บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ชีวมวลของพืช (plant biomass) คือสารอินทรีย์ต่างๆ ที่ได้จากพืช ซึ่งอาจเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร (agricultural residue) เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด และกากมันสำปะหลัง เป็นต้น วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (lignocellulosic material) ประกอบด้วยเซลลูโลส (cellulose) และสารประกอบที่ไม่เป็นเซลลูโลส (non cellulosic substance) ได้แก่ เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพคทิน (pectin) ลิกนิน (lignin) ซูเบอริน (suberin) แวกซ์ (wax) และ คิวทิน (cutin) (พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง, 2548)

เซลลูโลส

เซลลูโลสมีสูตรโมเลกุล คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เกิดจากการนำกลูโคสมาต่อกันแล้วดึงโมเลกุลน้ำออก เรียกว่า แอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose) โดยค่า n ในสูตรโครงสร้างของเซลลูโลส คือ จำนวนโมเลกุลของแอนไฮโดรกลูโคส หรือที่เรียกว่า DP (degree of polymerization) ของเซลลูโลส โดยธรรมชาติเส้นใยฝ้ายมี DP 10,000 หน่วย เยื่อไม้มี 600 -1000 หน่วย (มนตรี รัตนวิจิตร, 2537) ดังนั้น เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์สายตรงของเบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (β - D-glucopyranose) ที่เชื่อมต่อกันที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 และ 4 ในโมเลกุลถัดไป ด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ซึ่งเบต้า-ดี-กลูโคส (สูตรโครงสร้างวงแหวนแบบของฟิชเชอร์)หรือเบต้า-ดี-กลูโคไพราโนส (สูตรโครงสร้างวงแหวนแบบของฮาร์เวิท) แต่ละหน่วยจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, -OH) 3 หมู่ คือ หมู่แอลกอฮอล์ไฮดรอกซิลลำดับที่ 1 (primary alcohol hydroxyl group) อยู่ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 6 และมีหมู่แอลกอฮอล์ไฮดรอกซิลลำดับที่ 2 (secondary alcohol hydroxyl group) อยู่ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 และ 3 โดยเซลลูโลสมีโครงรูป (conformation) ในลักษณะรูปเก้าอี้ (chair form) แต่ละโมเลกุลในสายเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวนของโมเลกุลถัดไป และเชื่อมต่อระหว่างสายเซลลูโลสที่ขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของแอนไฮโดรกลูโคสในอีกสายหนึ่ง ดังในรูปที่ 1 ทำให้สายของเซลลูโลสเรียงตัวขนานกันอย่างมีระเบียบ เป็นกลุ่มของผลึก (crystalline micelles) และกลุ่มเหล่านี้มาเรียงตัวเป็นโครงสร้าง

ที่ใหญ่ขึ้น เรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibril) โดยบริเวณที่มีการจัดเรียงโมเลกุลของเซลลูโลสอย่างมีระเบียบสูง เรียกบริเวณนี้ว่า คริสตัลไลน์ (crystalline region) ส่วนบริเวณที่มีการจัดเรียงอย่างไม่เป็นระเบียบ เรียกว่า บริเวณอะมอร์ฟัส (amorphous region) (Griffin, 1994) ซึ่งแต่ละบริเวณจะแสดงคุณสมบัติในการยอมรับต่อกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์แตกต่างกัน โดยบริเวณอะมอร์ฟัสยอมให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาการย่อยสลายง่ายกว่าบริเวณคริสตัลไลน์ ดังนั้นกลไกการย่อยสลายจะเกิดขึ้นที่บริเวณอะมอร์ฟัสได้เร็วกว่า และเกิดขึ้นก่อนบริเวณคริสตัลไลน์ (Lee, Pagan and Rogers, 1949) เซลลูโลสไม่สามารถละลายได้ในน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์ และสารละลายด่างแต่ละลายได้ในสารละลายcupraammonium hydroxide, cupriethylenediamine hydroxide, cadmium ethylenediamine hydroxide และ alkalinesodium ferrictartrate (Browning, 1990)

เมื่อพิจารณาสมบัติการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถแบ่งเซลลูโลสได้เป็น 3 ชนิด (TAPPI, 1997) คือ

ก. แอลฟา-เซลลูโลส (α-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง

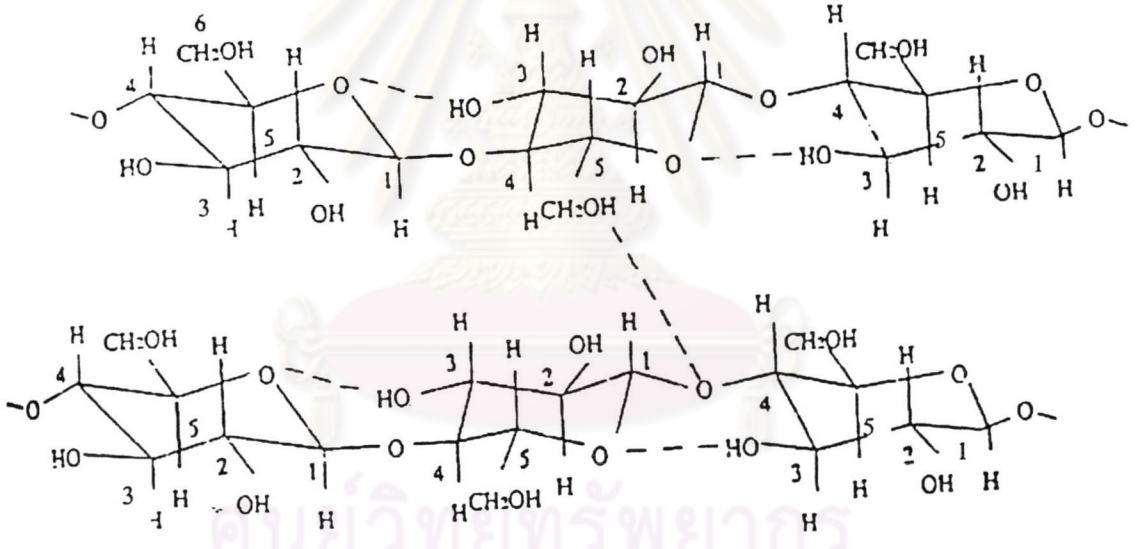
ข. เบต้า-เซลลูโลส (β-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง และสามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด

ค. แกมม่า-เซลลูโลส (γ-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ละลายได้ดีทั้งในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง และสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด

แอลฟา-เซลลูโลส จัดว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุด ในการบ่งชี้คุณภาพของเยื่อเซลลูโลสละเอียดคุณภาพสูง เนื่องจากมีลักษณะเส้นใยยาว มีค่า DP สูง มีการจัดเรียงโมเลกุลของเซลลูโลสแบบคริสตัลไลน์ จึงมีความแข็งแรงและเสถียรสูง โดยในธรรมชาติเยื่อไม้มีปริมาณของแอลฟา-เซลลูโลสถึงร้อยละ 90 และในกระดาษที่มีปริมาณของแอลฟา-เซลลูโลสร้อยละ 87 ขึ้นไปถือว่าเป็นกระดาษที่มีคุณภาพดี (Ott, Spurlin and Grafflin, 1963) ดังนั้นเมื่อกล่าวถึงสมบัติของเซลลูโลสก็มักจะหมายถึงส่วนที่เป็นแอลฟา-เซลลูโลสเป็นสำคัญ ส่วนเบต้า-เซลลูโลสและแกมม่า-เซลลูโลสจะมีค่า DP ต่ำกว่ามาก (โสภณ เริงสำราญ, ปราณี รัตนวลีดิโรจน์ และศรีไฉล ขุนทน, 2541)

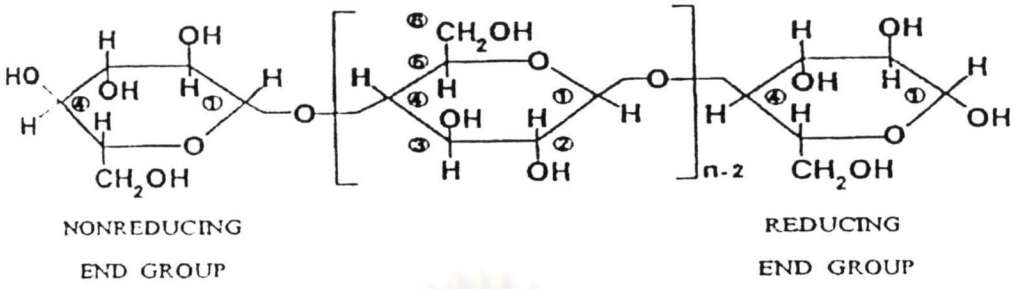
สายโซ่ของเซลลูโลสถูกสร้างขึ้นด้วยโครงสร้างที่มีขั้ว โดยทางด้านซ้ายของโมเลกุลจะเป็นพวก non-reducing end ส่วนทางด้านขวาจะเป็น reducing end ดังแสดงในรูปที่ 2 และ

เนื่องจากพันธะไกลโคซิดิกที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของกลูโคส ทำให้สายพอลิเมอร์ของเซลลูโลสเหมือนต่อเชื่อมกันด้วยหน่วยของเซลโลไบโอส (cellobiose) ที่ซ้ำๆ กัน ดังนั้น เซลโลไบโอสจึงถือว่าเป็นโครงสร้างพื้นฐานของเซลลูโลสมากกว่ากลูโคส ซึ่งเซลโลไบโอส คือ กลูโคสสองโมเลกุลที่เชื่อมกันด้วยพันธะ β(1-4) โดยแตกต่างจากมอลโตส (maltose) ที่เชื่อมคู่ของกลูโคสด้วยพันธะ α(1-4) นอกจากนี้ เซลโลไบโอสยังมีสมบัติการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคสตัวหลังที่ต่ออยู่กับคาร์บอนอะตอมที่ไม่สมมาตรตำแหน่งที่ 1 (anomeric carbon) ยังเป็นอิสระทำให้วงแหวนเปิดออกได้ ซึ่งแตกต่างจากน้ำตาลซูโครสที่หมดสมบัติการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากคาร์บอนอะตอมที่ไม่สมมาตรตำแหน่งที่ 1 ของฟรุคโตสไปเชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคส (ประหยัด, 2542) ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 1 ลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส
ที่มา: Leghninger, 1982

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลส
ที่มา: Nisizawa, 1973

เฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลสเป็นอินทรีย์สารที่พบมากเป็นอันดับที่สอง รองจากเซลลูโลส มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์สายตรงที่มีกิ่งก้านสาขาอยู่เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 4 โดยส่วนที่เป็นสายตรงของเฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่จะเป็นหน่วยของน้ำตาลไซโลส (xylose) ดังแสดงในรูปที่ 5 หลายๆ โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิก (β -1,4-glycosidic bond) ส่วนกิ่งก้านสาขาจะเป็นหน่วยของน้ำตาลอะราบิโนส (arabinose) แมนโนส (mannose) และกลูโคส (glucose) เป็นต้น คือมีลักษณะเป็นเฮทเทอโรจีนัส (heterogenous) ประกอบด้วยโพลีเซคคาไรด์หลายชนิดปนกัน คือ

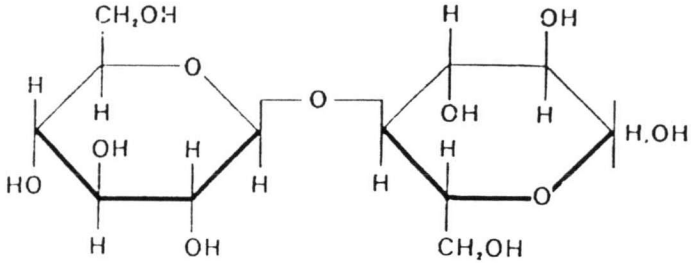
ก. เพนโตแซน (pentosan) ส่วนใหญ่เป็นไซแลน (xylan) และอะราแบน (araban) ซึ่งเมื่อผ่านการย่อยสลายแล้วจะได้น้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส

ข. เฮกโซแซน (hexosan) ส่วนใหญ่เป็นแมนแนน (mannan) กาแลคแทน (galactan) และกลูแคน (glucan) ซึ่งเมื่อผ่านการย่อยสลายแล้วจะได้น้ำตาลแมนโนส กาแลคโทส และกลูโคส ตามลำดับ

ค. โพลียูโรไนด์(polyuronides) ส่วนมากเป็นสารประกอบของกรดโพลียูโรนิค(polyuronic acid) และยังพบกรดยูโรนิค (uronic acid) ปนอยู่ด้วย ที่สำคัญคือ กรดเฮกโซยูโรนิค (hexuronic acid) เช่น เบต้า-ดี-กลูคูโรนิค (β–D-glucuronic) และเบต้า-ดี-แมนมูโรนิค (β–D-mammuronic) เป็นต้น

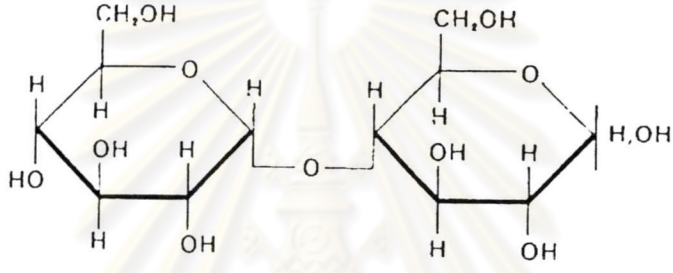
เฮมิเซลลูโลสมีค่า DP ประมาณ 200-500 หน่วย พบในไม้เนื้อแข็ง (hardwood) ประมาณ 20-37 เปอร์เซ็นต์ และในไม้เนื้ออ่อน (softwood) ประมาณ 16-27 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณของเพนโตแซนพบในไม้เนื้อแข็งประมาณ 13.3-26.8 เปอร์เซ็นต์ และในไม้เนื้ออ่อนประมาณ 4.3-10.9 เปอร์เซ็นต์ (Hon, David and Shiraishi, 1991)

ก.



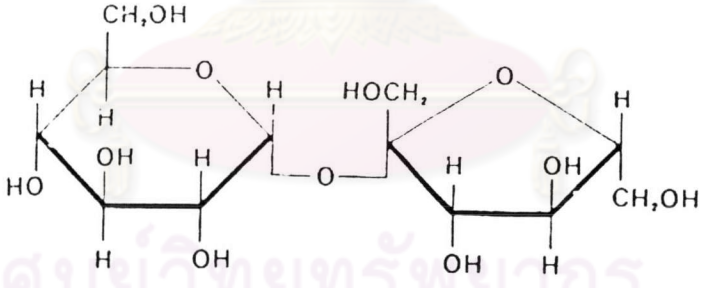
(1-4) β -D-glucopyranosyl-D-glucose

ข.



(1-4) α -D-glucopyranosyl-D-glucose

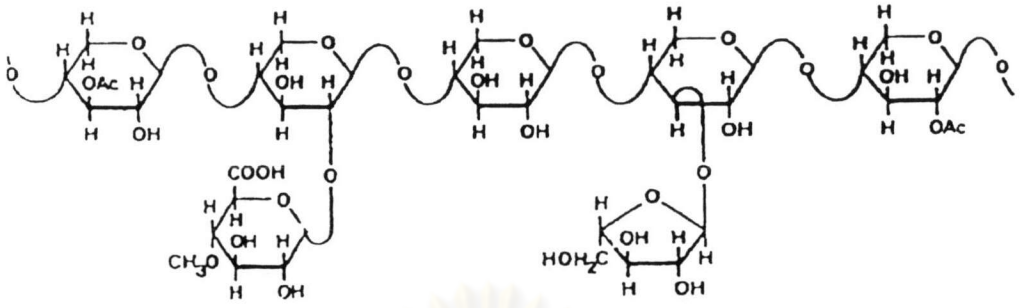
ค.



α-D-glucopyranosyl-(1-2)-β-d-fructofuranose

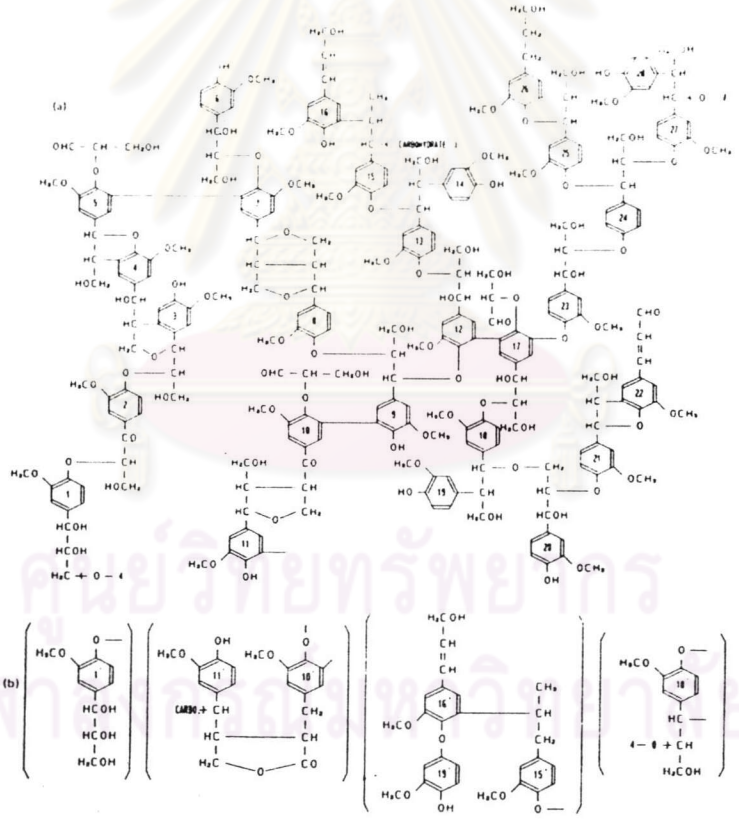
รูปที่ 3 เปรียบเทียบโครงสร้างของน้ำตาลเซลโลไบโอส มอลโตส และซูโครส
โดย ก. เซลโลไบโอส ข. มอลโตส และ ค. ซูโครส
ที่มา: Leghninger, 1982

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4 ลักษณะโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: Leghninger, 1982



รูปที่ 5 ลักษณะโครงสร้างของลิกนิน

ที่มา: Browning, 1990

ลิกนิน

ลิกนินเป็นพอลิเมอร์ของสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) ที่มีโครงสร้างซับซ้อน มีหน่วยย่อยของโครงสร้าง คือ ฟีนิลโพรเพน (phenyl propane) ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะ C-O-C หรือ C-C เรียงต่อกันแบบสุ่ม (random) ที่หน่วยฟีนอล (phenol unit) อาจเป็นกัวอิเอซิล (guaiacyl) หรือ ไซรินกิล (syringyl) โดยปกติโมเลกุลของลิกนินจะประกอบไปด้วยหมู่เมทิล (methyl) อะลิฟาติก (aliphatic) และฟีโนลิค ไฮดรอกซิล (phenolic hydroxyl) ซึ่งเรียกว่าเป็น cementing material หรือ encrusting substance ดังแสดงในรูปที่ 6 ในเนื้อไม้มีปริมาณของลิกนินประมาณ 10-30 เปอร์เซ็นต์ (Hon et al., 1991) โดยลิกนินเชื่อมต่อกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent) ซึ่งทำให้เนื้อไม้มีความแข็งแรง มีความต้านทานต่อการโจมตีของจุลชีพได้ ดังนั้น ลิกนินจึงเป็นอุปสรรคสำคัญในการจะใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการผลิตเอทานอลและน้ำตาล (Eriksson et al., 1990)

วัตถุดิบและกระบวนการเตรียมเยื่อเซลลูโลสคุณภาพสูง

เซลลูโลสคุณภาพสูง เป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตอนุพันธ์ต่างๆ ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เซลลูโลสอะซิเตท เซลลูโลสไนเตรท เป็นต้น ซึ่งจัดว่าเป็นวัตถุดิบตัวหนึ่งที่มีปริมาณความต้องการในภาคอุตสาหกรรมสูงมากขึ้นในแต่ละปี

เยื่อเซลลูโลสคุณภาพสูงที่ผลิตขึ้นในต่างประเทศมักทำมาจากไม้ยืนต้น เช่น ไม้จำพวกสน (spruce) และยูคาลิปตัส ทั้งนี้เพราะการผลิตในต่างประเทศจะทำเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ซึ่งต้องใช้วัตถุดิบเป็นจำนวนมาก หากใช้วัตถุดิบจำพวกพืชไร่ซึ่งมีคุณภาพและปริมาณแตกต่างกันไปจากหลายๆ แหล่ง จะทำให้คุณภาพเยื่อที่ผลิตออกมามีความไม่แน่นอน ต่างกับการใช้ไม้ยืนต้นซึ่งมีการปลูกไว้เป็นจำนวนมากและสามารถตัดเก็บมาใช้เป็นระยะๆ ได้ นอกจากนี้อัตราค่าแรงที่แพงยังทำให้ค่าใช้จ่ายในการเก็บรวบรวมพืชไร่นั้นไม่คุ้มทุน สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศในเขตร้อน มีความหลากหลายของวัชพืชหลายชนิด ประกอบกับชีวมวลที่ได้จากพืชจำพวกหญ้าเป็นแหล่งของเซลลูโลสที่น่าสนใจ เนื่องจากหาได้ง่ายและมีเป็นจำนวนมาก อีกทั้งหญ้ายังเป็นวัชพืชซึ่งเป็นพืชที่ขึ้นในที่ๆ ไม่ต้องการให้ขึ้น ไม่มีประโยชน์โดยที่จะทำความเสียหายแก่พืชปลูก มนุษย์และสภาพแวดล้อม วัชพืชมีคุณสมบัติในการขยายพันธุ์ แพร่พันธุ์ได้ดี และทนทานต่อการควบคุมกำจัด ดังนั้น การใช้ชีวมวลจากหญ้าเป็นแหล่งของเซลลูโลส จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์ได้สูงสุด และสามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่วัสดุเหล่านี้ได้

จากการศึกษาที่ผ่านมา ได้มีการสรุปเกณฑ์ขั้นต่ำของคุณภาพทางเคมี สำหรับวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เตรียมเซลลูโลสคุณภาพสูงไว้ดังนี้ (โสภณ และคณะ, 2541)

1. มีแอลฟา-เซลลูโลส ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 29
2. มีลิกนิน ไม่เกินร้อยละ 22
3. มีเถ้า ไม่เกินร้อยละ 9
4. มีเพนโตแซน ไม่เกินร้อยละ 32

ในปี 2521 จิตต์ ศรีวรรณวิทย์ และดวงใจ วิบูลย์ธนภัณฑ์ ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของพืชไร่และวัสดุเหลือทิ้งจากเกษตรกรรม พบว่า หญ้าขจรจบ เป็นหนึ่งในจำนวนพืชหลายๆ ชนิดที่มีคุณภาพทางเคมีอยู่ในเกณฑ์ดังกล่าว คือ มีปริมาณของแอลฟา-เซลลูโลสร้อยละ 48 มีลิกนินร้อยละ 18 มีเถ้าร้อยละ 4 และมีเพนโตแซนร้อยละ 24

ในปี 2522 สมชาติ รุ่งอินทร์ และรุ่งอรุณ วัฒนวงศ์ ได้ศึกษาและเปรียบเทียบคุณลักษณะในการทำเยื่อและกระดาษของหญ้าขจรจบ ฟางข้าวเก่า และฟางข้าวใหม่ โดยผลการทดลองกับหญ้าขจรจบ พบว่ากระบวนการโมโนซัลไฟท์ (monosulphite process) ให้เยื่อที่ดีกว่าวิธีอื่น และเมื่อผสมฟางข้าวกับหญ้าขจรจบ ในอัตราส่วน 50 : 50 และ 70 : 70 สำหรับการทำกระดาษ พบว่า ไม่แตกต่างกันในด้านผลผลิตเยื่อ และค่า K (kappa number) แต่แตกต่างกันในด้านความเหนียว คือ แรงดึงและแรงฉีกขาด อย่างชัดเจน โดยเยื่อที่มีอัตราส่วนผสมหญ้าขจรจบสูงให้ค่าความเหนียวสูง นอกจากนี้ความเหนียวของเยื่อหญ้าขจรจบจากวัตถุดิบที่เก็บรักษาไว้ประมาณ 1 ปี มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอีกด้วย

การผลิตเยื่อเซลลูโลสเพื่อทำกระดาษมักจะคำนึงถึงสมบัติทางกายภาพ และเชิงกลของเยื่อ ได้แก่ ความเหนียวและความขาวเป็นหลัก ส่วนการผลิตเยื่อเซลลูโลสเพื่อทำอนุพันธ์ต้องคำนึงถึงความบริสุทธิ์ของเยื่อ ซึ่งพิจารณาจากปริมาณของแอลฟา-เซลลูโลสเป็นสำคัญ ดังนั้นการเตรียมเยื่อจึงต้องผ่านขั้นตอนที่สำคัญดังต่อไปนี้

1. การกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากเยื่อ

กรรมวิธีที่นิยมใช้ในการกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกจากวัตถุดิบทั้งประเภทพืชไร่ วัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมหรือแม้กระทั่งไม้ยืนต้น เพื่อให้ได้เยื่อที่มีความบริสุทธิ์สูง เหมาะแก่การนำไปใช้งาน แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1.1 พรีไฮโดรไลซิส (prehydrolysis)

กระบวนการในขั้นนี้ทำได้โดยการต้มกับน้ำหรืออาจเติมสารละลายกรดเจือจาง เช่น กรดไฮโดรคลอริค หรือ กรดซัลฟูริค ลงไปด้วยเล็กน้อยก็ได้ โดยกรดดังกล่าวจะไปไฮโดรไลส์โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสให้กลายเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและละลายไปกับน้ำ จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของกรดที่เติมจะน้อยลงถ้าอุณหภูมิสูงขึ้น เช่น ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ใช้

กรดเข้มข้นร้อยละ 1.2 แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 130 องศาเซลเซียส ใช้กรดที่ความเข้มข้นเพียงร้อยละ 0.10 (จิตต์ ศรีวรรณวิทย์ และดวงใจ วิบูลย์ธนภัณฑ์, 2521) โดยกรดที่เติมลงไปจะไปทำปฏิกิริยาไฮโดรไลส์โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส ให้กลายเป็นสารประเภทน้ำตาลและกรดยูโรนิค (uronic acid) ซึ่งการต้มวัตถุดิบที่อุณหภูมิสูงถึง 160-190 องศาเซลเซียสนั้น อาจไม่จำเป็นต้องเติมกรดลงไปในน้ำเลยก็ได้เพราะองค์ประกอบในเนื้อไม้จะมีสารที่เป็นกรดและสารที่ให้กรดอยู่ด้วย เช่น กรดยูโรนิค และ กลุ่มอะซิติล (acetyl group) ซึ่งให้กรดอะซิติค (acetic acid) อย่างไรก็ตามการเติมกรดในขั้นตอนนี้ยังเป็นที่นิยมเนื่องจากการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำลงมาจะช่วยลดต้นทุนของเชื้อเพลิงได้มากกว่า

1.2 คราฟท์ (kraft หรือ soda process)

กระบวนการในขั้นนี้จะเป็นการนำเยื่อมาต้มกับสารละลายด่าง (alkali boiling) เช่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น โดยในกระบวนการคราฟท์ จะมีการเติมสารอื่นๆ เช่น โซเดียมซัลเฟต โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมซัลไฟต์ ลงไปด้วย การต้มเยื่อในขั้นนี้จะสิ้นเปลืองสารเคมีน้อยลง เนื่องจากเฮมิเซลลูโลส และคาร์โบไฮเดรตตัวอื่นๆ ได้ถูกกำจัดออกไปมากแล้วในขั้นตอนพรีไฮโดรไลซิส นอกจากนี้เยื่อที่ได้ยังมีแอลฟา-เซลลูโลสในปริมาณสูง

ในปี 2541 โสภณ และคณะ ได้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัม/ลิตร ในการทำ alkali boiling หรือ รีฟลักซ์ (reflux) กับวัตถุดิบ คือ ชานอ้อย พบว่า การใช้สารละลายด่างที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 30 กรัม/ลิตร ขึ้นไป จะสามารถเตรียมเยื่อที่มีปริมาณแอลฟา-เซลลูโลสได้ถึงร้อยละ 85

2. กรรมวิธีการฟอกเยื่อ (bleaching)

โดยธรรมชาติเซลลูโลสจะมีสีขาว แต่สารที่ให้สีในเยื่อไม้นั้นส่วนมากมักเกิดจากลิกนินและอาจเกิดจากสารอื่นๆ บ้าง เยื่อไม้ที่ผ่านการย่อยแล้วจะยังคงมีสารอื่นๆ เจือปนอยู่ทำให้เยื่อมีสีคล้ำไม่ขาวสะอาดจึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนการฟอกเพื่อแยกเอาลิกนินออก ในอุตสาหกรรมการฟอกเยื่อเป็นการทำให้เยื่อกระดาษ (pulp) มีสีขาวเหมาะแก่การนำไปผลิตเป็นกระดาษพิมพ์และเขียนหรือกระดาษที่ใช้ในการสื่อสารต่างๆ มีกระบวนการที่ใช้ในการฟอกหลายขั้นตอนโดยตัวทำละลายหรือสารเคมีที่ใช้ในการฟอก ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ คลอรีนไดออกไซด์ กาซออกซิเจน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โอโซน และเอนไซม์ เป็นต้น (ธีรชัย รัตนโรจน์มงคล, 2541) ซึ่งการฟอกเยื่อนั้นมี 2 วิธีดังนี้

2.1 การทำให้บริสุทธิ์ (purification) เป็นการฟอกเยื่อเพื่อขจัดลิกนินออกไป มีหลักการคือ ทำให้สารที่มีสีที่อยู่ภายในเยื่อนั้นมีคุณสมบัติละลายได้ แล้วสกัดสารนั้นออกไปจากเยื่อโดยใช้

สารละลาย ซึ่งสารที่ต้องการกำจัดนั้นละลายได้ดี เช่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น

2.2 การฟอกโดยตรง (bleaching) เป็นการฟอกเพื่อเปลี่ยนสีของลิกนินให้อยู่ในรูปไม่มีสี มีหลักการ คือ เปลี่ยนสารที่มีสีให้กลายเป็นสารที่ไม่มีสีและมีสมบัติทนทานอยู่ในสภาพนั้น ไม่เปลี่ยนแปลงง่ายแม้ที่อุณหภูมิสูง วิธีนี้สารที่ให้สีจะยังคงอยู่ภายในเยื่อเช่นเดิม ซึ่งสารเคมีที่ใช้ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น

กระบวนการผลิตเอทานอลจากชีวมวลพืช

การผลิตเอทานอลจากเซลลูโลสในชีวมวลพืช ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 4 ขั้นตอน คือ การปรับสภาพพืช การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส การย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส และการหมัก

1. การปรับสภาพ (pretreatment)

เนื่องจากชีวมวลของพืชประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน แต่ส่วนที่ต้องการนำมาใช้ คือ เซลลูโลส ดังนั้นจึงต้องมีการปรับสภาพพืชเพื่อแยกเฮมิเซลลูโลสและลิกนินออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบ ซึ่งจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ ลดความเป็นคริสตัลไลน์ของเซลลูโลสลง จึงเป็นการปรับโครงสร้างของเซลลูโลสให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาการย่อยด้วยเอนไซม์ (Wilke,1975) โดยสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

1.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (physical pretreatment) ได้แก่ การตัด การบด (grinding) การใช้รังสี (irradiation) การใช้ไอน้ำ (steaming) และการใช้น้ำร้อน เป็นต้น

1.2 การปรับสภาพทางเคมี (chemical pretreatment) ได้แก่ การใช้สารละลายกรดเจือจาง สารละลายด่างเจือจาง การใช้ตัวทำละลาย เช่น เมทานอล เอทานอล หรืออะซิโตน การใช้แอมโมเนีย ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสารเคมีอื่นๆ เช่น EDTA ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต โอโซน และยูเรีย เป็นต้น

ในปี 1919 Beckmann ได้ปรับสภาพฟางข้าวด้วยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่งโมง พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยจากจุดเริ่มต้นที่ 30 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มขึ้นเป็น 50, 60 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึงได้จดสิทธิบัตรการปรับสภาพพืชโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อปรับปรุงการย่อยฟางข้าวในระดับ in vitro เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Wilke, 1975)

2. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ในธรรมชาติเซลลูโลสถูกย่อยสลายด้วยจุลชีพที่บริเวณรากพืชและแบคทีเรียในดิน (Uhlig, 1998) โดยราที่มีบทบาทในการย่อยสลายเนื้อไม้และส่วนต่างๆ ของพืชมักพบในชั้น (class)

Basidiomycetes, Ascomycetes และ Deuteromycetes หรือพวกราไม่สมบูรณ์เพศ (imperfect fungi) ได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม cellulolytic fungi เช่น *Aspergillus*, *Trichoderma* และ *Fusarium* เป็นต้น ตัวอย่างเช่น เส้นใยฝ้าย ซึ่งมีลักษณะเป็นคริสตัลไลน์ของเซลลูโลสและมีค่า DP สูง ยังถูกย่อยสลายด้วยราในสกุล (genera) *Chaetomium*, *Fusarium*, *Myrothecium* และ *Trichoderma* (Wit, 1980)

3. การย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธีทางเคมีและวิธีทางชีวภาพ โดยวิธีทางเคมีจะใช้กรดเข้มข้นหรือเจือจางย่อยสลายเซลลูโลส เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสโดยตรง แต่จะได้ผลผลิตน้ำตาลต่ำเพราะมีการทำลายน้ำตาลที่เกิดขึ้นด้วยกรด และกรดยังทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่เซลลูโลส ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์พลอยได้ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้ ปฏิกิริยายังเกิดแบบรุนแรงและไม่เจาะจง (McMillan, 1994) ส่วนวิธีทางชีวภาพจะใช้เอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งปฏิกิริยาเกิดขึ้นแบบไม่รุนแรงและเจาะจงระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับสารประกอบเซลลูโลสทำให้ได้น้ำตาลค่อนข้างบริสุทธิ์ แต่ปฏิกิริยาเกิดแบบต่อเนื่องจึงใช้เวลานานกว่าวิธีทางเคมี

เอนไซม์เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ แล้วปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) โดยเป็นเอนไซม์ที่มีหลายองค์ประกอบ (multicomponent enzymes) ประกอบด้วยเอนไซม์หลัก 3 ชนิดที่ทำงานร่วมกัน ในการย่อยสลายเซลลูโลส (Radfort, 1996)

ก. Endo β -1,4 – glucan glucanohydrolase หรือ Endoglucanase หรือ C_x (EC.3.2.1.4) ทำหน้าที่ตัดพันธะ β -1,4 –glucosidic ภายในสายเซลลูโลสบริเวณอะมอร์ฟัส โดยจะตัดพันธะแบบสุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด คือ โอลิโกแซคคาไรด์ เซลโลไบโอส และกลูโคสที่ปริมาณน้อยมาก

ข. Exo β -1,4 – glucan cellobiohydrolase หรือ Exoglucanase หรือ C_1 (EC.3.2.1.91) ทำหน้าที่ตัดพันธะ β -1,4 –glucosidic ที่บริเวณปลายด้านที่ไม่มีความสามารถในการรีดิวซ์ (non-reducing end) ของเซลลูโลส ทำให้ได้เซลโลไบโอสเป็นส่วนใหญ่

ค. β –glucosidase หรือ Cellobiase (EC.3.2.1.21) เป็นตัวเสริมการทำงานของเอนโดกลูคาเนสและเอกโซกลูคาเนส โดยทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสและสายสั้นๆ ของ cello oligosaccharides ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส

การทำงานของ C_x และ C_1 เป็นปฏิกิริยาที่เกิดภายนอกเซลล์ ส่วนการทำงานของเอนไซม์ β–glucosidase เป็นปฏิกิริยาที่เกิดภายในเซลล์ โดย β–glucosidase จะย่อยสลายเซลโลไบโอส

ที่เกิดจากการทำงานของ C_x และ C_1 ที่ผ่านผนังเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ (Sin and Reese, 1953)

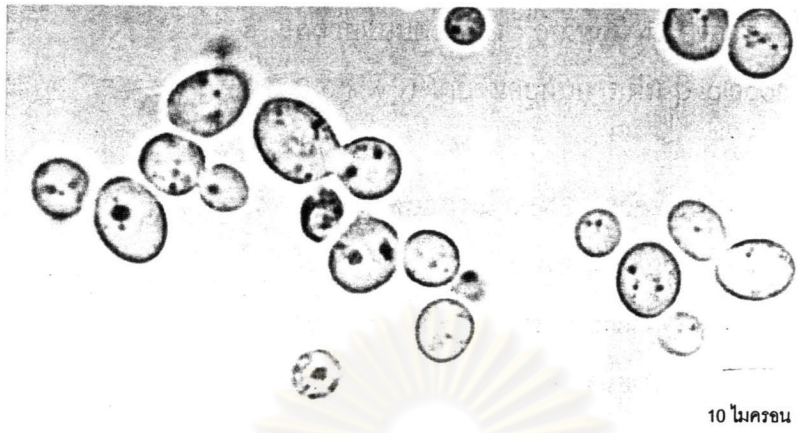
4. การหมัก เกิดขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์จะทำการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นเอทานอล ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมัก คือ ยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyvermyces marxianus* และ *Candida brassicae* เป็นต้น และแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอทานอลจากกลูโคสได้ เช่น *Zymomonas mobilis* และ *Clostridium thermocellum* เป็นต้น

กระบวนการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่อง (SSF) เป็นกระบวนการที่รวมเอาการย่อยสลายเซลลูโลสและการหมักไว้ในขั้นตอนเดียวกัน กลูโคสที่เกิดขึ้นในระบบจะถูกใช้ไปในถังหมักโดยจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่องจึงพบว่ามีเซลโลไบโอสและกลูโคสอยู่ในระบบต่ำมาก ด้วยเหตุนี้จึงช่วยลดปัญหาการยับยั้งการทำงานของเซลลูเลสโดยน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นได้ และช่วยลดปริมาณเอนไซม์ที่ต้องใช้ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการนี้อยู่ที่ประมาณ 37–38 องศาเซลเซียสและจะดีที่สุดในช่วงประมาณ 40–60 องศาเซลเซียส เพราะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเซลลูเลส ดังนั้น ในการหมักโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่ใช้จะต้องมีความทนร้อนจึงจะได้ผลผลิตเอทานอลที่ดีเมื่อใช้อุณหภูมิตั้งแต่ 40 องศาเซลเซียสขึ้นไป

ยีสต์ในสกุล *Kluyvermyces* เป็นยีสต์ทนร้อนได้มากกว่ายีสต์ในสกุล *Saccharomyces* และ*Candida* ซึ่งมีรายงานว่ายีสต์ในสกุลนี้ที่ชื่อ *K. marxianus* สามารถเจริญเติบโตได้แม้อุณหภูมิจะสูงถึง 49 องศาเซลเซียส และสามารถผลิตเอทานอลได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส โดยยีสต์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ *K. marxianus* NRRL Y-1109 ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 6 สามารถจำแนกตามหลักอนุกรมวิธาน (Barnett, Payne and Yarrow, 2000) ได้ดังนี้

Kingdom Fungi
Phylum Ascomycota
Class Hemiascomycetes
Order Saccharomycetales
Family Saccharomycetaceae
Genus *Kluyveromyces*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 ยีสต์ *K. marxianus* NRRL Y-1109

Punnapayak, Kuhirun และ Thanonkeo (1995) ศึกษาการใช้เส้นใยป่านศรนารายณ์เป็นวัสดุหมักในกระบวนการ SSF โดยเชื้อ *T. reesei* และ *S. cerevisiae* ให้ผลผลิตเอทานอล 0.30 กรัม/กรัมสับสเตรท และทำการแยกเชื้อที่ผลิตเซลลูเลสในธรรมชาติจากดินบริเวณปลูกป่าศรนารายณ์ ได้เชื้อราซึ่งสามารถผลิตเซลลูเลสได้สูงสุด คือ *Acrophialophora* sp. โดยที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อรายังสามารถเจริญเติบโตและผลิตเซลลูเลสได้ และเมื่อนำมาศึกษาในกระบวนการSSF โดยใช้เชื้อ *Acrophialophora* sp. และ *S. cerevisiae* ที่มีเส้นใยป่านศรนารายณ์และกระดาษกรอง เป็นวัสดุหมัก พบว่า ให้ผลผลิตเอทานอล 0.11 กรัม/กรัมสับสเตรท และ 0.17 กรัม/กรัมสับสเตรท ตามลำดับ

Boyle, Barron และ McHale (1997) ศึกษาการหมักและย่อยสลายแบบต่อเนื่องของฟางข้าวบาร์เลย์ ซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10%(v/v) ใช้เซลลูโลส 2%(v/v) และใช้ยีสต์ *K. marxianus* IMB3 ผลของการหมักที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณฟางข้าวเป็นสับสเตรท ผลผลิตเอทานอลจะเพิ่มขึ้น คือ เมื่อใช้ฟางข้าว 2, 4 และ 6 %(w/v) จะทำให้ได้ผลผลิตเอทานอลเป็น 3.9, 8 และ 12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Krishna, Janardhan และ Chowdary (2001) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบอ้อย ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในประเทศอินเดีย เพราะจะถูกเผาทิ้งหลังการเก็บเกี่ยว และศึกษาการผลิตเอทานอลจากใบ *Antigonum leptopus* ซึ่งเป็นวัชพืชในอินเดีย โดยในการทดลองได้ทำการปรับสภาพพืชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และใช้เซลลูเลสทางการค้าที่ผลิตจาก *T. reesei* QM-9414 ร่วมกับ β–glucosidase ของ Novozym และใช้ยีสต์ทนร้อน *K. fragilis* NCIM 3358 ผลการผลิตเอทานอลด้วยกระบวนการหมักและย่อย

สลายแบบต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส พบว่า *A. leptopus* ให้ผลผลิตเอทานอล 1.6-2.7%(w/v) โดยขึ้นอยู่กับการเติม β–glucosidase เสริม และใบอ้อยให้ผลผลิตเอทานอล 0.8-2.8 %(w/v)

สุภาภรณ์ (2546) ใช้วัชพืชในกลุ่มหญ้าและกกที่มีอยู่ในประเทศไทย 10 ชนิด เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยใช้กระบวนการSSF ซึ่งใช้เซลลูเลสที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Acrophialophora* sp. ร่วมกับยีสต์ *K. marxianus* NRRL Y-1109 โดยพบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีความเหมาะสมสำหรับการหมัก เนื่องจากที่อุณหภูมิดังกล่าวนี้ยีสต์จะมีอัตราการเจริญในช่วงแรกสูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และผลผลิตเอทานอลที่ได้ค่อนข้างคงที่เมื่อใช้ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นที่เหมาะสม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย