวโค้งพหุนามกำลังสอง, การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (multiple linear regression analysis) ใช้ประเมินนัยสำคัญทางสถิติของแบบจำลอง, การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ทำเพื่อตรวจสอบนัยสำคัญของสัมประสิทธิ์เส้นตรง สัมประสิทธิ์อันตรกิริยา และสัมประสิทธิ์การถดถอยกำลังสอง (linear, interaction and quadratic regression coefficients), ค่าการขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit, LOF) ใช้ในการประเมินความเหมาะสมของแบบจำลองต่อการตอบสนองของข้อมูล, ความสมบูรณ์ของแบบจำลองจะพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2), นอกจากนี้ สมรรถภาพการพยากรณ์ของแบบจำลอง (predictive capacity) จะถูกประเมินด้วยค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่มีการปรับแก้ (adjusted R^2), ประเมินผลการปรับสภาพด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA), การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยใช้ Tukey-HSD multiple comparison test ที่ระดับนัยสำคัญ 5% ($p < 0.05$)

การสร้างพื้นผิวผลตอบสนองของปริมาณกลูแคนที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Response surface of glucan conversion, %)

เมื่อได้สมการสำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสแล้วจึงนำมาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบสนอง (response surface plot) และกราฟโครงร่าง (contour plot) ของ

ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้เทียบกับปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ

การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (Optimization of alkali pretreatment)

การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุดจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสและวัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบสนอง (Composite desirability, D) โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab ซึ่งค่าความพึงพอใจของผลตอบสนองมีค่าระหว่าง 0 - 1 ซึ่งถ้าค่า D มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ผลตอบสนองนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ (ตาริกา และคณะ, 2556)

3.1.7 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีกายภาพ (Physicochemical changes)

3.1.7.1 โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง (Microstructure of cassava rhizome)

เหง้ามันสำปะหลังก่อนและหลังการปรับสภาพ (NCR, PCR) ถูกนำมาวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) รุ่น JSM 6010 LV (JEOL, Tokyo, Japan) (รูปที่ 3.8) ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยนำมาผ่านการเคลือบด้วยทองคำก่อนเข้าเครื่อง การทำงานภายใต้เงื่อนไขโหมดแสง SEI ระดับพลังงาน 10-12 kV และระดับกำลังขยายของภาพเท่ากับ 500 - 1,000X



รูปที่ 3.8 กล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) รุ่น JSM 6010LV

3.1.7.2 การวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (Crystallinity analysis by X-ray diffraction, XRD)

NCR และ PCR ถูกนำมาบดให้ละเอียดก่อนนำมาวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ด้วยเครื่อง XRD Analyzer (D2-Phaser, Bruker, USA) (รูปที่ 3.9) โดยดำเนินการที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 30 kV ค่ากระแส 10 mA ความเป็นผลึกของตัวอย่างถูกวิเคราะห์ด้วยการแผ่รังสีของ Cu-K α ความยาวคลื่น 0.154 nm พิสัยมุม (2θ) มีค่า 10 - 40 $^{\circ}$ อัตราการกวาดมุม 2 $^{\circ}$ /min ค่าดัชนีความเป็นผลึก (crystallinity index, Crl) คำนวณได้ดังสมการที่ (3.6)

$$Crl (\%) = \frac{I_1 - I_2}{I_1} \times 100 \quad (3.6)$$

เมื่อ I_1 คือความเข้มของการเลี้ยวเบนของรังสีในขณะกระทบความเป็นผลึกของเซลลูโลสที่มุม $2\theta = 22^{\circ}$ และ I_2 คือความเข้มของการเลี้ยวเบนในกรณีที่รังสีไม่กระทบวัสดุผลึก มุม $2\theta = 18^{\circ}$ (Kumar et al., 2009; Terinte et al., 2011)



รูปที่ 3.9 เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์

3.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง (Physicochemical properties of isolated lignin from alkali pretreatment of cassava rhizome)

3.2.1 การตกตะกอนลิกนิน (Lignin precipitation)

จากผลการทดลองในหัวข้อ 3.1 ทำให้ทราบสถานะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง (10% w/v NaOH, 40°C, 1 h) ดังนั้น สารละลายที่เหลือทิ้งจากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง (black liquor, รูปที่ 3.10) จะถูกนำมาปรับสภาพเพื่อทำให้แยกลิกนินออกจากสารละลายได้ดังต่อไปนี้ นำเหง้ามันสำปะหลัง 100 g เติม 10% w/v NaOH ปริมาตร 3,333 mL (3% solid loading) นำไปปรับสภาพที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 1 h ที่ 60 rpm จากนั้นกรองสารผสมดังกล่าวเพื่อแยกของแข็งออกด้วย Whatman No.1 ผ่าน Büchner funnel และเก็บส่วนของเหลว (black liquor) เพื่อนำมาแยกลิกนิน โดยเริ่มจากการปรับ pH ให้เป็นกลาง (pH 7) ด้วย 6 M HCl จากนั้นแยกสารเฮมิเซลลูโลสออกด้วยการเติม 95% EtOH ในปริมาตร 2 เท่าของ black liquor นำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 h จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 min เพื่อแยกตะกอนเฮมิเซลลูโลสออก จากนั้นนำของเหลวที่ผ่านการแยกเฮมิเซลลูโลสแล้วไปลด pH ด้วยกรด 6 M HCl อีกครั้งให้เหลือ pH 1.5 - 2.0 และทิ้งไว้ที่ 4°C 24 h เพื่อช่วยให้ลิกนินตกตะกอน จากนั้นนำไปปั่นที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 min เพื่อแยกตะกอนลิกนินออกมา นำลิกนินที่ได้มาล้างเกลือ (NaCl) ออก ด้วย 6 M HCl pH 1.5 อีก 3 ครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำลิกนินที่ได้ไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) แล้วชั่งน้ำหนักลิกนินทั้งหมดที่ได้เทียบกับเหง้ามันสำปะหลังแห้งเริ่มต้นทั้งหมดที่นำมาใช้ โดยในงานวิจัยนี้ได้ใช้ alkali lignin จาก Sigma-Aldrich (370959, CAS Number: 8068-05-1, Sigma-Aldrich Co. Ltd., MO, USA) เป็นตัวอย่างเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีกายภาพกับลิกนินที่ได้จากงานวิจัยนี้



รูปที่ 3.10 Black liquor ที่นำมาแยกลิกนิน

3.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity of lignin)

3.2.2.1 การเตรียมสารสกัด (Sample preparation)

นำผงลิกนิน STDL และ CPL อย่างละ 100 mg เติมเมทานอลปริมาตร 2 mL แล้วนำไปสกัดที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 2 h ความเร็ว 320 rpm ด้วยเครื่องเขย่าสารและควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker, KS 4000 i control, IKA, Germany) จากนั้นแยกส่วนของเหลว (สารสกัด) ออกจากตะกอนลิกนินด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20°C จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds)

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดดัดแปลงจากวิธีการของ Chan et al. (2009) โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ เตรียมสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้นระหว่าง 0 - 700 ppm หรือสารสกัดที่ได้จากข้อ 3.2.2.1 ปริมาตร 0.3 mL จากนั้นนำไปเติมในสารละลาย Folin-Ciocalteu's RS reagent (Carlo Erba co. Ltd., 463562 UN 3264 Batch Number T112107A) ที่เข้มข้น 10% (v/v) ปริมาตร 1.5 mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 1 นาที เติม Na_2CO_3 เข้มข้น 7.5% (w/v) ปริมาตร 3.0 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้มีปริมาตรรวมเป็น 10 mL เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 min วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดังกล่าวที่ความยาวคลื่น 765 nm ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักลิกนินแห้ง 1 g (mg GAE/g lignin) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.2.2.3 การทดสอบความสามารถในการสารอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH free radical scavenging activity assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอชดัดแปลงวิธีการของ Thaipong et al. (2006) กับ Van Le and Le (2012) โดยเตรียม 0.1 mM DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, Germany) ในเมทานอล แล้วเจือจางให้ได้ค่า absorbance เท่ากับ 1.1 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 515 nm จากนั้นสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐานโดยเตรียมสารละลาย DPPH เจือจาง 5 mL ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน Trolox ในเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (25 - 700 μM) ปริมาตร 265 μL จากนั้นบ่มสารละลายผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 min แล้วนำมาอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm แล้วสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน จากนั้นใช้สารละลาย DPPH เจือจาง 5 mL ทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่ได้จากข้อ 3.2.2.1 ปริมาตร 265 μL และบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 min แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟเปรียบเทียบ ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็น millimolar Trolox equivalent antioxidant capacity per gram lignin (mM TEAC/g lignin) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.2.2.4 การทดสอบความสามารถในการสารอนุมูลอิสระด้วยวิธีเอบีทีเอส (ABTS free radical scavenging activity assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเอบีทีเอสดัดแปลงวิธีการของ Thaipong et al. (2006) กับ Van Le and Le (2012) โดยใช้ 2.6 mM potassium persulfate ทำปฏิกิริยากับ 7.4 mM ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, USA) ด้วยปริมาตรที่เท่ากัน ให้เป็นอนุมูล ABTS^{•+} โดยบ่มในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 h แล้วเจือจางให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm เท่ากับ 0.70 ± 0.02 ใช้สารละลาย ABTS ดังกล่าว 5 mL ทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่ได้จากข้อ 3.2.2.1 ปริมาตร 400 μL หรือสารละลายมาตรฐาน Trolox ในเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (25 – 700 μM) ปริมาตร 400 μL เพื่อสร้างกราฟเปรียบเทียบมาตรฐาน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 min แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ผลการทดลองที่ได้แสดงเป็น millimolar Trolox equivalent antioxidant capacity per gram lignin (mM TEAC/g lignin) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของลิกนิน (Microstructure characterization of lignin)

ผงลิกนิน (STDL, CPL) ถูกทำให้กระจายตัวบน Aluminum stubs แล้วเคลือบ (sputter coating) ด้วย platinum แล้วนำมาวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Field Emission Scanning Electron Microscope (FE-SEM), Carl Zeiss: Auriga, Germany) ที่ความต่างศักย์ของ FE-SEM 3.0 kV และระดับกำลังขยายระหว่าง 500x – 70,000x

3.2.4 การวิเคราะห์หาค่าประกอบทางโครงสร้างเคมีของลิกนินโดยใช้ความยาวคลื่นช่วงอินฟราเรด (FTIR characterization)

นำผงลิกนิน (STDL, CPL) มาวิเคราะห์หาค่าประกอบทางโครงสร้างเคมีของสารโดยใช้ความยาวคลื่นช่วงอินฟราเรดด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) รุ่น Tensor 27 (Bruker optic GmbH, USA) ด้วยโปรแกรม OPUS version 7.0 ที่ความยาวคลื่น $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, ความละเอียด 4 cm^{-1} จำนวนสแกน 64 รอบ/ครั้ง โดยอ้างอิงกับอากาศ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.2.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของลิกนินโดยอาศัยสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis (TGA) of lignin)

การสลายตัวของ STDL และ CPL ถูกเปรียบเทียบกันโดยใช้เครื่อง TGA/DSC 1 (Star System, Mettler Toledo, Switzerland) โดยดัดแปลงวิธีจาก Song et al. (2004) ดังนี้ตัวอย่าง STDL และ CPL แห้งน้ำหนัก 5 mg ถูกวางในถ้วย aluminum นำไปวางในเครื่องแล้วให้ความร้อนจากอุณหภูมิ 25°C ขึ้นไปถึง 1,000°C โดยตั้งอัตราการเพิ่มอุณหภูมิอยู่ที่ 10°C/min ในบรรยากาศไนโตรเจน ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

บทที่ 4

ผลการศึกษาและวิจารณ์

4.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยด่าง (Optimization of alkali pretreatment of cassava rhizome)

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของเหง้ามันสำปะหลัง

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเหง้ามันสำปะหลังก่อนการปรับสภาพ (NCR)

Biomass	Composition (% , dry basis) ¹				
	Glucan	Xylan	Lignin	Ash	Extractives
Cassava rhizome	30.07 ± 0.43	10.31 ± 0.25	23.18 ± 0.57	3.28 ± 0.19	19.20 ± 1.61

¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ามันสำปะหลังก่อนการปรับสภาพ (native cassava rhizome, NCR) ตามวิธีมาตรฐานของ NREL (ตารางที่ 4.1) พบว่ามีปริมาณเซลลูโลสหรือกลูแคน (glucan) ไชแลน (xylan) ลิกนิน (lignin) เถ้า (ash) และ extractives โดยเฉลี่ยเท่ากับ 33.89% 10.57% 28.40% 4.77% และ 19.51% ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลงานวิจัยของหลายท่าน ได้แก่ งานวิจัยของ Castaño et al. (2013), Han et al. (2011) และ Pooja and Padmaja (2015) พบว่าเหง้ามันสำปะหลังมีปริมาณกลูแคน ไชแลน ลิกนิน และเถ้า มีค่าอยู่ระหว่าง 22.80 – 38.8% 7.2 – 28.80% 11.80 – 33.80% และ 1.90 – 2.2% ตามลำดับ ส่วนงานวิจัยของ Martín et al. (2017) พบว่าเหง้ามันสำปะหลังมีปริมาณกลูแคน ไชแลน และลิกนินโดยเฉลี่ยมีค่าระหว่าง 20.6 – 34.1% 10.3 – 13.9% และ 12.2 – 16.7% ตามลำดับ ส่วนงานวิจัยของ Klinpratoom et al. (2015) พบว่าเหง้ามันสำปะหลังมีปริมาณกลูแคน ไชแลน ลิกนิน และเถ้า เท่ากับ 42.10% 14.85% 35.63% และ 5.97% ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณที่สูงกว่างานวิจัยนี้เล็กน้อย อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Lee et al. (2008) ได้รายงานว่าวัสดุชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสจะมีปริมาณกลูแคน ไชแลน และลิกนิน อยู่ที่ 40 – 60% 20 – 40% และ 10 – 30% ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเหง้ามันสำปะหลังบางส่วนอาจมีความแตกต่างกันซึ่งอาจเนื่องมาจากวิธีการวิเคราะห์และชนิดของวัตถุดิบเริ่มต้นที่ใช้ในการศึกษาของแต่ละงานวิจัยแตกต่างกันนั่นเอง จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า เหง้ามันสำปะหลังเป็นลิกโนเซลลูโลสที่มีกลูแคนและลิกนินในปริมาณที่สูง

4.1.2 ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่าง

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างโดยออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken มี 3 ปัจจัย (ตัวแปรต้นหรือตัวแปรอิสระ) ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ ทั้งนี้ผลการออกแบบการทดลองทั้งหมด 15 การทดลองซึ่งแสดงในหัวข้อ 3.2 โดยในการทดลองเหง้ามันสำปะหลัง (NCR) ได้ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างที่ความเข้มข้นของ NaOH 1% 5% และ 10% (w/v) อุณหภูมิ 40°C 60°C และ 80°C เป็นเวลา 1 h 3 h และ 5 h จากนั้นปรับสภาพให้เป็นกลางด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer) สำหรับนำไปวิเคราะห์ในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกจากเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ

No.	NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Removal (%) ¹		
				Solid	Lignin	Glucan
1	1.0	40.0	3.0	42.02 ± 2.99	17.99 ± 0.32	7.43 ± 0.64
2	1.0	60.0	1.0	45.44 ± 4.38	20.52 ± 0.49	16.14 ± 1.54
3	1.0	60.0	5.0	43.80 ± 1.47	26.21 ± 2.24	17.86 ± 2.68
4	1.0	80.0	3.0	52.84 ± 0.39	32.43 ± 0.44	25.21 ± 1.51
5	5.0	40.0	1.0	43.03 ± 0.85	21.55 ± 1.86	12.61 ± 3.70
6	5.0	40.0	5.0	53.90 ± 2.87	30.52 ± 1.73	25.55 ± 0.52
7	5.0	60.0	3.0	51.29 ± 3.28	27.41 ± 1.55	20.53 ± 1.67
8	5.0	60.0	3.0	56.09 ± 2.23	27.41 ± 1.55	21.61 ± 1.95
9	5.0	60.0	3.0	54.71 ± 2.64	27.41 ± 1.55	24.14 ± 2.06
10	5.0	80.0	1.0	53.67 ± 1.42	31.20 ± 0.73	18.17 ± 0.73
11	5.0	80.0	5.0	56.92 ± 1.06	35.93 ± 1.04	28.39 ± 1.00
12	10.0	40.0	3.0	51.01 ± 0.81	32.49 ± 1.40	24.37 ± 1.19
13	10.0	60.0	1.0	49.65 ± 0.04	35.70 ± 1.27	15.76 ± 0.80
14	10.0	60.0	5.0	58.14 ± 3.66	37.57 ± 1.41	29.94 ± 0.46
15	10.0	80.0	3.0	59.48 ± 1.85	38.09 ± 2.24	23.68 ± 0.97

¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อทำลายโครงสร้างที่แข็งแรง และช่วยกำจัดลิกนินที่ห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสออก ทั้งนี้เนื่องจากลิกนินขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลกลูโคส และการปรับสภาพยังช่วยลดโครงสร้างแบบผลึก ของเซลลูโลส และเพิ่มความเป็นรูพรุนให้กับผิวของเหง้ามันสำปะหลัง มีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสสามารถแทรกเข้าไปทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น จากผลของสภาวะในการปรับสภาพต่อปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคน ที่ถูกกำจัดออกจากเหง้ามันสำปะหลังแสดงในตารางที่ 4.2 ทั้งนี้ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 42.02 – 59.48% 17.99 – 38.09% และ 7.43 – 29.94% ตามลำดับ โดยสภาวะปรับสภาพด้วย NaOH 10% (w/v) อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 3 h มีผลทำให้ปริมาณของแข็งและลิกนินถูกกำจัดออกมากที่สุด (59.48% และ 38.09% ตามลำดับ) สำหรับปริมาณกลูแคนที่ถูกกำจัดออกมากที่สุด (29.94%) หลังจากการปรับสภาพด้วย NaOH 10% (w/v) อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 5 h ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกแปรผันโดยตรงกับระดับความรุนแรงของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างโดยเฉพาะการเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH และเพิ่มอุณหภูมิในการปรับสภาพ จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ko et al. (2009) ที่พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของต่างทำให้ลิกนินถูกกำจัดได้มากขึ้น นอกจากนี้ปริมาณลิกนินที่ถูกกำจัดออกไปมีค่าอยู่ที่ 20-65% ซึ่งเพียงพอที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์ได้ ส่วนงานวิจัยของ Singh et al. (2011) และ Zhu et al. (2006) รายงานว่าปริมาณลิกนินและเถ้าที่ถูกกำจัดออกไปจะส่งผลทำให้ปริมาณกลูแคนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ส่วนประกอบอื่นที่ถูกกำจัดออกด้วยระหว่างการปรับสภาพในสารละลายต่างก็มีผลทำให้เพิ่มปริมาณกลูแคนได้เช่นกัน

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สภาวะในการปรับสภาพที่มีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นทั้งความเข้มข้นของ NaOH และอุณหภูมิ รวมถึงการเพิ่มระยะเวลา มีผลต่อการกำจัดปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนมากขึ้น อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้มีความต้องการให้ลิกนินถูกกำจัดออกไประหว่างการปรับสภาพมากที่สุด แต่กลูแคนถูกย่อยสลายระหว่างการปรับสภาพน้อยที่สุด เพื่อที่จะได้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสในขั้นตอนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มากขึ้น ดังนั้นการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง จะช่วยทำให้ทราบสภาวะที่ช่วยกำจัดลิกนินออกและยังคงปริมาณกลูแคนในเหง้ามันสำปะหลังได้

4.1.3 ผลของตัวแปรต้นต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (Glucan conversion)

ตารางที่ 4.3 และ 4.4 แสดงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคน (เซลลูโลส) เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ซึ่งใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสนาน 24 h และ 48 h โดยได้คำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (based on pretreated cassava

rhizome, PCR) และเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น (based on original or native cassava rhizome, NCR) ตามลำดับ

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.3) พบว่าเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสภาวะที่มีความรุนแรงน้อยส่งผลให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ที่ 24 h มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 39.65% (No. 1) และที่ 48 h มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 44.41% (No. 2) และสภาวะการปรับสภาพที่มีความรุนแรงมากขึ้นส่งผลให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h ซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 55.71% (No. 14) และที่ 48 h มีค่าสูงสุดเท่ากับ 61.80% (No. 15) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกในตารางที่ 4.2 กล่าวคือ ปริมาณของแข็งและลิกนินที่ถูกกำจัดออกมากมีผลทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการปรับสภาพสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบโครงสร้างของพืชโดยเฉพาะลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ส่งผลทำให้สามารถในการทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Mosier et al., 2005) นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายกลูแคนด้วยเอนไซม์และระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพมีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu et al. (2016) ที่ได้รายงานว่าปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสที่ลดลงส่งผลต่อการเพิ่มของพื้นที่ผิวของเซลลูโลส และงานวิจัยของ Bak et al. (2009) พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้การเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมากขึ้นด้วย ในการทดลองนี้พบว่า การเพิ่มระยะเวลาในการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์จาก 24 h เป็น 48 h มีผลทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ โดยคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น (based on NCR) (ตารางที่ 4.4) พบว่า ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสมีค่าอยู่ระหว่าง 8.91 – 16.77% โดยสภาวะของการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างเข้มข้น 10% ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 5 h (No. 13) มีผลทำให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h และ 48 h สูงสุดเท่ากับ 15.22% และ 16.77% ตามลำดับ แต่การปรับสภาพด้วยสารละลายต่างเข้มข้น 5% ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 3 h มีผลทำให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่ 24 h และ 48 h ต่ำสุดเท่ากับ 8.91% และ 10.99% ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณลิกนินและกลูแคนที่ถูกกำจัดออกระหว่างกระบวนการปรับสภาพมีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างเพื่อให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสสูงสุด

ตารางที่ 4.3 ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (การคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ, based on PCR)

No.	NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%) ¹	
				24 h	48 h
1	1.0	40.0	3.0	39.65 ± 1.08	45.63 ± 1.12
2	1.0	60.0	1.0	42.81 ± 1.93	44.41 ± 0.87
3	1.0	60.0	5.0	43.44 ± 1.58	53.23 ± 5.09
4	1.0	80.0	3.0	43.74 ± 3.12	51.86 ± 2.39
5	5.0	40.0	1.0	44.83 ± 2.93	53.15 ± 4.87
6	5.0	40.0	5.0	45.36 ± 0.64	50.72 ± 1.30
7	5.0	60.0	3.0	42.35 ± 0.00	52.23 ± 1.19
8	5.0	60.0	3.0	42.29 ± 0.57	53.07 ± 6.72
9	5.0	60.0	3.0	40.51 ± 0.00	46.60 ± 0.04
10	5.0	80.0	1.0	42.34 ± 0.57	49.58 ± 3.14
11	5.0	80.0	5.0	52.08 ± 1.54	53.96 ± 3.14
12	10.0	40.0	3.0	53.35 ± 0.61	60.86 ± 4.49
13	10.0	60.0	1.0	53.68 ± 4.64	59.15 ± 5.48
14	10.0	60.0	5.0	55.71 ± 0.36	57.70 ± 0.77
15	10.0	80.0	3.0	53.92 ± 0.26	61.80 ± 8.70

¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.4 ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (การคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลัง, based on NCR)

No.	NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%) ¹	
				24 h	48 h
1	1.0	40.0	3.0	12.50 ± 0.34	14.39 ± 0.35
2	1.0	60.0	1.0	11.22 ± 0.51	11.64 ± 0.23
3	1.0	60.0	5.0	11.53 ± 0.42	14.13 ± 1.35
4	1.0	80.0	3.0	9.82 ± 0.70	11.65 ± 0.54
5	5.0	40.0	1.0	12.34 ± 0.81	14.63 ± 1.34
6	5.0	40.0	5.0	11.39 ± 0.16	12.73 ± 0.33
7	5.0	60.0	3.0	10.15 ± 0.00	12.52 ± 0.29
8	5.0	60.0	3.0	8.91 ± 0.12	11.81 ± 1.42
9	5.0	60.0	3.0	9.55 ± 0.00	10.99 ± 0.01
10	5.0	80.0	1.0	10.70 ± 0.14	12.53 ± 0.79
11	5.0	80.0	5.0	11.75 ± 0.35	12.17 ± 0.71
12	10.0	40.0	3.0	12.29 ± 0.14	14.02 ± 1.03
13	10.0	60.0	1.0	15.22 ± 1.32	16.77 ± 1.55
14	10.0	60.0	5.0	11.78 ± 0.08	12.20 ± 0.16
15	10.0	80.0	3.0	12.90 ± 0.06	14.78 ± 2.08

¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.1.4 ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Coefficient of determination, R²)

ตารางที่ 4.5 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (based on PCR)

	Term	Coef	SE Coef	T-value	P-value
24 h	Constant	42.32	0.76	54.61	0.000
	NaOH Concentration	5.79	0.47	12.49	0.000
	Temperature	1.06	0.47	2.25	0.036
	Time	1.63	0.47	3.45	0.003
	NaOH Concentration*NaOH Concentration	3.75	0.70	5.33	0.000
	Temperature*Temperature	1.60	0.69	2.30	0.032
	Time*Time	2.84	0.69	4.10	0.001
	NaOH Concentration *Temperature	- 0.87	0.66	- 1.31	0.205
	NaOH Concentration*Time	0.24	0.66	0.37	0.718
	Temperature*Time	2.30	0.67	3.46	0.002
R² = 92.38%, adjusted R² = 88.95%					
48 h	Constant	51.22	1.69	30.31	0.000
	NaOH Concentration	5.55	1.03	5.41	0.000
	Temperature	0.79	1.03	0.77	0.453
	Time	1.03	1.03	1.00	0.330
	NaOH Concentration*NaOH Concentration	2.50	1.53	1.63	0.119
	Temperature*Temperature	1.32	1.51	0.87	0.393
	Time*Time	- 0.10	1.51	- 0.06	0.949
	NaOH Concentration *Temperature	-1.21	1.45	- 0.84	0.412
	NaOH Concentration*Time	- 2.48	1.45	- 1.71	0.102
	Temperature*Time	1.70	1.45	1.17	0.254
R² = 67.21%, adjusted R² = 52.46%					

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R²) ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับ

สภาพ (based on PCR) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่า ค่า R^2 มีค่าเท่ากับ 92.38% และ 67.21% ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่มีการปรับแก้ (adjusted R^2) มีค่าเท่ากับ 88.95% และ 52.46% แสดงให้เห็นว่า ตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของ NaOH อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ 92.38%, 88.95% (24 h) และ 67.21%, 52.46% (48 h) ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับดีมากและระดับดี ตามลำดับ ทั้งนี้สามารถนำข้อมูลของตัวแปรต้นและตัวแปรตาม (ผลตอบสนอง) มาสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (model) หรือสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อพยากรณ์หรือทำนายค่าผลตอบสนองได้อย่างถูกต้องเหมาะสม (อินทชัย, 2551; ดาริกา และคณะ, 2556) สำหรับการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h นั้น ตัวแปรต้นดังกล่าวมีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสแสดงดังสมการที่ 4.1 (หน้า 44) อย่างไรก็ตามสำหรับการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h ตัวแปรต้นได้แก่ อุณหภูมิและเวลา ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสแสดงดังสมการที่ 4.2 (หน้า 44)

หากพิจารณาปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h เมื่อเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลัง (based on NCR) พบว่า R^2 และ adjusted R^2 ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (ตารางที่ 4.6) มีค่าอยู่ระหว่าง 70.34% - 88.95% ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ตัวแปรต้น (ความเข้มข้นของ NaOH อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพ) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามได้ในระดับที่ดีมาก รวมทั้งข้อมูลนี้สามารถนำไปสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (model) หรือสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อพยากรณ์หรือทำนายค่าผลตอบสนองได้อย่างถูกต้องเหมาะสม นอกจากนี้การเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h พบว่า ความเข้มข้นของ NaOH อุณหภูมิ และเวลาในการปรับสภาพมีอิทธิพลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยได้สมการทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสแสดงดังสมการที่ 4.3 และ 4.4 (หน้า 44)

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์การถดถอยของพื้นผิวตอบสนองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (based on NCR)

	Term	Coef	SE Coef	T-value	P-value
24 h	Constant	9.62	0.26	37.09	0.000
	NaOH Concentration	0.89	0.16	5.64	0.000
	Temperature	- 0.37	0.16	- 2.37	0.028
	Time	- 0.44	0.16	- 2.75	0.012
	NaOH Concentration*NaOH Concentration	1.54	0.24	6.53	0.000
	Temperature*Temperature	0.72	0.23	3.12	0.005
	Time*Time	1.28	0.23	5.53	0.000
	NaOH Concentration *Temperature	0.80	0.22	3.62	0.002
	NaOH Concentration*Time	- 0.98	0.22	- 4.40	0.000
	Temperature*Time	0.5	0.22	2.25	0.036
$R^2 = 88.95\%$, adjusted $R^2 = 83.98\%$					
48 h	Constant	11.63	0.39	29.53	0.000
	NaOH Concentration	0.75	0.24	3.12	0.005
	Temperature	- 0.53	0.24	- 2.21	0.039
	Time	- 0.64	0.24	- 2.68	0.015
	NaOH Concentration*NaOH Concentration	1.34	0.36	3.75	0.001
	Temperature*Temperature	0.74	0.35	2.10	0.049
	Time*Time	0.71	0.35	2.03	0.056
	NaOH Concentration *Temperature	0.88	0.34	2.60	0.017
	NaOH Concentration*Time	- 1.75	0.34	- 5.20	0.000
	Temperature*Time	0.39	0.34	1.14	0.268
$R^2 = 79.54\%$, adjusted $R^2 = 70.34\%$					

สมการทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h

- เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ (based on PCR)

$$Y_{11} = 63.480 - 0.229 X_1 - 0.545 X_2 - 7.050 X_3 + 0.185 X_1^2 + 0.004 X_2^2 + 0.710 X_3^2 - 0.010 X_1X_2 + 0.027 X_1X_3 + 0.058 X_2X_3 \quad (4.1)$$

$$Y_{12} = 54.600 + 1.510 X_1 - 0.410 X_2 - 0.380 X_3 + 0.123 X_1^2 + 0.003 X_2^2 - 0.024 X_3^2 - 0.014 X_1X_2 - 0.275 X_1X_3 + 0.043 X_2X_3 \quad (4.2)$$

- เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลัง (based on NCR)

$$Y_{21} = 25.400 - 0.848 X_1 - 0.322 X_2 - 2.292 X_3 + 0.076 X_1^2 + 0.002 X_2^2 + 0.320 X_3^2 + 0.009 X_1X_2 - 0.109 X_1X_3 + 0.013 X_2X_3 \quad (4.3)$$

$$Y_{22} = 25.270 - 0.564 X_1 - 0.331 X_2 - 0.898 X_3 + 0.066 X_1^2 + 0.002 X_2^2 + 0.179 X_3^2 + 0.010 X_1X_2 - 0.195 X_1X_3 + 0.010 X_2X_3 \quad (4.4)$$

โดยที่

Y_{11}, Y_{12} คือ ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์นาน 24 h และ 48 h ตามลำดับ เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ (%)

Y_{21}, Y_{22} คือ ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์นาน 24 h และ 48 h ตามลำดับ เมื่อคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลัง (%)

X_1 คือ ความเข้มข้นของ NaOH (% , w/v)

X_2 คือ อุณหภูมิ (°C)

X_3 คือ เวลา (h)

4.1.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA analysis)

ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR)

	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
24 h	Model	9	858.63	95.40	26.93	0.000
	Linear	3	612.99	204.33	57.68	0.000
	Concentration	1	552.84	552.84	156.06	0.000
	Temperature	1	18.01	18.01	5.08	0.036
	Time	1	42.14	42.14	11.90	0.003
	Concentration*Concentration	1	100.49	100.49	28.37	0.000
	Temperature*Temperature	1	18.82	18.82	5.31	0.032
	Time*Time	1	59.56	59.56	16.81	0.001
	Concentration*Temperature	1	6.09	6.09	1.72	0.205
	Concentration*Time	1	0.47	0.47	0.13	0.718
	Temperature*Time	1	42.46	42.46	11.99	0.002
	Lack-of-Fit	3	15.31	5.10	1.56	0.235
	Pure Error	17	55.54	3.27		
	Total	29	929.48			
48 h	Model	9	690.57	76.73	4.56	0.002
	Linear	3	519.09	173.03	10.27	0.000
	Concentration	1	492.40	492.40	29.23	0.000
	Temperature	1	9.87	9.87	0.59	0.453
	Time	1	16.82	16.82	1.00	0.330
	Concentration*Concentration	1	44.75	44.76	2.66	0.119
	Temperature*Temperature	1	12.82	12.82	0.76	0.393
	Time*Time	1	0.07	0.07	0.00	0.949
	Concentration*Temperature	1	11.83	11.83	0.70	0.412
	Concentration*Time	1	49.43	49.43	2.93	0.102
	Temperature*Time	1	23.22	23.22	1.38	0.254
	Lack-of-Fit	3	35.76	11.92	0.67	0.580
	Pure Error	17	301.11	17.71		
	Total	29	1027.44			

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on NCR)

	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
24 h	Model	9	63.87	7.10	17.90	0.000
	Linear	3	17.85	5.95	15.01	0.000
	Concentration	1	12.62	12.62	31.83	0.000
	Temperature	1	2.23	2.23	5.61	0.028
	Time	1	3.01	3.01	7.59	0.012
	Concentration*Concentration	1	16.92	16.92	42.66	0.000
	Temperature*Temperature	1	3.86	3.86	9.73	0.005
	Time*Time	1	12.13	12.13	30.58	0.000
	Concentration*Temperature	1	5.20	5.20	13.12	0.002
	Concentration*Time	1	7.69	7.69	19.40	0.000
	Temperature*Time	1	2.00	2.00	5.04	0.036
	Lack-of-Fit	3	2.77	0.92	3.04	0.057
	Pure Error	17	5.16	0.30		
	Total	29	71.80			
48 h	Model	9	71.09	7.90	8.64	0.000
	Linear	3	19.94	6.65	7.27	0.002
	Concentration	1	8.91	8.91	9.75	0.005
	Temperature	1	4.48	4.48	4.90	0.039
	Time	1	6.55	6.55	7.16	0.015
	Concentration*Concentration	1	12.89	12.89	14.10	0.001
	Temperature*Temperature	1	4.03	4.03	4.41	0.049
	Time*Time	1	3.77	3.77	4.12	0.056
	Concentration*Temperature	1	6.20	6.20	6.78	0.017
	Concentration*Time	1	24.74	24.74	27.06	0.000
	Temperature*Time	1	1.19	1.19	1.30	0.268
	Lack-of-Fit	3	0.29	0.098	0.09	0.963
	Pure Error	17	17.99	1.058		
	Total	29	89.38			

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h (based on PCR) ดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า ค่า p-value ของตัวแปรต้นทั้ง 3 ตัวแปร (ความเข้มข้นของ NaOH อุณหภูมิ และระยะเวลา) และอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและระยะเวลา มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของ NaOH และอุณหภูมิ รวมถึงความเข้มข้นของ NaOH และระยะเวลานั้นไม่มีผลต่อปริมาณดังกล่าว เมื่อพิจารณาความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h (ตารางที่ 4.7) ค่า p-value ของตัวแปรต้นความเข้มข้นของ NaOH เท่านั้นที่มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลอง (goodness of fit for model) หรือความเหมาะสมของสมการ (lack of fit test) โดยพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.235 (24 h) และ 0.580 (48 h) ซึ่งมีความมากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่า สมการทางคณิตศาสตร์ (Y_{11} และ Y_{12} , หน้า 44) ที่ได้มีความสมบูรณ์กับข้อมูลและเหมาะสมต่อการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นสมการข้างต้นสามารถนำมาใช้ทำนายได้ นอกจากนี้ทำการยืนยันแบบจำลองโดยเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และค่าจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และ 4.11 ซึ่งมีความคลาดเคลื่อน (error) น้อยกว่า 10% ทำให้สรุปได้ว่าสามารถนำสมการ (Y_{11} และ Y_{12} , สมการที่ 4.1 และ 4.2, หน้า 44) มาใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ได้

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (based on NCR) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่า ค่า p-value ของตัวแปรต้นทั้ง 3 ตัวแปร (ความเข้มข้นของ NaOH อุณหภูมิ และระยะเวลา) และอิทธิพลร่วมทั้ง 3 ตัวแปร (ยกเว้นอิทธิพลร่วมอุณหภูมิและระยะเวลา) มีผลต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ความสมบูรณ์ของแบบจำลองหรือความเหมาะสมของสมการ (lack of fit test) โดยพิจารณาจากค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.057 (24 h) และ 0.963 (48 h) ซึ่งมีความมากกว่า 0.05 แสดงให้เห็นว่าสมการทำนายทางคณิตศาสตร์ที่ได้มีความสมบูรณ์กับข้อมูลและเหมาะสมเพียงพอต่อการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส อย่างไรก็ตามเมื่อทำการยืนยันแบบจำลองโดยเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองจริง (experimental) และค่าจากการทำนาย (predicted) ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และ 4.11 พบว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนมากกว่า 10% ในบางสถานะของการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลัง

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucan conversion, %) ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลอง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์

สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient, r) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.815 – 0.961 ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และ 4.2 ซึ่งหมายถึงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทดลองจริงและจากการทำนาย มีความสัมพันธ์กันในระดับดีมากเนื่องจากค่า r มากกว่า 0.75 (อินทัย, 2551) จากรูป 4.3 (A) และ (B) พบว่า เส้นการถดถอย (regression line) อยู่ใกล้กับบริเวณเส้น equality มากกว่า รูป 4.4 (A) และ (B) ซึ่งช่วยยืนยันให้เห็นว่า สมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยการย่อยสลายด้วย เอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR) คือ Y_{11} และ Y_{12} มีความแม่นยำมากกว่าสมการ Y_{21} และ Y_{22} นอกจากนี้หากพิจารณาความคลาดเคลื่อนของสมการทำนายในด้านค่าเฉลี่ยของกำลังสองของความคลาดเคลื่อน (Mean Square Error, MSE) และค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (root mean square error, RMSE) จากตารางที่ 4.11 พบว่า ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ด้วยเอนไซม์ที่ 24 h (based on PCR) มีค่าต่ำสุด เท่ากับ 0.66 (MSE) และ 0.81 (RMSE) แสดงให้เห็นว่า สมการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส Y_{11} มีความแม่นยำมากที่สุดหรือมีความคลาดเคลื่อนต่ำสุด เมื่อเทียบกับสมการ Y_{12} , Y_{21} และ Y_{22}



ตารางที่ 4.9 การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR)

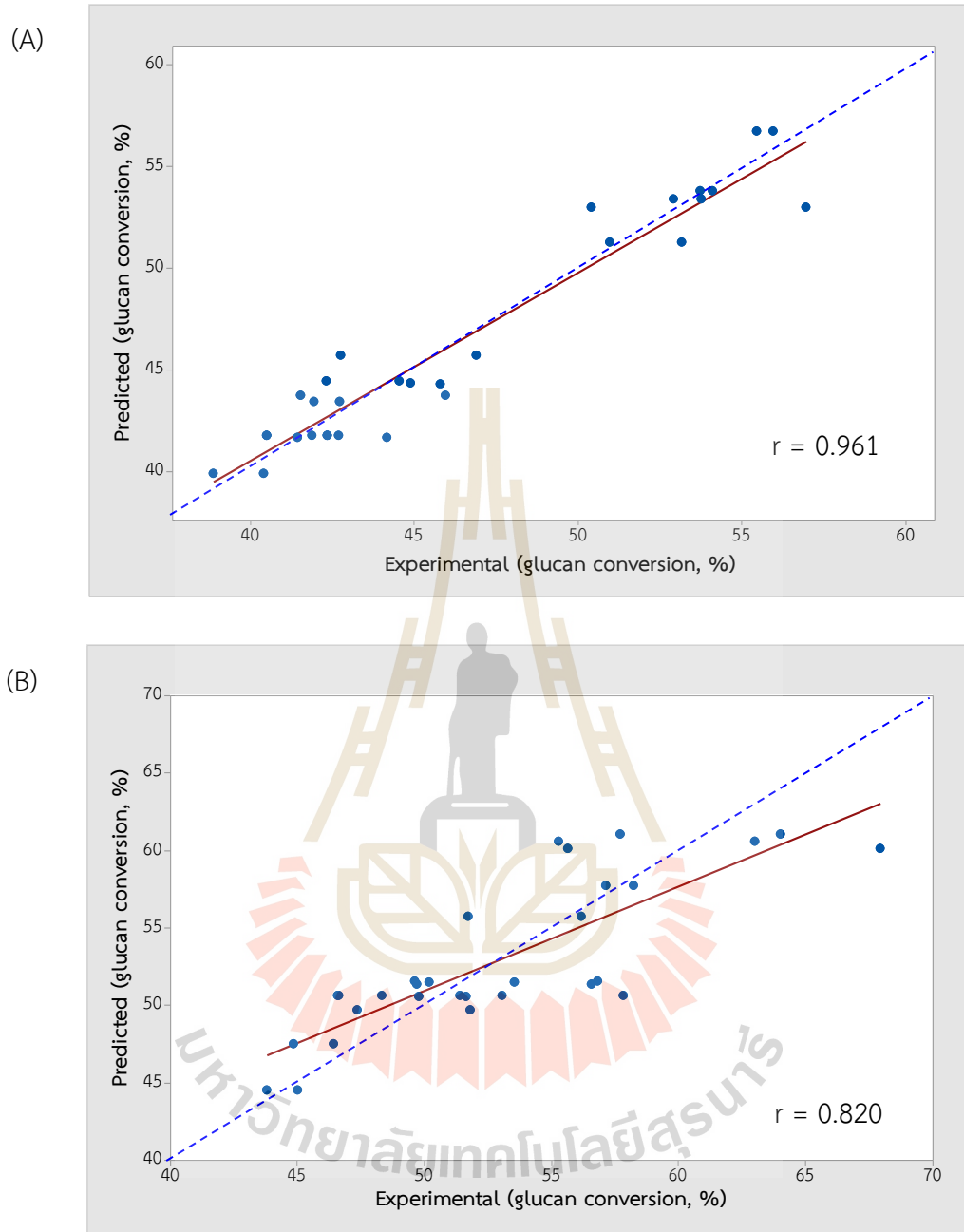
NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%)			
			Experimental		Predicted	
			24 h	48 h	24 h	48 h
1.0	40.0	3.0	39.65 ± 1.08	45.63 ± 1.12	39.87	47.49
1.0	60.0	1.0	42.81 ± 1.93	44.41 ± 0.87	41.66	44.54
1.0	60.0	5.0	43.44 ± 1.58	53.23 ± 5.09	44.43	51.57
1.0	80.0	3.0	43.74 ± 3.12	51.86 ± 2.39	43.74	51.45
5.0	40.0	1.0	44.83 ± 2.93	53.15 ± 4.87	45.71	51.32
5.0	40.0	5.0	45.36 ± 0.64	50.72 ± 1.30	44.31	50.54
5.0	60.0	3.0	42.35 ± 0.00	52.23 ± 1.19	41.74	50.62
5.0	60.0	3.0	42.29 ± 0.57	53.07 ± 6.72	41.74	50.62
5.0	60.0	3.0	40.51 ± 0.00	46.60 ± 0.04	41.74	50.62
5.0	80.0	1.0	42.34 ± 0.57	49.58 ± 3.14	43.43	49.72
5.0	80.0	5.0	52.08 ± 1.54	53.96 ± 3.14	51.24	55.76
10.0	40.0	3.0	53.35 ± 0.61	60.86 ± 4.49	53.37	61.01
10.0	60.0	1.0	53.68 ± 4.64	59.15 ± 5.48	52.94	60.59
10.0	60.0	5.0	55.71 ± 0.36	57.70 ± 0.77	56.68	57.71
10.0	80.0	3.0	53.92 ± 0.26	61.80 ± 8.70	53.76	60.11

ตารางที่ 4.10 การยืนยันแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on NCR)

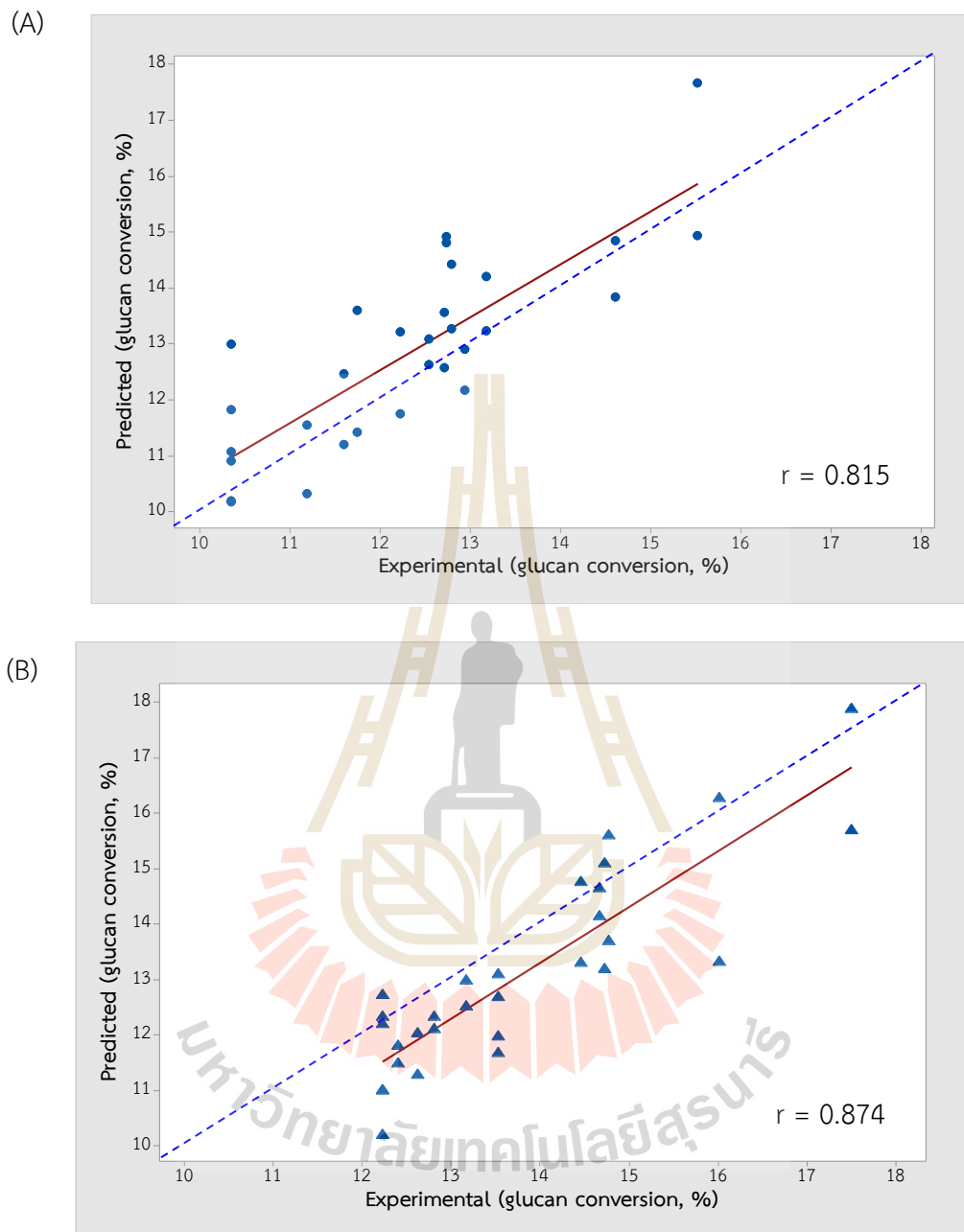
NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Glucan conversion (%)			
			Experimental		Predicted	
			24 h	48 h	24 h	48 h
1.0	40.0	3.0	12.50 ± 0.34	14.39 ± 0.35	12.55	14.66
1.0	60.0	1.0	11.22 ± 0.51	11.64 ± 0.23	11.75	12.40
1.0	60.0	5.0	11.53 ± 0.42	14.13 ± 1.35	12.94	14.72
1.0	80.0	3.0	9.82 ± 0.70	11.65 ± 0.54	11.19	12.62
5.0	40.0	1.0	12.34 ± 0.81	14.63 ± 1.34	13.18	14.77
5.0	40.0	5.0	11.39 ± 0.16	12.73 ± 0.33	11.60	13.17
5.0	60.0	3.0	10.15 ± 0.00	12.52 ± 0.29	10.35	12.23
5.0	60.0	3.0	8.91 ± 0.12	11.18 ± 1.42	10.35	12.23
5.0	60.0	3.0	9.55 ± 0.00	10.99 ± 0.01	10.35	12.23
5.0	80.0	1.0	10.70 ± 0.14	12.53 ± 0.79	12.22	13.53
5.0	80.0	5.0	11.75 ± 0.35	12.17 ± 0.71	12.72	13.53
10.0	40.0	3.0	12.29 ± 0.14	14.02 ± 1.03	12.73	14.46
10.0	60.0	1.0	15.22 ± 1.32	16.77 ± 1.55	15.52	17.50
10.0	60.0	5.0	11.78 ± 0.08	12.20 ± 0.16	12.79	12.81
10.0	80.0	3.0	12.90 ± 0.06	14.78 ± 2.08	14.61	16.02

ตารางที่ 4.11 ค่าความคลาดเคลื่อนของแบบจำลองปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h

NaOH (%)	Temperature (°C)	Time (h)	Error (%)		Error (%)	
			(base on PCR)		(base on NCR)	
			24 h	48 h	24 h	48 h
1.0	40.0	3.0	0.56	3.91	0.40	1.84
1.0	60.0	1.0	2.68	0.31	4.51	6.13
1.0	60.0	5.0	2.30	3.22	10.90	4.02
1.0	80.0	3.0	0.01	0.79	12.24	7.69
5.0	40.0	1.0	1.96	3.56	6.37	0.92
5.0	40.0	5.0	2.32	0.35	1.81	3.34
5.0	60.0	3.0	1.44	3.18	1.93	2.37
5.0	60.0	3.0	1.30	4.84	13.91	8.59
5.0	60.0	3.0	3.02	7.93	7.73	10.14
5.0	80.0	1.0	2.58	0.28	12.44	7.39
5.0	80.0	5.0	1.60	3.22	7.63	10.05
10.0	40.0	3.0	0.03	0.24	3.46	3.04
10.0	60.0	1.0	1.38	2.37	1.93	4.17
10.0	60.0	5.0	1.75	0.03	7.90	4.76
10.0	80.0	3.0	0.29	2.80	11.70	7.74
ค่าเฉลี่ยของกำลังสองของความคลาดเคลื่อน (Mean Square Error, MSE)			0.66	2.84	1.01	0.69
ค่าเฉลี่ยของรากที่สองของกำลังสองของความคลาดเคลื่อน (Root Mean Square Error, RMSE)			0.81	1.69	1.00	0.83



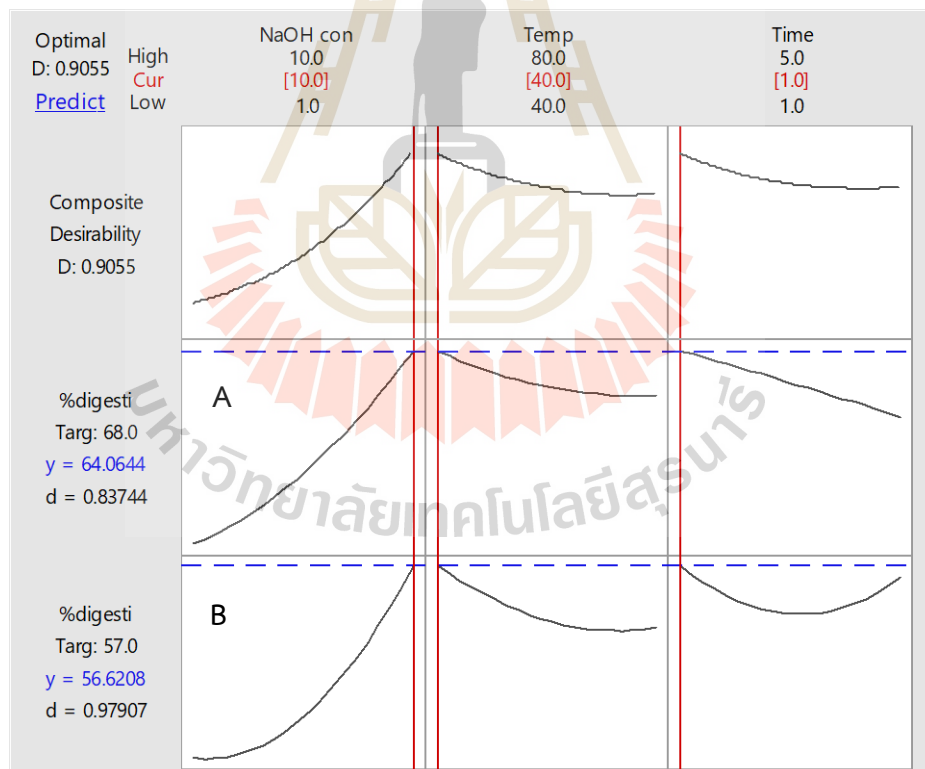
รูปที่ 4.1 กราฟเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) โดย (A) ระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 24 h; (B) ระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 48 h (based on PCR) โดย (—) คือ regression line; (- - -) คือ equality line และ r คือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient)



รูปที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์จากการทดลองจริง (experimental) และจากการทำนาย (predicted) โดย (A) ระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 24 h; (B) ระยะเวลาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 48 h (based on NCR) โดย (———) คือ regression line; (- - - -) คือ equality line และ และ r คือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พหุ (Pearson correlation coefficient)

4.1.6 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด (Optimization of alkali pretreatment)

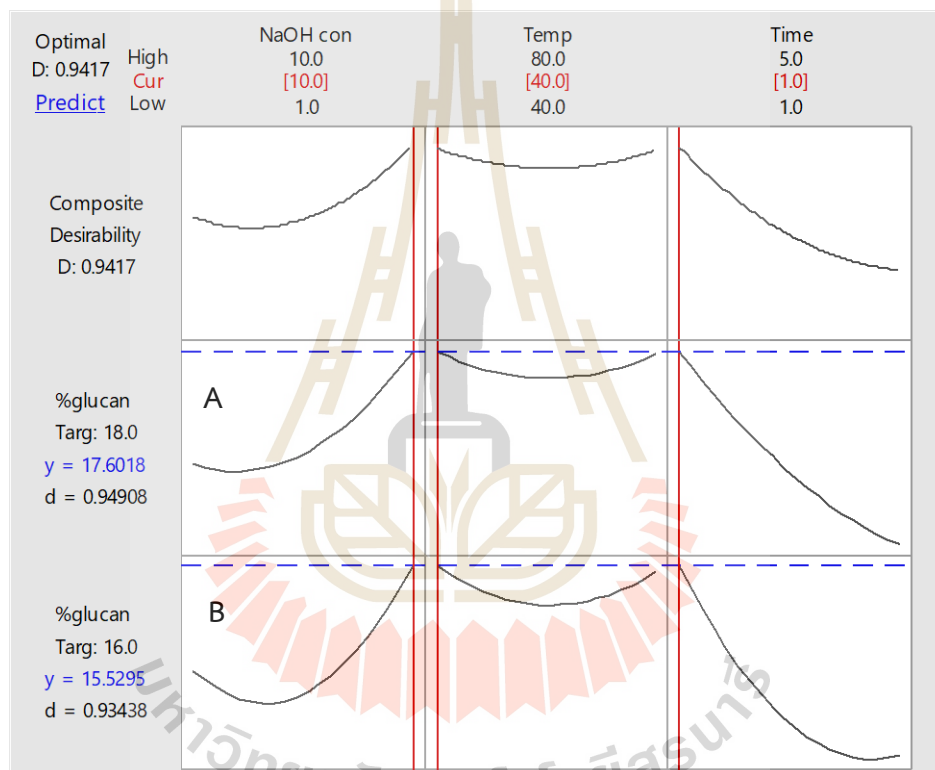
จากผลปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (based on PCR) สามารถนำมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังและวัดความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบสนอง (composite desirability, D) โดยใช้ฟังก์ชัน response optimizer ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Minitab ซึ่งค่าความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบมีค่าอยู่ระหว่าง 0 - 1 ถ้าค่า D มีค่าเท่ากับ 1 หมายถึง ผลตอบสนองนั้นได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์ (ดารีกา, 2556) การหาค่าปัจจัย (ตัวแปรต้น) ที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h โดยคำนึงถึงปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังแสดงในรูปที่ 4.3 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง คือ **10% NaOH, 40°C, 1 h** โดยค่าความพึงพอใจโดยรวมเท่ากับ 0.9055



รูปที่ 4.3 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด: (A) สภาวะการปรับสภาพด้วยต่างที่เหมาะสมของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ (based on PCR) ที่ 48 h และ (B) สภาวะการปรับสภาพด้วยต่างที่เหมาะสมของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h (y= ตัวแปรตอบสนอง คือปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส, d= ค่าพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ)

นอกจากนี้ การหาค่าปัจจัยของสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างจากการคำนวณเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลัง (NCR) ต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่เป็นเวลา 24 h และ 48 h ดังแสดงใน รูปที่ 4.4 พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง คือ ความเข้มข้นของ NaOH 10% อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 1 h โดยค่าความพึงพอใจโดยรวมสูงกว่าเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 0.9417

จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง คือ 10% NaOH, 40°C, 1 h



รูปที่ 4.4 การหาค่าปัจจัยการปรับสภาพที่เหมาะสมที่สุด: (A) สภาวะการปรับสภาพด้วยต่างที่เหมาะสมของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ (based on NCR) ที่ 48 h และ (B) สภาวะการปรับสภาพด้วยต่างที่เหมาะสมของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h (y = ตัวแปรตอบสนอง คือปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส, d = ค่าพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ)

4.1.7 การยืนยันผลแบบจำลอง (Model validation)

ตารางที่ 4.12 การยืนยันแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (10% NaOH, 40°C, 1 h) ต่อปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h

Parameter	Model	Enzymatic hydrolysis		Predicted	Error (%)	RMSE
		time (h)	Experimental			
Glucan conversion (%, based on PCR)	Y ₁₁	24	57.72 ± 0.31	56.54	2.05	0.4394
	Y ₁₂	48	65.97 ± 1.64	66.53	0.85	0.4708
Glucan conversion (%, based on NCR)	Y ₂₁	24	16.07 ± 0.24	15.90	1.09	0.0889
	Y ₂₂	48	19.15 ± 0.22	17.92	6.41	0.4517

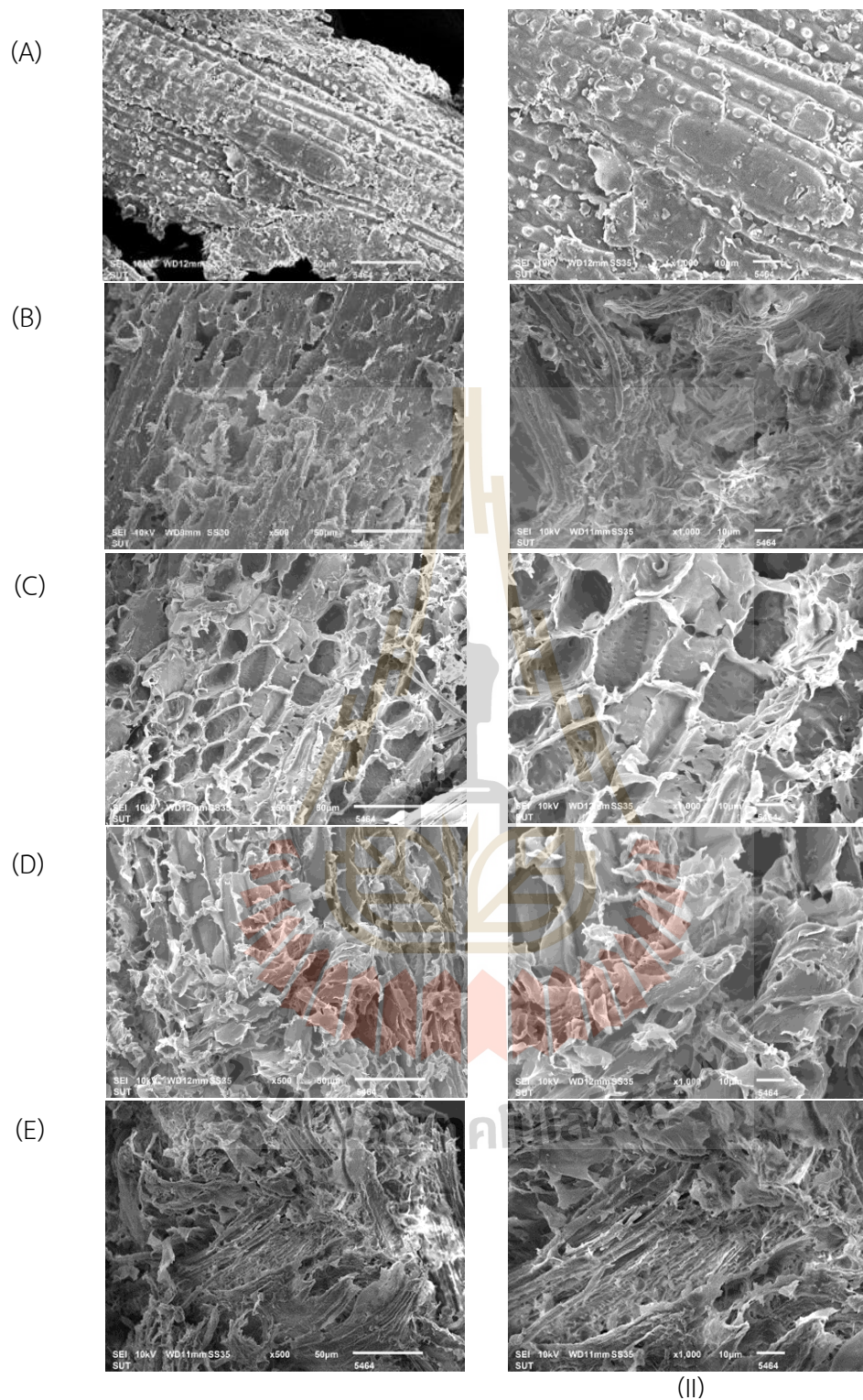
จากงานวิจัยนี้พบว่า สภาวะการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของ NaOH เท่ากับ 10% อุณหภูมิ 40°C และระยะเวลา 1 h ซึ่งสามารถนำสภาวะการปรับสภาพนี้มาทำการทดลองและนำผลปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้มายืนยันกับปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากแบบจำลองหรือสมการทำนาย (Y₁₁ Y₁₂ Y₂₁ และ Y₂₂) โดยผลการยืนยันแบบจำลองได้แสดงในตารางที่ 4.12 พบว่า ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ที่ได้จากการทดลอง (experimental) มีค่า 57.72% และ 65.97% (based on PCR) และ 16.07% และ 19.15% (based on NCR) ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสจากการปรับสภาพแห้งมันสำปะหลังด้วยสภาวะที่เหมาะสมกับสภาวะอื่น ๆ ในตารางที่ 4.3 และ 4.4 (หน้า 39-40) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพ (10% NaOH, 40°C, 1 h) มีผลทำให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสสูงกว่า และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในตารางที่ 4.12 ระหว่างค่าที่ได้จากการทดลอง (experimental) และค่าที่ได้จากการทำนาย (predicted) พบว่า มีค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 10% รวมทั้งค่า RMSE ต่ำ (0.08 – 0.47) แสดงว่าผลการคำนวณที่ได้จากแบบจำลอง Y₁₁ Y₁₂ Y₂₁ และ Y₂₂ มีความสมบูรณ์หรือสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลอง ดังนั้นแบบจำลองของสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพสำหรับการย่อยสลายสามารถนำมาใช้ทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ (Sombatpraiwan et al., 2019)

4.1.8 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของเหง้ามันสำปะหลังหลังการปรับสภาพ (Alteration of physical properties of pretreated cassava rhizome)

4.1.8.1 โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง (Microstructure of cassava rhizome)

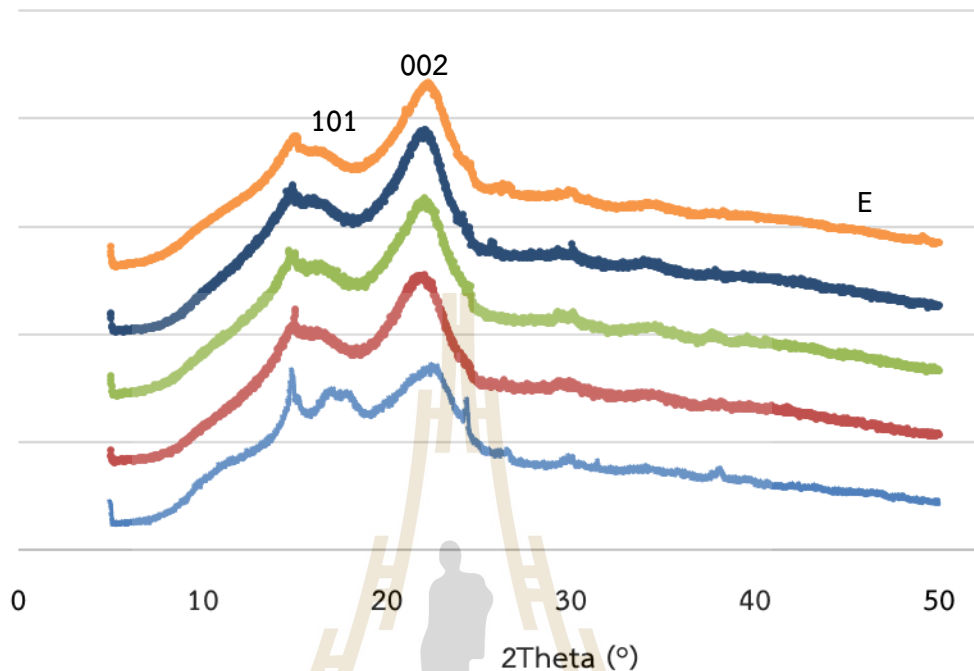
งานวิจัยนี้ได้ใช้ SEM ในการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลังก่อน (NCR) และหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (PCR) ดังแสดงในรูปที่ 4.5 ซึ่งพบว่า NCR (รูปที่ 4.5A) มีลักษณะพื้นผิวเรียบและไม่มีรูพรุน แสดงถึงการเชื่อมต่อกันของโครงสร้างทางเคมีอย่างแข็งแรงซึ่งยากต่อการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ เมื่อเหง้ามันสำปะหลังผ่านการปรับสภาพด้วย 1% NaOH อุณหภูมิ 40°C ระยะเวลา 3 h (mild pretreatment) (รูปที่ 4.5B) ส่งผลให้โครงสร้างของเหง้ามันสำปะหลังถูกทำลายบางส่วน พื้นผิวไม่เรียบ และมีรูพรุนเล็กน้อย เมื่อเพิ่มความรุนแรงของสภาวะในการปรับสภาพโดยความเข้มข้นของ NaOH 5% และ 10% อุณหภูมิ 40°C ระยะเวลา 1 h และ 3 h ตามลำดับ (รูปที่ 4.5C และ 3D) และ สภาวะเหมาะสมในการปรับสภาพ (10% NaOH, 40°C, 1 h) (รูปที่ 4.5E) (medium- extreme pretreatment) พบว่า โครงสร้างของเหง้ามันสำปะหลังถูกทำลายหายไปบางส่วน และพื้นผิวมีความเป็นรูพรุนขนาดใหญ่และจำนวนมากขึ้น ลักษณะโครงสร้างเช่นนี้อาจจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้น โครงสร้างระดับจุลภาคของ NCR และ PCR มีความแตกต่างกัน ซึ่งก่อนการปรับสภาพจะมีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสอยู่หนาแน่นรอบเส้นใยเซลลูโลส หลังจากผ่านการปรับสภาพแล้วโครงสร้างของเหง้ามันสำปะหลังจะมีความเป็นรูพรุนเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการกำจัดส่วนที่ไม่เป็นระเบียบของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกไป รวมถึงเซลลูโลสบางส่วนถูกย่อยสลายไปด้วย (Chen et al., 2011 และ Gong et al., 2010) การเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพนี้สอดคล้องกับผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.2 (หน้า 36) ที่พบว่า ปริมาณของแข็ง ลิกนิน และกลูแคนที่ถูกกำจัดออกแปรผันโดยตรงกับระดับความรุนแรงของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง โดยเฉพาะการเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH

จากผลการวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคนี้สามารถสรุปได้ว่า โครงสร้างของเหง้ามันสำปะหลังถูกทำลายมากขึ้นที่ระดับความรุนแรงของสภาวะการปรับสภาพที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มความเป็นรูพรุนภายในโครงสร้างและอาจเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้อีกด้วย



รูปที่ 4.5 โครงสร้างระดับจุลภาคของเหง้ามันสำปะหลัง (A) ก่อนการปรับสภาพ (NCR); (B) หลังการปรับสภาพด้วย 1% NaOH 40°C 3 h; (C) หลังการปรับสภาพด้วย 5% NaOH 40°C 1 h; (D) หลังการปรับสภาพด้วย 10% NaOH 40°C 3 h; (E) หลังการปรับสภาพด้วย 10% NaOH 40°C 1 h (optimal condition) โดยใช้กำลังขยาย (I) 500x และ (II) 1,000x

4.1.8.2 การวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (Crystallinity analysis by X-ray diffraction)



รูปที่ 4.6 X-ray diffractograms ของเหง้ามันสำปะหลัง: (A) ก่อนการปรับสภาพ (NCR); (B) หลังการปรับสภาพด้วย 1% NaOH 40°C 3 h; (C) หลังการปรับสภาพด้วย 5% NaOH 40°C 1 h; (D) หลังการปรับสภาพด้วย 10% NaOH 40°C 3 h; (E) หลังการปรับสภาพด้วย 10% NaOH 40°C 1 h (optimal condition) โดยตำแหน่งออสัญฐานและผลึกอยู่ที่ $2\theta = 18.7^\circ$ และ 22.4° ตามลำดับ

รูปแบบของการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของเหง้ามันสำปะหลังก่อน (NCR) และหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายต่าง (PCR) แสดงในรูปที่ 4.6 โดยความเข้มบริเวณที่เป็นส่วนออสัญฐานและส่วนผลึก (amorphous and crystalline regions) จะอยู่ที่ $2\theta = 18.7^\circ$ (101) และ 22.4° (002) ตามลำดับ โครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ทั้งนี้เฮมิเซลลูโลสและลิกนินมีลักษณะโครงสร้างเป็นแบบออสัญฐาน (amorphous component) ส่วนเซลลูโลสมีลักษณะโครงสร้างที่เป็นผลึก (crystalline component) (Bak et al., 2009) จากรูปที่ 4.6A พบว่า NCR มีความเข้มทั้งบริเวณส่วนที่เป็นโครงสร้างออสัญฐานและผลึกชัดเจน (intensity of amorphous and crystalline regions) ชัดเจน แต่เมื่อเหง้ามันสำปะหลังถูกปรับสภาพ พบว่า ความเข้มที่ $2\theta = 18.7^\circ$ (101) ลดลงอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 4.6B-E) นอกจากนี้ความเข้มที่ $2\theta = 22.4^\circ$ (002) (โครงสร้างผลึก) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับความรุนแรงของการปรับสภาพ โดยเฉพาะเหง้ามันสำปะหลังที่ปรับสภาพด้วย 10% NaOH อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 3 h (รูปที่ 4.6D) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเฮมิเซลลูโลสและลิกนินถูกกำจัดออกไปได้มากขึ้น (Chen et al., 2011) ซึ่ง

สอดคล้องกับผลการทดลองในตารางที่ 4.2 (หน้า 36) นอกจากนี้ค่าความเข้มของอสัณฐาน (intensity of amorphous region) ของ PCR เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ NCR แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นผลึกของเซลลูโลส

นอกจากนี้ค่าดัชนีความเข้มของผลึก (Crystallinity index, Cri) ของ NCR และ PCR แสดงในตารางที่ 4.13 พบว่า หลังการปรับสภาพมีผลทำให้เหง้ามันสำปะหลังมีค่า Cri เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamalini et al. (2018) ได้รายงานว่า การปรับสภาพส่งผลทำให้ค่า Cri มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากการกำจัดองค์ประกอบส่วนอสัณฐาน เช่น เฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกไปจึงทำให้ส่วนเซลลูโลสที่คงอยู่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้งานวิจัยของ Bak et al. (2009) ได้รายงานความสัมพันธ์ในเชิงผกผัน (negative correlation) ระหว่างความเป็นผลึกของเซลลูโลสและการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ พบว่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสที่ลดลงส่งผลทำให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามบางงานวิจัยของ Puri (1984) รายงานว่าความเป็นผลึกของเซลลูโลสอาจไม่ได้มีผลต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โดยสิ้นเชิง

ตารางที่ 4.13 ค่าดัชนีความเป็นผลึก (Cri) ของเหง้ามันสำปะหลังก่อน (NCR) และหลังปรับสภาพ (PCR)

	Pretreatment condition	Cri (%) ¹
NCR	-	24.29 ± 1.14 ^a
PCR	1% NaOH, 40°C, 3 h	33.85 ± 2.68 ^b
	5% NaOH, 40°C, 1 h	35.05 ± 1.83 ^{bc}
	10% NaOH, 40°C, 3 h	37.45 ± 1.56 ^{bc}
	10% NaOH, 40°C, 1 h	38.38 ± 1.29 ^c

¹ ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยตัวอักษรต่างกันในคอลัมน์แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง (Physicochemical properties of isolated lignin from alkali pretreatment of cassava rhizome)

4.2.1 ปริมาณผลผลิตลิกนินและลักษณะทางกายภาพ (Lignin yield and physical characteristic)

การแยกลิกนินจากสารละลายต่าง (alkali liquor) ที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังที่เหมาะสม คือ 10% NaOH 40°C 1 h (หัวข้อ 4.1.6 หน้า 54) ด้วยวิธีตกตะกอนแยกเอมิเซลลูลูโลสออกก่อน จากนั้นลดค่า pH ของสารละลายต่างลงด้วย 6 M HCl เพื่อทำให้ลิกนินตกตะกอน พบว่า ปริมาณผลผลิต (yield) ของลิกนิน (CPL) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.67 \pm 0.01\%$ โดยน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น CPL ที่ได้นี้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนหากเปรียบเทียบกับผงลิกนินมาตรฐาน (STD L, alkali lignin from Sigma Aldrich) ซึ่งมีสีน้ำตาลแดงเข้มกว่า (รูปที่ 4.7) เมื่อนำผงลิกนินทั้ง 2 ชนิดนี้ มาวัดค่าสีในระบบ CIE L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab Color Quest XE, USA) พบว่า ผง CPL มีค่า L* (ความสว่าง) a* (ความเป็นสีแดง) และ b* (ความเป็นสีเหลือง) เท่ากับ 50.78 ± 0.01 5.50 ± 0.02 และ 14.82 ± 0.01 ตามลำดับ สำหรับผง STD L มีค่า L* a* และ b* เท่ากับ 34.48 ± 0.27 11.43 ± 0.20 และ 21.40 ± 0.25 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า CPL มีค่าความสว่างสูงกว่า และค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองต่ำกว่า STD L อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ความแตกต่างด้านสีของผงลิกนินนี้อาจมาจากวิธีการปรับสภาพวัตถุดิบและชนิดของวัตถุดิบเริ่มต้นที่ใช้ กล่าวคือ ผง STD L ได้จากการแยกลิกนินจากการสารละลายต่างที่ได้จากการปรับสภาพหรือการย่อยลิกโนเซลลูโลสด้วยเข้มข้นที่อุณหภูมิสูง แต่งานวิจัยนี้ผงลิกนิน CPL ได้จากการแยกจากสารละลายต่างที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วย 10% NaOH 40°C 1 h

4.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity of lignin)

4.2.2.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content, TPC)

ตารางที่ 4.14 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของลิกนิน จากผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ของ STD L และ CPL มีค่า 174.24 ± 12.81 และ 65.47 ± 2.29 mg GAE/g lignin ตามลำดับ (1.02 ± 0.08 และ 0.38 ± 0.01 mmol GAE/g lignin) โดย TPC ของ STD L มีค่าสูงกว่าของ CPL อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ TPC ของ STD L มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Ramakoti et al. (2019) ซึ่งพบว่า ลิกนินจากไม้ไผ่แห้งมีค่า TPC เท่ากับ 174.45 ± 1.3 mg GAE/g lignin และจากรายงานของ Dong et al. (2011) พบว่า ลิกนินมีค่า TPC เท่ากับ 165.50 ± 13.40 mg GAE/g lignin อย่างไรก็ตาม TPC ของ CPL มีค่าใกล้เคียงกับ TPC ของลิกนินที่สกัดได้จากเปลือกไม้สนโดยสกัดด้วยกรรมวิธี Soxhlet ด้วยน้ำ เอ

ทานอล และน้ำ/เอทานอล (50.09, 63.38 และ 73.48 mg GAE/g) (Vieito et al., 2018) เมื่อเปรียบเทียบ TPC ของ CPL กับพืชชนิดอื่น ๆ พบว่า CPL มีค่า TPC ทั้งมากกว่า และน้อยกว่า ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น จากรายงานของ Stanković et al. (2016) พบว่า สารสกัดสมุนไพรดอกหอมมี TPC อยู่ระหว่าง 70-170 mg GAE/g dry extract จากรายงานของ Molina-Cortés et al. (2019) พบว่า TPC ของ molasses และ vinasse ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมอ้อย มีค่าในช่วง 14 - 19 mg GAE/g DM ซึ่งใกล้เคียงกับ ปริมาณ TPC ของ cucumbers, parsley, bell pepper และ carrot (18.8-21.0 mg GAE/g DM) และ vinasses มีค่า TPC ประมาณ 52 mg GAE/g DM ซึ่งใกล้เคียงกับ basil, spinach และ apples (51.4 - 53.5 mg GAE/g DM) (Chandra et al., 2014; Lutz et al., 2015) อย่างไรก็ตาม blueberries และ blackberries จะมีค่า TPC อยู่ระหว่าง 67.1-126.3 mg GAE/g DM (Lutz et al., 2015) ซึ่งสูงกว่าค่า TPC ของ CPL



รูปที่ 4.7 พงลิกนินมาตรฐาน (STDL) และพงลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง (CPL)

4.2.2.2 ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

จากตารางที่ 4.14 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่า ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของ STDL มีค่าสูงกว่าของ CPL อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH ของ STDL ($1,241.84 \pm 65.01 \mu\text{M TEAC/g}$) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ Kraft lignin และ organosolv lignin (1,050 และ $1,265 \mu\text{M TEAC/g lignin}$) (Guo et al., 2019) อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH ของ CPL ($584.24 \pm 64.30 \mu\text{M TEAC/g}$) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Guo et al., 2019 ที่รายงานว่า ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH ของ DES lignin (ลิกนินที่ได้จากการสกัดด้วยอุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 3 h) ที่มีค่าเท่ากับ $683 \pm 20 \mu\text{M TEAC/g}$ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับพืชชนิด

อื่น ๆ เช่น spinach, eggplant, blueberry และ blackberry เป็นต้น พบว่า พืชเหล่านี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 537.1, 543.3, 589.2, และ 1203.8 $\mu\text{M TEAC/g DM}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ CPL ยกเว้น blackberry แห่ง ที่มีค่าสูงกว่า 2 เท่า (Lutz et al., 2015)

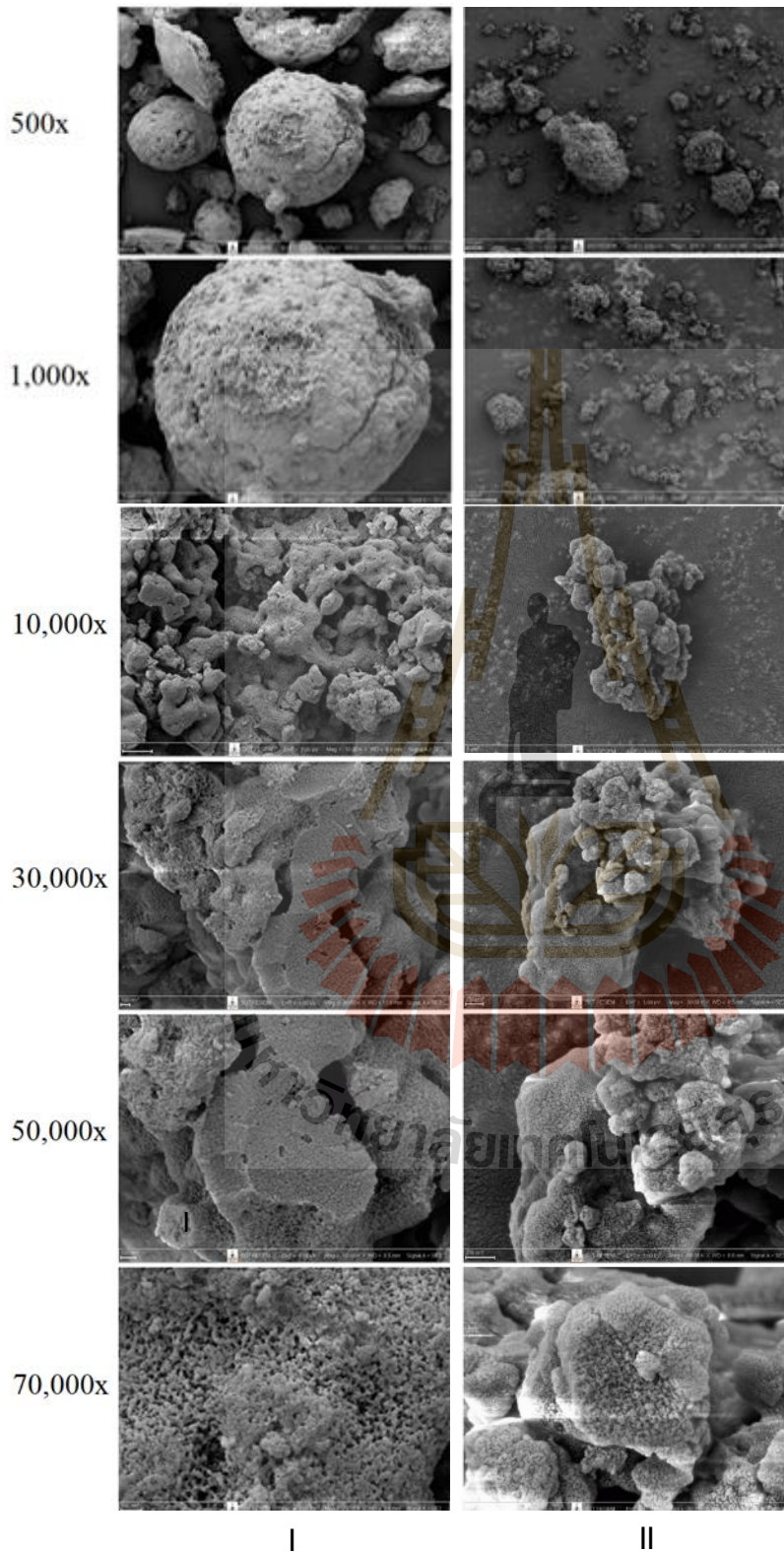
ตารางที่ 4.14 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของลิกันิน

Lignin sample	TPC (mg GAE/g) ¹	DPPH ²		ABTS ³	
		mg TEAC/g	$\mu\text{M TEAC/g}$	mg TEAC/g	$\mu\text{M TEAC/g}$
STDL	174.24 \pm 12.81 ^b	310.83 \pm 16.27 ^b	1,241.84 \pm 65.01 ^b	676.25 \pm 0.72 ^b	2,701.84 \pm 2.89 ^b
CPL	65.47 \pm 2.29 ^a	146.23 \pm 16.09 ^a	584.24 \pm 64.30 ^a	173.29 \pm 5.53 ^a	692.36 \pm 22.11 ^a

^{1,2,3} ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ในงานวิจัยนี้พบว่า ค่า TPC และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของลิกันิน STDL และ CPL มีความสัมพันธ์กันแบบเชิงบวก (positive correlation) กล่าวคือ ปริมาณ TPC ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ที่สูงขึ้น โดยเมื่อวิเคราะห์ค่า Pearson's correlation (r) ระหว่าง TPC กับ DPPH assay และ TPC กับ ABTS assay พบว่า r มีค่าเท่ากับ 0.970 และ 0.967 ซึ่งหมายถึงมีระดับความสัมพันธ์กันสูงมาก (r อยู่ระหว่าง 0.8 - 1.0) ผลการวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Djeridane et al. (2006) พบว่ามีค่า r ระหว่าง TPC กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS จากพืชสมุนไพร 11 ชนิด เท่ากับ 0.793 และในงานวิจัยของ Vieito et al. (2018) สกัดสารประกอบฟีนอลิกและตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกไม้สน พบว่า r มีค่าเท่ากับ 0.983

4.2.3 การวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของลิกนิน (Microstructure characterization of lignin)



รูปที่ 4.8 โครงสร้างระดับจุลภาคของ: (I) ผงลิกนินมาตรฐาน (STDL); (II) ผงลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลัง (CPL) โดยกำลังขยายระหว่าง 500x – 70,000x

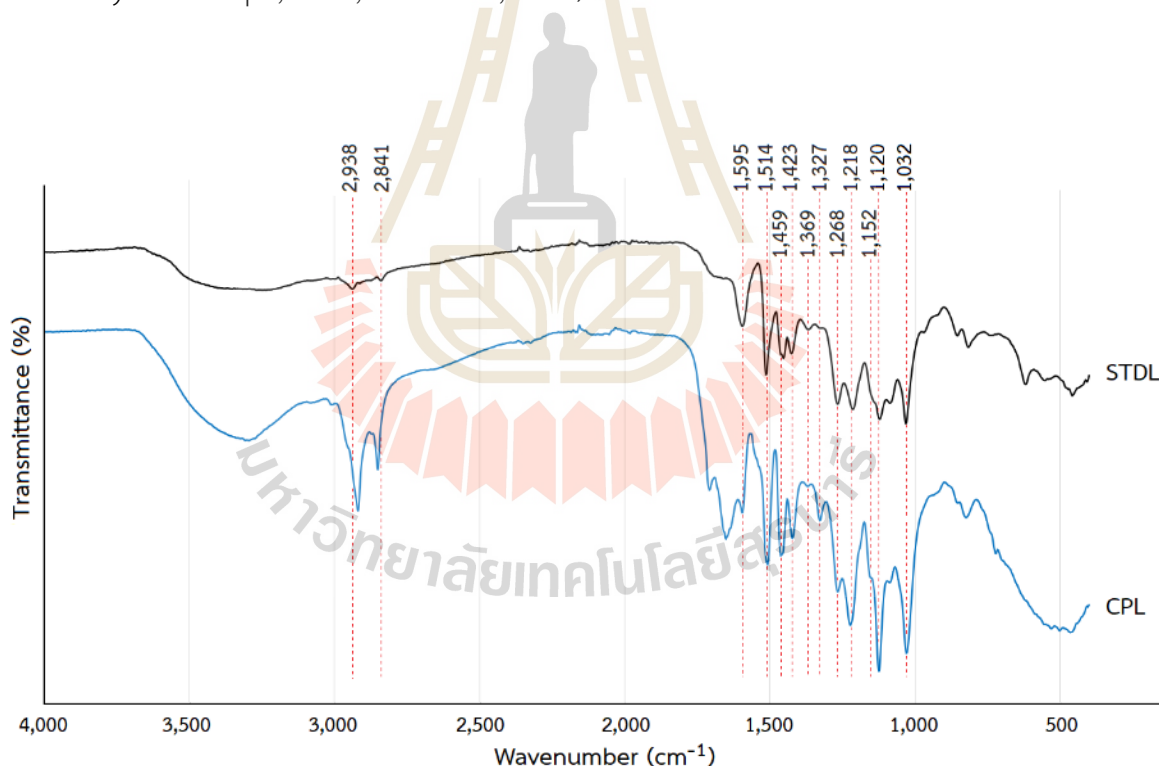
จากการวิเคราะห์โครงสร้างระดับจุลภาคของผงลิกนิน STDL และ CPL (รูปที่ 4.8) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีสมรรถนะสูงชนิดฟิลด์อิมิสชัน (FE-SEM) พบว่า สามารถเห็นลักษณะของ STDL ที่มีรูปทรงกลมได้ตั้งแต่ที่ก้ำลึงขยาย 500 เท่า โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางทรงกลม 30 - 100 μm บางทรงกลมร้าวแตก ทั้งนี้ STDL มีลักษณะคล้ายกับรายงานของ Meng et al. (2019) ซึ่งตรวจสอบลิกนินจากฟางข้าวสาาลีประเภท alkali lignin ที่ได้จากบริษัท Geyi Energy Company ใน Hefei, Anhui สาธารณรัฐประชาชนจีน ด้วย SEM พบว่าลิกนินมีลักษณะเป็นทรงกลมผิวหยาบมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 25 μm นอกจากนี้ Köhnke et al. (2019) ได้ kraft lignin ไม้สนจากบริษัท MeadWestvaco (Richmond, USA) เมื่อตรวจสอบด้วย SEM พบว่าเป็นทรงกลมหยาบร้าวเช่นเดียวกัน มีเส้นผ่านศูนย์กลางทรงกลมประมาณ 150 - 180 μm อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ CPL มีลักษณะคล้ายกับ organosolv lignin ในงานของ Köhnke et al. (2019) แต่ CPL มีขนาดเล็กมากต้องใช้ก้ำลึงขยาย 10,000 - 70,000 เท่า มีรูปทรงไม่แน่นอน รวมกันเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการเตรียมสารละลายลิกนินก่อนการทำแห้งและวิธีที่ใช้ในการทำแห้งจึงทำให้ลักษณะผงของ STDL และ CPL แตกต่างกัน จากรายงานของ Köhnke et al. (2019) ได้กล่าวถึงการทำให้ลิกนินให้เป็นทรงกลมระดับ sub-micron ว่าเตรียมสารละลายลิกนินใน dimethylformamide แล้วพ่นเป็นละอองผ่าน jet atomizer ใช้ไนโตรเจนเป็นตัวพา จากนั้นทำแห้งด้วยอุณหภูมิ 153°C ในเครื่องปฏิกรณ์ลมร้อน (heated laminar flow reactor) แล้วคัดแยกขนาดด้วย low-pressure impactor ซึ่งแตกต่างจากการเตรียมและทำแห้งลิกนินในงานวิจัยนี้ ที่ได้ทำแห้งลิกนิน CPL โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze dryer)

4.2.4 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโครงสร้างเคมีของลิกนินโดยใช้ความยาวคลื่นช่วงอินฟราเรด (FTIR characterization)

รูปที่ 4.9 แสดงสเปกตรัม FTIR ระหว่างจำนวนคลื่น 4000 - 400 cm^{-1} ของ STDL และ CPL โดยโครงสร้างของลิกนินมีการดูดกลืนสูงสุด (absorption peak) อยู่ที่ประมาณจำนวนคลื่น 3340 cm^{-1} และ 2938 cm^{-1} ตามลำดับ แสดงถึงการยืดหดพันธะ (stretching vibration) ของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) และ -CH ตามลำดับ (Xu et al., 2013) นอกจากนี้ช่วงของสเปกตรัม FTIR ระหว่างจำนวนคลื่น 1900 - 800 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วงที่พบการดูดกลืนของคาร์โบไฮเดรตและลิกนิน (Umagiliyage et al., 2015) ใหญ่พีคเล็ก ๆ พบที่ 1732 cm^{-1} คือ aliphatic ester ในโครงสร้างของลิกนินและเฮมิเซลลูโลส (Umagiliyage et al., 2015) พีคเล็ก ๆ ที่จำนวนคลื่น 1514 cm^{-1} แสดงถึงการยืดหดพันธะของสารประกอบอะโรมาติก คาร์บอน-คาร์บอน (aromatic C-C stretch) ที่พบในโครงสร้างของลิกนิน (Chen et al., 2011) นอกจากนี้พีคที่ 1369 cm^{-1} แสดงถึงการสั่นของหมู่ -OH bonds และสารประกอบ phenolic groups (García et al., 2010; Jingjing, 2011; Khaldi-Hansen et al., 2016) ซึ่งพบความเด่นชัดของพีคใน STDL มากกว่า CPL

ส่วนพีกที่จำนวนคลื่น 1268 cm^{-1} แสดงถึง guaiacyl unit และพีกที่จำนวนคลื่น $1327, 1120\text{ cm}^{-1}$ แสดงถึง syringyl unit หรือ guaiacyl unit (Jingjing, 2011; Wen et al, 2013; Zhang et al., 2015; Hua et al., 2016; Khaldi-Hansen et al., 2016; Ying et al., 2018; Menezes Nogueira et al., 2019; Ramakoti et al., 2019) จากสเปกตรัม FTIR ของ STDL และ CPL พบว่า โครงสร้างหรือองค์ประกอบของลิกนินทั้ง 2 ชนิดมีทั้ง methyl, methylene, hydroxyl, aromatic syringyl, guaiacyl และยังมีพบ carbohydrate ที่ยังสร้างพันธะกับโมเลกุลของลิกนิน

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโครงสร้างของ STDL และ CPL ด้วย FTIR สามารถสรุปได้ว่า ลิกนินจากเหง้ามันสำปะหลัง (CPL) มีหมู่ฟังก์ชันและสารประกอบเทียบเคียงได้กับลิกนินมาตรฐาน (STDL) และใกล้เคียงกับรายงานวิจัยอื่น ๆ ที่มีองค์ประกอบของ p-coumaryl alcohol (hydroxyphenyl unit), coniferyl alcohol (guaiacyl unit), และ sinapyl alcohol (syringyl unit) อันเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลลิกนินในพืช (Cheng et al., 2014; Stark et al., 2015; Chaudhary and Dhepe, 2016, Guo et al., 2019)



รูปที่ 4.9 FTIR spectrograms ที่ wavenumber ระหว่าง $4000-400\text{ cm}^{-1}$ ของผงลิกนินมาตรฐาน (STDL) และผงลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามัน (CPL)

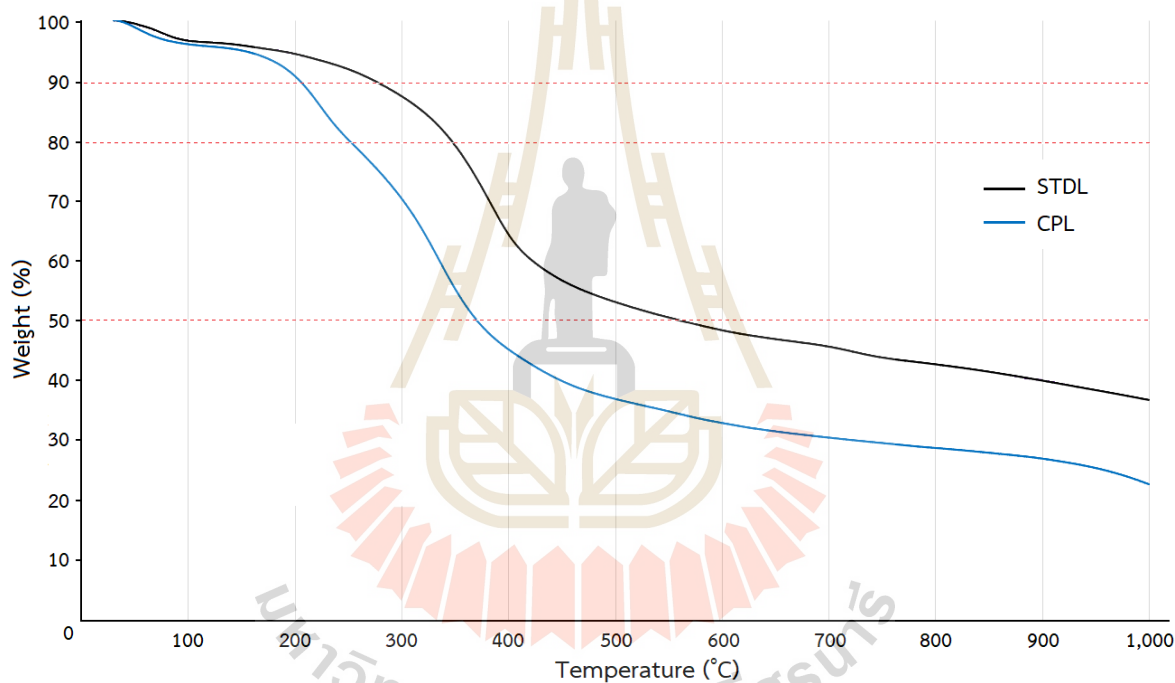
ตารางที่ 4.15 หมู่ฟังก์ชัน (functional group) ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่ตรวจวัดด้วย FTIR

Wavenumber (cm ⁻¹)	Functional groups or compounds	References ⁽¹⁾
3400-3100	Hydrophilic tendency -OH groups	[1]
3000-2842	C-H stretch in methyl and methylene groups	[2], [3]
2936	C-H bending vibration in methyl and methylene groups	[4], [5], [6], [7]
2920	Carboxylic OH	[8]
1738-1655, 1738-1708	Carbohydrates corresponding to C=O stretching	[2], [9]
1595	C-C stretching in aromatic skeleton S>G	[3], [6], [10], [11]
1514	Aromatic skeleton vibration	[4], [5], [6], [7], [9], [12], [13], [14]
1510	a) Aromatic skeleton vibration; b) Aromatic skeletal vibrations (G>S)	[9], [10], [15]; [3], [11]
1505	Aromatic skeleton vibration	[2], [4], [9], [16], [17]
1459	Aromatic skeletal vibrations and the C-H (methyl or methylene groups) asymmetric deformation combined with aromatic ring vibration	[3], [4], [5], [6], [10], [13], [16], [17]
1423	Aromatic skeleton vibration	[3], [4], [6], [7], [9], [10], [11], [13], [14], [17]
1369	Bending vibration of -OH bonds, phenolic groups	[4], [6], [16]
1327	a) C-O stretching with aromatic S units	[2], [4], [6], [7], [9], [10], [11], [12];
1327	b) S or G rings	[3], [5], [17]
1268	G ring breathing with C-O stretching	[5], [6], [7], [9] [11], [14], [16]
1151	a) C-H stretching vibration in guaiacol rings; b) C-O-C stretching aromatic ether	[5]; [6]
1120	a) C-H in-plane deformation vibration: G unit; b) Unmistakable sign of a GS lignin; c) S units	[6]; [17]; [3], [7], [11], [15]; [9]
1030	a) C-O (H) stretching in first order aliphatic OH, an indicative of hemicellulose impurities	[2], [6], [9], [10], [16]
1030	b) Aromatic C-H in-plane deformation vibrations (G>S); c) G units	[3], [10]; [11]

(1)

- | | | |
|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| [1] Priya et al. (2015) | [7] Menezes Nogueira et al. (2019) | [13] Kent et al. (2018) |
| [2] Nadji et al. (2009) | [8] Lu et al. (2017) | [14] Ying et al. (2018) |
| [3] Monteil-Rivera et al. (2013) | [9] Zhang et al. (2015); | [15] An et al. (2017); |
| [4] García et al. (2010) | [10] Michelin et al. (2018) | [16] Jingjing (2011) |
| [5] Hua et al. (2016) | [11] Ramakoti et al. (2019) | [17] Wen et al. (2013) |
| [6] Khaldi-Hansen et al. (2016) | [12] Dos Santos et al. (2014); | |

4.2.5 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของลิกนินโดยอาศัยสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis of lignin)



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของผงลิกนินมาตรฐาน (STDL) และผงลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามัน (CPL)

กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของ STDL และ CPL โดยอาศัยคุณสมบัติทางความร้อนหรือ Thermogravimetric Analysis (TGA) แสดงในรูปที่ 4.10 พบว่า STDL มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวอย่างรวดเร็วอยู่ระหว่าง 355 - 400°C เมื่อเปรียบเทียบกับ CPL พบว่า CPL มีช่วงอุณหภูมิหลักในการสลายตัวต่ำกว่า STDL และช่วงอุณหภูมิกว้างกว่า ได้แก่ 200 - 370°C เส้นกราฟการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของลิกนิน CPL เมื่อได้รับความร้อนมีลักษณะเหมือนเส้นกราฟการวิเคราะห์ TGA ของลิกนินที่ได้จาก wheat straw, pine straw, alfalfa, และ flax fiber (Watkins et al., 2015) สำหรับช่วงอุณหภูมิหลักในการสลายตัวของลิกนิน STDL สอดคล้องกับรายงานของ Khaldi-Hansen et al. (2016) ที่พบว่า อุณหภูมิสลายตัวของลิกนิน

ที่ได้จากการปรับสภาพไม้ beechwood ด้วยวิธี organosolv อยู่ในช่วง 340-380°C ทั้งนี้อุณหภูมิหลักในการสลายตัวขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของลิกนิน อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยของ Chen et al. 2011 และ Sun et al. (2000) รายงานว่าการสลายตัวของวัสดุที่อุณหภูมิระหว่าง 100-500°C ส่วนใหญ่เกิดจากการออกซิเดชัน (oxidation) ของ extractives เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส ส่วนการสลายตัวของลิกนินจะเกิดที่อุณหภูมิสูงกว่า 500 °C (Liang et al., 2014) จากกราฟการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของ STDL และ CPL นี้สามารถสรุปได้ว่า วัสดุดิบเริ่มต้นและวิธีการผลิตลิกนินมีผลต่อสมบัติทางความร้อนของลิกนิน

จากตารางที่ 4.16 แสดงถึงข้อมูลความเสถียรของ STDL และ CPL เมื่อได้รับความร้อน พบว่า STDL ต้องใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า CPL ที่จะทำให้วัสดุสลายตัว 10% 20% และ 50% ของน้ำหนัก ($p < 0.05$) นอกจากนี้ปริมาณส่วนตกค้างที่อุณหภูมิ 800°C และ 1000°C (residues) ของ STDL มีค่า $42.69 \pm 0.81\%$ และ $37.64 \pm 3.03\%$ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า CPL ($28.76 \pm 0.57\%$ และ $22.70 \pm 1.96\%$) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.17 อย่างไรก็ตาม ปริมาณส่วนตกค้างที่อุณหภูมิ 800°C และ 1000°C ของ CPL มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Watkins et al. (2015) ซึ่งพบว่า ลิกนินจาก pine straw มีปริมาณส่วนตกค้างที่อุณหภูมิ 800°C = 29.45% และที่ 1,000°C CPL มี % solid residue = 22.70 ± 1.96 จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า STDL มีความเสถียรต่อความร้อนมากกว่า CPL ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวัสดุดิบเริ่มต้นและวิธีการผลิตลิกนินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางความร้อนของลิกนิน

ตารางที่ 4.16 ผลความเสถียรของลิกนินเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิระหว่าง 100°C - 1,000°C

Treatments ¹	T10% (°C) ²	T20% (°C) ³	T50% (°C) ⁴
STDL	273.50 ± 1.67^b	346.28 ± 1.08^b	561.39 ± 12.42^b
CPL	204.11 ± 1.80^a	250.50 ± 1.89^a	371.50 ± 7.99^a

¹ STDL และ CPL แสดงถึงลิกนินมาตรฐานและลิกนินจากเหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพในสภาวะเหมาะสมที่สุดด้วย 10% NaOH, 40°C, 1 h ตามลำดับ

^{2, 3, 4} Tn% แสดงอุณหภูมิขณะที่มวลเหง้ามันสำปะหลังสลายตัวไป 10, 20, และ 50% โดยน้ำหนักตามลำดับ ค่าดังกล่าวเป็นค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 3 ซ้ำ \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรยกที่ปรากฏบนค่าในแต่ละ column แสดงถึงความแตกต่างระหว่าง STDL และ CPL ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.17 ร้อยละของมวลคงเหลือ (solid residue) ที่อุณหภูมิ 800°C และ 1,000°C

Treatments	Solid residue (%) ¹	
	800°C	1000°C
STDL	42.69 ± 0.81^b	36.75 ± 0.89^b
CPL	28.76 ± 0.57^a	22.70 ± 1.96^a

¹ ค่าเฉลี่ยจากข้อมูลจำนวน 3 ซ้ำ \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรยกที่ปรากฏบนค่าในแต่ละ column แสดงถึงความแตกต่างระหว่าง STDL และ CPL ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่าง

1. เหง้ามันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายต่างมีปริมาณของแข็ง ลิกนินและกลูแคน (เซลลูโลส) ที่ถูกกำจัดออกแปรผันโดยตรงกับระดับความรุนแรงของการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างโดยเฉพาะการเพิ่มความเข้มข้นของ NaOH และเพิ่มอุณหภูมิในการปรับสภาพ
2. สภาวะการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของ NaOH 10% อุณหภูมิ 40°C และระยะเวลา 1 h ซึ่งมีผลทำให้ได้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h มีค่า 57.72% และ 65.97% (based on PCR) และ 16.07% และ 19.15% (based on NCR) ตามลำดับ
3. สมการทางคณิตศาสตร์สำหรับทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h (based on PCR) คือ $Y_{11} = 63.480 - 0.229 X_1 - 0.545 X_2 - 7.050 X_3 + 0.185 X_1^2 + 0.004 X_2^2 + 0.710 X_3^2 - 0.010 X_1 X_2 + 0.027 X_1 X_3 + 0.058 X_2 X_3$ และ $Y_{12} = 54.600 + 1.510 X_1 - 0.410 X_2 - 0.380 X_3 + 0.123 X_1^2 + 0.003 X_2^2 - 0.024 X_3^2 - 0.014 X_1 X_2 - 0.275 X_1 X_3 + 0.043 X_2 X_3$ ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่า สมการทางคณิตศาสตร์นี้มีความสมบูรณ์กับข้อมูลและเหมาะสมต่อการทำนายปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ และผลการยืนยันแบบจำลองมีค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 10%
4. การยืนยันผลแบบจำลอง (validation experiments of models) ของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าที่ได้จากการทดลอง (experimental) จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสภาวะที่เหมาะสม และค่าที่ได้จากการทำนาย (predicted) โดยใช้แบบจำลอง Y_{11} Y_{12} Y_{21} และ Y_{22} (หน้า 44) มีค่าความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า 10% (0.85 – 6.41%) และมีค่า RMSE ต่ำ แสดงว่าผลการคำนวณที่ได้จากแบบจำลองมีความสมบูรณ์หรือสอดคล้องกับผลการทดลอง
5. สภาวะในการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างที่มีความรุนแรงมากขึ้นทำให้ลักษณะพื้นผิวไม่เรียบและมีรูพรุนขนาดใหญ่และจำนวนมากขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของส่วนผลึกของเซลลูโลสเพิ่มสูงขึ้น และความเข้มข้นของเซลลูโลสลดลง เนื่องจากลิกนินและเฮมิเซลลูโลสถูกกำจัดออกจากโครงสร้างของมันสำปะหลังมากขึ้น ผลการวิเคราะห์โครงสร้างนี้มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ (efficiency of enzymatic hydrolysis) ซึ่งทำให้ปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้น

5.1.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่แยกได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่าง

1. ปริมาณผลผลิต (yield) ของลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วย 10% NaOH 40°C 1 h (CPL) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.67 \pm 0.01\%$ เทียบกับน้ำหนักของเหง้ามันสำปะหลังเริ่มต้น โดย CPL มีค่าความสว่างสูงกว่า และค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองต่ำกว่าลิกนินมาตรฐาน (STDL) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)
2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของลิกนิน CPL มีค่าต่ำกว่าของ STDL อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดย TPC ของ CPL มีค่า 65.47 mg GAE/g lignin ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ TPC ของลิกนินที่สกัดได้จากเปลือกไม้สน (50.09 - 73.48 mg GAE/g) และ TPC ของผล apples (51.4 - 53.5 mg GAE/g) จากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของ CPL มีค่าเท่ากับ 146.23 และ 173.29 mg TEAC/g lignin ซึ่งใกล้เคียงกับ spinach, eggplant, blueberry
3. ค่า TPC และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของลิกนิน STDL และ CPL มีความสัมพันธ์กันแบบเชิงบวก (positive correlation) โดยค่า Pearson's correlation (r) ระหว่าง TPC กับ DPPH assay และ TPC กับ ABTS assay มีค่าเท่ากับ 0.970 และ 0.967 ตามลำดับ
4. CPL มีหมู่ฟังก์ชันและสารประกอบเทียบเคียงได้กับ STDL และใกล้เคียงกับรายงานวิจัยอื่น ๆ ที่มีองค์ประกอบของ p-coumaryl alcohol (hydroxyphenyl unit), coniferyl alcohol (guaiacyl unit), และ sinapyl alcohol (syringyl unit) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโมเลกุลลิกนินในพืช

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยสารละลายต่างร่วมกับวิธีการอื่น เช่น ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟ อาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถเพิ่มปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคส และลดระยะเวลาในการปรับสภาพลงได้ อย่างไรก็ตามการปรับสภาพดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนขึ้น ดังนั้นจึงขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของผู้วิจัยที่จะศึกษาในอนาคตที่อาจต้องเปรียบเทียบในส่วนของความคุ้มค่า
2. การ fractionation ด้วยสารละลายหรือตัวทำละลายของลิกนินที่ได้จากการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังจะช่วยเพิ่มความบริสุทธิ์ให้กับลิกนินได้ โดยลิกนินที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปศึกษาต่อเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอื่น ๆ ได้ เช่น สมบัติการละลาย สมบัติในการต้านจุลชีพ สมบัติ การใช้เป็นส่วนผสมเนื้อฟิล์มเพื่อกรองรังสี เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- An, L., Wang, G., Jia, H., Liu, C., Sui, W. and Si, C. (2017). Fractionation of enzymatic hydrolysis lignin by sequential extraction for enhancing antioxidant performance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 674-681.
- 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.
- Browing, 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.
- Calvo-Flores, F. G. and Dobado, J. A. (2010). Lignin as Renewable Raw Material. *Chemosuschem*, 3, 1227-1235.
- Castaño, H. P., Reales, J. A., and Zapata, J. M. (2013). Simultaneous saccharification and fermentation of cassava stems. *DYNA* 80, 97-104.
- Chan, S.W., Lee, C.Y., Yap, C.F., Wan Alda, W.M. and Ho, C.W. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *Int. Food Res. J.*, 16, 203-213.
- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M.H., ElSohly, M.A., and Khan, I.A. (2014). Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* Article ID 253875, 1-9.
- Chaudhary, R. and Dhepe, P.L. (2016). Solid base catalyzed depolymerization of lignin into low molecular weight products. in *The Royal Society of Chemistry, Green Chem*, 19 (3), 12 pages.

- 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, H., Wu, S., and Liu, C. (2014). Study on the mechanism of the pyrolysis of a lignin monomeric model compound by in situ FTIR. *BioResources*, 9 (3), 4441-4448.
- Cheng, K.K., Zhang, J.A., Ping, W.X., Ge, J.P., Zhou, Y.P.J., Ling, H.Z. and Xu, J.M. (2008). Sugarcane bagasse mild alkaline/oxidation pretreatment for ethanol production by alkaline recycle process. *Biochem Biotechnol*, 151, 43-50.
- Chung, Y.L., Olsson, J.V., Li, R.J., Frank, C.W., Waymouth, R.M., Billington, S.L., and Sattely, E.S. (2013). A renewable lignin-lactide copolymer and application in biobased composites. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1, 1231-1238.
- Cornfine, C., Hasenkopf, K., Eisner, P. and Schweiggert, U. (2010). Influence of chemical and physical modification on the bile acid binding capacity of dietary fibre from lupins (*Lupinus angustifolius L.*). *Food Chemistry*, 122, 638-644.
- Dimmel, D. and Gellerstedt, G. (2010). Chemistry of alkaline pulping. In *Lignin and Lignans*, Heitner, C., Dimmel, D., and Schmidt, J. A. CRC Press, 349-391.
- Dizhbite, T., Telysheva, G., Jurkjane, V. and Viesturs, U. (2004). Characterization of the radical scavenging activity of lignins–natural antioxidants. *Bioresource Technology*, 95, 309-317.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., and Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4), 654-660.
- Dong, X., Dong, M., Lu, Y., Turley, A., Jin, T., and Wu, C. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of lignin from residue of corn stover to ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 34, 1629-1634.
- Dos Santos, P.S.B., Erdocia, X., Gatto, D.A. and Labidi, J. (2014). Characteristic of kraft lignin separated by gradient acid precipitation. *Industrial Crops and Products*, 55, 149-154.
- 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.
- Duval, A. and Lawoko, M. (2014). A review on lignin-based polymeric micro- and nano-structured materials. *Reactive & Functional Polymers*, 85, 78-96.

- Eriksson, K.E.L., Blanchette, R.A., Ander, P. (1990). Microbial and Enzymatic degradation of Wood and Wood Component. Springer Verlag, Berlin. p. 407.
- Fellows, C. M., Brown, T. C., and Doherty, W. O. S. (2012). Lignocellulosic as a renewable feedstock for chemical industry: chemicals from lignin. In Green chemistry for environmental remediation, eds. Sanghi, R. and Singh, V. Scrivener Publishing, 561-610.
- Funk, C., Weber, P., Thilker, J., Grabber, J. H., Steinhart, H. and Bunzel, M. (2006). Influence of lignification and feruloylation of maize cell walls on the adsorption of heterocyclic aromatic amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1860-1867.
- 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.
- García, A., Toledano, A., Andrés, M.Á., and Labidi, J. (2010). Study of the antioxidant capacity of *Miscanthus sinensis* lignins. *Process Biochemistry*, 45 (6), 935-940.
- Ghatak, H. R. (2008). Spectroscopic comparison of lignin separated by electrolysis and acid precipitation of wheat straw soda black liquor. *Industrial Crops Products*, 28, 206-212.
- Giovanni, M. (1983). Response surface methodology and product optimization. *Food Technology*, 37, 41-45.
- Goddik, L. M. and Penner, M. H. (1999). Assessing changes in the surface area of the non-cellulose fraction of lignocellulosic. *Biotechnology Techniques*, 13, 137-140.
- 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.
- Gordobil, O., Egues, I., Ponte, R.L., and Labidi, J. (2014). Physicochemical properties of PLA lignin blends. *Polymer Degradation and Stability*, 108, 330-338.
- Goshadrou, A., Karimi, K., Taherzadeh, M.J. (2011). Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*. *Ind Crops Prod*, 34, 1219-1225.
- Guo, Y., Tian, D., Shen, F., Yang, G., Long, L., He, J., Song, C., Zhang, J., Zhu, Y., Huang, C., and Deng, S. (2019). Transparent cellulose/technical lignin composite films for advanced packaging. *Polymers*, 11 (9), 1455. 11 pages.
- 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.
- Han, M.H., Kim, Y., Kim, Y. G., Chung, B. W., Choi, G. W. (2011). Bioethanol production from optimized pretreatment of cassava stem. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28, 119-125.

- 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.
- Hua, W., Liu, C., Wu, S.B. and Li, X.H. (2016). Analysis of structural units and their influence on thermal degradation of alkali lignins. "Structure & pyrolysis of lignins" *BioResources* 11 (1), 1959-1970.
- Jingjing, L. (2011). Isolation of lignin from wood. Bachelor's Thesis. Paper Technology, Faculty of Technology. Saimaa University of Applied Sciences. Finland. 57 pages
- Kamalini, A., Muthusamy, S., Ramapriya, R., Muthusamy, B., and Pugazhendhi, A. (2018). Optimization of sugar recovery efficiency using microwave assisted alkaline pretreatment of cassava stem using response surface methodology and its structural characterization. *Journal of Molecular Liquids*, 254, 55-63.
- Kent, M.S., Zeng, J., Rader, N., Avina, I.C., Simoes, C.T., Brenden, C.K., Busse, M.L., Watt, J., Giron, N.H., Alam, T.M., Allendorf, M.D., Simmons, B.A., Bell, N.S., and Sale, K.L. (2018). Efficient conversion of lignin into a water-soluble polymer by a chelator-mediated Fenton reaction: optimization of H₂O₂ use and performance as a dispersant. *Green Chem*, 20, 3024-3037.
- Khalidi-Hansen, B.E., Schulze, M., and Kamm, B. (2016). Analytical techniques and methods for biomass. Chapter 2: Qualitative and quantitative analysis of lignins from different sources and isolation methods for an application as a biobased chemical resource and polymeric material. pp 15-44. in *Analytical techniques and methods for biomass*. Silvio Vaz Jr. (ed.), Springer International Publishing, Switzerland. 279 pages.
- 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.
- Klinpratoom, B., Ontanee, A., and Ruangviriyachai, C. (2015). Improvement of cassava stem hydrolysis by two-stage chemical pretreatment for high yield cellulosic ethanol production. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32, 413-423.
- 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.

- Köhnke, J., Gierlinger, N., Prats-Mateu, B., Unterweger, C., Solt, P., Mahler, A., Schwaiger, E., Liebner, F., and Gindl-Altmutter, W. (2019). Comparison of four technical lignins as a resource for electrically conductive carbon particles. *BioRes*, 14 (1), 1091-1109.
- 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.
- Liu, Y.Y., Xu, J.L., Zhang, Y., Liang, C.Y., He, M.C., Yuan, Z.H., and Xie, J. (2016). Reinforced alkali-pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Fuel Processing Technology*, 143, 1-6.
- Lu, Y., Lu, Y.-C., Hu, H.-Q., Xie, F.-J., Wei, X.-Y., and Fan, X. (2017). Structural characterization of lignin and its degradation products with spectroscopic methods. *Hindawi Journal of Spectroscopy*. Vol Article ID 8951658, 15 pages.
- Lutz, M., Hernández, J., and Henríquez, C. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. *CYTA J. Food*, 13 (4), 541-547.
- Martín, C., Wei, M., Xiong, S., and Jönsson, L.J. (2017). Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 97, 21-31.
- McIntosh, S., and Vancov, T. (2011). Optimization of dilute alkaline pretreatment for enzymatic saccharification of wheat straw. *Biomass and Bioenergy*, 35, 3094-3103.
- Meesukanun, K. and Satirapipathkul, C. (2014). Production of acetone-butanol-ethanol from cassava rhizome hydrolysate by *Clostridium saccharobutylicum* BAA 117. *Chemical Engineering Transactions*, 37, 421-426.
- Menezes Nogueira, I.d., Avelino, F., Oliveira, D.R.d., Souza, N.F., Rosa, M.F. Mazzetto, S.E. and Lomonaco, D. (2019). Organic solvent fractionation of acetosolv palm oil lignin: The role of its structure on the antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1163-1172.
- Meng, L.Y., Ma, M.G., and Ji, X.X. (2019). Preparation of lignin-based carbon materials and its application as a sorbent. *Materials*, 12 (1111), 11 pages.

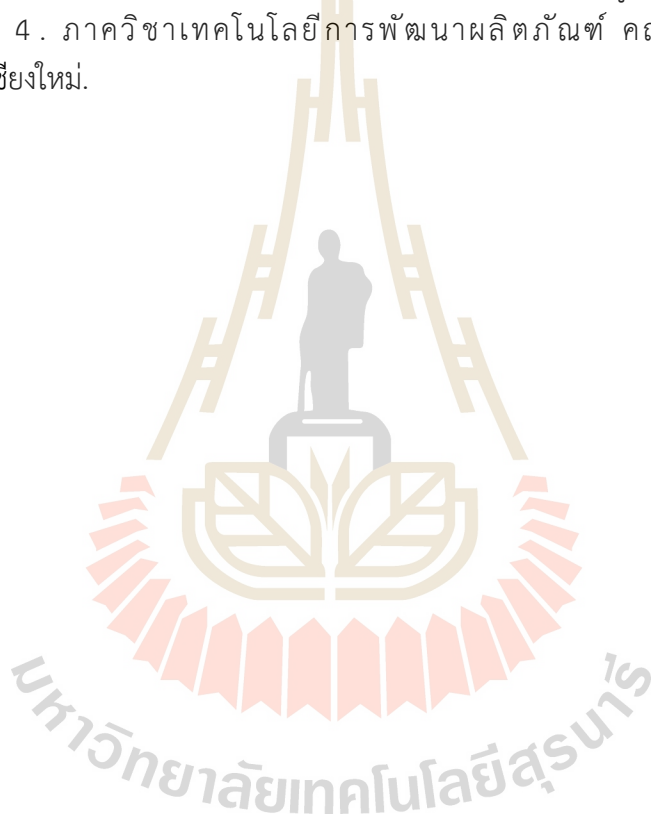
- Michelin, M., Liebenritt, S., Vicente, A.A., and Teixeira, J.A. (2018). Lignin from an integrated process consisting of liquid hot water and ethanol organosolv: Physicochemical and antioxidant properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 159-169.
- Molina-Cortés, A., Sánchez Motta, T., Tobar-Tosse, F., and Quimbaya, M. (2019). Spectrophotometric estimation of total phenolic content and antioxidant capacity of molasses and vinasses generated from the sugarcane industry. *Waste and Biomass Valorization*, 10 (62), 1-11.
- Monteil-Rivera, F., Phuong, M., Ye, M., Halasz, A., and Hawari, J. (2013). Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials. *Industrial Crops and Products*, 41, 356-364.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96, 673-686.
- Nadji, H., Diouf, P.N., Benaboura, A., Bedard, Y., Riedl, B., and Stevanovic, T. (2009). Comparative study of lignins isolated from Alfa grass (*Stipa tenacissima* L.). *Bioresour Technol*, 100 (14), 3585-3592.
- Pan, X., Kadla, J. F., Ehara, K., Gilkes, N. and Saddler, J. N. (2006). Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: relationship between lignin structure, extraction conditions, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5806-5813.
- 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.
- Pooja, N. S. And Padmaja, G. (2015). Enhancing the enzymatic saccharification of agricultural and processing residues of cassava through pretreatment techniques. *Waste and Biomass Valorization*, 6, 303-315.
- Prakobbon, N. and Vahdati, M. (2013). Review of the potential for co-firing of cassava rhizome for generating heat and power in cassava based bio- ethanol plant in Thailand. *International Journal of Biomass & Renewables*, 2(2), 14-22.
- Priya, S.Y., Khan, G.M.A., Uddin, M.H., Haque, M.A., Islam, M.S., Abdullah-Al-Mamun, M., Gafur, M.A., and Alam M.S. (2015). Characterization of Micro-fibrillated Cellulose Produced from Sawmill Wastage: Crystallinity and Thermal Properties. *American Chemical Science Journal*, 9 (1), 1-8.

- Puri, V. P. (1984). Effect of crystallinity and degree of polymerization of cellulose on enzymatic saccharification. *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 1219-1222.
- Ragauskas, A.J. et al. (2014). Lignin valorization: improving lignin processing in the Biorefinery. *Science*, 344, 709-720.
- Ramakoti, B., Dhanagopal, H., Deepa, K., Rajesh, M., Ramaswamy, S., and Tamilarasan, K. (2019). Solvent fractionation of organosolv lignin to improve lignin homogeneity: Structural characterization. *Bioreource Technology Reports*, 100293, 6 pages.
- 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.
- Sayar, S., Jannink, J. L., and White, P. J. (2006). *In vitro* bile acid binding activity within flour fractions from oat lines with typical and high beta- glucan amounts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5142-5148.
- 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.
- Singh, A., Tuteja, S., Singh, N., and Bishnoi, N.R. (2011). Enhanced saccharification of rice straw and hull by microwave-alkali pretreatment and lignocellulolytic enzyme production. *Bioresource Technology*, 102 (2), 1773-1782.
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., and Crocker, D. (2012). Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. in *Laboratory Analytical Procedure (LAP) Version 08-03-2012*. NREL Laboratory Analytical Procedures for standard biomass analysis.
- Sluiter, A., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., and Templeton, D. (2008). Determination of extractives in biomass. in *Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 7/17/2005* Technical Report NREL/ TP- 510- 42619 January 2008. NREL Laboratory Analytical Procedures for standard biomass analysis.
- Sombatpraiwan, S., Junyusen, T., Treamnuk, T., and Junyusen, P. (2019). Optimization of microwave-assisted alkali pretreatment of cassava rhizome for enhanced enzymatic hydrolysis glucose yield. *Food Energy Security*, 00e00174, 15 pages.
- Song, C., Hu, H., Zhu, S., Wang, G., and Chen, G. (2004). Nonisothermal catalytic liquefaction of corn stalk in subcritical and supercritical water. *Energy Fuels*, 18 (1), 90-96.
- Stankovic, N., Mihajilov-Krstev, T., Zlatkovic, B., Stankov-Jovanovic, V., Mitic, V., Jovic, J., Comic, L., Kocic, B., and Bernsteine, N., (2016). Antibacterial and antioxidant activity of

- traditional medicinal plants from the Balkan Peninsula. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 78, 21–28.
- Stark, N.M., Yelle, D.J., and Agarwal, U.P. (2015). Chapter 4: Techniques for characterizing lignin. in *Lignin in Polymer Composites*. Elsevier Inc. (2016). pp. 49-65.
- Sun, R., Lawther, J. M. and Banks, W. B. (1997). Fractional isolation and physicochemical characterization of alkali-soluble lignins from wheat straw. *Holzforschung*, 51, 244-250.
- Sun, R., Tomkinson, J., and Bolton J. (1999). Effects of precipitation pH on the physicochemical properties of the lignins isolated from the black liquor of oil palm empty fruit bunch fiber pulping. *Polymer Degradation and Stability*, 63, 195-200.
- Sun, R.C., Tomkinson, J., Ma, P.L., and Liang, S.F. (2000). Comparative study of 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.
- Suttibuk, S., Sriprateep, K., and Pattiya, A. (2012). Production of bio-oil via fast pyrolysis of cassava rhizome in a fluidised-bed reactor. *Energy Procedia*, 14, 668-673.
- Terinte, N., Ibbetta, R., and Schuster, K. C. (2011). Overview on native cellulose and microcrystalline cellulose I structure studied by X-ray diffraction (WAXD): Comparison between measurement techniques. *Lenzinger Berichte*, 89, 118-131.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669–675.
- 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.
- Van Le, H., and Le, V.V.M. (2012). Comparison of enzyme-assisted and ultrasound-assisted extraction of vitamin C and phenolic compounds from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1206–1214.
- Vieito, C., Fernandes, É., Vaz Velho, M., and Pires, P. (2018). The effect of different solvents on extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of extracts from pine bark (*Pinus pinaster* subsp. *atlantica*) *Chemical Engineering Transactions*, 64, 6 pages.
- Watkins, D., Nuruddin, Md., Hosur, M., Tcherbi-Narteh, A., Jeelani, S. (2015). Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *Journal of Materials Research and Technology*, 4 (1), 26-32.

- Wen, J.-L., Sun, S.-L., Xue, B.-L. and Sun, R.-C. (2013). Quantitative structural characterization of the lignins from the stem and pith of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) Walter de Gruyter, *Holzforschung*. 13 pages. 10.1515/hf-2012-0162
- 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.
- Yarris, L. (2010). The evolutionary road to biofuels (online). Available URL: <http://www.lbl.gov/Publications/YOS/Feb/index.html>.
- Ying, W., Shi, Z., Yang, H., Xu, G., Zheng, Z., and Yang, J. (2018). Effect of alkaline lignin modification on cellulase–lignin interactions and enzymatic saccharification yield. *Biotechnol Biofuels*, 11 (214), 1-13.
- Yudkin, M., and Offord, R. (1973). *Comprehensible biochemistry*. American ed, *Biochemistry Bibliography*. p. 547-550.
- Zhang, L., Yan, L., Wang, Z., Laskar, D.D., Swita, M.S., Cort, J.R., and Yang, B. (2015). Characterization of lignin derived from water-only and dilute acid flowthrough pretreatment of poplar wood at elevated temperatures. *Biotechnol Biofuels*, 8, 203. 14 pages.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Wang, C., Yu, F., Jin, S., et al. (2006). Comparison of three microwave/chemical pretreatment process for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Biosystems Engineering*, 93, 279-283.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2557). ศักยภาพชีวมวลประเทศไทย [ออนไลน์] ได้จาก: http://www.dede.go.th/ewt_w3c/ewt_news.php?nid=486
- ชนันท์ นิวาสวงษ์ และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2555). การผลิตเซลลูโลสจากเอทานอลในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น* 40 (4): 1073-1088.
- ดาริกา อวะภาค, นพรัตน์ มะเท, และ ดลฤดี พิชัยรัตน์. (2556). การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายฝมนางโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง. *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น* 41 (2): 414-430.
- น้ำฝน ไชยลังกา, นักรบ นาคประสบ, และ ฤทธิชัย อัครวาจันย์. (2556). การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการอบแห้งแครอทแผ่นโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง. *ว.มท.ร.ส.* 1(2): 92-102.
- ปารเมศ ชูติมา. (2545). การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.
- รัชฎา แยมสรवल, รมชัย วังรัก, วิกานดา แก้วยอด, ดวงพร อมรเลิศพิศาล, ชนันท์ ราชภูร์นิยม และ ฤทธิชัย อัครวาจันย์ (2555). สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมในเปลือกทับทิมอบแห้ง. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ระดับชาติครั้งที่ 15 และระดับนานาชาติ ครั้งที่ 7. จังหวัดพระนครศรีอยุธยา.

- ศักยะ สมบัติไพรวรรณ. (2562). การปรับสภาพเหง้ามันปะหลังโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายต่างเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สมเกียรติ ตั้งจิตสิตเจริญ และ ภูมินทร์ แจ่มเชื้อ (2554). การลดฟองอากาศในกระบวนการผลิตบรรจุภัณฑ์พลาสติกโดยการประยุกต์ใช้การออกแบบการทดลองแบบบล็อกซ์-เบ้เห็นเคน. การประชุมวิชาการช่างงานวิศวกรรมอุตสาหการ ประจำปี 2554. จังหวัดชลบุรี.
- สุภาวดี ผลประเสริฐ. (2557). การปรับสภาพวัตถุดิบพอลิโพรพิลีนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่22. ฉบับที่ 5(ฉบับพิเศษ). หน้า 641.
- อโนทัย ตรีวานิช. (2551). คู่มือการใช้โปรแกรม SPSS for Windows. ขอนแก่น. หจก. ขอนแก่นการพิมพ์.
- อิศรพงษ์ พงษ์ศิริกุล. (2550). การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

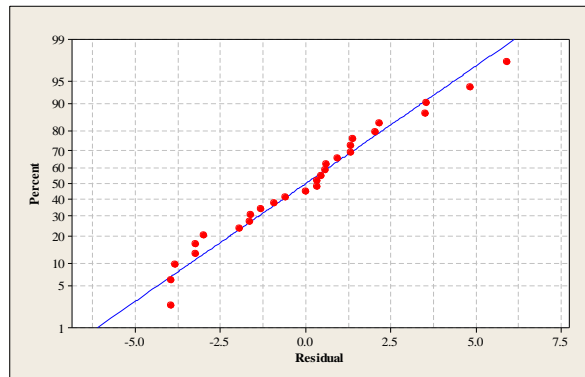


ภาคผนวก

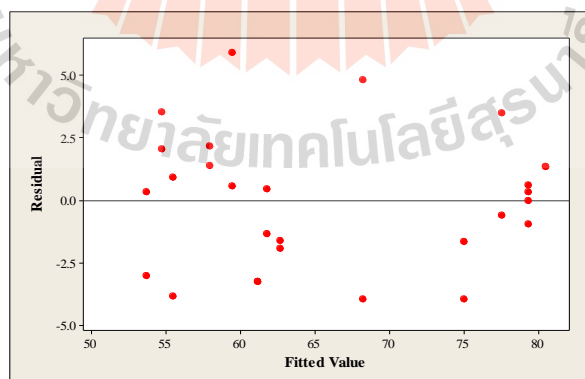
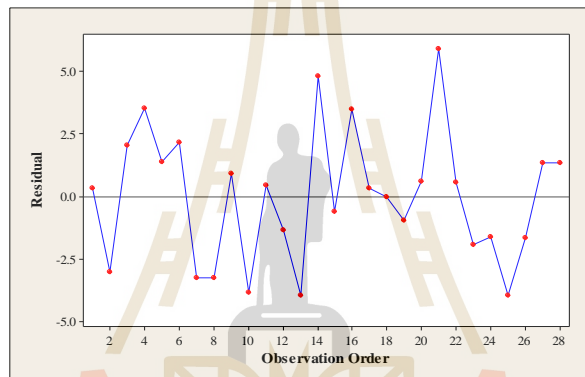
1. การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย เอนไซม์ที่ 24 h และ 48 h (Diagnostics and adequacy checking of glucan conversion)

จากการตรวจสอบความถูกต้องแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วย
เอนไซม์เป็นเวลา 24 h และ 48 h ดังแสดงในรูปที่ ก1 และรูปที่ ก2 ตามลำดับ พบว่า ส่วนตกค้างของข้อมูล
ที่ได้จากการทดลองเป็นไปตามเงื่อนไขทั้ง 3 ข้อ คือ การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ (รูปที่ ก1 A
และรูปที่ ก2 A) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล (รูปที่ ก1 B และรูปที่ ก2 B) และ การตรวจสอบ
ความเสถียรของความแปรปรวน (รูปที่ ก1 C และรูปที่ ก2 C) แสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมี
ความถูกต้องและเหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจและวิเคราะห์ความ
แปรปรวนต่อไป

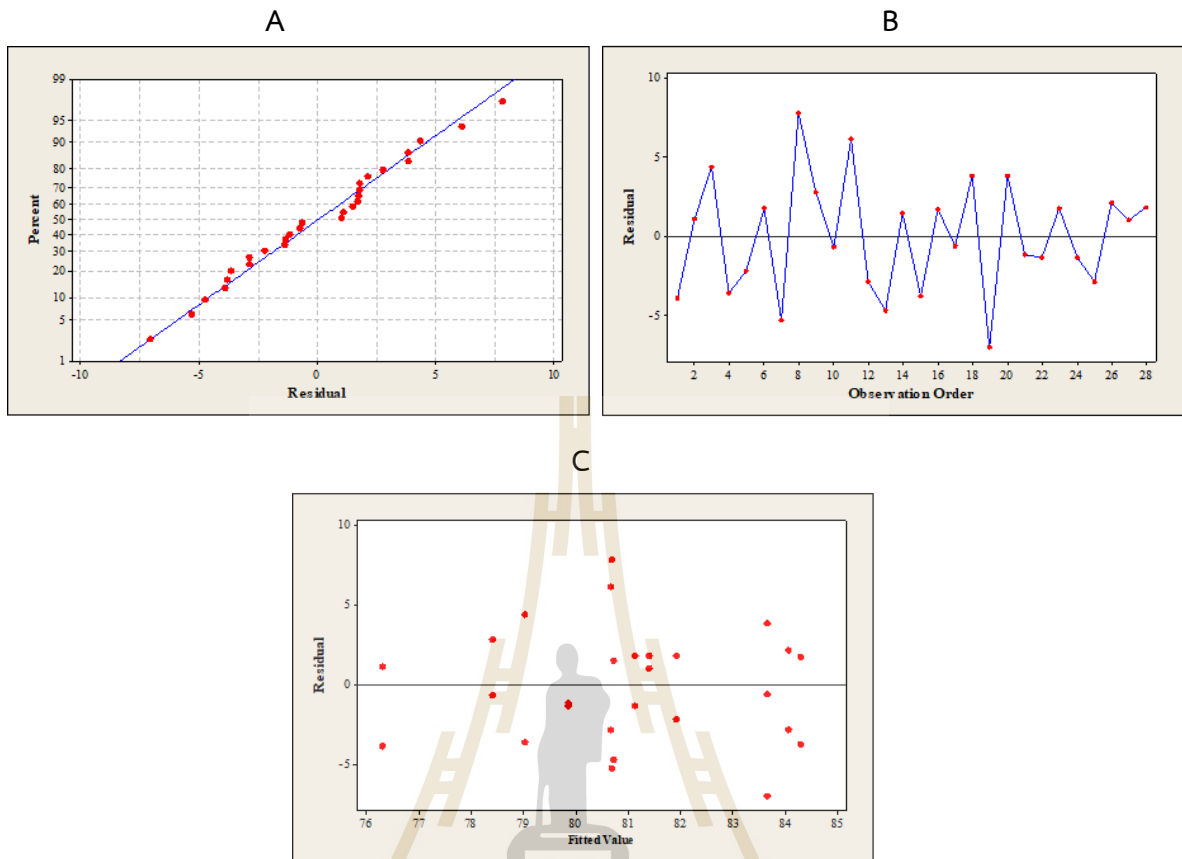
A



C



รูปที่ ก1 การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาล
 กลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 24 h: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบ
 ความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน



รูปที่ ก2. การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองของปริมาณการเปลี่ยนกลูแคนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ที่ 48 h: (A) การตรวจสอบการกระจายแบบแจกแจงปกติ; (B) การตรวจสอบความเป็นอิสระของข้อมูล; (C) การตรวจสอบความเสถียรของความแปรปรวน

ประวัติหัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธิดาพร จุลยุเสน สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท M.S. (Food Science and Technology) จาก Gyeongsang National University สาธารณรัฐเกาหลี และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอก Ph.D. (Food Science and Technology) จาก Oregon State University ประเทศสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันดำรงตำแหน่งอาจารย์ประจำสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีผลงานวิชาการและผลงานวิจัยด้านพลังงานทดแทนและการแปรรูปอาหาร

การเผยแพร่งานวิจัย

งานวิจัยเรื่อง การพัฒนาการปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างเพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำตาลกลูโคสและลิกนิน ได้นำข้อมูลบางส่วนไปเผยแพร่ดังนี้

1. ณัฐพร ชัชวาลธาดารี, ธิดาพร จุลยุเสน, นาฏนภางค์ พามขุนทด, ศิริพร สอนสมบูรณ์สุข, วีรชัย ออาจหาญ, และพยุงค์กดี จุลยุเสน. 2561. การปรับสภาพเหง้ามันสำปะหลังด้วยต่างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายด้วยเอนไซม์. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ระดับชาติ ครั้งที่ 19 และการประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ระดับนานาชาติ ครั้งที่ 11 วันที่ 26-27 เมษายน 2561 หน้า 442-448
2. ศักยะ สมบัติไพรวัน. 2562. วิทยานิพนธ์เรื่องการพัฒนาการปรับสภาพเหง้ามันปะหลังโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายต่างเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี