วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างผักตบชวา

1.1 ตัวอย่างผักตบชวาที่นำมาใช้ในงานวิจัยประกอบด้วย ต้น ใบ และราก นำตัวอย่างผักตบชวามาล้างให้สะอาด นำไปตากแดดให้แห้ง จากนั้นนำไปอบด้วยตู้อบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง บดตัวอย่างผักตบชวาที่อบแห้ง และนำมาร่อนผ่าน sieve ขนาด 710 μm

1.2 แบ่งตัวอย่างผักตบชวาที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 เป็น 5 ส่วน ส่วนละ 300 กรัม นำไปฉายรังสีแกมมา 100, 300, 500, 700 และ 900 kGy ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างที่ฉายรังสีแล้วไปอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปเก็บไว้ใน desicator เพื่อป้องกันความชื้น จะได้ตัวอย่างผักตบชวาที่พร้อมจะนำไปทดลองต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างผักตบชวา

นำตัวอย่างผักตบชวาที่ยังไม่ได้ฉายรังสีแกมมา จำนวน 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยวิธีของ Van Soest **[10]** ดังแสดงในภาคผนวก ก

3. การวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

การหาชนิดและปริมาณน้ำตาลในสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยเครื่อง HPLC ทำได้โดยนำสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ และปรับค่า pH แล้ว ไปวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้เงื่อนไขดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เงื่อนไขในการวิเคราะห์น้ำตาลจากสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์

เงื่อนไข	
Column	Lichrocart - NH_2 ขนาด 250 x4 mm
Mobile phase	89% acetonitrile in H_2O
Injection volume	20 μl
Detector	ELSD

4. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 kGy ด้วยกรดซัลฟูริก

4.1 การไฮโดรไลซ์ผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 kGy ด้วยกรดซัลฟูริก ที่อุณหภูมิ 100 °C

4.1.1 นำตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 kGy จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กรัม ใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 3% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง นำไปไฮโดรไลซ์ที่อุณหภูมิ 100 °C ใน water bath เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง, 20 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง, 30 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง, 40 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง และ 60 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง กรองตัวอย่างที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ จะได้สารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรด และกากที่เหลือ ปรับค่า pH ของสารละลายของน้ำตาลที่ได้ด้วย $Ba(OH)_2$ ให้มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล

4.1.2 ทำการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างผักตบชวาเช่นเดียวกับข้อ 1 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเป็น 5% และ 7% (มวลต่อปริมาตร) ตามลำดับ

4.1.3 นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 ไปวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

4.2 การไฮโดรไลซ์ผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 kGy ด้วยกรดซัลฟูริก ที่อุณหภูมิ 121 °C

4.2.1 นำตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 kGy จำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กรัม ใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 3% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง นำเข้าเครื่อง autoclave เพื่อไฮโดรไลซ์ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง, 30 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง, 40 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง และ 60 นาที จำนวน 2 ตัวอย่าง กรองตัวอย่างที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ จะได้สารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรด และกากที่เหลือ ปรับค่า pH ของสารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรดด้วย $Ba(OH)_2$ ให้มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล

4.2.2 ทำการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างผักตบชวาเช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเป็น 5% และ 7% (มวลต่อปริมาตร) ตามลำดับ

4.2.3 นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากข้อ 4.2.1 และ 4.2.2 ไปวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

4.2.4 กากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ในข้อ 4.2.1 จะนำไปไฮโดรไลซ์ในขั้นตอนต่อไป

4.3 การไฮโดรไลซ์กากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ครั้งที่ 1 ของผักตบชวา

4.3.1 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 4.2.1 และ 4.2.2 ที่ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดมาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 10% และ 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการ ไฮโดรไลซ์ 30, 60 และ 120 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 121 °C จะได้สารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรด และกากที่เหลือ กรองสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

4.3.2 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 4.3.1 ที่ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดมาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

4.3.3 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 4.3.2 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

4.3.4 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 4.3.3 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

5. การไฮโดรไลซ์ผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 100, 300, 700 และ 900 kGy ด้วยกรดซัลฟูริก

5.1 นำตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 100, 300, 700 และ 900 kGy มาอย่างละ 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 กรัม ใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 3% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง นำเข้าเครื่อง autoclave เพื่อไฮโดรไลซ์ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที กรองตัวอย่างที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ จะได้สารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรด และกากที่เหลือ ปรับค่า pH ของสารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรดด้วย $Ba(OH)_2$ ให้มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

5.2 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 5.1 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

5.3 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 5.2 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

5.4 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 5.3 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

5.5 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 5.4 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 20 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

6. การผลิตน้ำตาลจากผักตบชวา โดยการฉายรังสีแกมมาร่วมกับกรดซัลฟูริก จากสภาวะที่เหมาะสม

6.1 นำตัวอย่างผักตบชวาที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 500 และ 900 kGy อย่างละ 2 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 8 กรัม ใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 3% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 80 มิลลิลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง นำเข้าเครื่อง autoclave เพื่อไฮโดรไลซ์ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 นาที กรองตัวอย่างที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ จะได้สารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรดและกากที่เหลือ ปรับค่า pH ของสารละลายของน้ำตาลที่ปนอยู่กับกรดด้วย $Ba(OH)_2$ ให้มีค่า pH อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

6.2 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 6.1 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 80 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของ

น้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

6.3 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 6.2 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 80 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

6.4 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 6.3 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 80 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

6.5 นำกากที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ตัวอย่างในข้อ 6.4 มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วย 15% กรดซัลฟูริก (มวลต่อปริมาตร) จำนวน 80 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ 60 นาที ที่อุณหภูมิ 121 °C กรองสารละลายของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ ปรับค่า pH ให้อยู่ระหว่าง 5-6 กรองสารละลายของน้ำตาลเพื่อแยกออกจากตะกอนที่เกิดขึ้น จะได้สารละลายของน้ำตาล นำสารละลายของน้ำตาลที่ได้ไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC