การใช้สารปรับสภาพที่เหมาะสมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายผักตบชวาโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์

Using the Optimal Pretreatment Substances and the Suitable Conditions for Hydrolysis of Water Hyacinth by Using The Cellulase Enzyme to Produce Reducing Sugars

ณัฐนิจชา จันทรส[1] และ กัญจน์รัตน์ สุขรัตน์[1*]

[1]*สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม*
[*]*kanjarat@npru.ac.th, kanrut@gmail.com*

บทคัดย่อ

ลำต้นและรากของผักตบชวามีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลัก การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจะได้โมเลกุลน้ำตาลที่มีขนาดเล็กลงและมีสมบัติเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลรีดิวซ์ถูกหมักโดยยีสต์สามารถผลิตเอทานอลเป็นพลังงานทดแทน การปรับสภาพลำต้นและรากของผักตบชวามีผลต่อการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลส 5 ชนิดของสารปรับสภาพถูกศึกษาที่อุณหภูมิห้อง ได้แก่ น้ำและสารละลายของ KOH, H_2SO_4, H_2SO_4 กับ Na_2SO_3 5% w/w ของผักตบชวาแห้งและ H_2SO_4 กับ Na_2SO_3 10% w/w ของผักตบชวาแห้งโดยใช้ความเข้มข้นต่างๆ 1, 2, 3, 4, และ 5 mol/L และเวลา 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 วัน พบว่าสารปรับสภาพที่เหมาะสมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับลำต้นและราก คือ 3 mol/L H_2SO_4 กับ Na_2SO_3 10% w/w ของผักตบชวาแห้ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 3 mol/L H_2SO_4 เป็นเวลา 2 ชั่วโมงตามลำดับ ในตรวจสอบผลโดยวิธี DNS จากการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 3.0 mL/L ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นในการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลส ดำเนินการในช่วง 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, และ 3.5 mL/L ที่สภาวะเดิม สรุปได้ว่าความเข้มข้นที่ดีที่สุดของเอนไซม์เซลลูเลสสำหรับลำต้นและรากเป็น 1.5 mL/L และ 1.0 mL/L ตามลำดับ

คำสำคัญ: เซลลูโลส, น้ำตาลรีดิวซ์, การย่อยสลายด้วยเอนไซม์

Abstract

Stems and roots of water hyacinth have cellulose be a major component. Hydrolysis of cellulose by cellulase enzyme is smaller sugar molecules that have reducing sugar properties. Reducing sugar were fermented by yeast can produce ethanol as a renewable energy. Pretreatment stems and roots of water hyacinth affect to work more efficiently of cellulase enzymes. 5 kinds of pretreatment substances were studied at room temperature such as water and solution of KOH, H_2SO_4, H_2SO_4 with Na_2SO_3 5% w/w of dried water hyacinth and H_2SO_4 with Na_2SO_3 10% w/w of dried water hyacinth at various concentration of solution 1, 2, 3, 4, and 5 mol/L and time 1, 2, 3, 4, 5, and 6 hours and 1, 2, 3, 4, 5, and 6 days. Found that the appropriate pretreatment and the optimal conditions for stem and root is 3 mol/L of H_2SO_4 with Na_2SO_3 10% w/w of dried water hyacinth for 3 hours and 3 mol/L of H_2SO_4 for 2 hours respectively. To verified the results by DNS method from measuring the amount of reducing sugars that hydrolyzed by 3.0 mL/L of cellulase enzyme at pH 5 buffer at temperature 50 °C for 24 hours. Subsequently, search in suitable concentration of the cellulase enzyme were performed in range of 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, and 3.5 mL/L in the same condition. Conclude that the best concentration of the cellulase enzyme for the stems and roots are 1.5 mL/L and 1.0 mL/L, respectively.

Keywords: cellulose, reducing sugar, enzymatic hydrolysis

1. บทนำ

พลังงานทางเลือก เช่น แก๊สโซฮอล์ และ ไบโอดีเซล เป็นการนำเอาผลิตผลทางการเกษตรที่สามารถเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ หรือเอทานอล (Ethanol) มาผสมกับน้ำมัน ทำให้ปริมาณนำเข้าเพื่อใช้น้ำมันลดลง เป็นการแก้ปัญหาพลังงานที่เป็นต้นทุนสำคัญของเศรษฐกิจยุคใหม่ ต้นทุนที่สูงส่งผลกระทบต่อภาคอุตสาหกรรม ภาคบริการ และรวมไปถึงเศรษฐกิจภาคประชาชน

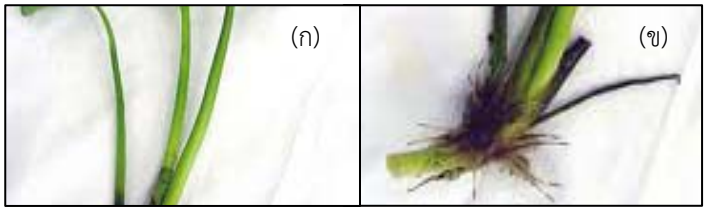
จากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้ง เป็นน้ำตาล และน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์ กรด หรือเบสบางชนิดช่วยย่อย นำมาทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% โดยการกลั่น เอทานอล (สูตรเคมี C_2H_5OH) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งซึ่งได้จากพืชที่ปลูกเป็นจำนวนมากและหาได้ง่ายในประเทศสองประเภทคือ พืชจำพวกแป้ง เช่น มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด และ พืชประเภทน้ำตาล เช่น อ้อย เป็นที่ทราบว่าพืชเหล่านี้เป็นวัตถุดิบหลักทางอุตสากรรม จากการศึกษาพบว่าวัสดุเหลือทิ้งที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบเมื่อเกิดการย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลที่สามารถผลิตเอทานอลได้ ตัวอย่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีเซลลูโลส (Cellulose) [1] เช่น เปลือกถั่วมีเซลลูโลส 25-30% ซังข้าวโพดมีเซลลูโลส 45% ฟางข้าว 30-40% และชานอ้อย 45-55% เป็นต้น

การนำวัชพืชเช่น ผักตบชวาซึ่งเป็นวัสดุที่มีเซลลูโลส 20-40% [1-2] และมีการแพร่กระจาย ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว มีอยู่มากตามแหล่งน้ำและจำเป็นต้องกำจัด เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการกำจัดผักตบชวาของภาครัฐ งานวิจัยนี้นำผักตบชวามาใช้ประโยชน์โดยทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลที่ผลิตได้จากผักตบชวาส่วนลำต้นและรากเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทานอลทดแทนพืชเศรษฐกิจที่ใช้อยู่ น่าจะเกิดประโยชน์สูงกว่า ทั้งยังลดปัญหามลพิษทางน้ำซึ่งเกิดจากการเน่าเสียของผักตบชวาเป็นการแก้ปัญหาด้านพลังงานอย่างยั่งยืน

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การทำความสะอาดวัตถุดิบและเตรียมผักตบชวาแห้ง

2.1.1 เก็บผักตบชวาจากแหล่งน้ำ ล้างทำความสะอาด ตัดแยกเฉพาะส่วนของลำต้น และรากเพื่อใช้ศึกษา ดังแสดงในรูปภาพที่ 1



รูปภาพที่ 1 ผักตบชวา (ก) ส่วนของลำต้น และ (ข) ส่วนของราก

2.1.2 นำผักตบชวาที่ได้จากขั้นตอน 2.1.1 ส่วนลำต้น 500 g ปั่นบดละเอียด กรองแยกนำส่วนที่เป็นกากไปอบในเครื่องอบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำเช่นเดียวกันโดยเปลี่ยนเป็นส่วนของราก

รูปภาพที่ 2 ตัวอย่างผักตบชวาแห้ง (ก) ส่วนของลำต้น และ (ข) ส่วนของราก

2.2 เลือกหาสารปรับสภาพที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้อง

2.2.1 นำผักตบชวาแห้งจำนวน 1 g แช่ในสารปรับสภาพปริมาตร 50 mL เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยควบคุมความเข้มข้นกรดและเบสที่ใช้ศึกษาคือ 2 mol/L (M) โดยจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยมีสารปรับสภาพดังนี้

- น้ำ
- สารละลายเบส KOH ความเข้มข้นที่ 2 M
- สารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้นที่ 2 M
- สารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้นที่ 2 M กับเกลือ
กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 5% (w/w ของผักตบชวาแห้ง)
- สารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้นที่ 2 M กับเกลือ
กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง)

2.2.2 ล้างทำความสะอาดผักตบชวาแห้งที่ถูกปรับสภาพจากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 3.0 mL/L ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ด้วยวิธี DNS [3] โดยใช้เครื่อง UV/VIS spectrophotometer

2.3 เลือกหาความเข้มข้นของสารปรับสภาพที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้อง

2.3.1 นำผักตบชวาแห้งส่วนของลำต้น 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ปริมาตร 50 mL เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยศึกษาที่ความเข้มข้นกรด H_2SO_4 ที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 M ทำทั้งหมดอย่างละ 3 ซ้ำ

2.3.2 นำผักตบชวาแห้งส่วนของราก 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 ปริมาตร 50 mL เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยศึกษาที่ความเข้มข้นกรด H_2SO_4 ที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 M ทำทั้งหมดอย่างละ 3 ซ้ำ

2.3.3 ล้างทำความสะอาดผักตบชวาแห้งที่ถูกปรับสภาพจากขั้นตอนที่ 2.3.1 และ 2.3.2 อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 3.0 mL/L ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ด้วยวิธี DNS โดยใช้เครื่อง UV/VIS spectrophotometer

2.4 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการปรับสภาพ ที่อุณหภูมิห้อง

2.4.1 นำผักตบชวาแห้งส่วนของลำต้น 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ปริมาตร 50 mL ที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 วัน ทำทั้งหมดอย่างละ 3 ซ้ำ

2.4.2 นำผักตบชวาแห้งส่วนของราก 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M ปริมาตร 50 mL ที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 วัน ทำทั้งหมดอย่างละ 3 ซ้ำ

2.4.3 ล้างทำความสะอาดผักตบชวาแห้งที่ถูกปรับสภาพจากขั้นตอนที่ 2.4.1 และ 2.4.2 นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 3.0 mL/L ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ด้วยวิธี DNS โดยใช้เครื่อง UV/VIS spectrophotometer

2.5 ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่ใช้ในการย่อย

2.5.1 นำผักตบชวาแห้งส่วนของลำต้น 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ปริมาตร 50 mL ที่เวลา 3 ชั่วโมง

2.5.2 นำผักตบชวาแห้งส่วนของราก 1 g แช่ในสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M ปริมาตร 50 mL ที่เวลา 2 ชั่วโมง

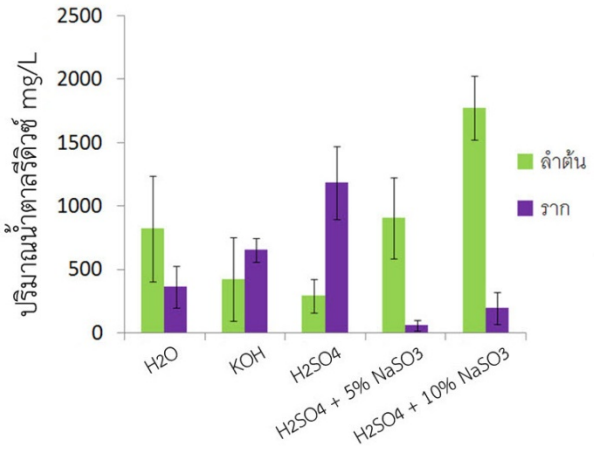
2.5.3 ล้างทำความสะอาดผักตบชวาแห้งที่ถูกปรับสภาพจากขั้นตอนที่ 2.5.1 และ 2.5.2 นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำไปย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 mL/L ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ด้วยวิธี DNS โดยใช้เครื่อง UV/VIS spectrophotometer

2.6 ศึกษาโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยผักตบชวาก่อนและหลังผ่านการปรับสภาพผักตบชวาที่สภาวะที่ดีที่สุด โดยผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนกำลังขยายสูง หรือ Scanning Electron Microscope (SEM)

3. ผลการวิจัย

3.1 สารปรับสภาพที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้อง

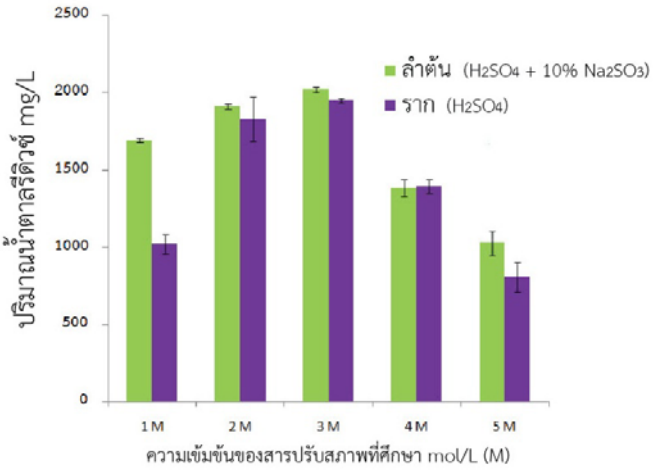
จากการศึกษาผลของสารปรับสภาพผักตบชวาแห้ง พบว่าเมื่อใช้สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 2 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) เหมาะสมต่อการปรับสภาพลำต้นของผักตบชวาแห้ง เพราะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด 1,775 mg/L และสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 2 M มีความเหมาะสมต่อการใช้ปรับสภาพรากของผักตบชวาแห้ง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1,185 mg/L เมื่อเทียบกับสารปรับสภาพชนิดอื่นๆ ผลแสดงดังรูปภาพที่ 3



รูปภาพที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ mg/L ที่ได้จากการใช้สารปรับสภาพต่างๆ ที่ความเข้มข้นสารละลาย 2 M ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

3.2 ความเข้มข้นของสารปรับสภาพที่เหมาะสม ที่อุณหภูมิห้อง

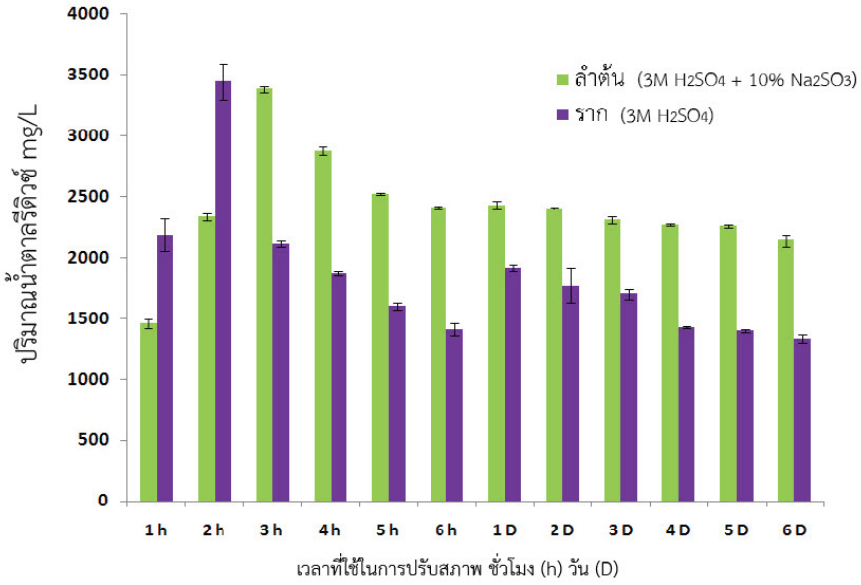
การศึกษาผลความเข้มข้นสารละลายกรด H_2SO_4 ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจาก 1-3 M พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามลำดับ สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) เหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพลำต้นของผักตบชวาแห้งโดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 2,000 mg/L และสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M เหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพรากของผักตบชวาแห้งโดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1,900 mg/L เมื่อเทียบกับสารปรับสภาพที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เวลา 2 ชั่วโมง และพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นสารละลายกรด H_2SO_4 มากขึ้นเป็น 4-5 M ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้กลับลดลงเนื่องจากความเข้มข้นที่สูงขึ้นของกรด H_2SO_4 นี้มากเกินพอที่จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสที่มากกับเซลลูโลสในผักตบชวาซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ให้เกิดขึ้น โดยหลังการปรับสภาพทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 3.0 mL/L ผลแสดงดังรูปภาพที่ 4



รูปภาพที่ 4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ mg/L เมื่อใช้สารปรับสภาพที่ความเข้มข้นสารละลาย 1, 2, 3, 4, และ 5 M เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

3.3 เวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการปรับสภาพ ที่อุณหภูมิห้อง

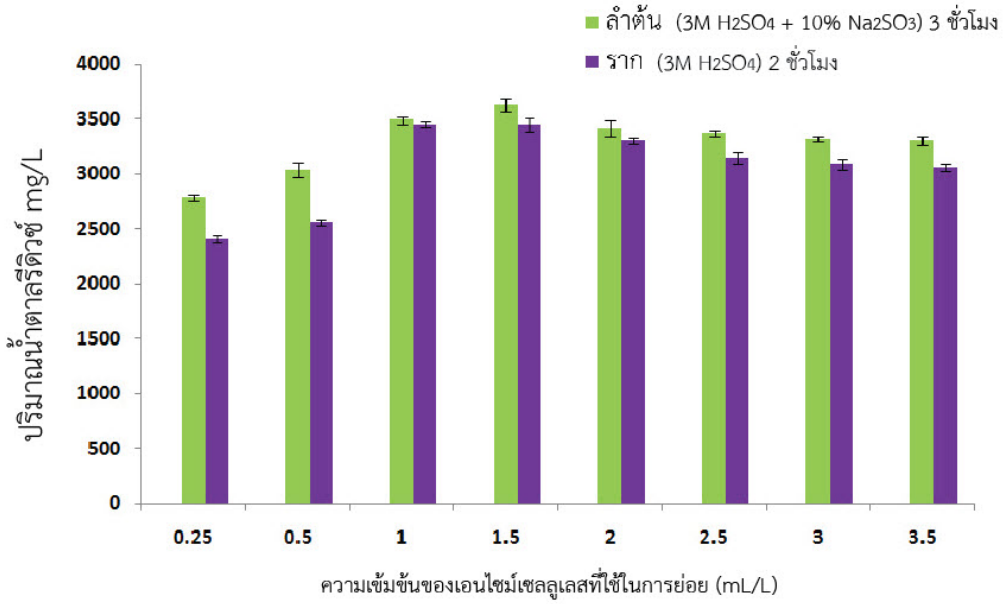
ผลของเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพของลำต้น พบว่าเวลาปรับสภาพหลังจาก 5 ชั่วโมงเป็นต้นไปถึง 6 วัน ปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสระบบเริ่มเข้าสู่สมดุลจึงเห็นการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับราก แต่พบว่าการปรับสภาพของรากที่ 1 วัน มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และลดลงจนกลับเข้าสู่สมดุลอีกครั้งที่ 6 วัน โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สมดุลใหม่มีค่าใกล้เคียงกับที่สมดุลเดิมที่เวลา 6 ชั่วโมง สิ่งที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นผลมาจากอินทรีย์สารต่างๆ ที่มีอยู่ต้องใช้เวลาระยะหนึ่งในการย่อยสลาย เมื่อเกิดการสลายตัวจึงสาเหตุให้ระบบสมดุลเกิดการรบกวน โดยพบว่าสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ใช้เวลา 3 ชั่วโมงในการปรับสภาพเหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพลำต้นของผักตบชวาแห้งโดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3,350 mg/L และสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M ใช้เวลา 2 ชั่วโมงในการปรับสภาพเหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพรากของผักตบชวาแห้งโดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3,400 mg/L เมื่อเทียบกับระยะเวลาที่ใช้ปรับสภาพ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 วันย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 3.0 mL/L ผลแสดงดังรูปภาพที่ 5



รูปภาพที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ mg/L เมื่อใช้สารปรับสภาพเข้มข้น 3 M เวลาปรับสภาพ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 4, 5, และ 6 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

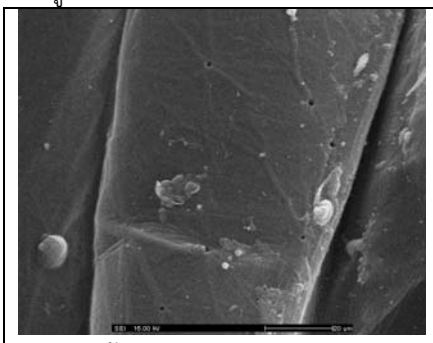
3.4 ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่ใช้ในการย่อย

สารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ใช้เวลา 3 ชั่วโมง ในการปรับสภาพ และย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.5 mL/L เหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพลำต้นของผักตบชวาแห้ง โดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3,600 mg/L และสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M ใช้เวลา 2 ชั่วโมงในการปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.0 mL/L เหมาะสมที่สุดต่อการปรับสภาพรากของผักตบชวาแห้งโดยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3,450 mg/L เมื่อเทียบกับความเข้มข้นเอนไซม์เซลลูเลส 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 mL/L ผลแสดงดังรูปภาพที่ 6

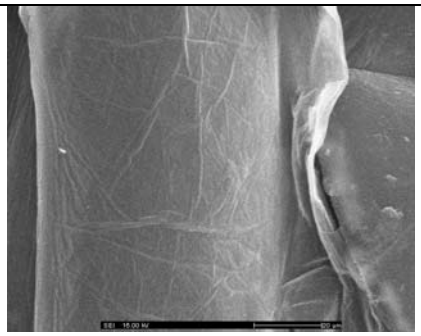


รูปภาพที่ 6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ mg/L จากเอนไซม์เซลลูเลส 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 mL/L ที่อุณหภูมิห้อง

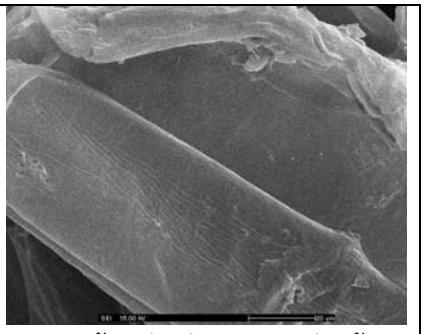
เมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากการวิเคราะห์ด้วย SEM ของลำต้นและรากของผักตบชวาแห้งก่อนและหลังปรับสภาพด้วยสภาวะปรับสภาพที่ดีที่สุด เมื่อปรับสภาพด้วย H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับเกลือซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 10% (w/w ของผักตบชวาแห้ง) ใช้เวลา 3 ชั่วโมงสำหรับลำต้นและสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 3 M ใช้เวลา 2 ชั่วโมงสำหรับราก พบว่าสารปรับสภาพที่มีซัลไฟต์ (SO_3^{2-}) ซึ่งได้จากเกลือซัลไฟล์ (Na_2SO_3) สามารถเอาชนะความคงตัวของลิกโนเซลลูโลสได้ดี โดยที่ซัลไฟต์จะละลายส่วนเล็กๆ ของลิกนิน (Sulfonation) ทำให้ลิกนินละลายน้ำมากขึ้นและเพิ่มการสัมผัสเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้น นำไปสู่การย่อยที่ดี สังเกตจากมีการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวลำต้นและรากของผักตบชวาโดยสารปรับสภาพกำจัดสารเคลือบผิวลำต้นได้ดีกว่าส่วนของรากของผักตบชวาแห้ง ผลนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhu และคณะ [4] ส่วนลักษณะโครงสร้างเมื่อทำการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสสำหรับลำต้นและรากหลังการปรับสภาพพบการย่อยที่เด่นชัด แสดงดังรูปภาพที่ 7



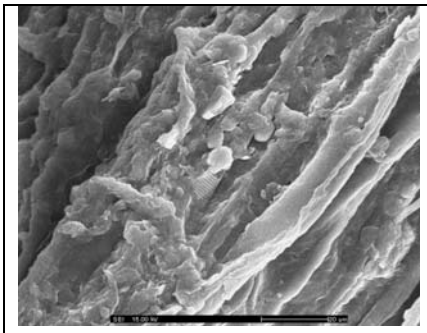
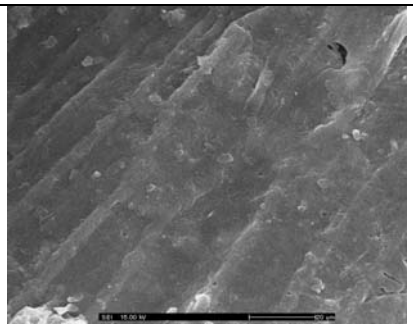
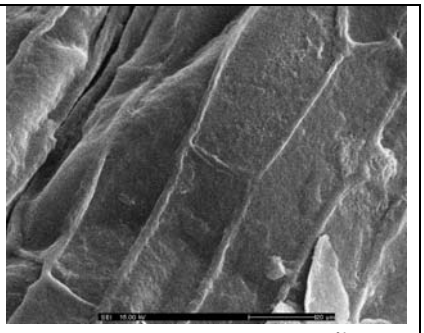
(ก-1) ลำต้นก่อนปรับสภาพ



(ก-2) ลำต้นหลังปรับสภาพ



(ก-3) ลำต้นหลังปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.5 mL/L

		
(ข-1) รากก่อนปรับสภาพ	(ข-2) รากหลังปรับสภาพ	(ข-3) รากหลังปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.0 mL/L

รูปภาพที่ 7 โครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยผักตบชวาก่อนและหลังผ่านการปรับสภาพผักตบชวาที่สภาวะที่ดีที่สุด (ก-1) ลำต้นก่อนปรับสภาพ (ก-2) ลำต้นหลังปรับสภาพ (ก-3) ลำต้นหลังปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.5 mL/L และ (ข-1) รากก่อนปรับสภาพ (ข-2) รากหลังปรับสภาพ (ข-3) รากหลังปรับสภาพและย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเข้มข้น 1.0 mL/L ถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนกำลังขยายสูง (SEM)

4. สรุปผลการทดลอง

สารปรับสภาพที่เหมาะสมและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับลำต้น คือสารละลาย H_2SO_4 เข้มข้น 3 M กับ Na_2SO_3 10% w/w ของผักตบชวาแห้ง ใช้เวลา 3 ชั่วโมงในการปรับสภาพ และรากพบว่า H_2SO_4 เข้มข้น 3 M เวลาปรับสภาพ 2 ชั่วโมงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งยืนยันผลโดยวิธี DNS ซึ่งวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ความเข้มข้นที่ดีที่สุดของเอนไซม์เซลลูเลส 1.5 mL/L สำหรับลำต้น และ 1.0 mL/L สำหรับราก ที่ pH บัฟเฟอร์ 5 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การศึกษาโครงสร้างทางกายภาพของเส้นใยผักตบชวาก่อนและหลังผ่านการปรับสภาพผักตบชวาที่สภาวะที่ดีที่สุด โดยผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนกำลังขยายสูง (SEM) พบว่าสารปรับสภาพกำจัดสารเคลือบผิวลำต้นและรากของผักตบชวาแห้งทำให้เพิ่มการเข้าถึงของเอนไซม์เซลลูเลสจึงย่อยสลายเซลลูโลสในผักตบชวาได้ดีขึ้น

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐมที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย (ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557 โครงการวิจัยบูรณาการนักศึกษาและอาจารย์เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นและความเป็นเลิศทางวิชาการ) หน่วยวิจัยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและวัสดุชีวภาพ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม และคุณวิฑูรย์ วรรธระนิตย์ นักวิทยาศาสตร์ประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

6. เอกสารอ้างอิง

[1] Goksoyr, J. and Eriksen, J. (1980) Cellulase in economic microbiology. New York: Academic Press.
[2] Bhattacharya, A. and Kumar, P. (2010) Water hyacinth as a potential biofuel crop. Electron J Environ Agric Food Chem, 9, 112-122.
[3] Miller, G.L. (1959) Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry, 31 (3), 426-428.
[4] Zhu, J.Y., et al. (2009) Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine. Bioresource Technology, 100 (8), 2411-2418.