

การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพขานอ้อยด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง Optimization of Sugarcane Bagasse Pretreatment by Microwave-Assisted Sulfuric Acid uUsing Response Surface Methodology

อรณิชา รุจีพันธ์¹ จุฑามาศ ยิ้มแย้ม¹ สุชีรา เหล่าเจริญ^{1*} และ ปริญญพัณฑ์ เพชรจรัส¹
Rujeepan, O.¹, yYimyam, J.¹, Laocharoen S.^{1*} and Petcharat, P.¹

Abstract

This study investigated the pretreatment of sugarcane bagasses (SCB) by microwave-assisted sulfuric acid to obtain the hydrolysate with the highest sugar content. In the first part, the effect of SCB sizes on the efficiency of pretreatment was studied. Two sizes of SCB were used for pretreating with 0.2 M H₂SO₄ and then heating by microwaving for 5 minutes. The 40 mesh of SCB yielded 13.56±0.99 g of total-sugars per liter, greater than that of 0.5 cm of SCB. Secondly, the optimum condition for pretreatment of SCB was studied using response surface methodology (RSM) with central composite design (CCD). Two independent factors i.e., H₂SO₄ concentration and reaction time, were optimized using total-sugar concentration as the response. The results show that the optimum pretreatment condition of SCB was 0.4 M H₂SO₄ and 12.10 min of reaction time, resulting in 18.92 g/L of total-sugars obtained.

Keywords: Microwave-sulfuric acid pretreatment, Response surface methodology, Sugarcane bagasse

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการเตรียมขานอ้อยด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก เพื่อให้ได้ไฮโดรไลเสตที่มีปริมาณน้ำตาลสูงที่สุด โดยส่วนแรกศึกษาผลของขนาดของขานอ้อยต่อการปรับสภาพ โดยขานอ้อยที่นำมาใช้มี 2 ขนาด ปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริก 0.2 โมลาร์ ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเป็นเวลา 5 นาที พบว่าขานอ้อยขนาด 40 mesh ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 13.56±0.99 กรัม ต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อใช้ขานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร และส่วนที่ 2 เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพขานอ้อย โดยอาศัยหลักการพื้นผิวตอบสนองและออกแบบการทดลองแบบส่วนผสมกลาง ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเป็นค่าตอบสนอง และ ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (X₁) และเวลาที่ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ (X₂) ผลการทดลองพบว่าที่ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 0.40 โมลาร์ และเวลาในการให้ความร้อนที่ 12.10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพขาน อ้อย โดยในสภาวะที่เหมาะสมนี้ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 18.92 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: การปรับสภาพด้วยกรดซัลฟูริกร่วมกับไมโครเวฟ วิธีพื้นผิวตอบสนอง ขานอ้อย

คำนำ

ขานอ้อยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากทั้งภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลและการผลิตเอทานอลจากอ้อย ปี พ.ศ. 2560 มีการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล น้ำอ้อยและมันสำปะหลังรวม 1461 ล้านลิตร (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560) ซึ่งในการนำอ้อยมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลนั้น พบว่าอ้อย 1 ตัน ทำให้เกิดขานอ้อยถึง 140 กิโลกรัม ส่วนการผลิตน้ำตาล อ้อย 1 ตัน ผลิตน้ำตาลได้ 110 kg แต่เกิดขานอ้อยสูงถึง 290 kg ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการนำขานอ้อยเหลือทิ้งเหล่านี้มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามขานอ้อยถือเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ที่ประกอบด้วยลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ก่อนนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลจึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อน เพื่อแยกลิกนินออกและย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโมโนเมอร์ที่จุลินทรีย์จะสามารถนำไปใช้ได้

การปรับสภาพ (Pretreatment) ในปัจจุบันมีหลากหลายวิธี เช่นการปรับสภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ แต่ก็สามารถนำแต่ละวิธีมาใช้ร่วมกันได้เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพต่อการย่อยได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะวิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรด ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยและได้ปริมาณน้ำตาลค่อนข้างสูง คลื่นไมโครเวฟจะทำให้สารไดอิเล็กทริกถูกเหนี่ยวนำและหมุนขั้ว โดยการหมุนขั้วของโมเลกุลกลับไปมาทำให้เกิดความร้อนขึ้น เกิดการชนกันของโมเลกุล

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี, 41000

¹ Division of Biotechnology, Faculty of Technology, U-don Thani Rajabhat University, 41000

*Corresponding author: nung-paw@hotmail.com, Sucheeralao05@gmail.com

ในวงกว้าง ซึ่งจะช่วยเร่งกระบวนการทางชีวภาพ เคมี และกายภาพของสารได้อิเล็กทริกอย่างเช่นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Amin และคณะ, 2017) ส่วนกรดจะไปทำลายแรงแวนเดอร์วาลส์ พันธะไฮโดรเจนและโคเวเลนต์ที่ยึดส่วนประกอบชีวมวลเข้าด้วยกันไว้ให้แยกออกจากกัน ทำให้เกิดการย่อยสลายของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ในการหมักได้นอกจากนั้นขนาดของวัสดุชีวมวลยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพอย่างมีนัยสำคัญ (Liu และคณะ, 2013)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำขานอ้อยมาผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก โดยการหาขนาดของขานอ้อยที่เหมาะสม จากนั้นจึงหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพขานอ้อย คือความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและเวลาที่ทำให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ ซึ่งจะใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology ; RSM) RSM ด้วยการออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง (Central Composite Design; CCD) เพื่อหาสภาวะที่ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

นำขานอ้อยมาอบให้แห้งในตูอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง จากนั้นตัดให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร และอีกส่วนนำมาบดโดยเครื่องปั่น และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh จะได้ขานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร และ 40 mesh จากนั้นนำขานอ้อยทั้ง 2 ขนาดปริมาณ 5 กรัม เติมน้ำลงในขวดบลูกลีทแก้ว เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 M 100 มิลลิลิตรลงไป นำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่มีกำลังไฟฟ้า 800 kw 5 นาที จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำไฮโดรไลสที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ 5000 rpm 15 นาที (Khamtib, และคณะ, 2011) ก่อนที่จะนำไฮโดรไลสที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol sulfuric acid โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพขานอ้อย โดยออกแบบการทดลองด้วยวิธีทางสถิติซึ่งใช้หลักการ RSM และออกแบบการทดลองแบบ CCD เพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยเพื่อให้ได้ค่าตอบสนองที่ดีที่สุด โดยกำหนดให้ค่าตอบสนอง (Response) เป็นค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดของไฮโดรไลส ซึ่งการออกแบบจะใช้โปรแกรม Design Expert โดยปัจจัยที่ศึกษา มี 2 ปัจจัยด้วยกันคือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (X_1) และเวลาที่ทำให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ (X_2) ซึ่งระดับของปัจจัยที่ใช้ในการทดลองมี 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (+1) และยังมีระดับ $-\alpha$ $+\alpha$ ที่ได้จากโมเดล (Table 1)

นำขานอ้อยขนาดที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในขั้นตอนที่แล้ว มาทำการปรับสภาพเช่นเดียวกับในขั้นตอนการเปรียบเทียบขนาดขานอ้อย แต่แปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและเวลาที่ทำให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ ดังแสดงใน Table 1 และตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้น โดยทำการทดลองซ้ำที่สภาวะที่เหมาะสม (Optimum) สภาวะต่ำสุด สภาวะสูงสุด และสภาวะกึ่งกลาง ของแต่ละปัจจัย เพื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จากการคาดคะเนของโมเดล

Table 1 Central composite experiment design with two independent variables and results of total sugars.

Run	Code		Actual		Total sugar (g/L)	
	H ₂ SO ₄ Conc. (X ₁) M	Reaction time (X ₂) min	H ₂ SO ₄ Conc. (X ₁) M	Reaction time (X ₂) min	Observed	Predicted
1	0	0	0.30	9.50	18.27	18.30
2	-1	+1	0.10	15.00	15.06	15.03
3	0	0	0.30	9.50	17.97	18.30
4	0	0	0.30	9.50	18.51	18.30
5	0	0	0.30	9.50	18.70	18.30
6	$+\alpha$	0	0.58	9.50	16.56	17.34
7	0	$-\alpha$	0.30	1.72	14.59	14.80
8	+1	+1	0.50	15.00	18.94	18.24
9	+1	-1	0.50	4.00	16.80	16.22
10	$-\alpha$	0	0.02	9.50	13.03	12.86
11	0	$+\alpha$	0.30	17.28	17.19	17.59
12	-1	-1	0.10	4.00	13.01	13.10
13	0	0	0.30	9.50	18.04	18.30

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเปรียบเทียบขนาดของขานอ้อย 40 mesh และ 0.5 เซนติเมตร (Figure 1) ต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพขานอ้อย พบว่าเมื่อใช้ขานอ้อยขนาด 40 mesh ไฮโดรไลเซตที่ได้มีค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดที่ 13.56±0.99 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่ามากกว่าการใช้ขานอ้อยขนาด 0.5 เซนติเมตร (9.18±0.82 กรัมต่อลิตร) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขนาดของขานอ้อยส่งผลต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริก เนื่องจากวัสดุชีวมวลที่มีขนาดใหญ่เกินไปอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการถ่ายเทมวลและความร้อนระหว่างกระบวนการปรับสภาพที่ใช้สารเคมีและความร้อน ทำให้พื้นผิววัสดุภายนอกเกิดการไหม้ในขณะที่อุณหภูมิภายในเกิดการปรับสภาพที่ไม่สมบูรณ์ (Liu และคณะ, 2013)



Figure 1 Sugarcane bagasse (a) 40 mesh (b) 0.5 cm

การศึกษาผลของปัจจัย X_1 และ X_2 ต่อผลตอบสนอง ผลการทดลองทั้ง 13 สภาวะแสดงใน Table 1 และสามารถนำมาสร้างสมการโพลีโนเมียลกำลังสองได้ดังสมการที่ 1 และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งเป็นการตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองดังแสดงใน Table 2 โดยจะเห็นว่า R^2 มีค่าเท่ากับ 0.9610 หมายความว่าตัวแปรอิสระทั้ง 2 ตัวแปร (X_1, X_2) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตาม (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) ได้ร้อยละ 96.10 นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์การถดถอยของแบบจำลอง พบว่าแบบจำลองมีค่าัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า P-value < 0.0001 ($P < 0.05$) และค่า Lack of fit ของแบบจำลองไม่มีัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.0605$) แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีความเหมาะสมกับข้อมูลการทดลองอย่างมีัยสำคัญทางสถิติและสามารถนำมาทำนายค่าผลตอบได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

$$Y_{\text{Total Sugar}} = 18.30 + 1.58X_1 + 0.98X_2 + 0.022X_1X_2 - 1.6X_1^2 - 1.05X_2^2 \tag{1}$$

จาก Table 2 พบว่าในเทอมเส้นตรงของ X_1 และ X_2 มีค่า P-Value < 0.0001 และ P-Value = 0.0013 ตามลำดับ แสดงว่าปัจจัย X_1 และ X_2 มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในการปรับสภาพขานอ้อยอย่างมีัยสำคัญ ส่วนเทอมของอันตรกิริยา (X_1X_2) มีค่า P-value เท่ากับ 0.9361 ($P > 0.05$) แสดงว่า X_1 และ X_2 ไม่มีอันตรกิริยาต่อกัน และเทอมยกกำลังสองของความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก (X_1^2) และเวลาที่ใช้ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ (X_2^2) มีค่า P-Value เท่ากับ 0.0001 และ 0.0014 ($P < 0.05$) ตามลำดับ แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่ผิวตอบสนอง ดังนั้นจึงสามารถใช้ในการจำลองกำลังสองทำนายปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการเตรียมขานอ้อยในสภาวะนี้ได้ และเมื่อนำสมการที่ 1 มาสร้างกราฟพื้นผิวผลตอบปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและกราฟโครงร่างดังแสดงใน Figure 2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพขานอ้อยด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกที่ได้จากการทำนายของโมเดลคือ ที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก 0.40 M และ เวลาในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่ 12.10 นาที ซึ่งจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในไฮโดรไลเซตมากที่สุดเท่ากับ 18.92 g/L โดยให้ค่าความพึงพอใจโดยรวมของผลตอบ (Desirability: D) เท่ากับ 0.997 ซึ่งมีค่าใกล้เคียง 1 มาก แสดงได้ว่าผลตอบนี้ได้รับความพึงพอใจอย่างสมบูรณ์

Table 2 Analysis of variance (ANOVA) for the model regression representing Ps.

Source	Sum of squares	df	Mean of square	F-Value	P-value (Prob>F)
Model	50.59	5	10.12	34.47	<0.0001
X_1 -Acid conc.	20.04	1	20.04	68.27	<0.0001
X_2 -Time	7.74	1	7.74	26.35	0.0013
X_1X_2	2.025E-003	1	2.025E-003	6.898E-003	0.9361
X_1^2	17.79	1	17.79	60.59	0.0001
X_2^2	7.69	1	7.69	26.20	0.0014
Residual	2.05	7	0.29	-	-
Lack of Fit	1.67	3	0.56	5.85	0.0605
Pure Error	0.38	4	0.095	-	-
Cor Total	52.65	12	-	-	-
Coefficient of determination (R^2) = 0.9610		Adjusted determination coefficient (R^2) = 0.9331			

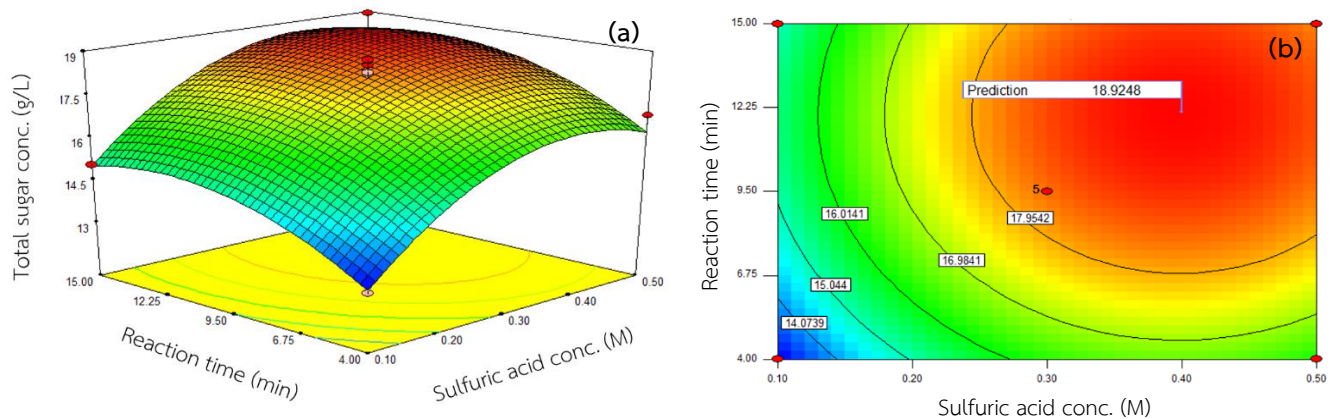


Figure 2 Response surface plot showing the effects of sulfuric acid concentration and reaction time on total sugar production (a) and contour plot on total sugar production (b).

เมื่อยืนยันผลแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้ง 4 สภาวะ พบว่าที่สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากโมเดล ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 20.58 g/L ซึ่งต่างจากการคาดคะเน (18.92 g/L) จากสมการทางคณิตศาสตร์เพียง 8.77% และ สภาวะต่ำสุด สภาวะสูงสุด และสภาวะกึ่งกลางมีค่าต่างจากที่คาดคะเนเท่ากับ 6.64% 11.13% และ 3.01% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจากงานวิจัยอื่น ๆ จะให้ค่าปริมาณน้ำตาลสูงสุดต่างกันไปตั้งแต่ 11-36 g/L (Fangkum และ Reungsang, 2011; Thungklin และคณะ, 2018) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุ วิธีการและสภาวะในการปรับสภาพ เป็นต้น

สรุปผล

ขนาดของขานอ้อยที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพด้วยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกคือ 40 mesh สภาวะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพด้วยการออกแบการทดลองทางสถิติคือ กรดซัลฟูริกที่ 0.40 M และเวลาในการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่ 12.10 นาที โดยที่สภาวะที่เหมาะสมนี้จะให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 20.58 g/L ซึ่ง ให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่างจากการคาดคะเนจากสมการทางคณิตศาสตร์เพียง 8.77% แสดงให้เห็นว่าการคาดคะเนโดยสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนี้สามารถทำนายค่าผลตอบได้เป็นอย่างดี ซึ่งมีศักยภาพและความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ในการขยายขนาดในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, 2560, รายงานประจำปี 2560.
- Amin, F. R., Khalid, H., Zhang, H., Rahman, S., Zhang, R., Liu, G. and Chen, C., 2017, Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Anaerobic Digestion, *AMB Express*, 7(1). doi:10.1186/s13568-017-0375-4.
- Fangkum, A. and Reungsang, A., 2011, Biohydrogen Production from Sugarcane Bagasse Hydrolysate by Elephant Dung: Effects of Initial pH and Substrate Concentration, *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(14): 8687-8696.
- Khamtib, S. and Reungsang, A., 2014, Co-digestion of Oil Palm Trunk Hydrolysate with Slaughterhouse Wastewater for Thermophilic Bio Hydrogen Production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* KCU19, *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(13): 6872-6880.
- Liu, Z.H., Qin, L., Pang, F., Jin, M.J., Li, B.Z., Kang, Y., Dale, B.E. and Yuan, Y.J., 2013, Effects of Biomass Particle Size on Steam Explosion Pretreatment Performance for Improving the Enzyme Digestibility of Corn Stover, *Industrial Crops and Products*, 44: 176-184.
- Thungklin, P., Sittijunda, S., Alissara Reungsang, 2018, Sequential Fermentation of Hydrogen and Methane from Steam-exploded Sugarcane Bagasse Hydrolysate, *International Journal of Hydrogen Energy*, 43: 9924-9934.