ผลของการพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตต่อการย่อยฟางข้าว ต้นข้าวโพด และชานอ้อยด้วยเอนไซม์

Effect of subcritical water pretreatment on enzymatic digestibility of rice straw, corn stover and sugar cane bagasse

ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ (Pramote Khuwijitjaru) [1*]
ชุติมา วันเพ็ญ (Chutima Wanpen) [2]
ธัชชาจรีย์ มาลา (Thatchajaree Mala) [2]
มาริสา อริยเกรียงไกร (Marisa Ariyakriangkrai) [2]
Shuji Adachi [3]

บทคัดย่อ

การผลิตเอทานอลจากพืชที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ (cellulosic material) เป็นกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงทางเลือกที่สำคัญในปัจจุบัน งานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงกระบวนการพรีทรีตเมนต์วัตถุดิบซึ่งเป็นเศษเหลือทางการเกษตร 3 ชนิดคือ ฟางข้าว ต้นข้าวโพด และชานอ้อยโดยใช้น้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ (100, 150 และ 200°C) ในระบบแบบกะ เป็นเวลา 10 นาที ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 200°C ประมาณ 50% ของวัตถุดิบเกิดการสลายตัวและให้น้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณสูง โดยต้นข้าวโพดให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในขั้นตอนพรีทรีตเมนต์สูงที่สุด (0.53 g reducing sugar/g dry solid) นอกจากนี้เมื่อนำวัตถุดิบที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ไปทดสอบการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเซลลูไบเอสพบว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตทุกอุณหภูมิที่ทำการศึกษาจะเพิ่มความสามารถในการย่อยได้ โดยเฉพาะการพรีทรีตเมนต์ที่อุณหภูมิ 200°C อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์นั้นฟางข้าวจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (0.21 g reducing sugar/g dry solid)

Abstract

Currently, ethanol production from cellulosic material is an important process for alternative fuel production. This study focused on the pretreatment step of three agricultural wastes, i.e. rice straw, corn stover and sugar cane bagasse, using subcritical water at various temperatures (100, 150 and 200°C) for 10 min in a batch-type system. The results showed that at 200°C about 50 % of raw material degraded, resulting in a high level of reducing sugar. Corn stover gave the highest reducing sugar content in the pretreatment step (0.53 g reducing sugar/ g dry solid). In addition, pretreatment using subcritical water also improved the digestibility of all agricultural materials tested after digestion test with cellulase and cellubiase, especially at 200°C pretreatment.

[1] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร*
[2] *นักศึกษา ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร*
[3] *ศาตราจารย์ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Japan*
[*] *Corresponding author, e-mail: kpramote@su.ac.th*

However, the pretreatment of rice straw gave the highest reducing sugar content (0.21 g reducing sugar/g dry solid) after enzymatic digestion.

คำสำคัญ: เซลลูโลส, น้ำตาลรีดิวซ์, ไฮโดรไลซิส
Keywords: Cellulose, reducing sugar, hydrolysis

บทนำ

เนื่องจากปัญหาความไม่แน่นอนของเชื้อเพลิงจากฟอสซิลจึงทำให้การผลิตเชื้อเพลิงเอทานอลจากเซลลูโลส (cellulosic ethanol) เป็นเทคโนโลยีในการผลิตพลังงานทางเลือกที่ได้รับความสนใจอย่างยิ่งในปัจจุบัน (Wyman, 2007) เศษเหลือทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ต้นข้าวโพด และชานอ้อย เป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกสำหรับกระบวนการผลิตเอทานอลจากเซลลูโลส ขั้นตอนที่สำคัญของกระบวนการนี้คือการย่อยโมเลกุลเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้ได้เป็นน้ำตาลที่สามารถหมักด้วยยีสต์เพื่อผลิตเอทานอลต่อไป ซึ่งวิธีการในการย่อยสามารถทำได้ทั้งแบบใช้กรด เช่น กรดซัลฟิวริก (ศิริวัฒนา และ ชมพูนุช, 2549) และใช้เอนไซม์เซลลูเลส การใช้เอนไซม์มีข้อดีในการช่วยลดสารเคมีและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมจึงเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจในปัจจุบัน (Wyman, 2007) แต่กระบวนการย่อยเซลลูโลสที่อยู่ในรูปดั้งเดิมด้วยเอนไซม์มักมีประสิทธิภาพต่ำเนื่องจากโครงสร้างของเซลลูโลสที่จัดเรียงเป็นผลึกแน่นและการมีลิกนินในโครงสร้างของพืชทำให้ยากต่อการทำงานของเอนไซม์ ขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์เพื่อให้เอนไซม์เข้าทำงานได้ดีขึ้นจึงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำตาลซึ่งหมายถึงเพิ่มปริมาณผลผลิตของเอทานอลด้วย (Wyman, 2007) กระบวนการพรีทรีตเมนต์มีอยู่หลายวิธี เช่น การใช้ด่าง การใช้กรด รวมถึงการใช้น้ำกึ่งวิกฤต (Mosier et al., 2005; Wyman et al., 2005; Hendriks and Zeeman, 2009)

น้ำกึ่งวิกฤต (subcritical water) หมายถึงน้ำที่อุณหภูมิสูงกว่า 100°C ภายใต้ความดันสูงเพียงพอที่จะรักษาสถานะของเหลวไว้ได้ โดยน้ำกึ่งวิกฤตจะมีค่าคงที่การแตกตัว (Dissociation constant) สูงกว่าน้ำที่อุณหภูมิปกติ นั่นคือมีความเข้มข้นของไฮโดรเนียมไอออนสูงขึ้นจึงสามารถเร่งกระบวนการไฮโดรไลซิสได้ (Shaw et al., 1991)โดยมีงานวิจัยพบว่าน้ำกึ่งวิกฤตสามารถเร่งการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส (Sasaki et al., 1998) โปรตีน (Rogalinski et al., 2005) สตาร์ช (Moreschi et al., 2004) และไขมัน (Alenezi et al., 2009) ให้ได้เป็นสารประกอบที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้ เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมัน เป็นต้น หรือได้สารประกอบที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในอุตสาหกรรมได้ เช่น สารที่มีคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์จากการไฮโดรไลซิสรำข้าว (Khuwijitjaru et al., 2007) เป็นต้น

Liu and Wyman (2005) พบว่าการพรีทรีตเมนต์ต้นข้าวโพดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ 200°C ไม่ว่าจะเป็นในแบบกะ (batch) หรือการไหลผ่าน (flow-through) สามารถช่วยย่อยน้ำตาลจากส่วนเฮมิเซลลูโลสและเพิ่มความสามารถในย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยพบว่าประสิทธิภาพของกระบวนการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตจะมีความแตกต่างกันไปในวัตถุดิบชนิดต่างๆ (Mosier et al., 2005; Hendriks et al., 2009)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ ต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์ของเศษเหลือทางการเกษตรที่สำคัญ 3 ชนิด คือ ฟางข้าว ต้นข้าวโพด และชานอ้อย ซึ่งยังไม่มีการศึกษาและเปรียบเทียบข้อมูลมาก่อน

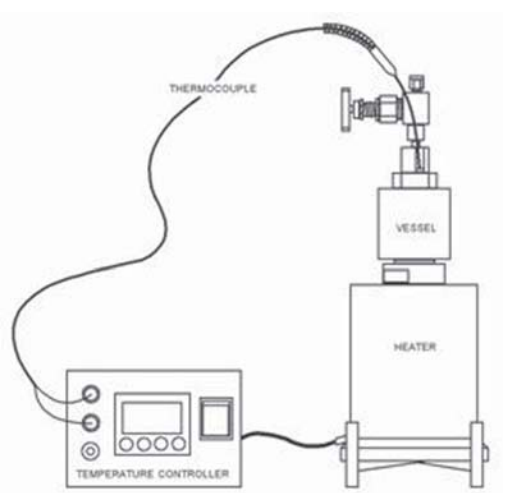
อุปกรณ์และวิธีวิจัย

1. วัตถุดิบ

วัตถุดิบในการศึกษาประกอบด้วย ฟางข้าวแห้ง (พันธุ์สุพรรณบุรี 2) ต้นข้าวโพดแห้ง (พันธุ์ฮาวายเอี้ยน ชูการ์ซูเปอร์สวีท) และชานอ้อย (ไม่ทราบสายพันธุ์ที่แน่นอน เป็นผลิตผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลทรายแดง หจก.อนนท์อุตสาหกรรม อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี) ชานอ้อยที่ได้รับมีลักษณะเป็นเส้นป่นขนาดกว้าง 1-2 มิลลิเมตรยาว 5-10 มิลลิเมตร สำหรับฟางข้าวและต้นข้าวโพดถูกนำมาลดขนาดด้วยการตัดและปั่นในเครื่องปั่นผสมอาหารได้เป็นเส้นขนาดกว้าง 1-2 มิลลิเมตร ยาว 5-10 มิลลิเมตร และอบแห้งก่อนนำไปทดลองพบว่าวัตถุดิบดังกล่าวมีความชื้นสุดท้าย 10.29, 8.39 และ 3.69 % ตามลำดับ

2. การพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

การพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตทำในภาชนะปิด (vessel) ซึ่งสามารถทนอุณหภูมิและความดันสูงได้ โดยมีปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร (Taiatsu Techno Corporation, Japan) และควบคุมอุณหภูมิจากอุปกรณ์ให้ความร้อน (heater) (บริษัทแอพพลายด์ ไซแอนติฟิค อินสตรูเม้นท์ส จำกัด) และมีหัววัดอุณหภูมิภายในแบบเทอร์โมคัปเปิล (Type-K) ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1. อุปกรณ์ในการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤต

ขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์มีดังนี้ บรรจุวัตถุดิบ 5 กรัมและน้ำกลั่น 80 กรัม ลงในภาชนะปิดให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการที่ 100, 150 และ 200°C ซึ่งใช้เวลา 8, 9 และ 10 นาที ตามลำดับ และรักษาอุณหภูมิให้คงที่เป็นเวลาอีก 10 นาที จากนั้นนำภาชนะปิดมาลดอุณหภูมิด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างที่ได้กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 รอบต่อนาที (7,673 x g) เป็นเวลา 30 นาที (Universal 16/16R, Hettich, Germany) เก็บส่วนสารละลายใส (supernatant) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid assay (Chaplin and Kennedy, 1986) นำตะกอนไปย่อยด้วยเอนไซม์ ทำการทดลองพรีทรีตเมนต์ 3 ซ้ำ ชุดควบคุม (control) เตรียมโดยใช้ตัวอย่างวัตถุดิบแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที

3. การทดสอบการย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์

ย่อยวัตถุดิบโดยใช้เอนไซม์ Celluclast 1.5L (Cellulase c2730, ณ 700 U/g, Novozymes, Denmark) และ Novozyme 188 (Cellobiase c6105, ณ 250 U/g, Novozymes, Denmark) ตามวิธีของ Kristensen et al. (2007) โดยผสมโซเดียมซิเตรตบัฟเฟอร์ (0.05 M, pH 4.8) ปริมาตร 10 mL เอนไซม์ Celluclast 1.5L ปริมาตร 0.5 mL และ เอนไซม์ Novozyme 188 ปริมาตร 0.1 mLในขวดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 mL เติมวัตถุดิบให้ได้ปริมาณของแข็ง 5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำขวดไปเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50°C จากนั้นนำขวดตัวอย่างมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,500 รอบต่อนาที (7,673 xg) เป็นเวลา 30 นาที เก็บส่วนสารละลายใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid assay ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ศึกษาผลของการพรีทรีตเมนต์ที่อุณหภูมิต่างๆ กันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Different Test (LSD, α = 0.05) (Kuehl, 2000)

ผลการทดลองและอภิปรายผล

1. ผลของการพรีทรีตเมนต์ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลาย

การพรีทรีตเมนต์ตัวอย่างวัตถุดิบทั้ง 3 ชนิด ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตส่งผลให้ของแข็งบางส่วนสลายตัวไป ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ลดลงตามอุณภูมิในการพรีทรีตเมนต์ที่สูงขึ้น โดยที่ 200°C มีของแข็งเหลือเพียง 56 - 67 % (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เท่านั้น (ตารางที่ 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสภาวะของน้ำกึ่งวิกฤตสามารถย่อยองค์ประกอบของพืชให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้

ตารางที่ 1. ปริมาณของแข็งที่เหลือ (%) หลังจากการพรีทรีตเมนท์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณของแข็งที่เหลือ (% น้ำหนักต่อน้ำหนัก)[1]			
	Control	100°C	150°C	200°C
ฟางข้าว	96.58±0.82[a]	83.39±3.40[b]	83.17±0.62[b]	59.76±5.25[c]
ต้นข้าวโพด	92.63±1.34[a]	70.76±1.53[b]	70.53±3.33[b]	56.09±0.63[c]
ชานอ้อย	94.10±0.54[a]	87.10±0.24[b]	86.50±0.48[c]	66.69±3.35[d]

[1] รายงานค่าในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[a-d] ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันหมายถึงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, α = 0.05)

สารละลายที่ได้จากการทดลองในตัวอย่างชุดควบคุมมีลักษณะใสกว่าชุดทดลอง (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) และพบว่ามีน้ำตาลรีดิวซ์อยู่เพียงเล็กน้อย (2 - 4 mg reducing sugar/g dry solid) แต่สารละลายที่ได้หลังการพรีทรีตเมนต์มีสีเข้มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) และจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่าในสารละลายที่ได้หลังการพรีทรีตเมนต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่สูงขึ้น โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 200°C ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่น และสอดคล้องกับปริมาณของแข็งที่เหลือน้อยที่สุด (ตารางที่ 1 และ 2) น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตนี้จะเป็นน้ำตาลที่เกิดจากเฮมิเซลลูโลสซึ่งมีโครงสร้างไม่แข็งแรงเท่ากับเซลลูโลส และสามารถละลายออกมากับน้ำที่อุณหภูมิสูงได้ (Liu et al., 2005) Mosier et al. (2005) รายงานว่าการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิ 200-230°C จะทำให้วัตถุดิบสลายไปประมาณ 40-60% (โดยเซลลูโลส 4-22% ลิกนิน 35-60% และเฮมิเซลลูโลสเกือบทั้งหมดละลายอยู่ในรูปของเหลว) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยครั้งนี้ เมื่อพิจารณาวัตถุดิบแต่ละชนิดพบว่าต้นข้าวโพดให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าฟางข้าวและชานอ้อย (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามหากพิจารณาข้อมูลองค์ประกอบของวัตถุดิบจะพบว่าฟางข้าวมีเฮมิเซลลูโลส 26% และมีลิกนิน 18% (Sangnark and Noomhorm, 2004) ชานอ้อยมีเฮมิเซลลูโลส 26 % และมีลิกนิน 20 % (Boussarsar et al., 2009) ในขณะที่ต้นข้าวโพดมีเฮมิเซลลูโลส 22.4% และมีลิกนิน 17.6% (Mosier et al., 2005) ของ

ปริมาณพอลีแซคคาร์ไรด์ทั้งหมด ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณเฮมิเซลลูโลสและลิกนินในวัตถุดิบทั้ง 3 ชนิด ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้เสนอว่าโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสในต้นข้าวโพดมีการจัดเรียงตัวที่ไม่แข็งแรงจึงทำให้ย่อยสลายได้ง่ายกว่าวัตถุดิบอีกสองชนิด

ตารางที่ 2. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายหลังการพรีทรีตเมนท์

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg reducing sugar/g dry solid)[1]			
	Control	100°C	150°C	200°C
ฟางข้าว	1.91±0.19[a]	4.21±1.49[a]	9.58±1.12[b]	128.93±4.96[c]
ต้นข้าวโพด	4.32±0.34[a]	7.25±0.99[b]	97.82±5.8[c]	527.11±8.27[d]
ชานอ้อย	3.31±0.36[a]	15.64±6.01[b]	33.11±1.85[c]	387.17±12.5[d]

[1] รายงานค่าในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[a-d] ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างในแถวเดียวกันหมายถึงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, α = 0.05)

2. ผลของการพรีทรีตเมนต์ต่อประสิทธิภาพในการย่อยด้วยเอนไซม์

ตัวอย่างที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์แล้วจะถูกนำมาย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและเซลลูไบเอสซึ่งทำหน้าที่ในการตัดสายเซลลูโลสและน้ำตาลเซลลูไบโอสตามลำดับผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลกลูโคส (Kristensen et al., 2007) ซึ่งยีสต์สามารถใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอทานอลได้

จากตารางที่ 3 จะพบว่าในตัวอย่างที่ไม่เติมเอนไซม์นั้นจะมีน้ำตาลรีดิวซ์บางส่วนละลายออกมาได้เช่นกันซึ่งน่าจะเป็นน้ำตาลที่เกิดจากขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์และตกค้างอยู่ในส่วนของแข็งเนื่องจากไม่ได้มีขั้นตอนการล้าง

ตารางที่ 3. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์เมื่อวัตถุดิบผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่อุณหภูมิต่างๆ

ตัวอย่าง		ปริมาณน้ำตาล (mg reducing sugar /g dry solid)[1]			
		Control	100°C	150°C	200°C
ฟางข้าว	ไม่เติมเอนไซม์	0.22±0.03	0.43±0.18	2.63±0.34	40.88±6.44
	เติมเอนไซม์	31.18±1.44	46.99±11.59	83.73±8.06	252.29±4.60
	เพิ่มขึ้น[2]	30.96±1.44[a]	46.56±11.59[a]	81.10±8.07[b]	211.41±7.91[c]
ต้นข้าวโพด	ไม่เติมเอนไซม์	13.59±0.38	21.7±0.89	29.11±5.65	91.34±8.16
	เติมเอนไซม์	83.23±4.02	140.31±13.21	174.41±6.91	282.57±3.50
	เพิ่มขึ้น	69.64±4.04[a]	118.61±13.23[b]	145.30±8.93[c]	191.23±8.88[d]
ชานอ้อย	ไม่เติมเอนไซม์	1.10±0.10	2.76±1.09	8.99±0.90	109.20±5.68
	เติมเอนไซม์	68.25±0.64	108.49±5.43	141.88±6.79	260.94±5.17
	เพิ่มขึ้น	67.15±0.65[a]	105.73±5.54[b]	132.89±6.85[c]	151.74±7.68[d]

[1] รายงานค่าในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[2] ผลต่างระหว่างเติมเอนไซม์ กับไม่เติมเอนไซม์

[a-d] ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันหมายถึงค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, α = 0.05)

เมื่อนำตัวอย่างมาย่อยด้วยเอนไซม์ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมเอนไซม์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำงานของเอนไซม์ในตัวอย่างที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้มีการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้นด้วย (ตารางที่ 3) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าการพรีทรีตเมนต์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ได้ โดยเฉพาะการพรีทรีตเมนต์ที่อุณหภูมิ 200°C ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยด้วยเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ในการทดลองนี้พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสและเซลลูไบเอสสามารถย่อยฟางข้าวได้มากที่สุด จากผลการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งขั้นตอนการพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตและขั้นตอนการย่อยพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดสูงสุดที่ได้จากฟางข้าว ต้นข้าวโพดและชานอ้อยคือ 381.22, 809.68 และ 648.11 mg reducing sugar /g dry solid ตามลำดับ

ในการศึกษาการพรีทรีตเมนต์ต้นข้าวโพดด้วยน้ำกึ่งวิกฤตที่ 200°C ของ Liu et al. (2005) พบว่าน้ำตาลที่ได้ในช่วงพรีทรีตเมนต์ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่เมื่อนำตัวอย่างมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสน้ำตาลที่ได้จะเป็นกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ น้ำกึ่งวิกฤตจะทำหน้าที่สำคัญคือการเพิ่มพื้นที่ผิวของเซลลูโลสที่เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาได้ และช่วยละลายเฮมิเซลลูโลสได้แต่ไม่สามารถกำจัดลิกนินได้มากนัก (Mosier et al., 2005)

สรุป

การพรีทรีตเมนต์ด้วยน้ำกึ่งวิกฤตเป็นวิธีที่ช่วยสกัดน้ำตาลจากวัตถุดิบได้ และยังเพิ่มความสามารถในการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ วิธีนี้มีข้อดีคือไม่มีการเติมสารเคมีอื่นในกระบวนการจึงเป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยเฉพาะการวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลที่ได้ในแต่ละขั้นตอนเพื่อหาสภาวะในการพรีทรีตเมนต์ที่ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

ศิริวัฒนา บัญชรเทวกุล, ชมพูนุช หาญนันทวิวัฒน์. 2549. การผลิตน้ำตาลจากการย่อยสลายโมเลกุลของชานอ้อยโดยใช้กรดซัลฟูริก. **วิศวกรรมสารฉบับวิจัยและพัฒนา.** ปีที่ 17 (4): 56-60

Alenezi, R., Leeke, G. A., Santos, R. C. D., Khan, A. R. 2009. Hydrolysis kinetics of sunflower oil under subcritical water conditions. **Chemical Engineering Research and Design** 87(6), 867-873.

Boussarsar, H., Rogé, B., Mathlouthi, M. 2009. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose. **Bioresource Technology** 100(24), 6537-6542.

Chaplin, M. F., Kennedy, J. F. 1986. Carbohydrate analysis : a practical approach, IRL Press, Oxford ; Washington, DC.

Hendriks, A. T. W. M., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology** 100(1), 10-18.

Khuwijitjaru, P., Nualchan, P., Adachi, S. 2007. Foaming and emulsifying properties of rice bran extracts obtained by subcritical water treatment. **Silpakorn University Science and Technology Journal** 1(1), 7-12.

Kristensen, J. B., Börjesson, J., Bruun, M. H., Tjerneld, F., Jørgensen, H. 2007. Use of surface active additives in enzymatic hydrolysis of wheat straw lignocellulose. **Enzyme and Microbial Technology** 40(4), 888-895.

Kuehl, R. O. 2000. Design of experiment: statistical principles of research design and analysis, Duxbury Press, Pacific Grove.

Liu, C., Wyman, C. E. 2005. Partial flow of compressed-hot water through corn stover to enhance hemicellulose sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. **Bioresource Technology** 96(18), 1978-1985.

Moreschi, S. R. M., Petenate, A. J., Meireles, M. A. A. 2004. Hydrolysis of ginger bagasse starch in subcritical water and carbon dioxide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 52(6), 1753-1758.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., Ladisch, M. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology** 96(6), 673-686.

Rogalinski, T., Herrmann, S., Brunner, G. 2005. Production of amino acids from bovine serum albumin by continuous sub-critical water hydrolysis. **Journal of Supercritical Fluids** 36(1), 49-58.

Sangnark, A., Noomhorm, A. 2004. Chemical, physical and baking properties of dietary fiber prepared from rice straw. **Food Research International** 37(1), 66-74.

Sasaki, M., Kabyemela, B., Malaluan, R., Hirose, S., Takeda, N., Adschiri, T., Arai, K. 1998. Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water. **Journal of Supercritical Fluids** 13(1-3), 261-268.

Shaw, R. W., Brill, T. B., Clifford, A. A., Eckert, C. A., Franck, E. U. 1991. Supercritical water: a medium for chemistry. **Chemical & Engineering News** 69(51), 26-39.

Wyman, C. E. 2007. What is (and is not) vital to advancing cellulosic ethanol. **Trends in Biotechnology** 25(4), 153-157.

Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Holtzapple, M., Ladisch, M. R., Lee, Y. Y. 2005. Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. **Bioresource Technology** 96(18), 2026-2032.