ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)

ปริญญา

วิศวกรรมเคมี	วิศวกรรมเคมี
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าและการกำจัดสารพิษ

The Study of Optimal Condition of Hydrolysis of Banana Peel (*Musa sapientum* Linn.) and Detoxification

นามผู้วิจัย นางสาวดรุณวรรณ ชื่นบุบผา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์เมธา, D.Eng.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์สุคันธรส ธาดากิตติสาร, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์ผึ่งผาย พรรณวดี, D.Sc.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าและการกำจัดสารพิษ

The Study of Optimal Condition of Hydrolysis of Banana Peel (*Musa sapientum* Linn.) and Detoxification

โดย

นางสาวดรุณวรรณ ชื่นบุบผา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)
พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดรุณวรรณ ชื่นบุบผา 2553: การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าและการกำจัดสารพิษ ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี) สาขาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์เมธา, D.Eng. 85 หน้า

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยแบ่งการศึกษาเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยใช้กรดซัลฟิวริก ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 2-10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยา15-75 นาที โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลาในการทำปฏิกิริยา 45 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 34.2 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้การไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์พลอยได้ 3ชนิด คือ สารเฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การศึกษาในส่วนที่ 2 จะศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษได้ทั้ง 3 ชนิดที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรด โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการกำจัดสารพิษทางเคมีด้วยวิธีการต่างๆ คือ การกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ การกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้เรซิน และ การกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้ถ่านกัมมันต์ พบว่า การกำจัดเฟอฟูรอลนั้นสามารถกำจัดได้ทุกวิธี 100 เปอร์เซ็นต์ การกำจัดสารประกอบฟีนอลิกและ5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด คือ การใช้ถ่านกัมมันต์ ซึ่งสามารถลดสารประกอบฟีนอลิก และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลได้ 80.73 เปอร์เซ็นต์ และ 98 เปอร์เซ็นต์

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Darunwan Chuenbubpar 2010: The Study of Optimal Condition of Hydrolysis of Banana Peel (*Musa sapientum Linn*.) and Detoxification. Master of Engineering (Chemical Engineering), Major Field: Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering. Thesis Advisor: Assistant Professor Anusith Thanapimmetha, D.Eng. 85 pages.

This research was divided into 2 sections. The first section was investigated the optimum condition for reducing sugar production from banana peel using acid hydrolysis. The effect of sulfuric acid concentration (2-10%), temperature (30-90 °C) and reaction time (15-75 min) was studied. The results showed that the optimum condition was obtained at 4% sulfuric acid, 90 °C for 45 minutes which gave the highest reducing sugar of 34.2 g/L. Due to the by-product from hydrolysis by sulfuric acid such as furfural, 5-hydroxymethylfurfural and phenolic compound can inhibit on cell growth. Therefore, the treatment method was investigated in order to eliminate the toxic during process. The second section was investigated the techniques of detoxification for reducing sugar such as detoxification method using calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$), resin and activated carbon. The results showed that 100% furfural can be completely removed by all techniques, 80.73% of phenolic compound and 98% of 5-hydroxymethylfurfural can be efficiently removed from the reducing sugar when activated carbon was used.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุสิษฐ์ ธนะพิมพ์เมธา ที่คอยดูแล ให้คำแนะนำ คำปรึกษาตลอดการศึกษาวิจัย ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ และดร.สุคันธรส ธาดากิตติสาร ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ รวมทั้งแนะนำแนวทางการทำงานพร้อมทั้งให้คำปรึกษา ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยนี้ อีกทั้งขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ เจริญไชยตระกูล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธินันท์ ท่อแก้ว ที่กรุณาสละเวลาเพื่อเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงให้คำแนะนำและแนวคิดที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อข้าพเจ้า

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวิศวกรรมชีวกระบวนการ และภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในการทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมี รวมถึงเพื่อนๆพี่ๆน้องๆในภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด และขอขอบคุณหน่วยเทคโนโลยีเอนไซม์และการกำจัดของเสีย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่ทุกคน ที่ช่วยแนะนำและดูแลการใช้เครื่องมือวิเคราะห์

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านปิโตรเลียมปิโตรเคมีและวัสดุขั้นสูง และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนในด้านทุนวิจัยและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่คอยเป็นกำลังใจและห่วงใยอย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งให้การสนับสนุนในการศึกษาของข้าพเจ้า

ดรุณวรรณ ชื่นบุบผา

พฤศจิกายน 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	34
อุปกรณ์	34
วิธีการ	35
ผลและวิจารณ์	44
สรุปและข้อเสนอแนะ	56
สรุป	56
ข้อเสนอแนะ	57
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	58
ภาคผนวก	64
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมีและการวิเคราะห์	65
ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลอง	77
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	85

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	6
2	ผลการศึกษาดัชนีสีเปลือกกับปริมาณแป้งและน้ำตาลของกล้วยหอมทอง	7
3	ตารางการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการไฮโดรไลซิสด้วยกรด	19
4	องค์ประกอบของเปลือกกล้วยกล้วยน้ำว้าระยะสุกที่ 6	41
5	แสดงองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสก่อนและหลังการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที	45
6	องค์ประกอบของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก 4เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที	48
7	ปริมาณสารพิษก่อนและหลังการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	49
8	ปริมาณสารพิษก่อนและหลังของการกำจัดด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์	50
9	ปริมาณสารปนเปื้อนก่อนและหลังของการกำจัดด้วยเรซิน	51
10	ปริมาณสารพิษก่อนและหลังของการกำจัดด้วยถ่านกัมมันต์	52

ตารางผนวกที่

ก1	แสดงค่า Retention time และสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ ใต้กราฟ y และความเข้มข้น x ของน้ำตาลแต่ละชนิด	65
ข1	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่างๆของการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยกรดเจือจางที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที	69
ข2	อุณหภูมิต่างๆของการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เวลา 15 นาที	69
ข3	เวลาในการไฮโดรไลซิสกล้วยด้วยกรดเจือจางที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 45 นาที	70

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข4	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	76
ข5	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์	77
ข6	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยถ่านกัมมันต์	77
ข7	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยเรซิน	77
ข8	ปริมาณเฟอฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยแสดงเป็นพื้นที่ใต้กราฟ	78
ข9	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าก่อนและหลังการกำจัดสารพิษ ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 735 นาโนเมตร	79

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กล้วยน้ำว้า	4
2	ลักษณะของกล้วยที่คัดเลือกตาม Peel Index Color	6
3	โครงสร้างของอะมิโลส	9
4	โครงสร้างของอะมิโลเพกติน	9
5	ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส	10
6	ลักษณะไฟบริลที่เรียงตัวขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจน	11
7	โครงสร้างเซลลูโลสที่พบในผนังเซลล์ของพืชทั่วไป	12
8	โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	13
9	สูตรโครงสร้างของลิกนิน	15
10	การตัดพันธะของเซลลูโลสด้วยกรด	17
11	การย่อยสลายโมเลกุลเซลลูโลสด้วยด่าง	18
12	แสดงการเกิดตัวยับยั้งจากส่วนต่างๆของพืช	20
13	ตัวอย่างน้ำตาลรีดิวซ์	22
14	สูตรโครงสร้างของ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล	22
15	สมการการย่อยของเฮกโซส ด้วยสารละลายกรด	23
16	สูตรโครงสร้างของเฟอฟูรอล	23
17	สมการการย่อยของแพนโตสด้วยสารละลายกรด	24
18	แสดงโครงสร้างของกรดแทนนิก	24
19	แคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ	26
20	เรซินที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ	27
21	ถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ	28
22	แสดงถึงลักษณะของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ทำการทดลอง	33
23	ลักษณะของเปลือกกล้วยที่ใช้ในการทดลอง	34
24	ขั้นตอนการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของเปลือกกล้วยน้ำว้า	36
25	ขั้นตอนการทดลอง	36
26	การไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยแปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที	42

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
27	การไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส	43
28	การไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา คือ 15 30 45 60 และ 75 นาที	44
29	โมเลกุลลิกนินที่ยึดติดกับไมโครไฟบรินของเซลลูโลส	46
30	ภาพปฏิกิริยาการเกิดน้ำตาลจาก 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล	47
31	ลักษณะโครงสร้างของเรซิน	49

ภาพผนวกที่

ก1	กราฟมาตราฐานของสารละลายกลูโคสโดยวิธีของ Miller	62
ก2	กราฟสารละลายกรดแทนนิคมาตราฐานโดยใช้สารละลาย Folin-ciocultue	63
ก3	แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส	66
ก4	แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซส	66
ก5	แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกาแลกโตส	67
ก6	แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลอะราบิโนส	67
ก7	แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลแมนโนส	67
ก8	กราฟสารละลายกรดแทนนิกมาตราฐานโดยใช้สารละลาย Folin-ciocultue	69
ก9	เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	70
ก10	กราฟมาตราฐานของสารละลายไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล	71
ก11	กราฟมาตราฐานของสารละลายเฟอฟูรอล	72
ข1	ตัวอย่างปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลมาตราฐาน	80
ข2	ตัวอย่างปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรดซัลฟิวริก	81

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าและการกำจัดสารพิษ

The Study of Optimal Condition of Hydrolysis of Banana Peel (*Musa sapientum* Linn.) and Detoxification

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความต้องการใช้พลังงานในเชิงพาณิชย์สูง โดยเฉพาะน้ำมันสำหรับใช้ในการขนส่ง จากวิกฤติการณ์ราคาน้ำมันในปี 2549-2550 ราคาน้ำมันได้ขึ้นไปทำราคาสูงสุดถึง 150 ดอลลาร์ต่อบาร์เรลหรือประมาณ 37 บาทต่อลิตร ทำให้ราคาสินค้ามีราคาเพิ่มขึ้นและราคาค่าขนส่งเพิ่มขึ้น ในขณะที่ศักยภาพในการผลิตน้ำมันของประเทศนั้นสามารถผลิตได้เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณความต้องการใช้น้ำมันภายในประเทศ ดังนั้นรัฐบาลจึงให้ความสำคัญในการพัฒนาศักยภาพ และลดการนำเข้าพลังงานน้ำมัน โดยส่งเสริมให้มีการผสมเอทานอลในน้ำมันเบนซีนในรูปของแก๊สโซฮอล์

การผลิตเอทานอลสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การสังเคราะห์ทางเคมี (Chemical Synthesis) และการหมักโดยจุลินทรีย์ (Microbial Fermentation) เอทานอลที่ผลิตจากการสังเคราะห์ทางเคมีนั้นจำเป็นต้องมีการใช้ก๊าซธรรมชาติเป็นสารตั้งต้น และจำเป็นต้องมีการลงทุนสูง ในขณะที่การผลิตเอทานอลจากการหมักโดยจุลินทรีย์นั้น สามารถใช้วัตถุดิบภายในประเทศ และมีการลงทุนต่ำสามารถใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่ได้ และเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย วัตถุดิบที่สามารถหมักด้วยจุลินทรีย์เพื่อผลิตเอทานอลนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ วัตถุดิบประเภทน้ำตาล วัตถุดิบประเภทแป้ง และวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ซึ่งในกรณีที่วัตถุดิบเป็นประเภทแป้งหรือลิกโนเซลลูโลสนั้น จะต้องมีการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสให้เป็นน้ำตาลเสียก่อนที่จะนำไปหมักเป็นเอทานอล การไฮโดรไลซิสสามารถทำได้โดยใช้สารเคมี (Chemical Hydrolysis) หรือเอนไซม์ (Enzyme Hydrolysis) แต่การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์นั้นมีข้อเสียคือ ปฏิกิริยาดำเนินไปได้ช้า และเอนไซม์มีราคาแพง ส่วนการไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมีนั้นมีข้อดีคือ ปฏิกิริยาเกิดง่าย เร็ว และสารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยานั้นมีราคาถูกและหาง่าย (Karimi *et al.,* 2006a; Hernandez *et al.,* 2009) แต่ข้อเสียของการไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมีนั้น มักจะทำให้เกิดสารพิษในผลิตภัณฑ์ สารพิษที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวยับยั้งที่มีผลต่อการหมักเอทานอลด้วยยีสต์ จึงมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษเหล่านี้โดยใช้วิธีต่างๆ เช่น การกำจัดด้วยสารเคมี การกำจัดด้วยเอนไซม์ การกำจัดด้วยเรซิน และการกำจัดด้วยถ่านกัมมันต์

ในปัจจุบันมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหลายชนิดที่สามารถนำมาผลิตเอทานอลได้ เช่น กากมันสำปะหลัง ซังข้าวโพด ชานอ้อยและฟางข้าว (Eklund and Zacchi, 1995; Sreenath *et al.,* 2001; Matin *et al.,* 2002; Tasic *et al.,* 2009) ซึ่งเป็นวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสสามารถนำไปไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ และใช้เป็นวัตถุดิบหมักเพื่อผลิตเอทานอลต่อไป

งานวิจัยนี้เลือกศึกษาการนำเปลือกกล้วยมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อผลิตเอทานอล เนื่องจากกล้วยเป็นผลไม้ที่สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี และการใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่นั้นจะใช้ประโยชน์เฉพาะจากผลกล้วย ซึ่งผลกล้วยสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น กล้วยฉาบ กล้วยบด กล้วยอัดเม็ด กล้วยแช่แข็ง จึงทำให้เหลือเปลือกกล้วยทิ้งเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะขยะจากเปลือกกล้วยน้ำว้าซึ่งมากถึง 200 ตันต่อวัน (คม ชัด ลึก, 2550) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกกล้วยแห้ง พบว่ามีคาร์โบไฮเดรตถึง 63.6 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 11.7 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเยื่อใย 8.6 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 8.6 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆอีก 7.5 เปอร์เซ็นต์ (Hammond and Egg, 1996) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเปลือกกล้วยมาไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยจะศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ คือ ความเข้มข้นของกรด อุณหภูมิและเวลาในการไฮโดรไลซิส จากนั้นนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้หลังการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า มาทำการกำจัดสารพิษโดยเทคนิคทางเคมีชนิดต่างๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ จากกระบวนการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรด

2. เปรียบเทียบเทคนิคและวิธีการกำจัดสารพิษต่างๆ ในน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรด

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรดซัลฟิวริก โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษา คือ ความเข้มข้น 2-10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส และ เวลา 15-75 นาที และนำมากำจัดสารพิษทางเคมี เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ กำจัดสารพิษโดยเรซิน กำจัดสารพิษโดยถ่านกัมมันต์ สารพิษที่ทำการศึกษาได้แก่ เฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

กล้วยน้ำว้า

กล้วยน้ำว้ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum Linn. (AAB group) "Klui Namwa"* เกิดจากการผสมของกล้วยป่า 2 ชนิด คือ *Musa acuminate* และ *Musa balbisaina* ดังแสดงในภาพที่ 1 กล้วยเป็นพืชที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับคนไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่ายในทุกภาคของประเทศ เติบโตเร็ว ให้ผลตลอดปี (เบญจมาศ, 2545) ผลกล้วยเหมาะต่อการบริโภคสำหรับทุกเพศทุกวัย ตั้งแต่ทารกจนถึงวัยชรา เพราะเป็นผลไม้ที่อุดมด้วยคุณค่าทางอาหารในการบริโภคสด หรือ การแปรรูปเป็นอาหารทั้งคาวและหวาน ส่วนอื่นๆของกล้วย ยังสามารถนำไปใช้ทำประโยชน์ได้หลากหลาย

ภาพที่ 1 กล้วยน้ำว้า

1. การใช้ประโยชน์ของกล้วยน้ำว้า

การใช้ประโยชน์จากกล้วยน้ำว้านั้น สามารถใช้ได้ทั้งลำต้น ใบ และ ผล โดยมีการใช้ประโยชน์ดังนี้คือ

ส่วนผล ผลสุกนอกจากจะใช้รับประทานเป็นผลไม้แล้ว ยังสามารถนำมาปรุงอาหารคาวหวาน และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปชนิดต่าง ๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนใบ สามารถนำไปใช้ห่อของ ทำงานประดิษฐ์ศิลป์ต่าง ๆ ใบตองแห้งใช้ทำกระทงใส่อาหาร และใช้ห่อผลไม้

ก้านใบและกาบกล้วย ใช้ทำเชือก กาบสดใช้สำหรับการแทงหยวกประกอบเมรุในการฌาปนกิจศพ

หัวปลี ใช้รับประทานแทนผักได้

ด้วยเหตุนี้เองการใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆของกล้วยน้ำว้านั้น สามารถใช้ได้ทั้งต้น แต่เปลือกกล้วยน้ำว้ายังมีเหลือเป็นวัสดุเหลือทิ้ง ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่า

2. เปลือกกล้วยน้ำว้า

สำหรับการใช้ประโยชน์จากกล้วยนั้น โดยส่วนใหญ่จะใช้ผลของกล้วยเพื่อเป็นทั้งผลไม้และอาหารแปรรูปต่างๆ เช่น กล้วยบด กล้วยแช่แข็ง กล้วยแผ่น กล้วยตาก กล้วยอัดเม็ด ด้วยสาเหตุนี้เองจึงมีเปลือกกล้วยเป็นของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก จะสังเกตได้จากปริมาณพื้นที่ในการเพาะปลูกของเกษตรกร พบว่า กล้วยน้ำว้าสามารถผลิตออกสู่ตลาดได้ตลอดทั้งปี พื้นที่เพาะปลูกกล้วยน้ำว้าปี 2551/52 มีประมาณ 686,937 ไร่ ผลผลิต 1,115,101 ตัน ทั้งพื้นที่เพาะปลูก และผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.4 และ 0.06 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปีที่ผ่านมา (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

เปลือกกล้วยมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้ง และเมื่อสุกจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาล จะเห็นว่าการมีปริมาณแป้งและน้ำตาลที่สูง ทำให้เปลือกกล้วยมีความเหมาะสมที่จะสามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้เช่นเดียวกับ มันสำปะหลัง หรือ กากน้ำตาล นอกจากนั้นเปลือกกล้วยยังมีปริมาณเยื่อใยที่มากพอที่สามารถจะนำมาผลิตเป็นเอทานอลอีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 1

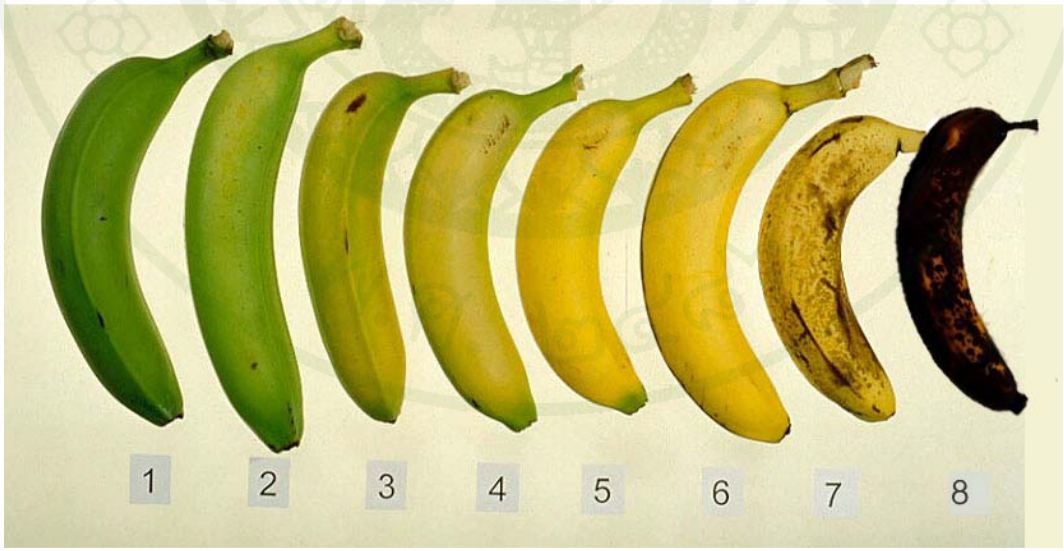
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย

ส่วนประกอบทางเคมี	เปลือกกล้วย (เปอร์เซ็นต์)
คาร์โบไฮเดรต	63.6
ปริมาณเยื่อใย	8.6
เถ้า	11.7
ไขมัน	8.6
อื่นๆ	7.5

ที่มา: Hammond and Egg (1996)

การเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกกล้วยนั้น จะเกิดขึ้นในระหว่างการสุก เนื่องจากคลอโรฟิลด์จะมีการสร้างและสลายตัวอยู่ตลอดเวลา แต่ในระหว่างการสุกนั้นจะเกิดการสลายตัวมากกว่าซึ่งทำให้คลอโรฟิลด์หมดลงไป และเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ดังนั้นจึงใช้ค่าดัชนีสีของเปลือกกล้วยเป็นตัวกำหนดระยะสุก เรียกว่า ดัชนีของเปลือกกล้วย (PCI, Peel Color Index) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 และภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะของกล้วยที่คัดเลือกตาม Peel Index Color

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาดัชนีสีเปลือกกับปริมาณแป้งและน้ำตาลของกล้วยหอมทอง

PCI	สีเปลือก	แป้ง (เปอร์เซ็นต์)	น้ำตาล (เปอร์เซ็นต์)	หมายเหตุ
1	เขียว	21.13	0.75	แข็ง ปอกเปลือกยาก เนื้อกล้วยสีขาว ไม่มีกลิ่นกล้วย
2	เขียว มีเหลืองเล็กน้อย	18.40	2.69	แข็ง ปอกเปลือกยาก เนื้อกล้วยมีสีขาว ไม่มีกลิ่นกล้วย
3	มีสีเขียวมากกว่าสีเหลือง	16.10	4.77	เนื้อนิ่มลง สีของเนื้อกล้วยยังคงขาว ไม่มีกลิ่นกล้วย
4	มีสีเหลืองมากกว่าสีเขียว	12.46	8.21	เนื้อกล้วยนิ่ม เริ่มปอกเปลือกได้ง่าย เนื้อกล้วยมีสีเหลืองอ่อนแต่ยังไม่มีกลิ่น
5	สีเหลืองปลายเขียว	6.80	13.71	เริ่มมีกลิ่นกล้วยหอม
6	สีเหลืองทั้งผล	3.30	17.62	ปอกเปลือกได้ง่าย ผลกล้วยยังคงแน่น
7	สีเหลืองเริ่มมีจุดน้ำตาล	2.36	18.54	กล้วยสุกเต็มที่ กลิ่นหอมมาก
8	สีเหลืองมีสีน้ำตาลมากขึ้น	1.25	19.86	กล้วยสุกเกินไป เนื้อกล้วยอ่อนตัวลงมาก

PCI = Peel Color Index

ที่มา: จินตนา (2534)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. องค์ประกอบหลักในเปลือกกล้วย

ส่วนประกอบส่วนใหญ่ในเปลือกกล้วยและพืชชนิดอื่นๆ คือ คาร์โบไฮเดรต โดยอาจจะมีคาร์โบไฮเดรตมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง คาร์โบไฮเดรตสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆได้ดังนี้ คือ คาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว (Simple Carbohydrate) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีสารชนิดอื่นประกอบอยู่ในโมเลกุล และคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (Complex Carbohydrate) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีสารชนิดอื่น เช่น ไขมันหรือโปรตีนประกอบในโมเลกุลด้วย แต่ในงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงเฉพาะคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยวซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภทดังนี้คือ

1. โมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharides) เป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรต มีสูตรอย่างง่าย (Empirical Formula) คือ $(CH_2O)_n$ โดย n มีจำนวนตั้งแต่ 3 ขึ้นไป (ที่พบมากคือ 5 และ 6 แต่อาจมีค่าได้ถึง 9) โมโนแซคคาไรด์ ที่รู้จักกันดี คือพวกที่ประกอบด้วย น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส ฟรุกโตส และแมนโนส เป็นต้น

2. โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วยโมโนแซคคาไรด์ในช่วง 2-20 หน่วย โอลิโกแซคคาไรด์ ที่รู้จักกันดีคือ พวกที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 2 หน่วย เช่น น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลมอลโตส เป็นต้น

3. พอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์มากกว่า 20 หน่วย มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Bond : – C – O – C –) เป็นสายยาว พอลิแซคคาไรด์ แตกต่างกันที่ชนิดและจำนวนของโมโนแซกคาไรด์ ที่เป็นองค์ประกอบ บางชนิดเป็นสายโซ่ยาวตรง บางชนิดมีกิ่งก้านแยกออกไป ตัวอย่างพอลิแซคคาไรด์ในพืช ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และแทนนิน เป็นต้น

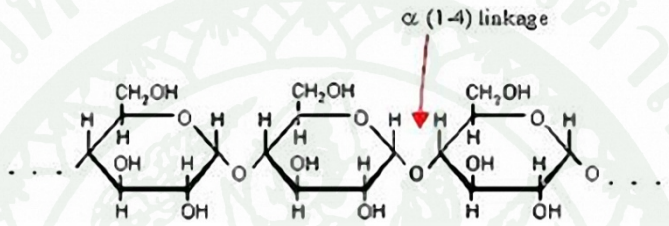
3.1 แป้ง (Strach)

แป้ง เป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอยู่ในพืช พบทั้งในใบ ลำต้น ราก ผล และเมล็ด แป้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลักๆ ตามขนาดโมเลกุล และลักษณะการจัดเรียงตัว คือ อะไมโลส (Amylose) ซึ่ง มีขนาดเล็กและมีกิ่งก้านสาขาเพียงเล็กน้อย และอะไมโลเพกติน (Amylopectin) ซึ่งมีขนาดใหญ่และมีกิ่งก้านสาขามากมาย ในแป้งมีอะไมโลสประมาณ 10-30 เปอร์เซ็นต์ และอะไมโลเพกติน ประมาณ 70-90 เปอร์เซ็นต์ อะไมโลสประกอบด้วยกลูโคส 200 – 1,500 โมเลกุล ซึ่งต่อกันเป็นโซ่ยาวแบบไม่มีกิ่ง และขดเป็นเกลียวแบบเฮลิกซ์ ส่วนอะไมโลเพกตินจะมีโครงสร้างต่างจาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อะไมโลส คือ นอกจากกลูโคสต่อเป็นโซ่ยาวแล้วยังมีการต่อแบบกิ่งด้วย โดยกลูโคสต่อกันเป็นโซ่ยาว 12 ถึง 25 โมเลกุลจะแตกกิ่งครั้งหนึ่ง และส่วนที่เป็นโซ่กิ่งมีกลูโคสต่อกัน 20 ถึง 25 โมเลกุล อะไมโลเพกติน ประกอบด้วยกลูโคส 2,000 – 200,000 โมเลกุล

1) อะไมโลส เป็นพอลิเมอร์เชิงเส้น ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-ไกลโคซิดิก น้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสจะอยู่ในช่วงประมาณ 1,000-15,000 ซึ่งแตกต่างไปตามชนิดของแป้งดังแสดงในภาพที่ 3

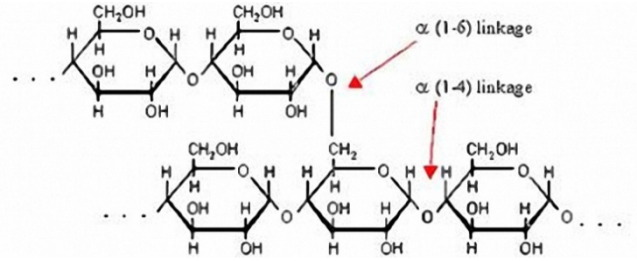


ภาพที่ 3 โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา : ดุษฎี (2550)

2) อะไมโลเพกติน เป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิก และส่วนของกิ่งที่เป็นพอลิเมอร์สายสั้นเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,6-ไกลโคซิดิก ดังแสดงในภาพที่ 4 จะมีอยู่ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพกตินทั้งหมด ด้วยโครงสร้างที่เป็นแบบกิ่งก้าน อะไมโลเพกตินจะจับกันเป็นกลุ่มทำให้เกิดเป็นเกลียวคู่ ซึ่งช่วยให้เม็ดแป้งมีความคงทนต่อการทำปฏิกิริยาด้วยกรดและเอนไซม์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 โครงสร้างของอะไมโลเพกติน

ที่มา : ดุษฎี (2550)

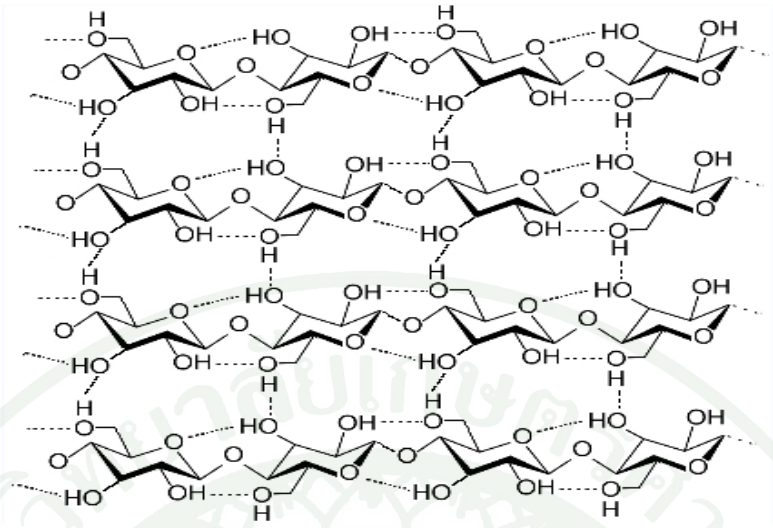
3.2 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดในเซลล์พืช พบตามผนังเซลล์ของพืชทุกชนิด มีหน้าที่ช่วยทำให้พืชมีโครงสร้างแข็งแรง ในธรรมชาติจะไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระ แต่มักจะพบรวมกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลส กัม เพนโตแซน แทนนิน ไขมัน และสารเกิดสี

เซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของดี-กลูโคส ในรูปเบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (β-D-glucopyranose) หลายโมเลกุลเรียงต่อกันเป็นโครงสร้างคล้ายลูกโซ่ แต่ละโมเลกุลจับกันด้วยพันธะ β-1,4-ไกลโคสิดิก ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่1 ของกลูโคส กับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 ของกลูโคสโมเลกุลถัดไป

โดยรูปแบบ (Conformation) ของการจัดเรียงตัวของหน่วยดี-กลูโคสจะอยู่ในลักษณะเป็นรูปเก้าอี้ ดังแสดงดังภาพที่ 5 แต่ละโมเลกุลในสายเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวนของโมเลกุลถัดไป และเชื่อมต่อระหว่างสายเซลลูโลสที่ขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลดี-กลูโคสในอีกสายหนึ่ง การเรียงตัวของสายเซลลูโลสมีลักษณะเป็นเส้นตรงไม่มีแขนงย่อย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



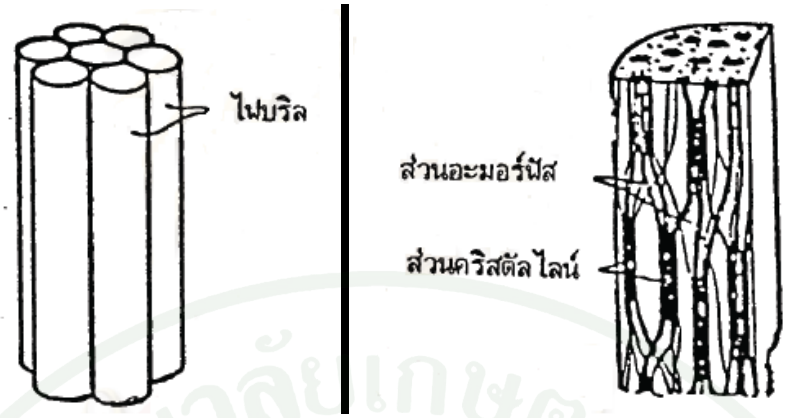
ภาพที่ 5 ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลกลูโคสในเซลลูโลส

ที่มา : สันทนา (2539)

หน่วยย่อยของดี-กลูโคสต่อ1โมเลกุลเซลลูโลส จะมีตั้งแต่ 15 หน่วยจนถึง 14,000 หน่วย น้ำหนักโมเลกุลมีค่า 50,000-2,500,000 ดาลตัน (น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคสเท่ากับ 180.16 ดาลตัน) ความยาวของหน่วยย่อย ดี-กลูโคสเท่ากับ 0.515 นาโนเมตร และความยาวทั้งหมดของโมเลกุลเซลลูโลสมีค่ามากกว่า 5 ไมโครเมตร

จากการเรียงตัวนี้ทำให้สายเซลลูโลสเรียงตัวขนานซึ่งกันและกันอย่างมีระเบียบในลักษณะที่เรียกว่า คริสตัลไลน์ไมเซล (Crystalline Micelles) โดยแต่ละไมเซลประกอบด้วยโมเลกุลเซลลูโลสประมาณ 100 โมเลกุล มีรูปร่างเป็นแถบหนา ไมเซลประมาณ 10-20 ไมเซลจะมาเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่ใหญ่ขึ้นเรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) ดังแสดงในภาพที่ 6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 ลักษณะไฟบริลที่เรียงตัวขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจน

ที่มา : ปราณี (2532)

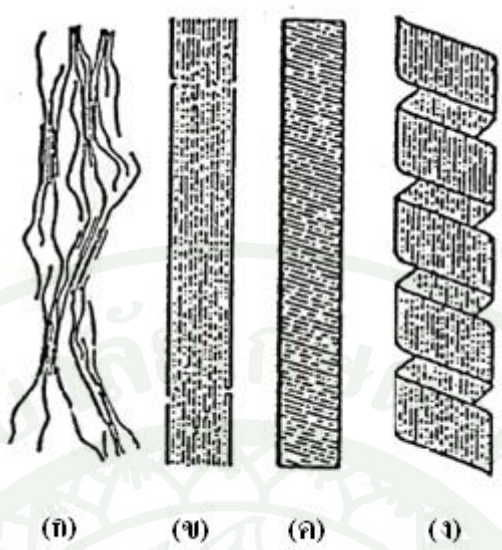
เซลลูโลสสามารถแบ่งลักษณะโครงสร้างเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชตามการจัดเรียงตัวของไมโครไฟบริลได้ 3 ลักษณะคือ (ปราณี, 2532) ดังแสดงในภาพที่ 7

1) ฟริงจ์ไมเซล (Fringe Micelles) คือ ไมโครไฟบริลที่เรียงตัวกันเป็นริ้วๆ ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก (Crystalline) และอสัณฐาน (Amorphous)

2) โครงสร้างเซลลูโลสที่ม้วนหรือพับไปตามแกนเส้นใยของเซลลูโลส

3) โครงสร้างเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นริบบินหนา เกิดจากการม้วนไปมาโดยตั้งฉากกับแกนของริบบินและริบบินจะม้วนเป็นเกลียว (Helix)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 โครงสร้างเซลลูโลสที่พบในผนังเซลล์ของพืชทั่วไป ก) เรียงตัวแบบเป็นริ้ว ข,ค) เซลลูโลสที่ม้วนหรือพับตามแกน ง) ม้วนเป็นเกลียว

ที่มา : ปราณี (2532)

ผนังเซลล์ของพืชจะมีเซลลูโลสจัดเรียงตัวเป็นแถบๆไม่ติดต่อกันโดยตลอด เมื่อเซลล์แก่เต็มที่ภายในช่องว่างจะเต็มไปด้วยลิกนิน นอกจากนี้ยังมีพอลิแซคคาไรด์อื่นๆที่ปะปนอยู่กับเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช ได้แก่ ไซแลน (Xylan) แมนแนน (Mannan) พอลิยูโรไนด์ (Polyuronide) อะราแบน (Araban) และกาแลกแตน (Galactan) โดยมักพบในปริมาณที่น้อยกว่าเซลลูโลส

เซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำ สารอินทรีย์ใดๆและในสารละลายด่างอ่อนหรือกรดอ่อน แต่สามารถละลายได้ดีในกรดแก่หรือด่างแก่ ดังนั้นจึงสามารถแบ่งชนิดเซลลูโลสตามลักษณะการละลายในกรดหรือด่างได้ 3 ชนิด ได้แก่

1) แอลฟาเซลลูโลส (α-cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิห้อง

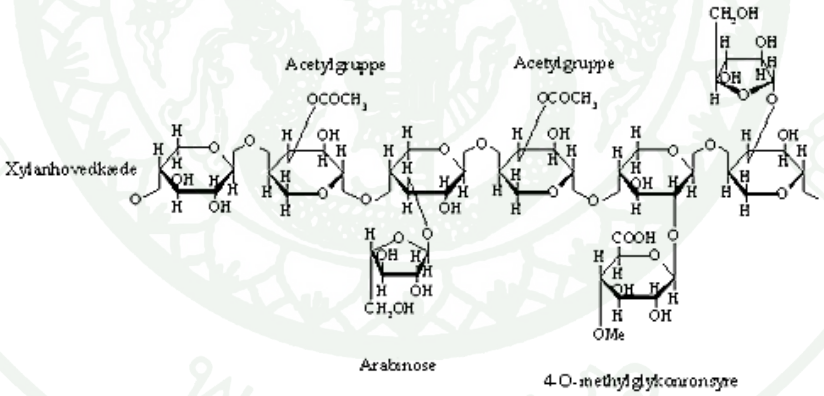
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2) เบต้าเซลลูโลส (β -cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอก-ไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิห้อง แต่สามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด

3) แกมมาเซลลูโลส (λ -cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอก-ไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิห้อง และละลายได้ในสารละลายกรดแต่สามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์

3.3 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลส มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส (Pentose) ซึ่งส่วนมากเป็นดี-ไซแลน ที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส (Xylose) หลายๆโมเลกุล ต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-ไกลโคซิดิก สายพอลิเมอร์ของเฮมิเซลลูโลส มีลักษณะเป็นเฮทเทอโรจีนัส (Heterogenous) ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์หลายชนิดปนกัน ดังแสดงในภาพที่ 8 คือ



ภาพที่ 8 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : สันทนา (2539)

ก. เพนโตแซน (Pentosan) ส่วนใหญ่เป็นไซแลนและอะราแบน (Araban) เมื่อนำไปย่อยจะได้น้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส (Arabinose) ไซแลนจะเป็นส่วนที่พบในเฮมิ-เซลลูโลสมากกว่าชนิดอื่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข. เฮกโซแซน (Hexosan) ส่วนใหญ่เป็นแมนแนน (Mannan) กาแลคแทน (Galactan) และกลูแคน (Glucan) เมื่อถูกย่อยจะได้น้ำตาลแมนโนส (Mannose) กาแลคโตส (Galactose) และ กลูโคส (Glucose) ตามลำดับ

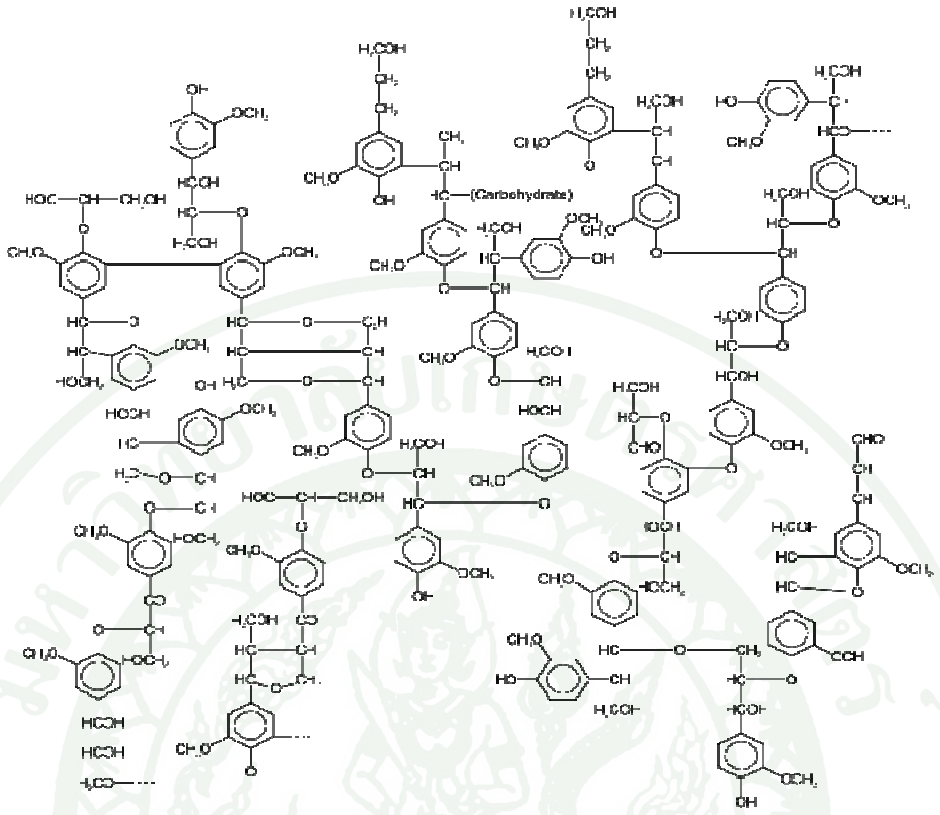
ค. พอลิยูโรไนด์ (Polyuronides) ส่วนมากเป็นสารประกอบของกรดพอลิยูโรนิค (Polyuronic Acid) และยังพบกรดยูโรนิค (Uronic Acid) ปนอยู่ด้วย

3.4 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนิน เป็นสารประกอบที่มีอยู่ในพืชรองมาจากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส พบได้ในส่วนผนังเซลล์ชั้นที่สอง และ Middle lamella ของพืชชั้นสูง โดยในพืชที่อ่อนอยู่จะมีลิกนินเพียงเล็กน้อยและจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ลิกนินถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการที่เรียกว่า Lignification ลิกนินที่พบเป็นส่วนของผนังเซลล์จะทำหน้าที่เสมือนเกราะป้องกันการเข้าทำลายของจุลินทรีย์และป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยอีก (ระวีวรรณ, 2537)

โครงสร้างของลิกนินเป็นสารประกอบอะโรมาติกหรือเรียกว่าเป็น ฟีนอลิกพอลิเมอร์ โดยมีหน่วยของฟีนิลโพรเพนเรียงต่อกันแบบสุ่มดังแสดงในภาพที่ 9 โดยหน่วยฟีนอลอาจเป็นกัวอิเอซิล หรือไซรินกิล ที่ตำแหน่งแอลฟาและเบต้าของโมเลกุลลิกนิน อาจเกิดการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุล หรือคาร์บอนในหน่วยฟีนอลอาจเกิดพันธะกับคาร์บอนอีกหน่วยหนึ่งภายในสายพอลิเมอร์ ที่ประกอบกันเป็นโมเลกุลลิกนิน ทำให้ลิกนินมีโครงสร้างที่แข็งแรง ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น ในเอทานอลหรือเมทานอลที่ร้อนและในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 สูตรโครงสร้างของลิกนิน

ที่มา : สันทนา (2539)

การไฮโดรไลซิส

การไฮโดรไลซิสหรือการย่อย คือ การลดจำนวนพอลิแซคคาไรด์ ที่เรียงต่อกันในโมเลกุลให้สั้นลง การย่อยพอลิแซคคาไรด์ สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. การไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมี (Chemical Hydrolysis)

เป็นการไฮโดรไลซิสด้วยสารละลายกรด หรือ สารละลายด่าง ทำให้เกิดการทำลายพันธะไกลโคซิดิกระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 กับออกซิเจน ถ้าการไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และ ถ้าไม่สมบูรณ์จะได้เส้นใย การไฮโดรไลซิสด้วยสารเคมีสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธีคือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1 การไฮโดรไลซิสด้วยกรด (Acid Hydrolysis) แบ่งเป็น 2 กระบวนการ คือ

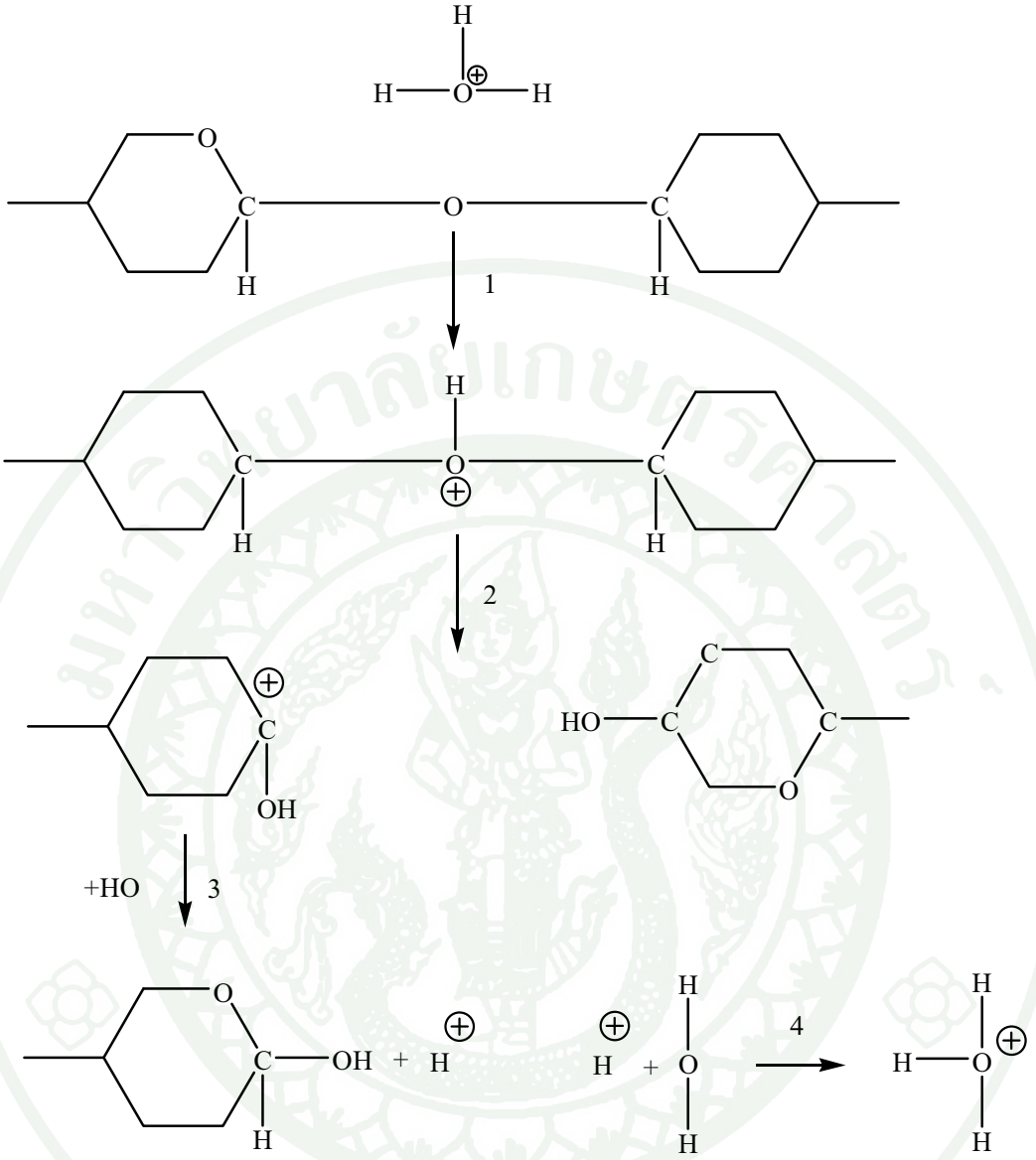
- กระบวนการแบบเอกพันธ์ (Homogeneous Process) เป็นกระบวนการที่ใช้กรดแก่ เช่น กรดไฮโดรคลอริก (HCl) หรือกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่คือน้ำตาลกลูโคส แต่มีข้อเสีย คือ ต้องมีการแยกกรดที่ใช้ออกจากน้ำตาลก่อนนำไปใช้เพราะทำให้เครื่องมือเกิดการผุกร่อน

- กระบวนการแบบวิวิธพันธ์ (Heterogeneous Process) เป็นกระบวนการที่ใช้กรดอ่อนทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูงกว่า 180 องศาเซลเซียส ผลการไฮโดรไลซิสอาจจะไม่สมบูรณ์และได้เป็นเส้นใย

สำหรับการย่อยพอลิแซคคาไรด์ ประเภทเซลลูโลสนั้น เมื่อถูกย่อยสลายโดยสมบูรณ์จะมีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเพียงอย่างเดียวคือกลูโคส แต่ถ้าถูกย่อยสลายโดยไม่สมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะประกอบไปด้วย กลูโคส เซลโลบิโอส และโอลิโกแซคาไรด์

กลไกปฏิกิริยาการย่อยด้วยสารละลายกรด เริ่มต้นจากอะตอมของออกซิเจนที่พันธะไกลโคสิดิก ถูกโปรโตไนซ์ด้วยโปรตอนของไฮโดรเนียมไอออน (1) พันธะไกลโคสิดิกแตกออก และเกิดเป็นคาร์บอเนียมอิออนและพอลิแซคคาไรด์ที่สั้นลง(2) คาร์บอเนียมอิออนทำปฏิกิริยากับน้ำ ได้พอลิแซคคาไรด์สายที่สั้นลงกว่าเดิม (3)โปรตอนรวมกับโมเลกุลของน้ำเกิดเป็นไฮโดรเนียมอิออน(4) และเริ่มทำปฏิกิริยาใหม่ ดังแสดงในภาพที่ 10

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

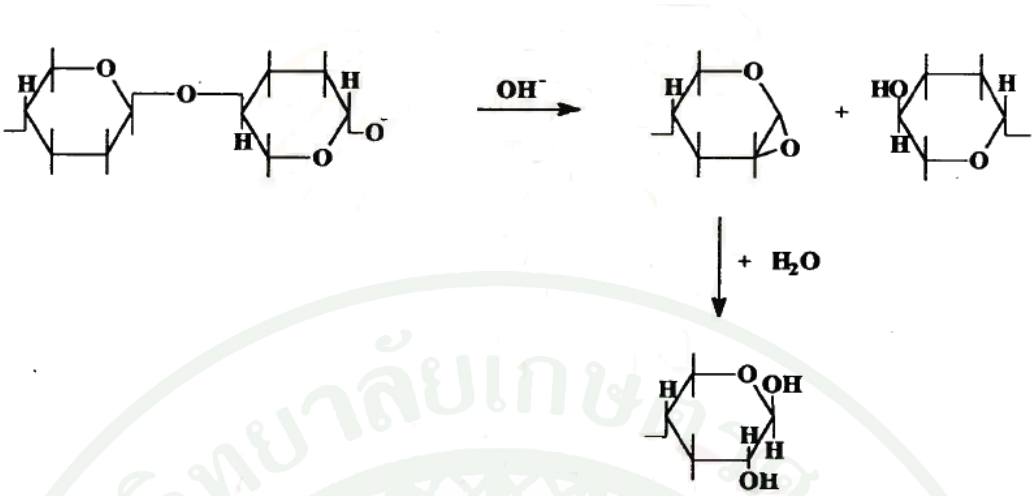


ภาพที่ 10 การตัดพันธะของเซลลูโลสด้วยกรด

ที่มา : ดุษฎี (2550)

1.2 การไฮโดรไลซิสด้วยด่าง (Alkaline Hydrolysis) สารละลายด่างที่นิยมใช้คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง เอทิลีนไดอะมีน และแอมโมเนีย เป็นต้น การใช้สารละลายด่างในการไฮโดรไลซิสทำให้สายพอลิแซคาไรด์สั้นลงนั้น ปฏิกิริยาจะเกิดได้ที่อุณหภูมิสูงประมาณ 160-180 องศาเซลเซียส และต้องใช้ออกซิเจนเข้าร่วมในการทำปฏิกิริยาด้วย ดังแสดงในภาพที่ 11

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 การย่อยสลายโมเลกุลเซลลูโลสด้วยด่าง

ที่มา : Casey (1960)

เมื่อนำน้ำตาลมาทำปฏิกิริยากับด่างจะเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายอย่าง เช่น ถ้าให้น้ำตาลอยู่ในสารละลายของด่างอ่อน เช่น $Ca(OH)_2$ หรือ $Ba(OH)_2$ น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนโครงสร้างไปมาระหว่างฟรุกโตสและแมนโนสได้ การเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นตรงคาร์บอนอะตอมที่ 1 (C 1) และ 2 (C 2) เท่านั้น เนื่องจากน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวมีโครงสร้างตั้งแต่ C 3 ถึง C 6 เหมือนกัน เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงตรงคาร์บอนที่มีโครงสร้างต่างกัน จึงย่อมทำให้สามารถเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลอีกชนิดหนึ่งได้ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปมาระหว่างน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดนี้จะผ่านทาง Enol form ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ของปฏิกิริยานี้ก่อน เราเรียกการเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้ว่า Lobry de Bruyn Transformation (ดุษฎี, 2550)

2. การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Enzymatic hydrolysis)

ในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์นี้ จะเป็นการทำงานของเอนไซม์เพื่อให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ทางการค้ามี 2 ขั้นตอน โดยแบ่งตามสภาวะการทำงานของเอนไซม์ คือ

1. การย่อยครั้งแรก (Liquefaction) ขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะไมเลส (Alpha-amylase) ย่อยแป้งที่อุณหภูมิประมาณ 95-100 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และมีความหนืดลดลง ของเหลวที่ได้จะมีค่าสมมูลเด็กโทรส (Dextrose equivalent, DE) อยู่ในช่วง 10-15 เปอร์เซ็นต์ เรียกว่ามอลโตเด็กซ์ทริน (Maltodextrin)

2. การย่อยครั้งสุดท้าย (Saccharification) สารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งควรมีสมมูลเด็กซ์โทรสสูง ยีสต์จึงจะทำงานได้ดี ขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เข้าไปย่อยให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำย่อยสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการย่อยจะให้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมเอนไซม์และฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนก่อนที่จะเข้ากระบวนการหมักยีสต์ ซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ในสภาพปราศจากอากาศ (หรือมีอากาศจำกัด)

การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์นี้ ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นในภาวะที่ไม่รุนแรง นอกจากนี้การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อวัตถุดิบที่ต้องการสลาย ทำให้ผลิตภัณฑ์ค่อนข้างบริสุทธิ์ และไม่ทำให้เกิดการผุกร่อนของเครื่องมืออีกด้วย โดยในตารางที่ 3 นั้นได้แสดงถึงข้อดีและข้อเสียของการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

ตารางที่ 3 ตารางการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

ผลดี	ผลเสีย
1. วัตถุดิบไม่ต้องผ่านการปรับสภาพก่อน	1. ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่เฉพาะเจาะจง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่บริสุทธิ์
2. ปฏิกิริยาเกิดเร็ว ง่าย และสั้น	2. น้ำตาลที่ได้ถูกเปลี่ยนเป็นสารอื่น เช่น 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล เฟอฟูรอล หรืออื่นๆ
3. ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ มีราคาถูกและหาง่าย	3. ต้องใช้อุปกรณ์เครื่องมือที่สามารถทนต่อการกัดกร่อนได้
4. ปฏิกิริยาสามารถทำได้ที่อุณหภูมิต่ำ (ในกรณีที่ใช้กรดแก่)	
5. ให้ผลิตภัณฑ์สูง (ในกรณีที่ใช้กรดแก่)	

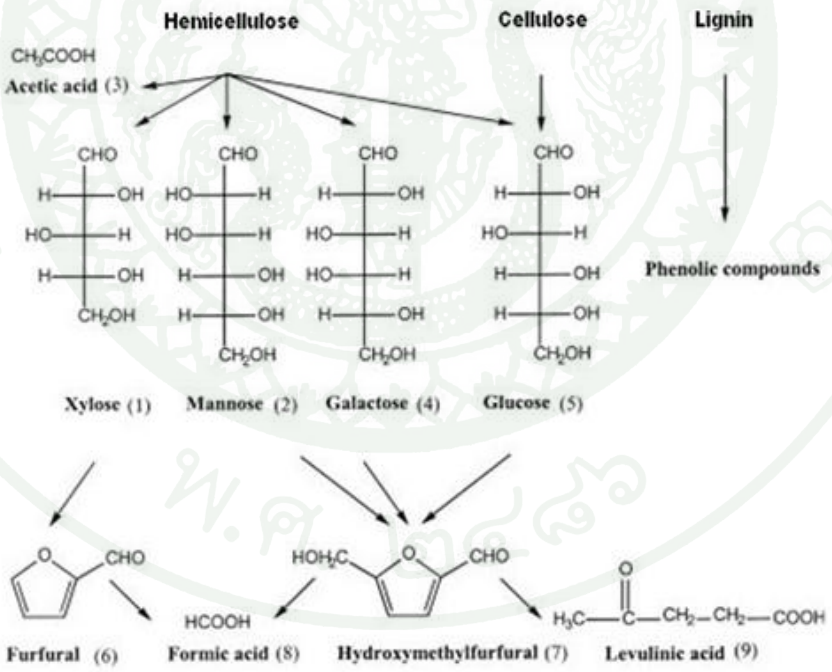
ที่มา : ระวีวรรณ (2537)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในการไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้น จะมีผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์พลอยได้หลายชนิด ซึ่งผลิตภัณฑ์พลอยได้ส่วนใหญ่นั้น จะมีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อนำไปหมักเป็นเอทานอล สำหรับกระบวนการเกิดผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์พลอยได้นั้น สามารถอธิบายได้ดังต่อไปนี้

ผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์พลอยได้ของการไฮโดรไลซิส

ผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์พลอยได้ของการไฮโดรไลซิสที่เกิดจากเฮมิเซลลูโลสสลายพันธะจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม เช่น น้ำตาลไซโลส (1) น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น น้ำตาลแมนโนส (2) น้ำตาลกาแลกโตส (4) และน้ำตาลกลูโคส (5) และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส คือ กลูโคส (5) และเมื่อถูกดึงน้ำ (Dehydration) จะเกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ คือ เฟอฟูรอล (6) 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (7) กรดอะซิติก (2) กรดฟอร์มิก (8) และกรดลิวนิอิก (9) ดังแสดงในภาพที่ 12



ภาพที่ 12 การเกิดตัวยับยั้งจากส่วนต่างๆของพืช

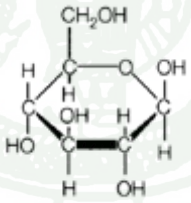
ที่มา : Palmqvist and Hahn-Hägerdal (2002b)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. น้ำตาล (Sugar)

น้ำตาลเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีหน่วยเล็กที่สุดซึ่งเรียกตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่มีอยู่ เช่น คาร์บอน 5 อะตอม เรียกว่า น้ำตาลเพนโตส และคาร์บอน 6 อะตอมเรียกว่า น้ำตาลเฮกโซส นอกจากนี้ยังแยกชนิดตามหมู่ของฟังก์ชั่นของโมโนแซคคาไรด์เป็นอัลดีไฮด์หรือคีโตน กล่าวคือ ถ้าเป็นอัลดีไฮด์ เช่น กลูโคส เรียกว่า น้ำตาลอัลโดส แต่ถ้าเป็นคีโตนเช่น ฟรุกโตส เรียกว่า น้ำตาลคีโตส โดยในงานวิจัยนี้จะวัดปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์

น้ำตาลรีดิวซ์ คือโมโนแซคคาไรด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนที่ตำแหน่งแอนเอเมอร์ซึ่งถูกออกซิไดซ์ เนื่องจากโครงสร้างของโมโนแซคคาไรด์เป็นแบบแอลโดสและคีโตสหรือเป็นโครงสร้างแบบวง จึงมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างรูปสายยาว และรูปวงแหวนอยู่ตลอดเวลา โมโนแซคคาไรด์เหล่านี้จึงสามารถแสดงสมบัติของแอลดีไฮด์ และคีโตนได้ ซึ่งเมื่อถูกออกซิไดซ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรด เช่น เมื่อออกซิไดซ์กลูโคสจะได้กรดแอลโดนิกมีชื่อว่า กรดกลูโคนิก ดังนั้นน้ำตาลที่คาร์บอนแอนเอเมอริกไม่ได้อยู่ในรูปไกลโคไซด์ จึงเรียกว่า น้ำตาลรีดิวซ์ (ดุษฎี , 2550) เช่น น้ำตาลกลูโคส ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 โครงสร้างของกลูโคส

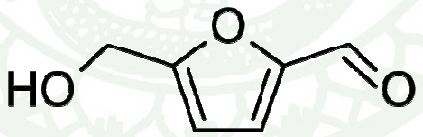
การตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หาได้โดยอาศัยคุณสมบัติที่สามารถรีดิวซ์โลหะอิออน เช่น Cu^{2+} หรือ Ag^{+} ได้ผลิตภัณฑ์ ที่ไม่ละลายน้ำ ตัวอย่างของน้ำตาลรีดิวซ์เช่น กลูโคส มอลโตส เซลโลไบโอสและแลคโตส ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้เนื่องจากอะโนเมอริกคาร์บอนทั้งคู่ถูกจับยึดไว้โดยพันธะไกลโคซิดิก เช่น น้ำตาลซูโครส จัดว่าเป็นน้ำตาล Non-reducing

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณสมบัติในการรีดิวซ์โลหะอิออนนั้น นอกจากจะใช้เพื่อตรวจสอบปริมาณแล้วยังสามารถ ใช้ในการบอกตำแหน่งทิศทางของหน่วยย่อยในคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ได้ ในพอลิแซคคาไรด์ที่เป็นสายตรง (Linear Chain) ในหนึ่งโมเลกุลจะมีปลาย Reducing End 1 หน่วย (เป็นโมโนแซคคาไรด์ที่มี อะโนเมอริกคาร์บอนที่อิสระ) และปลายที่เป็น Non-reducing End 1 หน่วย ส่วนพอลิแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน (Branched) ในหนึ่งโมเลกุลจะมีปลายที่เป็น Non-reducing End มากมายตามจำนวนกิ่งก้านที่มี แต่จะมีปลาย Reducing End เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น

2. 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (5-Hydroxymethylfurfural, 5-HMF)

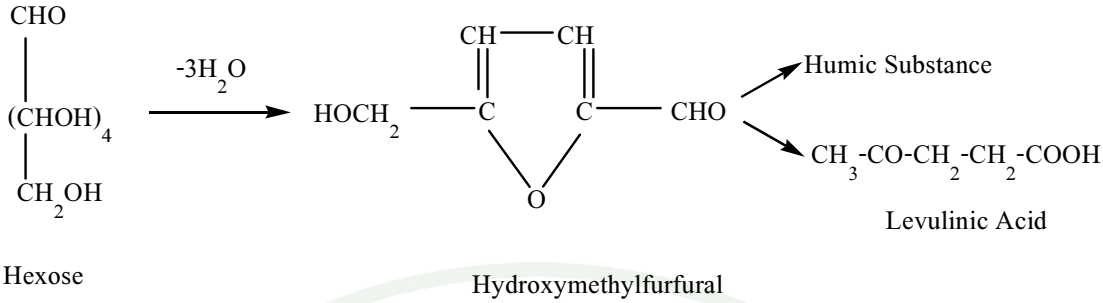
5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (5-Hydroxymethylfurfural) หรือมีชื่อเรียกทั่วไปว่า 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-ฟูรอลดีไฮด์ (5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde) หรือ5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-ฟูแรนคาร์บอลดีไฮด์ (5-Hydroxymethyl-2-furancarbaldehyde) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 14 โดยจะมีลักษณะเป็นผลึก มีจุดเดือดอยู่ที่ 115 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลวที่ 35 องศาเซลเซียส จุดวาบไฟ 79 องศาเซลเซียส และมีความหนาแน่นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเท่ากับ 1.29 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร โดยมีสูตรทางเคมีคือ $C_6H_6O_3$ มีน้ำหนักโมเลกุล 126.11 สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น เมทานอล เอทานอล ไดทิวอีเทอร์ เบนซีน อะซิโตน และอิทิวอะซิเตต (Wikipedia, 2010)



ภาพที่ 14 สูตรโครงสร้างของ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล

5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล เกิดจากการถูกดึงน้ำ (Dehydration) ออกจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ดังแสดงในภาพที่ 15

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

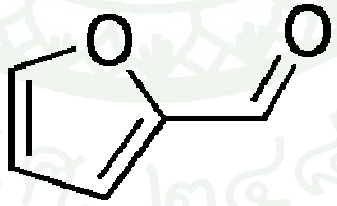


ภาพที่15 การเกิด5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน6 อะตอม ในสภาวะที่เป็นกรด

ที่มา : ระวีวรรณ (2537)

3. เฟอฟูรอล (Furfural)

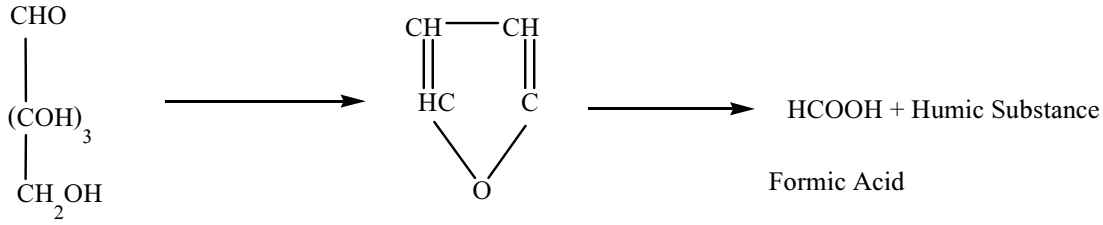
เฟอฟูรอล (Furfural) หรือมีชื่อเรียกอื่นๆ คือ ฟูแรน-2-คาร์บอกซอลดีไฮด์ (Furan-2-carboxaldehyde), ฟูรอล (Fural), เฟอฟูรอลดีไฮด์ (Furfuraldehyde), 2-ฟูรอลดีไฮด์ (2-Furaldehyde), ไพโรมูซิก แอลดีไฮด์ (Pyromucic Aldehyde) มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 16 มีคุณสมบัติทางกายภาพ คือ จุดเดือด 161.7 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลวที่ -36.5 องศาเซลเซียส จุดวาบไฟ 62 องศาเซลเซียส และมีความหนาแน่น 1.16 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีสูตรทางเคมีคือ $C_5H_4O_2$ มีน้ำหนักโมเลกุล 96.08 สามารถละลายได้ในเมทานอล



ภาพที่ 16 สูตรโครงสร้างของเฟอฟูรอล

เฟอฟูรอล เกิดจากการเกิดจากการถูกดึงน้ำ (Dehydration) ออกของน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ดังแสดงในภาพที่ 17

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



Pentose Furfural

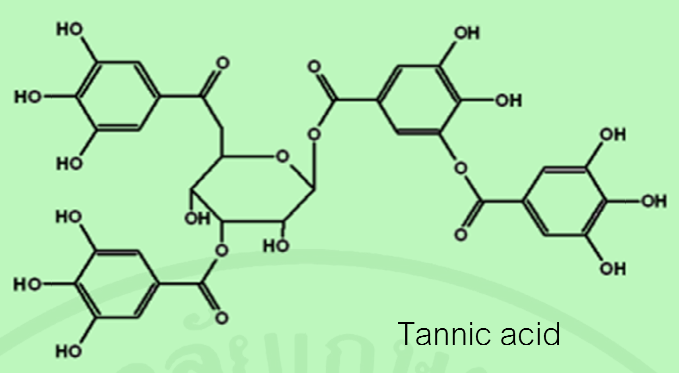
ภาพที่ 17 การเกิดเฟอฟูรอลจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ในสภาวะที่เป็นกรด

ที่มา : ระวีวรรณ (2537)

4. สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นอนุพันธุ์ของเบนซินที่มีหมู่ไฮดรอกซิลต่ออยู่เป็นหลัก และอาจมีหมู่แทนที่ต่าง ๆ ในตำแหน่งออโท (Orto) เมตา (Meta) หรือพารา (Para) ได้อีก สารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอลซึ่งประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ มีมวลโมเลกุล 94.11 เป็นผลึกรูปเข็ม ไม่มีสี เมื่อโดนอากาศจะมีสีชมพูอ่อน ๆ จุดหลอมเหลว 40.85 องศาเซลเซียส จุดเดือด 182 องศาเซลเซียส และจุดวาบไฟ 79 องศาเซลเซียส สารละลายของฟีนอลเป็นกรดอ่อนโดยมีค่า pKa เท่ากับ 10.0 สารละลายฟีนอลละลายได้ในกลีเซอรอล คาร์บอนไดซัลไฟด์ แอลกอฮอล์ อีเธอร์และคลอโรฟอร์ม สามารถวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรูปของกรดแทนนิก (Tannic acid) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงแหวนเบนซีนดังแสดงในภาพที่ 18

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 โครงสร้างของกรดแทนนิก

ที่มา : Phytochemicals (2010)

หลังจากที่พบว่าผลิตภัณฑ์พลอยได้นั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงต้องกำจัดผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นออกเพื่อให้การผลิตเอทานอลนั้นมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

การกำจัดสารพิษ

สำหรับการกำจัดสารพิษที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซิสด้วยกรด สามารถทำได้หลายวิธี (Palmqvist and Hahn-Hägerdal, 2002a) โดยสามารถแบ่งเป็นวิธีการใหญ่ๆได้ดังนี้

1. วิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีทางชีวภาพ คือ การใช้เอนไซม์พีโรซิเดสและแลกเคสจากรา *Tricoderma Reesei* ซึ่งจะสามารถลด เฟอฟูรอล กรดอะซิติก และ กรดเบนโซอิกได้

2. วิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีทางกายภาพ คือ การระเหย ซึ่งจะช่วยลด กรดอะซิติก เฟอฟูรอล และวานิลิน

3. วิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีทางเคมีซึ่งมีหลายวิธี โดยการเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมี หรือทางกายภาพ เช่น การทำให้เป็นกลาง (Neutralization) การทำ Overliming ด้วยด่าง และการใช้ตัวดูดซับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. วิธีการกำจัดสารพิษแบบผสม โดยอาจจะใช้วิธีการกำจัดด้วยสารเคมีแล้วทำการกำจัดต่อด้วยถ่านกัมมันต์ ซึ่งจะช่วยลดเฟอฟูรอล ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และ สารที่สามารถระเหยได้

โดยวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารเคมีหรือตัวดูดซับโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. แคลเซียมไฮดรอกไซด์

แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือเรียกทั่วไปว่า ปูนขาว มีลักษณะเป็นผงสีขาว ซึ่งมีลักษณะดังแสดงในภาพที่ 19 มีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้คือ จุดหลอมเหลว 512 องศาเซลเซียส ความหนาแน่น 2.211 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และน้ำหนักโมเลกุล 74.09 ปูนขาวสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้หลายๆด้าน เช่น ด้านการเกษตร ปูนขาวช่วยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในดิน ทำให้แบคทีเรียบางชนิดในดินเปลี่ยนไนโตรเจนให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ที่ให้โทษ ซึ่งชอบเจริญในดินที่มีความเป็นกรดสูง รวมทั้งช่วยปรับโครงสร้างดินให้ร่วนขึ้น ในด้านการบำบัดน้ำ ช่วยแก้ความกระด้างของน้ำ โดยปูนขาวเข้าไปทำปฏิกริยากับสารเคมีที่เป็นสาเหตุให้เกิดความกระด้าง กลายเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ตกตะกอนออกมา ส่วนในอุตสาหกรรมเคมี ปูนขาวถูกใช้ในกระบวนการผลิตสารเคมีหลายชนิด เช่น โซดาไฟ (Sodium Hydroxide) เป็นต้น

ภาพที่ 19 แคลเซียมไฮดรอกไซด์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้ด่างเป็นตัวกำจัดสารพิษ โดยเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้มีค่าประมาณ 9-10 และลดค่าความเป็นกรด-ด่างให้เหลือ 5.5 เรียกวิธีการนี้ว่า Overliming (Martinez, 2001) ซึ่งจะช่วยลดฮิบเบริทคีโตน (Hibbert's Ketone), อัลดีไฮด์ และสารระเหย (Volatile) ได้

2. เรซิน

เรซินทำจากพลาสติกเป็นรูปเม็ดกลมเล็กๆ ดังแสดงในภาพที่ 20 น้ำที่ปนเปื้อนสารเคมีบางอย่าง เช่น ผงซักฟอก การกรองโดยใช้เรซินชนิดแลกเปลี่ยนประจุชนิดประจุลบ ใช้วิธีทำให้น้ำผ่านเรซินทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนประจุลบ คลอไรด์จะหลุดไปในน้ำ และสารที่มีประจุลบ เช่น ไนเตรท และ ซัลเฟต จะเข้าไปแทนที่

ภาพที่ 20 เรซินที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ

3. ถ่านกัมมันต์

ถ่านกัมมันต์ คือ วัสดุที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบชนิดหนึ่งที่ผิวหน้ามีรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก และมีพื้นที่ผิวภายในสูง สามารถใช้ประโยชน์ได้ในการดูดซับสารจากของเหลวหรือก๊าซที่มาสัมผัส ทำให้ของเหลวหรือก๊าซนั้นมีความบริสุทธิ์สูงขึ้น ถ่านกัมมันต์โดยทั่วไปจะมีพื้นที่ผิวอยู่ประมาณ 600-1,000 ตารางเมตรต่อกรัม ซึ่งหากดูจากพื้นที่หน้าตัดของถ่านกัมมันต์จะมีลักษณะคล้ายรังผึ้ง โดยถ่านกัมมันต์จะมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักถึงร้อยละ 87-90 และมีธาตุอื่นๆเป็นองค์ประกอบ คือ ไฮโดรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์ และไนโตรเจน ซึ่งจะมีปริมาณมากน้อยนั้นขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและขั้นตอนการผลิต (กรรณิการ์, 2541)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ถ่านกัมมันต์สามารถแยกสารปนเปื้อนในสารละลายได้ โดยสารปนเปื้อนจะถูกดูดซับที่ผิวของถ่านกัมมันต์ ซึ่งที่นิยมใช้ทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิดคือ แบบที่เป็นเม็ด (Granular) และแบบที่เป็นผง (Powder) ดังแสดงในภาพที่ 21 โดยมักเรียกรวมกันว่า Activated Charcoal หรือ Activated Carbon ทำมาจากเมล็ดของอัลมอนล์ วอลนัท มะพร้าว ไม้ หรือถ่านโดยเผาที่อุณหภูมิสูง การดูดซับของถ่านกัมมันต์ แบ่งเป็น 3 ประเภท คือ

1. การดูดซับโดยการแลกเปลี่ยนประจุ (Exchange Absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับด้วยแรงทางไฟฟ้าสถิตที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2. การดูดซับแบบเคมี (Chemical Absorption) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้โมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับถูกจับที่ผิวของถ่านกัมมันต์

3. การดูดซับแบบกายภาพ (Physical Absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับที่เกิดจากแรงวัลเดอร์วาล (Van Der Waals) ซึ่งไม่ยึดติดแน่นเหมือน 2 แบบแรก มักจะเหมาะกับสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ

ภาพที่ 21 ถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในการกำจัดสารพิษ

สำหรับวิธีการกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์นั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิดอันได้แก่ (Mussatto and Roberto, 2004)

1. ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยกรดอินทรีย์สามารถถูกดูดซับได้ในสภาวะที่ไม่มีประจุ และที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยามีความสำคัญเนื่องจากการใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่นานเกินไปนั้น จะทำให้ถ่านกัมมันต์มีความสกปรกและดูดซับได้ไม่ดี

3. อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิทำให้การแพร่ผ่านของสารที่ถูกดูดซับลงไปยังรูพรุนของตัวดูดซับเร็วขึ้น แต่จะส่งผลให้แรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับกับพื้นที่ผิวของตัวดูดซับลดลง

4. ความเข้มข้นของถ่านกัมมันต์ จากงานวิจัยของ Silva *et al*.(1998) ได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของถ่านกัมมันต์ตั้งแต่ 1-30 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์นั้น ก็เพียงพอต่อการกำจัดสารประกอบฟีนอลิก คือ กำจัดได้ 94 เปอร์เซ็นต์และมีการลดลงของน้ำตาล 0.47 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้ถ่านกัมมันต์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์นั้น พบว่ามีการลดลงของน้ำตาลถึง 31.3 เปอร์เซ็นต์

เอกสารตรวจสอบ

กัลยาและจิรศักดิ์ (2548) กากมันสำปะหลังได้ถูกนำมาทำให้แห้ง และบดละเอียดและนำมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยใช้กากมันสำปะหลังร้อยละ 1.5 ปรับสภาวะความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 6.0 ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ 44.59 เปอร์เซ็นต์ นำสารละลายจากปฏิกิริยาที่ได้นี้มาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.0 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 79.99 เปอร์เซ็นต์ การไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เซลลูเลสที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.0 และ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในเวลา 24 ชั่วโมง ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 55.12 เปอร์เซ็นต์ และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ไซลาเนสที่ ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 ชั่วโมง ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 3.69 เปอร์เซ็นต์ การไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด

กัลยา และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังโดยใช้กรด 3 ชนิด คือ กรดซัลฟิวริก กรดไฮโดรคลอริกและกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.01-0.25 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาในช่วงอุณหภูมิ 105-135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-90 นาที โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำ พบว่า การไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก 2.5 เปอร์เซ็นต์ เวลา 90 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 69.96 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง และเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลมีค่า 5.54 กรัมต่อลิตร

ธีรภัทร และคณะ (2549) ทำการเปรียบเทียบการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกและเอนไซม์ผสม โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้นใช้ความเข้มข้น 20-50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 60-120 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก 60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 6.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเพกติเนส ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตามด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งได้น้ำตาลรีดิวซ์ 6.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปหมักกับยีสต์ S*accharomyces cerevisiae* TISTR 5596 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร เวลา 24 ชั่วโมงจะได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด 3.62 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร การไฮโดรไลซิสด้วยกรดและเอนไซม์ในกรณีนี้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณเท่าๆกัน

พงษ์ศักดิ์ และมาลี (2551) ได้ศึกษาการไฮโดรไลซิสชีวมวลจากข้าวโพดโดยใช้กรดซัลฟิวริก 0.25-1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดคือ ใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงถึง 3.419 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองจะสามารถคาดการณ์ว่าหากใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการไฮโดรไลซิสจะทำให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นด้วย

Tewari *et al*. (1986) เปรียบเทียบการไฮโดรไลซิสกล้วยเปลือด้วยกรดซัลฟิวริก เอนไซม์และไอน้ำ พบว่าการไฮโดรไลซิสด้วย 2.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดซัลฟิวริกที่ความดัน 15 ปาสคาลต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ค่าสูงสุดของการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ คือ 26.7 เปอร์เซ็นต์ การไฮโดไลซิสด้วยไอน้ำนั้น จะให้ค่าการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าการไฮโดรไลซิสด้วยกรด และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก *Trichoderma reesei* QM 9414

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หลังจากนั้นนำมาหมักกับยีสต์ *Sacharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* พบว่า การไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริกนั้นให้ค่าผลได้เอทานอลเท่ากับ 44.5 มิลลิลิตรต่อ100 กรัมน้ำตาลรีดิวซ์ และเอนไซม์เซลลูเลสให้ค่าผลได้เอทานอลเท่ากับ 61.1 มิลลิลิตรต่อ100กรัมน้ำตาลรีดิวซ์

Hammond and Egg (1996) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลจากส่วนประกอบของกล้วยที่เกินระยะสุก (ประมาณ 10วัน) ค่าผลพลอยได้ของการผลิตเอทานอลจากกล้วย เป็นดังนี้ กล้วยทั้งผลให้ค่า 0.091 ลิตรต่อกิโลกรัม เนื้อกล้วยให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอล 0.082 ลิตรต่อกิโลกรัม และ เปลือกกล้วยให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอลที่ 0.006 ลิตรต่อกิโลกรัม และได้มีการศึกษาลักษณะของกล้วยพบว่า กล้วยดิบให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอล 0.090 ลิตรต่อกิโลกรัม กล้วยสุกให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอล 0.082 ลิตรต่อกิโลกรัม และ กล้วยที่เกินระยะเกินสุกให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอล 0.082 ลิตรต่อกิโลกรัม

Agu *et al*. (1997) ได้ศึกษาผลกระทบระหว่างการให้ความร้อนกับการไฮโดรไลซิสด้วยกรดในกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล พบว่ากรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นสูงจะไปเป็นตัวยับยั้งการ Charring หรือ ปฏิกิริยาดีไฮเดรชั่น โดยกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่ำๆ สามารถทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสได้ คือ ตั้งแต่ความเข้มข้น 30-50 เปอร์เซ็นต์ โดยการไฮโดรไลซิสโดยใช้ที่กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 1 บรรยากาศ และระยะเวลา 30 นาที จะได้ค่า 60 เปอร์เซ็นต์ของการไฮโดรไลซ์ และค่าความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก ให้ค่าผลได้การผลิตเอทานอล 3.5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร หลังจากการหมักด้วยยีสต์

Karimi *et al*. (2006b) เปรียบเทียบการผลิตเอทานอลโดยการไฮโดรไลซิสฟางข้าวด้วยกรดเจือจาง ระหว่าง *Mucor indicus* กับ *Pichia Stipitis* พบว่าที่สภาวะไม่ใช้อากาศของ *Mucor indicus* นั้น พบว่า ให้เอทานอล 0.46 กรัมต่อกรัมจากกลูโคส และ ให้ไซลิทอล 0.65 กรัมต่อกรัมแต่ไม่ให้เอทานอลเลยจากไซโลส แต่ *Pichia Stipitis* ให้ผลในการหมักเอทาอนอลได้ดีกว่าคือให้เอทานอล 0.38 กรัมต่อกรัมของสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซิส

Chandela *et al*. (2007) ได้ศึกษาการไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยกรดไฮโดรคอลริก 2.5 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่าผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ 30.29 กรัมต่อลิตร ซึ่งในกระบวนการหมักมีตัวยับยั้งเกิดขึ้นมากมายเช่น ฟูแรน, ฟีนอลิก และกรดอะซิติก ในการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเมื่อทำการบำบัด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ด้วยเรซินที่เป็นขั้วบวกจะให้ค่ารีดักชั่นของฟูแรนร้อยละ 63.4 และ ค่ารีดักชั่นของสารประกอบฟีนอลิกคิดเป็นร้อยละ 75.8

Sharma *et al*. (2007) ศึกษาค่าตัวแปรที่มีผลต่อการหมักโดยใช้การหมักแบบการย่อยและการหมักในขั้นตอนเดียวกัน (Simultaneous Saccharification Fermentation) เช่น อุณหภูมิ ระยะเวลาในการอบและเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาโดยใช้จุลินทรีย์ร่วมกันระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae G.* และ *Pachysolen tannophilus* MTCC1077 โดยใช้เปลือกส้มและเปลือกกล้วยเป็นสัดส่วน 4 ต่อ 6 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้ *Saccharomyces cerevisiae G* 6 เปอรเซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) และใช้ *Pachysolen tannophilus* MTCC1077 4 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ใช้เวลาในการอบ 48 ชั่วโมง และพบว่าที่เวลาในการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง เป็นเวลาที่ดีที่สุดในการผลิตเอทานอล โดยให้ค่าผลได้ 0.426 กรัมต่อกรัม และประสิทธิภาพในการหมักเท่ากับ 83.52 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

เปลือกกล้วยน้ำว้า ระยะสุกที่ 6 ตามลักษณะของ PCI (Peel Index Color)

2. สารเคมี

2.1 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เกรด AR บริษัท Merck

2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เกรด AR บริษัท Merck

2.3 แคลเซียมไฮดรอกไซด์ $Ca(OH)_2$ เกรด AR บริษัท Merck

2.4 น้ำกลั่น (Distilled water)

2.5 3,5 ไดไนโตรซาลิซาลิก (3,5- Dinitrosalicylic Acid) เกรด AR บริษัท Merck

2.6 เรซิน เครื่องกรองน้ำ เกรด Commercial

2.7 ถ่านกัมมันต์ No. 1362 บริษัท APS Ajax Finechem UN

2.8 สารละลาย Folin-Ciocalteu บริษัท Merck

2.9 กรดแทนนิก เกรด AR บริษัท Merck

2.10 โซเดียมคาร์บอเนต Na_2CO_3 เกรด AR บริษัท Merck

3. อุปกรณ์วิเคราะห์ต่างๆ

3.1 เครื่องเขย่า (Orbital Shaker) รุ่น SK2-DO บริษัท CTL

3.2 เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Moisture Analyzer) รุ่น AMB 50 บริษัท Adam Equipment ประเทศอังกฤษ

3.3 เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) รุ่น Anthekie Advanced บริษัท Secomam ประเทศฝรั่งเศส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 อ่างน้ำอุ่น (Water Bath) ควบคุมอุณหภูมิน้ำที่ 37 องศาเซลเซียส รุ่น SBD 50 - Cold ยี่ห้อ Heto บริษัท Scientific Promotion ประเทศไทย

3.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น LM6100 บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.6 เครื่องบดผง รุ่น MX-X10GMC บริษัท TOSHIBA ประเทศ ญี่ปุ่น

3.7 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น 420A ยี่ห้อ Orion บริษัทThermo Orion ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.8 เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate) รุ่น ARE บริษัท VELP SCIENTIFICA ประเทศ อิตาลี

3.9 ตู้อบ (Hot Air Oven) รุ่น BD/ED/FD บริษัท BINDER GmbH ประเทศ เยอรมัน

3.10 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) รุ่น HL-340 บริษัท HUXLEY

3.11 เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) Class LC10 บริษัท Shimadzu ประเทศ ญี่ปุ่น

3.12 เครื่อง GC (Gas Chromatography) รุ่น GC-4000 บริษัท Jarcas ประเทศญี่ปุ่น

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบและหาองค์ประกอบ

นำเปลือกกล้วยน้ำว้ามาทำการแยกสีด้วยตาเปล่า โดยดูจากระยะสุกอ้างอิงตามดัชนีระยะสุกของกล้วยตาม ตารางที่ 2 และภาพที่ 2 โดยในการทดลองนี้ ใช้ระยะสุกที่ 6 โดยเปลือกกล้วยจะมีลักษณะสีเหลืองทั้งผล ดังแสดงในภาพที่ 22

ภาพที่ 22 ลักษณะของเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ทำการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หลังจากคัดแยกกล้วยตามดัชนีระยะสุกแล้ว นำเปลือกกล้วยมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ขนาดประมาณ 3×3 เซนติเมตร และนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเปลือกกล้วยที่อบแล้วมาปั่นบดและคัดขนาดให้มีขนาดในช่วง 40-100 เมส ดังภาพที่ 23 จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกกล้วย ดังนี้

ภาพที่ 23 ลักษณะของเปลือกกล้วยหลังการบด

1. การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้าของ Goering และ Van Soest (1970)

1.1 การสกัดโปรตีนและส่วนที่ไม่ต้องการ (Impurities) ด้วยกระบวนการ Neutral Detergent Extraction โดยนำเปลือกกล้วยมาสกัดด้วย Neutral Detergent Solution (NDS) (ภาคผนวก ก ข้อ 7) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองและอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งหาน้ำหนักที่หายไปเทียบกับน้ำหนักแห้งเริ่มต้น โดยน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของโปรตีนและส่วนที่ไม่ต้องการ

1.2 การสกัดเฮมิเซลลูโลสด้วยกระบวนการ Acid Detergent Extraction นำตะกอนที่ได้จากข้อ 1.1 มารีฟลักซ์ด้วย Acid Detergent Solution (ADS) (ภาคผนวก ก ข้อ 7) และ Decalin ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองและล้างด้วยน้ำร้อน 90-100 องศาเซลเซียส 2 ครั้ง และล้างด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ 1 ครั้ง นำมากรองและอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ผลต่างระหว่างน้ำหนักที่ชั่งได้เทียบกับน้ำหนักที่ชั่งได้จากข้อ 1.1 จะเท่ากับน้ำหนักของเฮมิเซลลูโลส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 การสกัดลิกนินด้วยกระบวน Lignin Determination นำตะกอนส่วนที่ได้จากข้อ 1.2 มาสกัดแยกลิกนินออกด้วย ADL (ภาคผนวก ก ข้อ 7) แล้วทำการสกัดแบบเย็นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยคนทุกๆชั่วโมง จากนั้นกรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง กรองตะกอนที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการข้างต้น นำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ผลต่างระหว่างน้ำหนักที่ชั่งได้เทียบกับน้ำหนักที่ชั่งได้จากข้อ 1.2 จะเท่ากับน้ำหนักของลิกนิน

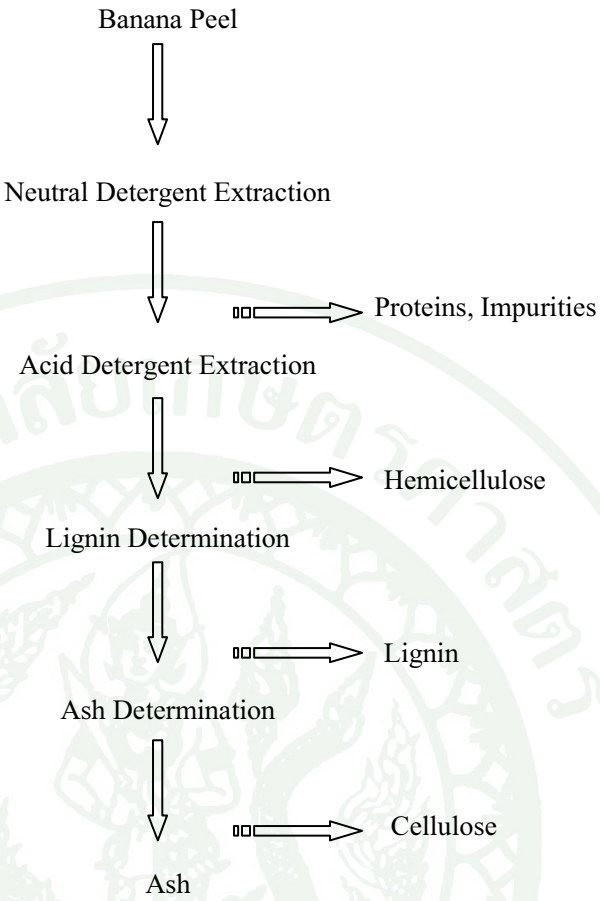
1.4 การหาปริมาณเซลลูโลส ด้วยกระบวนการ Ash Determination โดยเติมตัวทำละลายลิกนินลงในตัวอย่าง หลังจากนั้นคนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที เติม Demineralizing Solution กรองและล้างด้วยเอทานอล 2 ครั้ง และอะซิโตน 2 ครั้ง นำมาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ผลต่างระหว่างน้ำหนักที่ชั่งได้เทียบกับน้ำหนักที่ชั่งได้จากข้อ 1.3 จะเท่ากับน้ำหนักของเซลลูโลส

1.5 การหาปริมาณเถ้าด้วยกระบวนการ Ash Determination นำตะกอนที่ได้จากข้อ 1.3 มาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงทำให้เย็นในโถดูดความชื้นน้ำหนักที่ชั่งได้จะเท่ากับน้ำหนักเถ้า จากวิธีการดังกล่าวข้างต้นนั้นสามารถสรุปวิธีการด้วยภาพที่ 24

2. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)ของ Miller, 1959

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ นำตัวอย่างที่จะหาปริมาณน้ำตาลจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร สำหรับหลอดสารละลายเปล่า (Blank) ใช้น้ำหรือบัฟเฟอร์แทนตัวอย่าง เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ในระหว่างต้มควรใช้ลูกแก้ววางบนปากหลอด เพื่อลดการระเหยของน้ำ ลูกแก้วควรมีขนาดใหญ่กว่าปากหลอดพอควร เพื่อกันไม่ให้ลูกแก้วตกลงในหลอด จากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยการนำหลอดแก้วมาแช่ในน้ำแข็งที่ละลาย หรือใส่ในอ่างน้ำที่เปิดให้น้ำไหลตลอดเวลา เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 520 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่าง 0-1,000 ไมโครกรัม (Glucose equivalent) (ภาคผนวก ก ข้อ 1)

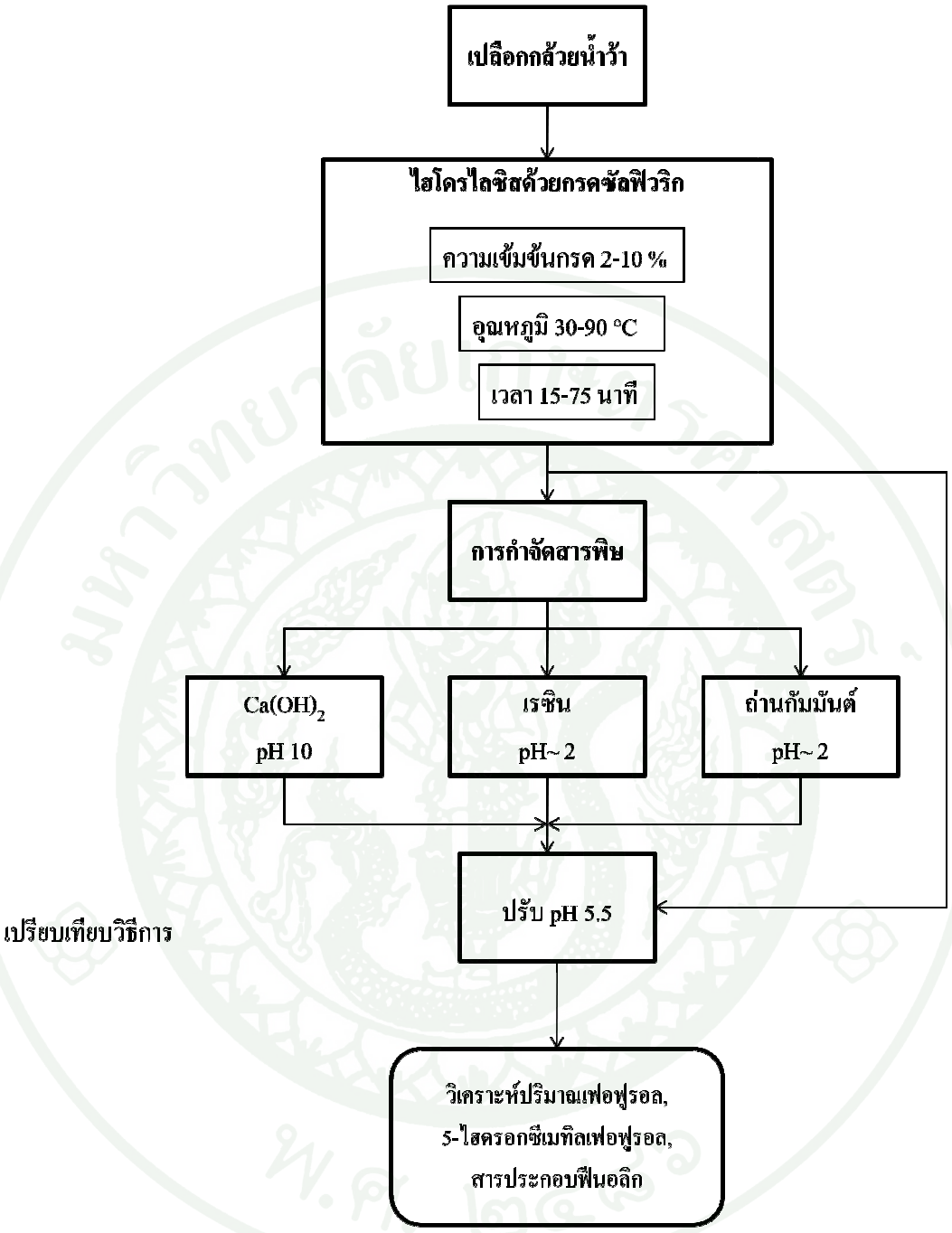
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 24 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของเปลือกกล้วยน้ำว้า

หลังจากที่วิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกกล้วยแล้วนั้น จะดำเนินการทดลองโดยจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน นั่นคือ ขั้นตอนของการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยใช้กรดซัลฟิวริก และขั้นตอนการกำจัดสารพิษที่เกิดจากกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยการใช้วิธีทางเคมี ซึ่งจะแสดงเป็นแผนภาพในภาพที่ 25

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 25 แผนผังแสดงขั้นตอนการทดลองการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรดและการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการต่างๆ

ในการไฮโดรไลซิสมีปัจจัยที่ต้องทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของกรด อุณหภูมิในการไฮโดรไลซิส และเวลาในการทำปฏิกิริยา โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

1. การศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

เตรียมเปลือกกล้วย 1 กรัม ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกรดที่ความเข้มข้น 2 3 4 5 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยใช้กรดปริมาตร 8 มิลลิลิตร เวลาในการทำปฏิกิริยา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตรเพื่อหยุดปฏิกิริยา นำมากรองและนำส่วนใสที่ได้ไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

2. การศึกษาผลของอุณหภูมิในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

โดยใช้เปลือกล้วยน้ำว้า 1 กรัม ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของกรดซัลฟิวริกตามข้อ 1 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียสและเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร นำมากรองและนำส่วนใสที่ได้ไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

3. การศึกษาผลของระยะเวลาในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำเปลือกกล้วยน้ำว้า 1 กรัม ทำปฏิกริยาไฮโดรไลซิส โดยใช้สภาวะของความเข้มข้นและอุณหภูมิที่ได้จากข้อ 1 และ 2 โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 15 30 45 60 และ 75 นาที ตามลำดับ จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร นำมากรองและนำส่วนใสที่ได้ไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS

หลังจากที่ทำการไฮโดรไลซิสแล้วนำสารละลายตัวอย่างหลังการไฮโดรไลซิสปริมาณ 200 มิลลิลิตร มาปรับค่าให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จนมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมเพื่อเตรียมใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ต่อไป จากนั้นนำสารละลายหลังจากการทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่างแล้ว ไปวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก ผลที่ได้เป็นค่าที่เกิดจากการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างโดยยังไม่ได้กำจัดสารพิษ จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับวิธีการกำจัดสารพิษทางเคมีชนิดต่างๆ โดยมีวิธีการดังนี้

3. ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษในน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

1. ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธี Overliming

นำสารละลายตัวอย่างหลังการไฮโดรไลซิสปริมาณ 200 มิลลิลิตรมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างจนมีค่าเท่ากับ 10 โดยใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองจากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมเพื่อเตรียมใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ต่อไป ด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมล จากนั้นนำสารละลายหลังจากการทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่างแล้วไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

2. ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้เรซิน

นำสารละลายตัวอย่างหลังการไฮโดรไลซิสปริมาณ 200 มิลลิลิตร เติมเรซินลงในสารละลาย โดยมีอัตราส่วน 1:10 เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง นำมากรองจากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมเพื่อเตรียมใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ต่อไป ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมล จากนั้นนำสารละลายหลังจากการทำการปรับค่าความเป็นกรด–ด่าง แล้วไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ศึกษาวิธีการลดสารปนเปื้อนด้วยวิธีการใช้ถ่านกัมมันต์

นำสารละลายตัวอย่างหลังการไฮโดรไลซิสปริมาณ 200 มิลลิลิตร เติมถ่านกัมมันต์ในสารละลายโดยมีอัตราส่วน 1:10 เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง นำมากรองจากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมเพื่อเตรียมใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ต่อไป ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมล จากนั้นนำสารละลายหลังจากการทำการปรับค่าความเป็นกรด – ด่างแล้ว ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

4. การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยกรด

1. การวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลโดยวิธี HPLC (Chandel, 2007)

การหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลด้วยเครื่อง HPLC นำตัวอย่างที่จะหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล จำนวน 1 มิลลิลิตร กรองด้วยอะซิเตทฟิวเตอร์ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ยูวีดีเทคเตอร์ที่ 280 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ในช่วงระหว่าง 0-100 พีพีเอ็ม (ภาคผนวก ก ข้อ 4)

2. การวิเคราะห์ปริมาณเฟอฟูรอล (Chandel, 2007)

การหาปริมาณเฟอฟูรอลด้วยเครื่อง HPLC นำตัวอย่างที่จะหาปริมาณเฟอฟูรอล จำนวน 1 มิลลิลิตร กรองด้วยอะซิเตทฟิวเตอร์ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ ยูวีดีเทคเตอร์ที่ 280 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอฟูรอล วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณเฟอฟูรอล ในช่วงระหว่าง 0-100 พีพีเอ็ม (ภาคผนวก ก ข้อ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในรูปสารประกอบฟีนอลิก (AOAC, 2000)

การหาปริมาณแทนนินในรูปของสารประกอบฟีนอลิก นำตัวอย่างที่จะหาปริมาณแทนนินในรูปของสารประกอบฟีนอลิก จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ เติมสารละลาย Folin-Cioculteu 1 มิลลิลิตร และ สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 750 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิคมาตราฐาน วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณแทนนินในรูปของสารประกอบฟีนอลิก 1-5 พีพีเอ็ม (ภาคผนวก ก ข้อ 2)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของเปลือกกล้วยน้ำว้าระยะสุกที่ 6 พบว่าส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส 23-24 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 22-23 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบอื่นๆอีกดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของเปลือกกล้วยกล้วยน้ำว้าระยะสุกที่ 6

ส่วนประกอบของเปลือกล้วย	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
เซลลูโลส	23-24
เฮมิเซลลูโลส	12-13
ลิกนิน	22-23
เถ้า	0.05-0.5
น้ำตาล	2.22
แป้ง	3.68
อื่นๆ	33.6

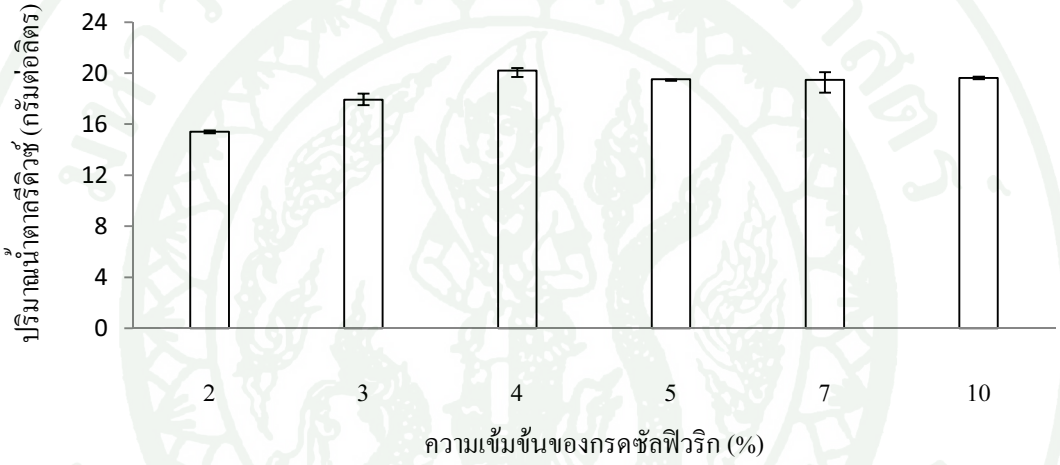
จากการศึกษาองค์ประกอบของเปลือกกล้วยน้ำว้าระยะสุกที่ 6 นำไปวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส พบว่ามีปริมาณที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Sharma *et al*. (2007) ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส 28.67 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) และเฮมิเซลลูโลส 18.40 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณเถ้าที่หาได้มีปริมาณที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Archibald (1949) ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่เหลือประมาณ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (เสนอในรูปแบบของเถ้าที่ละลายในน้ำและเถ้าทั้งหมด) และสำหรับองค์ประกอบอื่นๆที่เหลือ 33.6 เปอร์เซ็นต์นั้น คาดว่าจะเป็นสารประกอบพวกที่ถูกสกัดด้วยอีเทอร์ โปรตีน (Anhwange et al, 2009) หลังจากที่ทราบองค์ประกอบต่างๆของเปลือกกล้วยน้ำว้าแล้ว พบว่าน่าจะมีความเป็นไปได้ที่จะนำเปลือกกล้วยมาทำการไฮโดรไลซิสเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากมีปริมาณเซลลูโลส 23-24 เปอร์เซ็นต์ และเฮมิเซลลูโลส 12-13 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาต่อไปดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

1.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

จากการทดลองการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยกรดซัลฟิวริกโดยใช้เปลือกกล้วยระยะสุก 6 ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยศึกษาปริมาณความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 3 4 5 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ให้ผลดังภาพที่ 26



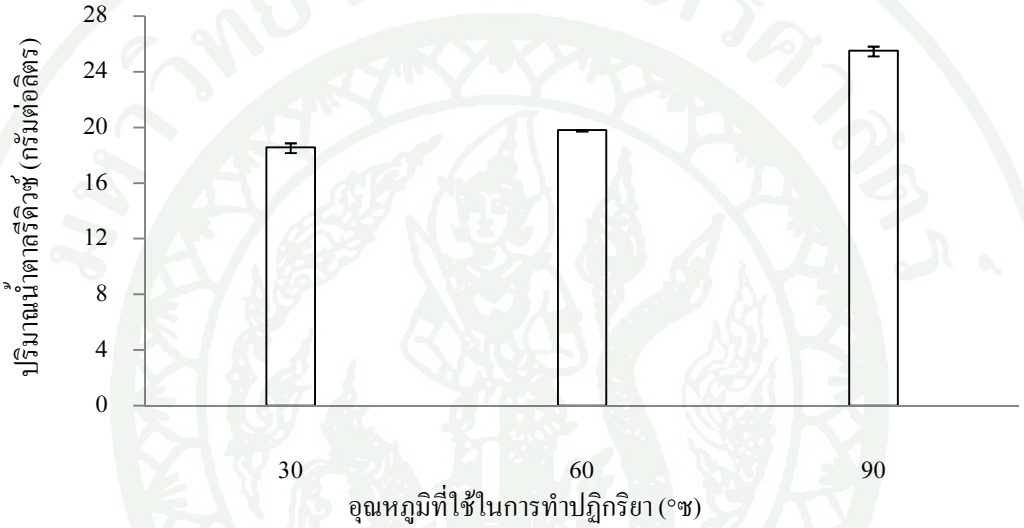
ภาพที่ 26 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยแปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 2-10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที

จากภาพที่ 26 แสดงผลของความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ พบว่า ในช่วงความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกตั้งแต่ 2-4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสมีค่าเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเป็น 5 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ยังมีค่าคงที่ การที่น้ำตาลรีดิวซ์ไม่เพิ่มขึ้นไม่สอดคล้องกับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นไปได้ด้วย 2 สาเหตุ คือ 1. โครงสร้างของเซลลูโลสของเปลือกกล้วยมีความซับซ้อนจนกรดซัลฟิวริกไม่สามารถไฮโดรไลซิสได้ เนื่องจากควมเข้มข้นของกรดนั้นไม่เพียงพอ หรือ 2. เนื่องจากส่วนที่เหลือเป็นเฉพาะเซลลูโลสที่มีลิกนินล้อมรอบทำให้จำเป็นต้องใช้ความเข้มข้นของกรดสูงกว่านี้ จึงจะไฮโดรไลซิสลิกนินที่หุ้มล้อมรอบได้ เพื่อที่จะแทรกเข้าไปย่อยเซลลูโลสที่อยู่ภายในได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีอิทธิพลต่อการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

การทดลองการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยกรดซัลฟิวริกโดยใช้เปลือกกล้วยระยะสุก 6 โดยใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ 4 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดยศึกษาการทดลองที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 27



ภาพที่27 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 30 60 และ 90 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 27 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นั้นเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น จากช่วงอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นไม่มากนัก แต่ในช่วงอุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียสนั้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสอุณหภูมิมีผลอย่างมากในการเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น การเพิ่มอุณหภูมิทำให้โครงสร้างของโมเลกุลขยายตัว และเพิ่มพลังงานของสารในการคลื่อนที่ ทำให้การแทรกตัวของกรดแทรกเข้าไปในโครงสร้างของเปลือกกล้วยได้มากขึ้น และสำหรับงานวิจัยนี้ พบว่า อุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียสนั้น ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 26 กรัมต่อลิตร และคาดว่าถ้าใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นก็จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย ผลงานวิจัยของพงษ์ศักดิ์และมาลี (ม.ป.ป) ซึ่งได้ทำการไฮโดรไลซิสชานอ้อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่เป็นกรดที่มีความเข้มข้นต่ำ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90 95 100 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 100 องศา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

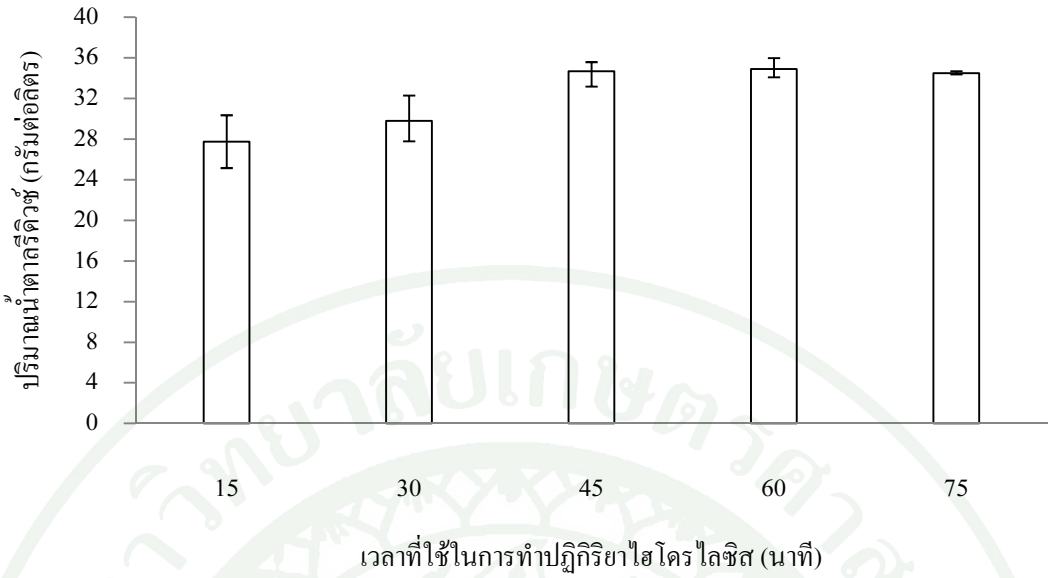
เซลเซียส มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่ 3.419 กรัมต่อลิตร และพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงเช่นกัน

จากการทดลองทั้ง 2 ปัจจัยนี้จึงอาจกล่าวสรุปได้ว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะขึ้นกับความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิที่ใช้ อุณหภูมิที่สูงมีส่วนช่วยในการแตกพันธะไฮโดรเจนให้ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้คือน้ำตาล หรืออุณหภูมิที่สูงจะช่วยเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นจึงคาดว่างานวิจัยนี้หากเพิ่มอุณหภูมิที่สูงขึ้นไปอีกนั้น อาจจะส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นด้วย แต่เนื่องจากมีข้อจำกัดทางด้านเครื่องมือจึงไม่สามารถทำในอุณหภูมิที่สูงขึ้นกว่านี้ได้

3.3 การศึกษาผลของระยะเวลาในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า

จากการทดลองย่อยเปลือกกล้วยด้วยกรดซัลฟิวริก โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เปลือกกล้วยระยะสุก 6 และศึกษาเวลาในการไฮโดรไลซิส เท่ากับ 15 30 45 60 และ 75 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 28

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



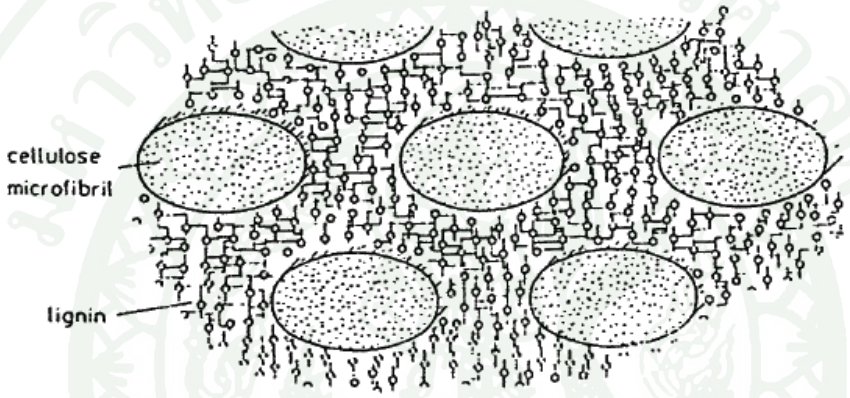
ภาพที่ 28 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร) ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าโดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา คือ 15 30 45 60 และ 75 นาที

จากภาพที่ 28 พบว่าการเพิ่มของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อเวลาในการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้นนั้นมีลักษณะคล้ายกับการเพิ่มของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้น คือ เพิ่มขึ้นในช่วงที่ระยะเวลาไฮโดรไลซิสและความเข้มข้นกรดสูงขึ้นและเริ่มคงที่ จากภาพที่ 28 พบว่าช่วงนาทีที่ 15 – 45 นาทีนั้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการไฮโดรไลซิส จนถึงเวลาที่ 45 นาที และได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 34.2 กรัมต่อลิตร และหลังจากเวลา 45 นาทีแล้วนั้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มมีค่าคงที่อยู่ในช่วงประมาณ 34 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้คาดว่าอาจเป็นสาเหตุคล้ายกับการศึกษาความเข้มข้นของกรด คือ กรดไม่สามารถไฮโดรไลซ์วัตถุดิบได้ต่อไปแล้ว ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งพบว่า ปริมาณเฮมิเซลลูโลสหลังการไฮโดรไลซิสจะลดลงจนเหลือเพียง 2-3 เปอร์เซ็นต์ และสาเหตุที่กรดซัลฟิวริกสามารถไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสได้ดีกว่านั้น เพราะเซลลูโลสมีลิกนินหุ้มอยู่โดยรอบคล้ายเป็นเกราะป้องกันเซลลูโลสจากการไฮโดรไลซิส (ระวีวรรณ, 2537) แสดงในภาพที่ 29 จึงทำให้ปริมาณของเซลลูโลสก่อน-หลังไฮโดรไลซิสไม่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสก่อนและหลังการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที

	ร้อยละเซลลูโลส	ร้อยละเฮมิเซลลูโลส	ร้อยละลิกนิน	ร้อยละเถ้า
ก่อนไฮโดรไลซิส	23-24	12-13	22-23	0.05-0.5
หลังไฮโดรไลซิส	25-28	2-3	34-43	0.5-4



ภาพที่ 29 โมเลกุลลิกนินที่ยึดติดกับไมโครไฟบรินของเซลลูโลส

ที่มา : สันทนา (2539)

ดังนั้นจากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรดซัลฟิวริกนั้น พบว่าสภาวะที่ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด คือ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ โดยจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้น 34.2 กรัมต่อลิตร

จากวิธีการไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้นพบว่ามีน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณที่มากพอสมควร ดังนั้นจึงได้ทำการหาน้ำตาลชนิดโมโนแซคคาไรด์เพื่อให้ได้ทราบถึงชนิดของน้ำตาลและปริมาณเพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลต่อไป จากการวัดปริมาณและชนิดของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์นั้น พบว่า ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส ไซโลส กาแลกโตส อะราบิโนส และแมนโนส ดังแสดงในตารางที่ 6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที

ชนิดของน้ำตาลโมโนแซคคาร์ไรด์	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อกรัมแห้ง)
กลูโคส	1.546
ไซโลส	0.38
กาแลกโตส	0.17
อะราบิโนส	0.67
แมนโนส	1.34

จากตารางที่ 6 นั้น พบว่ามีปริมาณน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด คือ 1.546 กรัมต่อกรัมแห้ง ซึ่งคาดว่าน่าจะมีความเหมาะสมในการนำมาผลิตเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อไป

ในการไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ออกมาด้วย ดังนั้น ขั้นตอนก่อนการนำมาหมักกับยีสต์เพื่อผลิตเป็นเอทานอลนั้น จึงจำเป็นต้องมีการกำจัดสารพิษที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของยีสต์เสียก่อน ดังนั้นจึงต้องนำมาทำการศึกษาต่อด้วยวิธีการกำจัดสารพิษต่างๆ ดังต่อไปนี้

งานวิจัยนี้จะทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 ก่อน เนื่องจากเป็นสภาวะที่ใช้ในการเจริญของยีสต์ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบปริมาณสารพิษต่างๆของก่อน-หลังการกำจัดสารพิษ โดยผลแสดงองค์ประกอบต่างๆหลังการปรับค่าความเป็นกรด –ด่างเท่ากับ5.5 ดังแสดงในตารางที่ 7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ปริมาณสารพิษในสารละลายเปลือกกล้วยน้ำว้าหลังการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก ก่อนและหลังการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง

	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	สารประกอบฟีนอลิก(พีพีเอ็ม)
ก่อนปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	32.17 ± 0.98	0.062 ±0.008	11.59 ± 1.02	1.06 ± 0.14
หลังปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	34.94 ± 0.52	0	8.12 ± 0.9	0.972 ± 0.12

สำหรับวิธีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างนั้น ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้มีค่าเท่ากับ 5.5 ซึ่งเป็นค่าให้เหมาะสมกับการนำไปเลี้ยงยีสต์ จากตารางที่ 6 พบว่าปริมาณเฟอฟูรอลหลังการปรับ มีค่าลดลง และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลก็มีปริมาณลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Persson, 2002 ซึ่งพบว่า การปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.5 นั้น มีผลเล็กน้อยต่อปริมาณเฟอฟูรอลและ5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล คือประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ยังพบอีกว่าสารเคมีที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างนั้นไม่ว่าจะเป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ก็มีผลในการลดปริมาณเฟอฟูรอลและ5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลไม่แตกต่างกันมากนัก ส่วนสารประกอบฟีนอลิกนั้นจากตารางที่ 7 นั้นมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง

2. ศึกษาวิธีการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้าว้า

1. ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธี Overliming

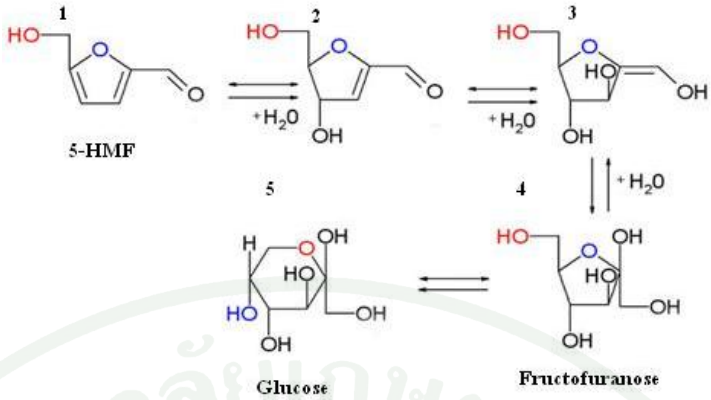
ตารางที่ 8 ปริมาณสารพิษในสารละลายเปลือกกล้วยน้ำว้าหลังการไฮโดรไลซิสด้วยกรดซัลฟิวริก ก่อนและหลังของการกำจัดด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	สารประกอบฟีนอลิก(พีพีเอ็ม)
ก่อนการกำจัด	31.66 ± 1.12	0.22 ± 0.21	12.66 ± 1.57	1.09 ± 0.14
หลังการกำจัด	35.71 ± 2.10	0	6.02 ± 1.22	1.02 ± 0.57

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับวิธีการกำจัดสารพิษนั้นกลไกในการทำปฏิกิริยาของการทำ Overliming นั้น ไม่เป็นที่เข้าใจดีนัก ในระหว่างการทำ Overiming นั้น กรดซัลฟิวริกจากการไฮโดรไลซิสจะถูกกำจัดออกเมื่อเติมปูนขาว และได้ตะกอนคือยิบซัม (Persson and Jonsson, 2002; Cardona *et al*., 2010) และจากตารางที่ 8 นั้น พบว่า เฟอฟูรอลนั้นสามารถกำจัดได้หมดด้วยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (Martinez *et al*., 2001; Nilverbrant and Person, 2003; Chandel *et al*., 2007) เนื่องจากเฟอฟูรอลมีอยู่ในปริมาณที่น้อยมาก นอกจากนี้ยังพบว่ามีการลดลงของ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ถึง 52 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ Chandel (2007) โดยเมื่อทำการ Overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะสามารถลดสารประกอบฟูแรน (ในที่นี้หมายถึงเฟอฟูรอล และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล) ได้ 45.8 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน และงานวิจัยของ Persson (2002) ซึ่งสามารถลด 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลโดยใช้วิธี Overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์หรือแอมโมเนีย ได้ประมาณ30-40 เปอร์เซ็นต์ และงานวิจัยของ Nilverbrant and Person (2003) ได้กล่าวไว้ว่า สำหรับการกำจัดสารพิษโดยวิธี Overliming นี้ จะสามารถลดปริมาณเฟอฟูรอล และ5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ได้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการกำจัดสารประกอบฟีนอลิกนั้นปริมาณฟีนอลิกที่ลดลงปริมาณเล็กน้อยนั้น เนื่องจากวิธีการ Overliming โดยใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์นั้น สามารถใช้กำจัดสารพิษประเภทฟูแรน (Furans) ได้ แต่ไม่มีงานวิจัยที่กล่าวถึงว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถนำไปกำจัดพวกสารประกอบฟีนอลิกได้ และสำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นนั้นคาดว่าอาจจะเกิดได้เนื่องจาก 2 สาเหตุด้วยกัน คือ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลนั้นเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลตามภาพที่ 30 คือ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล รวมตัวกับโมเลกุลของน้ำ จะเกิดปฏิกิริยาได้สารตัวกลางและจากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็น Fructofuranose และสุดท้ายเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม หรืออีกหนึ่งสาเหตุคือ การเพิ่มของน้ำตาลรีดิวซ์นั้นน่าจะมาจากปริมาณน้ำที่หายไปจากสารละลาย เนื่องจากเกิดการดูดซับน้ำบนแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่จากการศึกษาของงานวิจัยนี้คาดว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นนั้น อาจจะเกิดจากสาเหตุที่ 2 นั้นคือ เกิดการดูดซับบนแคลเซียมไฮดรอกไซด์ นอกจากนี้ยังทำการทดสอบพบว่า แคลเซียมไฮดรอกไซด์นั้นสามารถดูดซับน้ำได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ และดูดซับสารละลายที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 30 ภาพปฏิกิริยาการเกิดน้ำตาลจาก 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล

ที่มา : Wikipedia (2010a)

4.3 ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้เรซิน

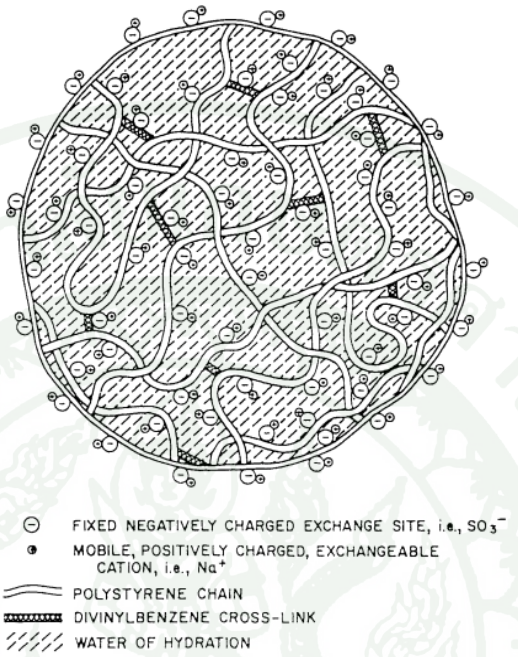
ตารางที่ 9 ปริมาณสารพิษก่อนและหลังของการกำจัดด้วยเรซิน

	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	สารประกอบฟีนอลิก(พีพีเอ็ม)
ก่อนการกำจัด	32.30 ± 1.63	0.19 ± 0.006	10.93 ± 0.76	1.09 ± 0.14
หลังการกำจัด	32.89 ± 1.92	0	5.85 ± 0.01	0.75 ± 0.03

สำหรับการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้เรซินนั้น อาศัยกลไกการแลกเปลี่ยนประจุ โดยที่พื้นผิวและภายในรูพรุนของเรซิน จะสามารถแลกเปลี่ยนประจุได้ ดังแสดงในภาพที่ 31 และจากตารางที่ 9 จะพบว่าปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล มีปริมาณลดลง 46 เปอร์เซ็นต์ และ ปริมาณเฟอฟูรอลลดลง 100 เปอร์เซ็นต์นั้น ทั้งนี้คาดว่าทั้ง 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลที่ลดลงนั้น เกิดจากการแลกเปลี่ยนประจุ และการดูดซับ ซึ่ง 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลแทรกตัวเข้าถึงช่องว่างของตัวดูดซับ เนื่องจาก 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอล เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก และสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลงถึง 31.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลงลดมากกว่าวิธีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และวิธีการทำ Overliming นั้นอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนประจุและดูดซับที่พื้นผิวเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกนั้นน่าจะมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เนื่องจาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โครงสร้างที่มีหมู่เบนซีน จึงอาจถูกดูดซับโดยเรซินได้ เนื่องจากโครงสร้างของเรซินก็มีส่วนของโครงสร้างเบนซีน (ดังภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 ลักษณะโครงสร้างของเรซิน

ที่มา : New Zealand Institute of Chemistry (ND)

งานวิจัยของ Chandel ค.ศ.2007 นั้น พบว่า การกำจัดสารพิษด้วยเรซินนั้นให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการกำจัดสารพิษ โดยสามารถลดสารประกอบฟูแรนได้ 63.4 เปอร์เซ็นต์ สารประกอบฟีนอลิก 75.8 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะซิติก 85.2 เปอร์เซ็นต์ แต่ในงานวิจัยนี้สามารถลด5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอล และ สารประกอบฟีนอลิก ได้น้อยกว่างานวิจัยของ Chandel (2007) เนื่องจากงานวิจัยของ Chandel (2007) นั้น ได้ใช้เรซินแลกเปลี่ยนประจุซึ่งมีทั้งประจุบวกและประจุลบในการทดลองซึ่งทำให้กำจัดได้ดีกว่าในงานวิจัยนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.4 ศึกษาวิธีการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้ถ่านกัมมันต์

ตารางที่ 10 ปริมาณสารพิษก่อนและหลังของการกำจัดด้วยถ่านกัมมันต์

	น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	เฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (พีพีเอ็ม)	สารประกอบฟีนอลิก(พีพีเอ็ม)
ก่อนการกำจัด	28.39 ± 1.68	0.22 ± 0.02	9.62 ± 2.35	1.09 ± 0.14
หลังการกำจัด	26.21 ± 0.30	0	0.12 ± 0.09	0.21 ± 0.07

สำหรับการกำจัดสารพิษด้วยวิธีการใช้ถ่านกัมมันต์นั้นใช้หลักการของการดูดซับ โดยมีการดูดซับทั้งภายในและบริเวณพื้นผิวของถ่านกัมมันต์ กล่าวคือ ปริมาณเฟอฟูรอล 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ถูดดูดซับภายในรูพรุนของถ่านกัมมันต์เนื่องจากเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก โดยเฟอฟูรอลและ5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล ลดลงถึง 100 และ 98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 และสารประกอบฟีนอลิก ลดลงถึง 80.7 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกนี้คาดว่าเกิดจากการดูดซับบริเวณพื้นผิวของถ่านกัมมันต์ (Grant and King, 1990)

สำหรับการกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์นั้นให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษได้ดี แต่มีข้อเสียคือถ่านกัมมันต์นั้น ดูดซับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไปด้วย ทำให้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มีปริมาณลดลงซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมต่อการนำไปหมักเอทานอล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการทดลองตอนที่ 1 นั้นพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้า คือ ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก 4 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาคือ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ 34.2 กรัมต่อลิตร และในการทดลองตอนที่ 2 นั้น สามารถสรุปได้ว่า การกำจัดสารเฟอฟูรอลนั้นสามาถกำจัดได้ทุกวิธี ส่วนการกำจัด 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล สามารถกำจัดได้โดยวิธีการกำจัดด้วยถ่านกัมมันต์ การทำ Overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ การใช้เรซิน และการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามลำดับ และการกำจัดสารประกอบฟีนอลิกนั้น วิธีการกำจัดสารพิษทางเคมีที่ให้ผลดีที่สุด คือ วิธีการกำจัดด้วยถ่านกัมมันต์ และวิธีที่สามารถกำจัดได้รองลงมา คือ การใช้เรซิน การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และการทำ Overliming ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ตามลำดับ แต่สำหรับการกำจัดด้วยวิธีการใช้ถ่านกัมมันต์ถึงแม้จะสามารถกำจัดปริมาณสารพิษต่างๆได้มากที่สุดแต่ก็ยังมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงด้วยเช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

ในขั้นตอนการไฮโดรไลซิส พบว่าปริมาณเซลลูโลสที่พบก่อน-หลังจากที่ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสนั้นไม่ค่อยจะมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงน่าจะมีการปรับสภาพวัตถุดิบเพื่อสลายโครงสร้างของลิกนินเสียก่อน เช่น การระเบิดไอน้ำ (Pumiput *et al*., 2008; Oliva *et al*., 2003) แล้วจึงนำมาทำการไฮโดรไลซิส เพื่อให้การไฮโดรไลซิสด้วยกรดนั้นมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลได้มากขึ้น

สำหรับขั้นตอนของการกำจัดสารพิษนั้น อาจจะมีการศึกษาเพิ่มเติมระหว่างการใช้ถ่านกัมมันต์และการใช้เรซินในการกำจัดสารประกอบฟีนอลิก โดยอาจจะใช้เรซินที่มีประจุบวก ประจุลบต่างกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการดูดซับโดยเรซินให้เพิ่มมากขึ้น และในกรณีที่ต้องการกำจัด 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล อาจจะมีการศึกษาเพิ่มระหว่างการใช้ถ่านกัมมันต์ กับ การทำ Overliming โดยใช้แคลซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อลดการสูญเสียน้ำตาลรีดิวซ์จากการใช้ถ่านกัมมันต์ซึ่งจะดูดซับน้ำตาลไปด้วย และ การใช้ถ่านกัมมันต์นั้น เพื่อให้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้นอาจจะมีการศึกษาเพิ่มโดยการทำเป็นแบบ 2 ขั้นตอน นั่นคือ ใช้ถ่านกัมมันต์ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที ในขั้นตอนแรก และ ใช้ถ่านกัมมันต์ 2 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 60 นาที ในขั้นตอนที่ 2 (Pumiput *et al*., 2008)

สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองหมักเอทานอลด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 ซึ่งพบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้นั้นมีปริมาณน้อยมากประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้คาดว่าควรจะเพิ่มสัดส่วนในการทำปฏิกิริยา เนื่องจากในสัดส่วนในการไฮโดรไลซิสที่ทำการศึกษานี้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และสารพิษนั้นมีปริมาณที่น้อยมาก ซึ่งอาจจะไม่จำเป็นต้องมีการกำจัดก็ได้ แต่ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงเทคนิคและวิธีการเพื่อเป็นวิทยาธานต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรรณิการ์ มีนสิรินันท์. 2541. **การวิเคราะห์เชิงพื้นผิวของพอลิคาร์บอเนตโดยเอทีอาร์ เอฟที-ไอ อาร์ สเปกโทรสโกปี.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. **พื้นที่เพาะปลูกกล้วยน้ำว้า.** แหล่งที่มา: www.doae.go.th, 8 สิงหาคม 2552.

กัลยา อยู่นาน, จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร และ กนก รัตนะกนกชัย. 2548. **การผลิตเอทานอลจากสารละลายกากมันที่ย่อยด้วยกรดโดยการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae.*** คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า, กรุงเทพฯ.

กัลยา อยู่นาน และจิรศักดิ์ คงเกียรติขจร. 2548. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยสารละลายกรดเจือจางและเอนไซม์, น. 365-373. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42.** สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม.

คม ชัด ลึก. 2550. **ข่าววิจัย/พัฒนา.** ใยอาหารจากเปลือกกล้วยเพิ่มคุณค่าให้ของกินเทียบเท่าเส้นใยนำเข้า. แหล่งที่มา: http://www.komchadluek.net/, อังคารที่ 9 ตุลาคม กรกฎาคม 2551.

จินตนา เขมาวุฒฒ์. 2534. **ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของกล้วยน้ำว้ากวน.** วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธีรภัทร ศรีนรคุตร เลิศลักษณ์ แก้ววิมล และละเอียด แซ่โง้ว. 2549. การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลในประเทศไทย. **วรสารวิจัยวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์** 2549 (31(1)): 1-8

ดุษฎี อุตภาพ**.** 2550. **Carbohydrate Technology**. สาขาเทคโนโลยีชีวเคมี. คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. **กล้วย.** ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปราณี สถิรพิพัฒน์กุล. 2532. ***การผลิตอะซิโตน-บิวทานอลจากผักตบชวาที่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์****. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.*

พงษ์ศักดิ์ กล่ำพัก และ มาลี วงศ์เทพ. 2551. **การไฮโดรไลซิสชีวมวลเพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยสารละลายกรดซัลฟิวริกเจือจาง.** ภาควิชาวิศกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา.

ระวีวรรณ แก้วกล้า. 2537. **การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สันทนา เสถียรไพศาล. 2539. **การเปลี่ยนเชิงชีวภาพของลิกโนเซลลูโลสเป็นเอทธานอล ด้วยวิธีการย่อยสลายและการหมักแบบต่อเนื่องโดย *Acrophialophora* sp. และ *Candida brassicae.*** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Agu, R., A. Amadife and E.Ogu. 1997. Combined heat treatment and acid hydrolysis of cassava grate waste(CGW) biomass for ethanol production. **Waste Manag** Chandela A.K., Kapoora R.K., Singhb A.and Kuhad R.C. 1997 (17): 91-96.

Anhwange,B., T. Ugye and T. Nyiaatagher. 2009. Chemical composition of *Musa Sapientum* (banana). **EJEAFChe**. 2009 (6): 437-442.

AOAC. 2000. **Official Methodes of Analysis Assocoation of Official.** 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Archibald J.G. 1949. Nutrient composition of banana skins. **Journal of dairy science** 1949: 969-971.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chandel,K.,K. Rajeev and C. Ramesh. 2007. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by Candida shehatae NCIM 3501. **Bioresource Technology** 2007 (98): 1947-1950.

Cardona ,C., J. Quinteroa and I. Paz. 2010. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology** 2010 (101): 4754-4766.

Casey,P. 1960. **Pulp and paper chemistry and chemical technology.** John Whiley & sons.

Eklund,R.and G. Zacchi. 1995. Simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated willow. **Enzyme and Microbial Technology** 1995 (1): 255–259.

Grant, T. and C. King 1990. Mechanism of irreversible adsorbtion of phenolic compiounds by activated carbons. **Industrial & Engineering Chemistry** ***Research*** *1990(29) : 267-271*.

Hammond, J. and R Egg. 1996. Alcohol from bananas. **Bioresource Technology** 1996 (56): 125-130.

Hernendez-Salas,J., M .Villa-Ramírez and S .Trejo-Estrada. 2009. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. **Bioresource Technology** 2009 (100): 1238-1245.

Karimi, K., S. Kheradmandinia and M. Taherzadeh. 2006a. Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. **Biomass and bioenergy** 2006 (30): 247-253.

Karimi, K., G. Emtiazi and J Taherzadeh. 2006b. Production of ethanol and mycelial biomass from rice staw hemicellulose hydrolyzate by Mucor indicus. **Process biochemistry** 2006 (41): 653-658.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Martín, C., M. Galbe and L. Jönsson.. 2002. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinantn xylose-utilising Saccharomyces cerevisiae. **Enzyme and Microbial Technology** 2002 (31): 274–282.

Martinez, A., E. Maria and O. Lonnie . 2001. Detoxification of Dilute Acid Hydrolysates of Lignocellulose with Lime. **Biotechnology Progress** 2001 (17): 287–293.

Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** 1959 (31): 426–428.

New Zealand Institute of Chemistry. ND. **Ion exchange resins.** Chemical process in New Zealand. Available Source: http://nzic.org.nz/ChemProcesses/water/index.html, 2010.

Nilverbrant, N. and P Persson. 2003. Limits for alkaline detoxification of dilute acid lignocellulose hydrolysates. **Apply Biochemistry Biotechnology** 2003 (105-108):615-628

Oliva, J., S.Ignacio and M. Ballesteros . 2003. Effect of lignocellulosic degradation compounds from steam explosion pretreatment on ethanol fermentation by thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus.* **Applied Biochemistry and Biotechnology.** 2003 (105):141-153

Palmqvist, E. and B. Hahn-Hägerdal. 2002a. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I : inhibition and detoxcification. **Bioresource Technology** 2002 (74): 17-24.

Palmqvist, E. and B. Hahn-Hägerdal. 2002b. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II : inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology** 2002 (74): 25-33.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Persson, P. and L Jonsson 2002. Effect of Different Forms of Alkali Treatment on Specific Fermentation Inhibitors and on theFermentability of Lignocellulose Hydrolysates for Production of Fuel Ethanol. **J.Agric.FoodChem** 2002 (50): 5318−5325.

Phytochemicals. **Tannic acid.** Available Source: Phytochemicals, June 22, 2010.

Pumiput,P., S.Chuntranuluck and V.Vaithanomsat. 2008. Production process of hydrolysated from stream explosion of oil palm trunk for xylitol fermentation. **Kasetsart J. (Nat. Sci).** 2008(42) : 73-78.

Sharma,N., K.Kalra and S.Bansal.2007. Optimization of fermentation parameters for production of ethanolfrom Kinnow waste and banana peels by simulataneous saccharification and fermentation. **Indian J. Microbio.** 2007(47) : 310-316.

Silva,S., M.Felipe and Vitolo M. 1998. Xylitol production by Candida guilliermondii FTI 20037 grown in pretreat sugarcane bagasse hydrolysate. **Agr.Food Energ Ind.** 1998: 1116-1119.

Mussatto,S.and I.Roberto. 2004. Alternatives for detoxification of dilluted-acid lignocellulose hydrolyzates for use in fermentative process : a review. **Biosourse Technology** 2004 (93): 1-10.

Sreenath, H., R. Koegel and R. Straub. 2001. Ethanol production from alfalfa fiber fractions by saccharification and fermentation. **Process Biochemistry** 2001 (36): 1199–1204.

Tasic, M.,, B. Konstantinovic and V. Veljkovic. 2009. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. **Biochemical Engineering Journal** 2009 (43): 208-211.

Tewari, H., S.Marwaha and K. Rupal. 1986. Ethanol from Banana peels. **Agricutural Waste** 1986 (16): 135-146.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Wikipedia. 2010 a. **Hydroxymethylfurfural.** Hydroxymethylfurfural. Available Source: Wikipedia, July 4, 2010.

Wikipedia. 2010 b. **Furfural.** Furfural. Available Source: Wikipedia, July 4, 2010.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและการวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Miler, 1959)

สารเคมีสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS solution)

ก. สารละลาย 3,5- Dinitrosalicylic acid

ข. Sodium potassium tartrate (Rochelle salt)

ค. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เตรียมโดยละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid 2.5 กรัม ลงใน 50 มิลลิลิตรของ 2 โมล โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 8 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และเติม Sodium potassium tartrate 75 กรัม คนจนละลายหมด ปรับปริมาตรสุดท้าย 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง จะสามารถเก็บได้นานหลายอาทิตย์

สารละลายกลูโคสมาตราฐาน

Stock solution 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเตรียมสารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 200 400 600 800 และ 10000 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์

ก. เตรียมสารละลายตัวอย่างสารละลายกลูโคสมาตราฐาน 1 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง

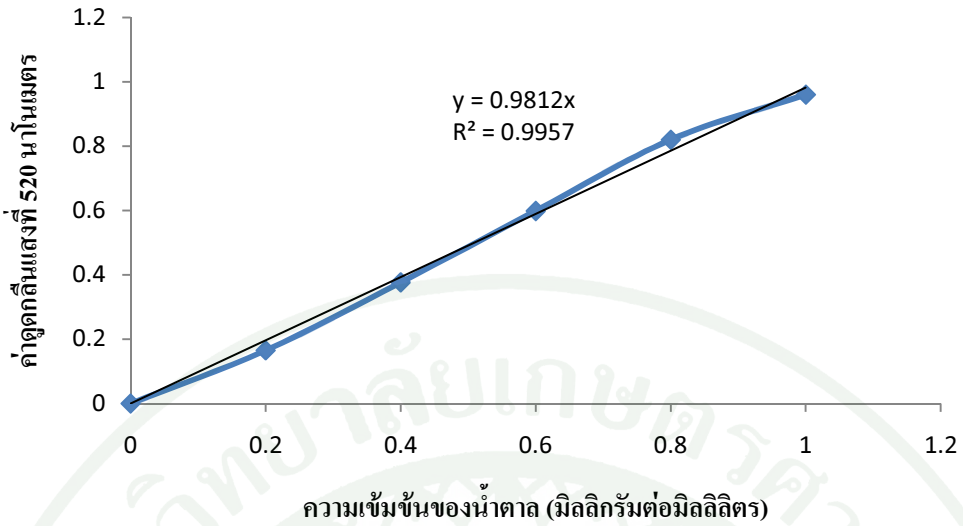
ข. เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

ค. นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ทำให้เย็น

ง. เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

จ. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตราฐานของสารละลายกลูโคสโดยวิธีของ Miller (1959)

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตราฐาน}}$$

2. การวิเคราะห์หาน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ด้วยเครื่อง HPLC

เครื่อง : High performance liquid chromatography ของบริษัท Shimadzu (Class LC10) ประเทศญี่ปุ่น

คอลัมน์ : Aminex HPX-87P Column (Bio-Rad)

Detector: Refractive index (RI) detector

Mobile phase: Deionized water

อุณหภูมิ : 80 องศาเซลเซียส

อัตราการไหล : 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

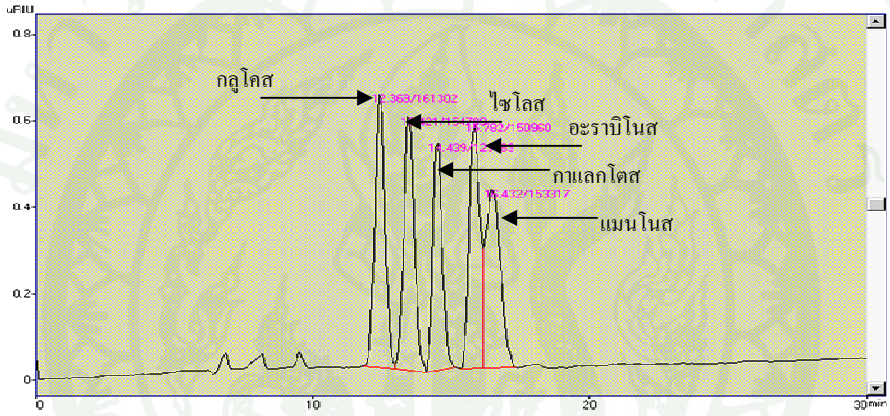
การวิเคราะห์

1. การหาค่า Retention time ของสารมาตรฐานที่เป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC

ก. เตรียมสารละลายของน้ำตาลมาตรฐานที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ค. ฉีดสารละลายของน้ำตาลมาตรฐานปริมาตร 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC จะได้ค่า Retention time และพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลแต่ละชนิด (ภาพผนวกที่ ก2) , ตารางผนวกที่ ก1)



ภาพผนวกที่ ก2 ลักษณะโคมาโตรแกรมของสารมาตรฐานที่เป็นน้ำตาลชนิดต่างๆและเวลาที่ปรากฏจากการตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC

ตารางผนวกที่ ก1 แสดงค่า Retention time และสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ y และความเข้มข้น x (ภาพผนวกที่ ข3-ข8) ของน้ำตาลแต่ละชนิด

ชนิดของน้ำตาล	Retention time (นาที)	สมการเส้นตรง
D-กลูโคส	12.36	y =1645.8x
D(+)ไซโลส	13.42	y =1553.8x
D(+)กาแลกโตส	14.43	y =1239.2x
D(+)อะราบิโนส	15.78	y =1528.1x
D(+)แมนโนส	16.43	y =1563.2x
ไซลิทอล	34.54	y =1464.1x

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

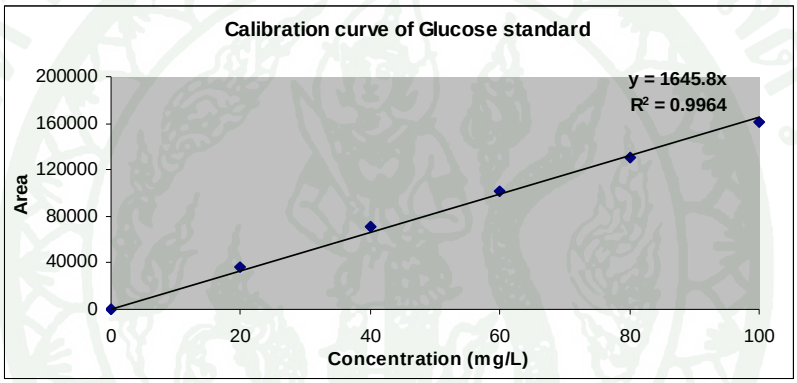
2. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานที่เป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC

ก. เตรียมสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดในช่วงความเข้มข้น 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

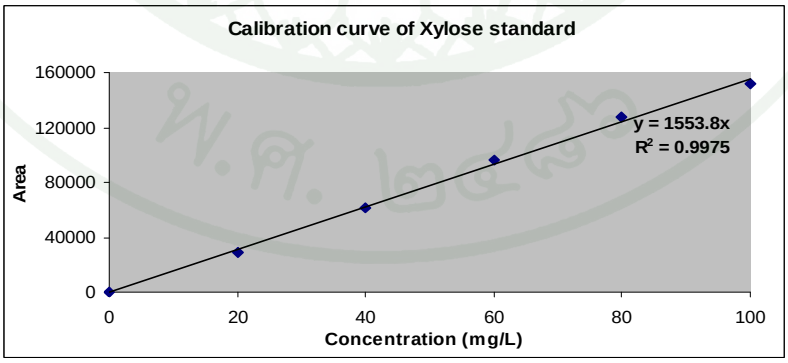
ข. กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ค. ฉีดสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC จะได้ค่า Retention time และพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ

ง. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง พื้นที่ใต้กราฟ กับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลในช่วง 0-100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพผนวกที่ ก3-ก7)

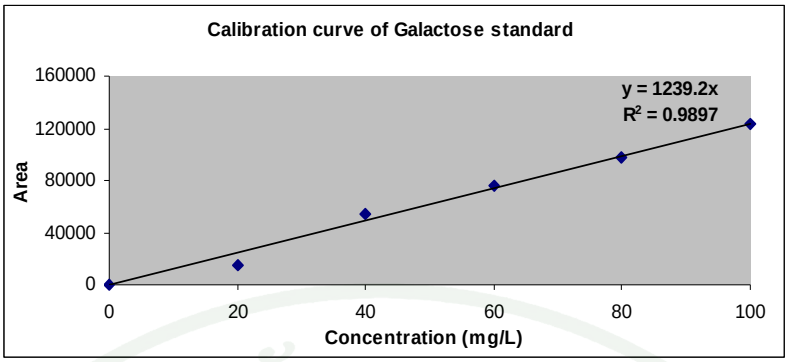


ภาพผนวกที่ ก3 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

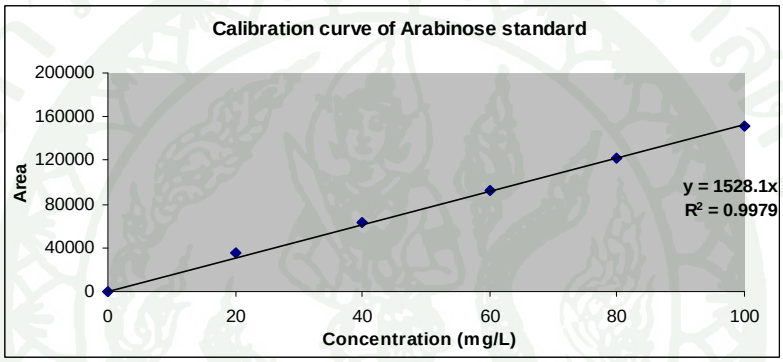


ภาพผนวกที่ ก4 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซส

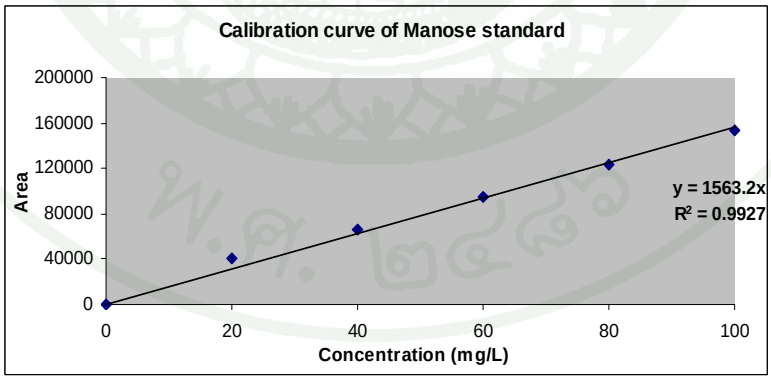
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก5 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกาแลกโตส



ภาพผนวกที่ ก6 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลอะราบิโนส



ภาพผนวกที่ ก7 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลแมนโนส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในรูปสารละลายฟีนอลิก (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu
2. กรดแทนนิก
3. โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 20

วิธีวิเคราะห์

ก. เตรียมสารละลายกรดแทนนิกมาตราฐานเริ่มต้น 100 ppm

ข. เตรียมสารละลายกรดแทนนิกมาตราฐาน 1 2 3 4 และ 5 ppm โดยการดูดสารละลายกรดแทนนิกเริ่มต้นในข้อ ก. มาจำนวน 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิลิตร ลงในvolumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร

ค. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ข้อ ข. พร้อมเขย่า

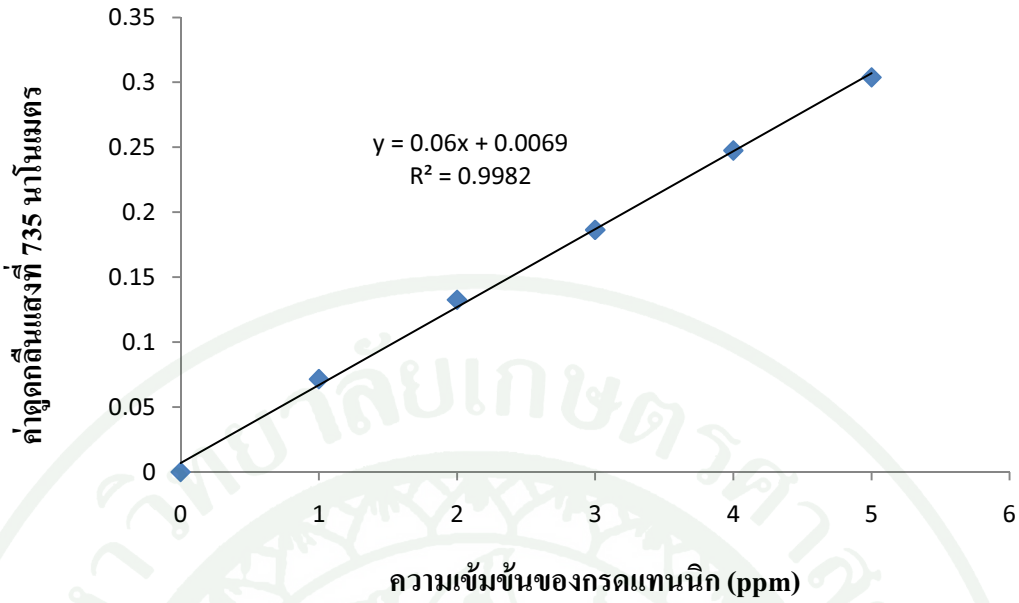
ง. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 20 จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงใน Flask ข้อ ข. พร้อมเขย่า แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 50 มิลลิลิตร

จ. ตั้งสารละลายทิ้งไว้ 20 นาที

ฉ. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 735 นาโนเมตร

ช.วิเคราะห์ตัวอย่างโดยการเจือจางตัวอย่างให้เหมาะสมแล้วดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นดำเนินการตามข้อ ค ถึง ฉ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก8 กราฟสารละลายกรดแทนนิกมาตราฐานโดยใช้สารละลาย Folin-ciocultue

4. การวิเคราะห์ปริมาณ 5-hydroxymethylfurfural (HMF) ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

สารเคมี

สารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลความเข้มข้น 20 40 60 80 100 ppm

การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์

นำไปกรองโดยผ่านชุดกรอง Cellulose Acetate 0.45 ไมครอน ลงในหลอดบรรจุตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิทนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ ก9 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วย HPLC

นำสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้ว และสารละลาย 5-HMF มาตราฐานที่เตรียมไว้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยมีสภาวะการวิเคราะห์ดังนี้ คือ

Mobile phase : 0.005 M ของกรดซัลฟิวริก

Injection volume : 20 ไมโครลิตร

Column : *Aminex* HPX-*87H*

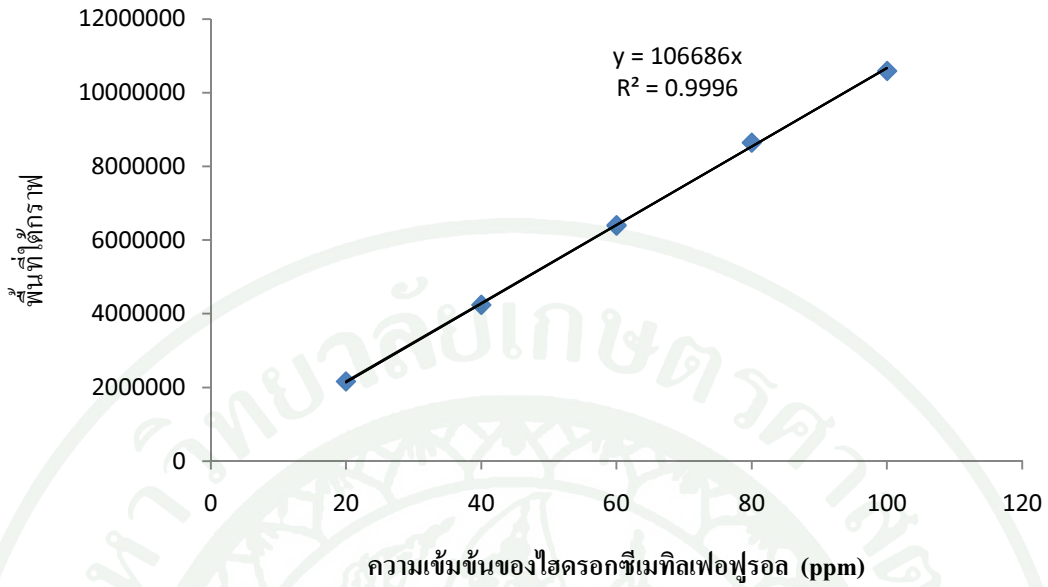
5. การเตรียมกราฟมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล

5.1 สารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล

5.1.1 Stock Solution 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

5.1.2 Working Solution นำสารละลายในข้อ 3.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 400, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อนำมาหากราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก10 กราฟมาตราฐานของสารละลายไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล

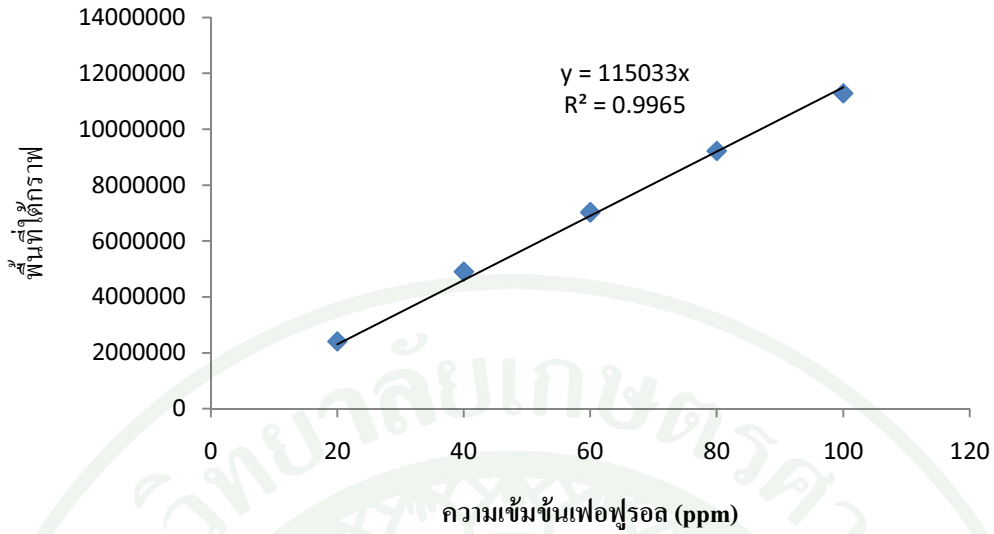
6. การเตรียมกราฟมาตรฐานเฟอฟูรอล

6.1 สารละลายมาตรฐานเฟอฟูรอล

6.1.1 Stock Solution 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายเฟอฟูรอล 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

6.1.2 Working solution นำสารละลายในข้อ 3.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 400, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อนำมาหากราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก11 กราฟมาตราฐานของสารละลายเฟอฟูรอล

7. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย

1. Neutral Detergent Solution ประกอบด้วย

3 %(w/v) Sodium lauryl sulfate

1.618 % (w/v) Ethylenediamine tetracetic acid (EDTA)

0.456 % (w/v) Na_2HPO_4

0.681 % (w/v) $Na_2B_4O_710H_2O$

1% (v/v) Ehylene glycol monoethyl ether

ปรับสารละลายใหม่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.9 และเติม 2 % (v/v) decahydronaphthalene และ 0.5 % (w/v) Na_2SO_4

2. Acid Detergent Solution ประกอบด้วย

2 % (w/v) Cetyl trimethy ammonium bromide ใน 1 N H_2SO_4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. Lignin Determination

Buffer Solution ประกอบด้วย

0.6 % (w/v) Fe $(NO_3)_3$ $9H_2O$

0.015 % (w/v) $AgNO_3$

50 % (v/v) Glacial acetic acid

0.5 % (w/v) Potassium acetate

40 % (v/v) Tertiary butyl alcohol

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

ข้อมูลการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข1 เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่างๆของการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยกรดเจือจางที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ค่าเฉลี่ย
2	15.13	15.3	15.03	15.20	14.95	15.12
3	16.65	17.65	18.33	18.05	17.20	17.58
4	20.35	20.4	19.4	20.05	18.95	19.83
5	18.9	18.85	18.65	20.30	19.03	19.15
7	18.23	20.05	19.63	19.88	17.78	19.11
10	19.58	19.55	19.45	19.38	19.35	19.46

ตารางผนวกที่ ข2 อุณหภูมิต่างๆของการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เวลา 15 นาที

อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ค่าเฉลี่ย
30	18.0	19.43	18.20	18.88	18.60	18.56
60	19.80	19.78	19.98	19.03	19.68	19.75
90	25.48	26.85	25.78	25.03	25.13	25.46

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข3 เวลาในการไฮโดรไลซิสกล้วยด้วยกรดเจือจางที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 45 นาที

เวลาในการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยด้วยกรด (นาที)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย
15	25.13	24.90	30.38	30.65	27.26
30	27.68	31.50	27.80	32.30	29.82
45	36.60	32.68	36.45	33.20	34.73
60	35.75	33.88	34.10	35.98	34.93
75	34.70	34.25	34.78	34.35	34.52

ตารางผนวกที่ ข4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง

	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
ก่อนการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	31.20	32.65	30.83	31.56
หลังการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	33.7	34.68	34.48	34.29

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์

	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
ก่อนกำจัดสารพิษโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์	30.63	32.85	31.50	31.66
หลังกำจัดสารพิษโดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์	42.40	43.08	46.33	43.93

ตารางผนวกที่ ข6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยถ่านกัมมันต์

	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
ก่อนกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์	30.23	22.50	28.03	26.92
หลังกำจัดสารพิษด้วยถ่านกัมมันต์	26.85	25.25	26.73	26.28

ตารางผนวกที่ ข7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อน-หลังการกำจัดสารพิษโดยเรซิน

	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
ก่อนกำจัดสารพิษด้วยเรซิน	30.55	32.58	33.78	32.30
หลังกำจัดสารพิษด้วยเรซิน	30.68	33.80	34.20	32.89

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข8 ปริมาณเฟอฟูรอลและ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยแสดงเป็นพื้นที่ใต้กราฟ

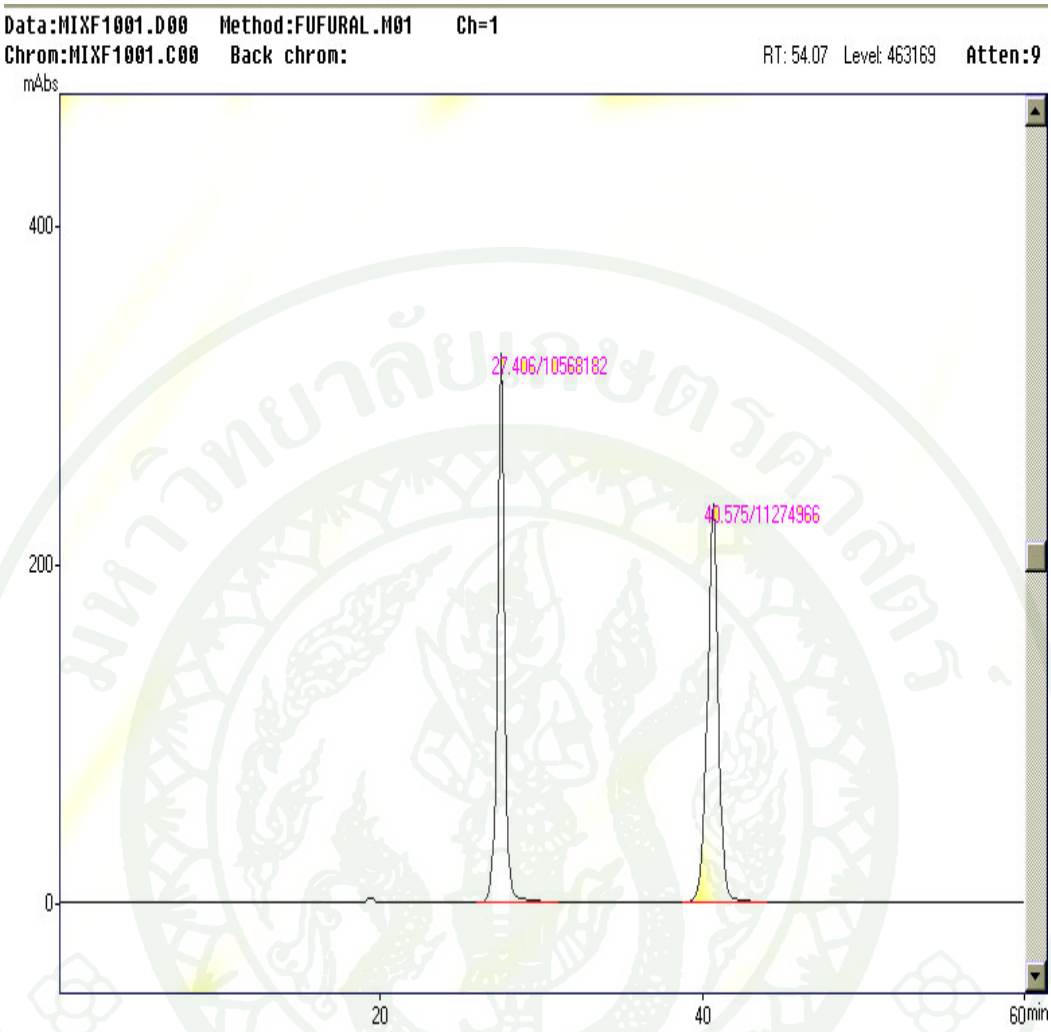
การกำจัดสารพิษ	การทดลอง	ปริมาณเฟอฟูรอล (พื้นที่ใต้กราฟ)		ปริมาณ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล (พื้นที่ใต้กราฟ)	
		ก่อน	หลัง	ก่อน	หลัง
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	1	59010	ND	1365255	46559
	2	7785	1228	1317797	1308271
	3	6471	ND	1155973	1106549
แคลเซียมไฮดรอกไซด์	1	53354	ND	1472131	31339
	2	8206	ND	1156332	541360
	3	14045	ND	1411856	1355451
ถ่านกัมมันต์	1	59319	ND	1604550	24837
	2	11351	ND	103144	5722
	3	4222	ND	1371105	7759
เรซิน	1	52746	ND	1165076	24874
	2	750	ND	1084590	541360
	3	6172	ND	1248288	555451

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าก่อนและหลังการกำจัดสารพิษ ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 735 นาโนเมตร

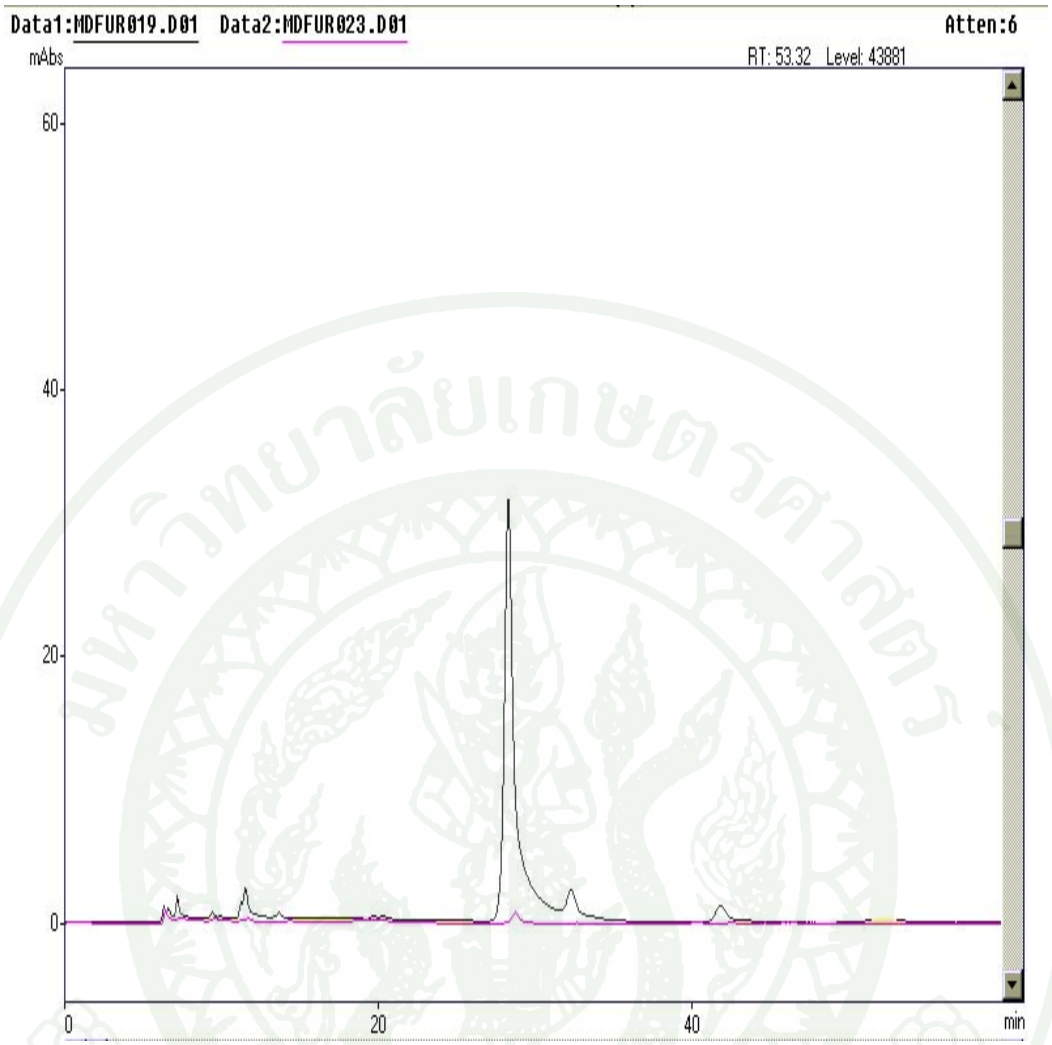
การกำจัดสารพิษ	การทดลอง (ซ้ำ)	สารประกอบฟีนอลิก (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 735 นาโนเมตร)	
		ก่อน	หลัง
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง	1	1.15	1.14
	2	1.2	0.97
	3	0.93	0.90
แคลเซียมไฮดรอกไซด์	1	1.15	1.08
	2	1.2	0.42
	3	0.93	0.90
ถ่านกัมมันต์	1	1.15	0.25
	2	1.2	0.26
	3	0.93	0.13
เรซิน	1	1.15	0.78
	2	1.2	0.77
	3	0.93	0.71

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ข1 โครมาโตแกรมแสดงปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลมาตรฐานที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ข2 โครมาโตแกรมแสดงปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอลและเฟอฟูรอลที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยกรดซัลฟิวริกที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวดรุณวรรณ ชื่นบุบผา
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 8 มกราคม 2527
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี ภาควิชาวิศกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ปริญญาโทภาควิชาวิศกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์