การผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพารา
Ethanol Production from Rubber Wood Sawdust

ศิริลักษ์ บัวทอง[1] ธันยนันท์ ศรีพันธ์ลม[1*] อดิศักดิ์ จตุรพิรีย์[1] และ เอกราชันย์ ไชยชนะ[1]

[1]*สาขาวิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม*
[*]*thanyanan.kae123@gmail.com*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ได้จากถุงเชื้อเห็ดเก่า ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีอยู่จำนวนมาก โดยมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการปรับสภาพและเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลและปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตเอทานอลจากขี้เลื่อยยางพาราที่ได้จากถุงเชื้อเห็ดเก่า โดยทำการปรับสภาพโดยใช้เอทานอลและเอทานอลร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ใช้เอทานอลความเข้มข้น 50%, 60%, 70%, 80% และ 90% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และการปรับสภาพด้วยเอทานอลร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้เอทานอล 80% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ความเข้มข้น 2%, 3%, 4% และ5% ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้น ไฮโดรไลซีสด้วยเซลลูเลสความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร สำหรับประสิทธิภาพในการปรับสภาพจะดูจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ ผลการทดลองพบว่าขี้เลื่อยที่ไม่ปรับสภาพมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 74.78 มิลลิกรัมต่อลิตร ขี้เลื่อยที่ใช้เอทานอลในการปรับสภาพมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 227.88, 212.73, 144.85, 237.58 และ 249.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนขี้เลื่อยที่ปรับสภาพด้วยเอทานอลร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 585.50, 543.18, 773.33, 605.21 และ 919.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพขี้เลื่อยคือ การปรับสภาพด้วยเอทานอล 80% ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 4% ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดคือ 773.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการหมักด้วยยีสต์ saccharomyces cerevisiae เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ได้ปริมาณเอทานอล 0.1 % v/v

คำสำคัญ : ขี้เลื่อย, การปรับสภาพ, เซลลูโลส, น้ำตาลรีดิวซ์, เอทานอล

Abstract

This research is a study of the ethanol production from sawdust of rubber wood left from the used mushroom growing bags. The research objectives are to investigate various treatment methods and to compare the content of reducing sugar and ethanol among all methods. The treatments consisted of 1) using ethanol and 2) using ethanol along with hydrogen peroxide (H_2O_2). The concentrations of ethanol are 50%, 60%, 70%, 80% and 90% used at 60°C for 6 hrs. For the treatment with ethanol and hydrogen peroxide, the concentration of ethanol 80% was chosen due to producing the highest reducing sugar content, and the concentrations of hydrogen peroxide are varied with 2%, 3%, 4% and 5% used at 45°C for 16 hrs. All the treatments were then hydrolyzed with cellulase (3 g/L). The efficiency of each treatment can be determined by the content of reducing sugar. The results showed that the untreated saw dusts gave the reducing sugar content of 74.78 mg/L, the treated saw dust with ethanol gave the reducing sugar contents of 227.88, 212.73, 144.85, 237.58 and 249.70 mg/L respective to the concentrations, and the treated saw dust with ethanol and hydrogen peroxide gave the reducing sugar contents of 585.50, 543.18, 773.33, 605.21 and 919.42 mg/L respective to the concentrations. From the results, it can be found that the optimum condition for the treatments was the using of ethanol (80%)

along with hydrogen peroxide (4%) which gave the highest content of reducing sugar (773.33 mg/L). After that using this condition for fermentation with yeast saccharomyces cerevisiae for 5 days at room temperature, it can produce ethanol with concentration of 0.1 % v/v.

Keywords: sawdust, treatment, cellulose, reducing sugar, ethanol

1. บทนำ

ปัจจุบันพลังงานหลักที่นำมาใช้ในชีวิตประจำวันคือ น้ำมันซึ่งได้มาจากกระบวนการทางปิโตรเลียมและปิโตรเคมี และแหล่งพลังงานที่ว่านี้กำลังมีปริมาณลดลง และอาจหมดไปได้ในอนาคต จึงได้มีการพยายามที่จะหาแหล่งพลังงานต่างๆ มาทดแทน เช่น พลังงานจากเอทานอล หรือพลังงานจากพืชชีวมวล

ขี้เลื่อย (Sawdust or wood dust) มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบจำนวนมาก (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) เป็นผลพลอยได้จากการเลื่อยไม้ มีลักษณะเป็นผงไม้ละเอียด ซึ่งขี้เลื่อยเหล่านี้เมื่อเหลือจากอุตสาหกรรมก็จะนำไปทิ้งโดยไม่เกิดประโยชน์ใดๆ (Bioresource Technology. 99, 3935 – 394) ปัจจุบันได้มีการนำขี้เลื่อยมาทำเป็นวัสดุสำคัญในการเพาะเชื้อเห็ด นิยมใช้ขี้เลื่อยยางพารา เพราะย่อยสลายเร็ว มีสารอาหารที่เห็ดชอบคือ คาร์บอน ไนโตรเจน ลินิน เซลลูโลสส่วนมาก สารอาหารเหล่านี้อยู่ในรูปที่เห็ดนาไปใช้ได้เลย และยังสามารถนามาเป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล เนื่องจากมีเซลลูโลสสูง ส่วนใหญ่วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตเอทานอลมีอยู่ 2 ประเภท คือ น้ำตาลและแป้ง แต่วัตถุดิบดังกล่าวเป็นส่วนหนึ่งที่ใช้ในอุสาหกรรมอาหาร อาจไม่เพียงพอต่อการผลิต การใช้วัตถุดิบประเภทชีวมวล จึงเป็นทางเลือกที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีเศษวัสดุทางการเกษตรอยู่มากมาย เช่น ซังข้าวโพด ฟางข้าว และอื่นๆ

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้เลือกนำขี้เลื่อยยางพาราที่ได้จากถุงเชื้อเห็ดเก่ามาผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยเอทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์เซลลูเลส หลังจากนั้นจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อ*saccharomyces cerevisiae*

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การเตรียมและทำความสะอาดวัตถุดิบ

นำขี้เลื่อยที่ใช้แล้วออกจากถุงเชื้อเห็ด ล้างด้วยน้ำสะอาด กรองด้วยผ้าขาวบาง นำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเพื่อไล่ความชื้น และนำขี้เลื่อยที่อบแล้วมาร่อนให้ละเอียดด้วยตะแกรงร่อน มโครเมตร ไ 100 แล้วเก็บขี้เลื่อยที่ร่อนละเอียดแล้วไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.2 ศึกษาการปรับสภาพวัสดุที่ได้จากถุงเชื้อเห็ดเก่าโดยกระบวนการทางเคมี

2.2.1 การปรับสภาพขี้เลื่อยด้วยเอทานอล

เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้น50% 60% 70% 80%และ 90%ชั่งขี้เลื่อยที่ไม่ปรับสภาพมา 10 กรัม แช่ เอทานอลความเข้นข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 140:60 เอทานอลต่อน้ำให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงล้างขี้เลื่อยด้วยวิธีการล้างครั้งที่ 1 คือ ล้างด้วยเอทานอล95% ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเอทานอล70% ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงกรองและนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

2.2.2 การปรับสภาพขี้เลื่อยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)ความเข้มข้น2% 3% 4% และ5% ชั่งขี้เลื่อยที่ปรับสภาพด้วยเอทานอลแล้ว โดยเลือกความเข้นข้นที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด 10 กรัม แช่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 140:60 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อน้ำ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16

ชั่วโมงล้างขี้เลื่อยด้วยวิธีที่ 2 คือ ล้างด้วยเอทานอล70% ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงกรองและนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

2.3 ขั้นตอนการย่อยด้วยเซลลูเลส

นำวัสดุที่ได้จากถุงเชื้อเห็ดเก่าที่ไม่ปรับสภาพและที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ชั่งมาอย่างละ 1กรัมละลายใน 50mM อะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 10มิลลิลิตรเขย่าแล้วนำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมเซลลูเลส10 มิลลิลิตรเขย่าแล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา1 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยนำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 15-20 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายไปวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method

2.4 การหาปริมาณน้ำตาลโดยวิธี DNS Method (3,5-Dinitrosalicylic acid Reagent)

ปิเปตสารละลายน้ำตาลที่ไฮโดรไลซีสได้มา 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DNS reagent จำนวน 2มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาทีนำมาเติม Potassium sodium tartrate 40% ปริมาตร 0.66มิลลิลิตรเพื่อไม่ให้สีของตัวอย่างจางลงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตรนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.5 การทำกราฟมาตรฐานกลูโคส

เตรียม stock กลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 500 mg/L แล้วทำการเจือจางตามความเข้มข้น 0, 40, 80, 20, 160, 200, 240, 280,320, 360, 400 mg/L หรือให้ค่าการดูดกลืนอยู่ในช่วง 0.2 - 0.8 ซึ่งเป็นช่วงค่าการดูดกลืนที่ดี นำสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมา 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DNS reagent 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที นำมาเติม Potassium sodium tartrate 40% ปริมาตร 0.66 มิลลิลิตร เพื่อไม่ให้สีของตัวอย่างจางลง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.6 การผลิตเอทานอล

2.6.1 การเพาะเชื้อยีสต์และการหมัก

ทำการฆ่าเชื้อภาชนะที่จะใส่เชื้อก่อน โดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อโรค ที่อุณหภูมิ 121 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาทีเขี่ยเชื้อยีสต์ saccharomyces cerevisiae1 loop จาก YM agar ลง YM broth 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เทลง YM broth 50 มิลลิลิตร แล้วบ่มอุณหภูมิห้อง 120 rpm 24 ชั่วโมง นำมาวัด OD ที่ 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า 1.5 แบ่งใส่อาหารที่มีน้ำตาลต่างๆ Flask ละ 5 มิลลิลิตร (เตรียมน้ำตาลโดยนำน้ำตาลมาตัวอย่างละ 25 มิลลิลิตร ใส่ Yeast extract 0.25 กรัม และ Peptone 0.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน ปิดปากขวดด้วยสำลี จากนั้นหุ้มด้วย ฟรอยด์อลูมิเนียม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 110 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

2.6.2 การหาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง GC

นำตัวอย่างที่หมักแล้ว 5 วัน ดูดสารละลายตัวอย่างขึ้นมาโดยใช้ไซลิงค์ ดูดมา 1 มิลลิลิตร กรองด้วย CA Syringe Filters 13 mm 0.45 µm ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC

3. ผลการวิจัย

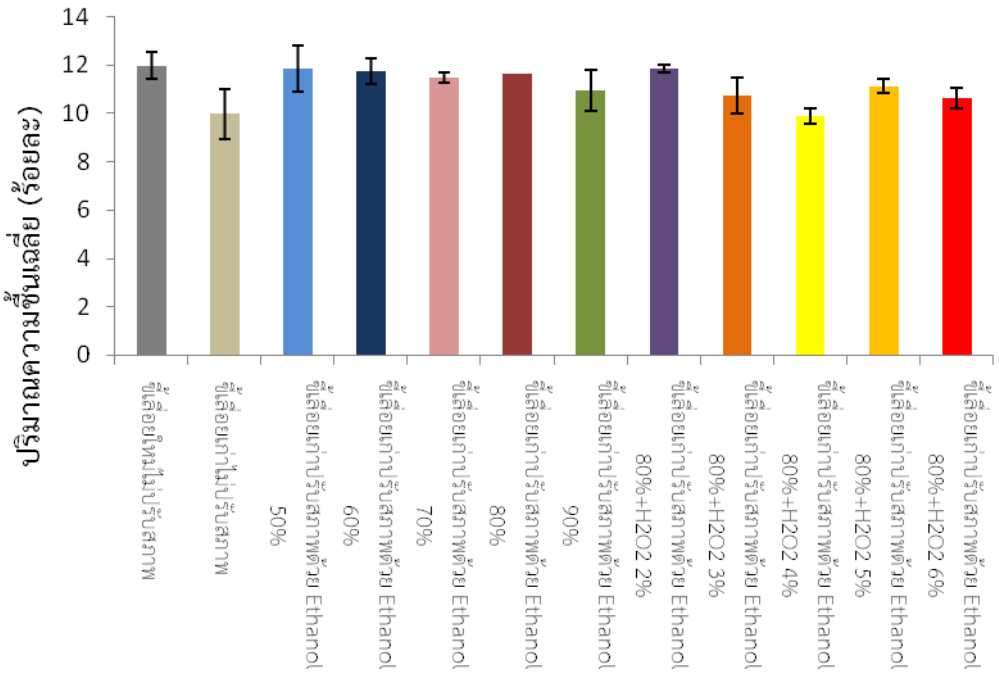
3.1 ปริมาณความชื้นของขี้เลื่อย

ปริมาณความชื้นใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของขี้เลื่อยทั้งที่ปรับสภาพและไม่ปรับสภาพ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของขี้เลื่อย

ตัวอย่าง	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
ขี้เลื่อยใหม่ไม่ปรับสภาพ	11.98±0.54
ขี้เลื่อยเก่าไม่ปรับสภาพ	9.97±1.03
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 50% v/v	11.87±0.96
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 60% v/v	11.73±0.53
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 70% v/v	11.48±0.23
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยEthanol 80% v/v	11.64±0.02
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 90% v/v	10.96±0.84
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 2 % v/v	11.85±0.16
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 3% v/v	10.75±0.75
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 4% v/v	9.89 ±0.33
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 5% v/v	11.12 ±0.28
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v + H_2O_2 6% v/v	10.63±0.45

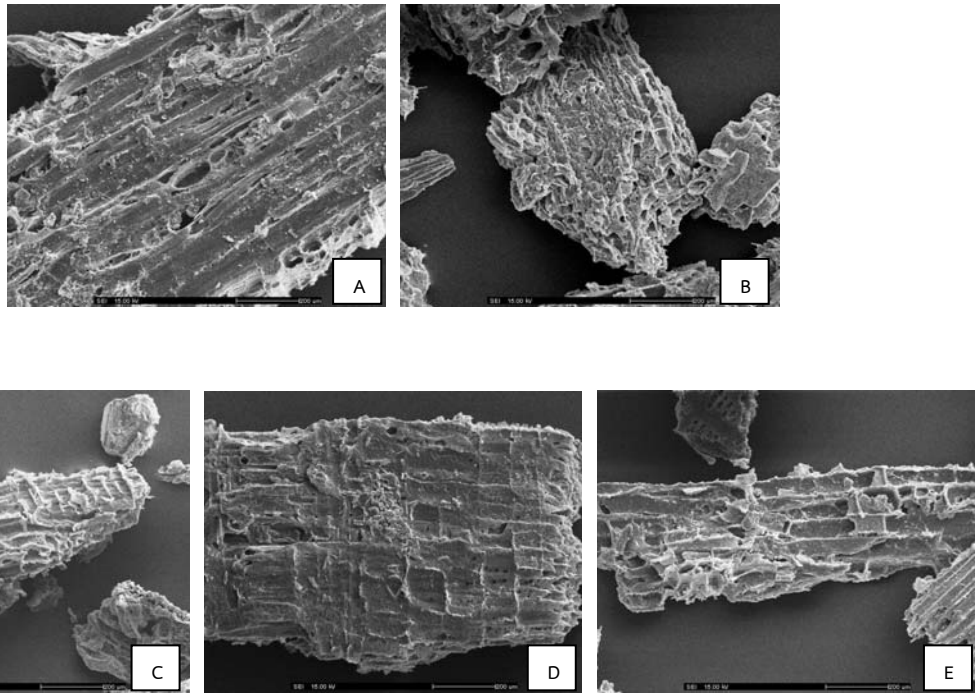
จากตารางที่ 1 พบว่าขี้เลื่อยใหม่ไม่ปรับสภาพมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด โดยขี้เลื่อยเก่าไม่ปรับสภาพ และขี้เลื่อยเก่าขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol ที่ความเข้มข้น50 % 60% 70% 80%และ 90% มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกัน และขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol มีปริมาณความชื้นสูงกว่าขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยEthanol 80%+H_2O_2และขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80%+$H_2O_2$4% ซึ่งมีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงปริมาณร้อยละของความชื้นในขี้เลื่อย

3.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของขี้เลื่อย

โครงสร้างและพื้นที่ผิวของขี้เลื่อยเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของขี้เลื่อยทั้งที่ปรับสภาพและไม่ปรับสภาพ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างและพื้นที่ผิวของขี้เลื่อยเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM) กำลังขยาย 200 เท่า
(A) ขี้เลื่อยใหม่ไม่ปรับสภาพ (B) ขี้เลื่อยเก่าไม่ปรับสภาพ
(C) ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยเอทานอล (D) ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
(E) ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยเอทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

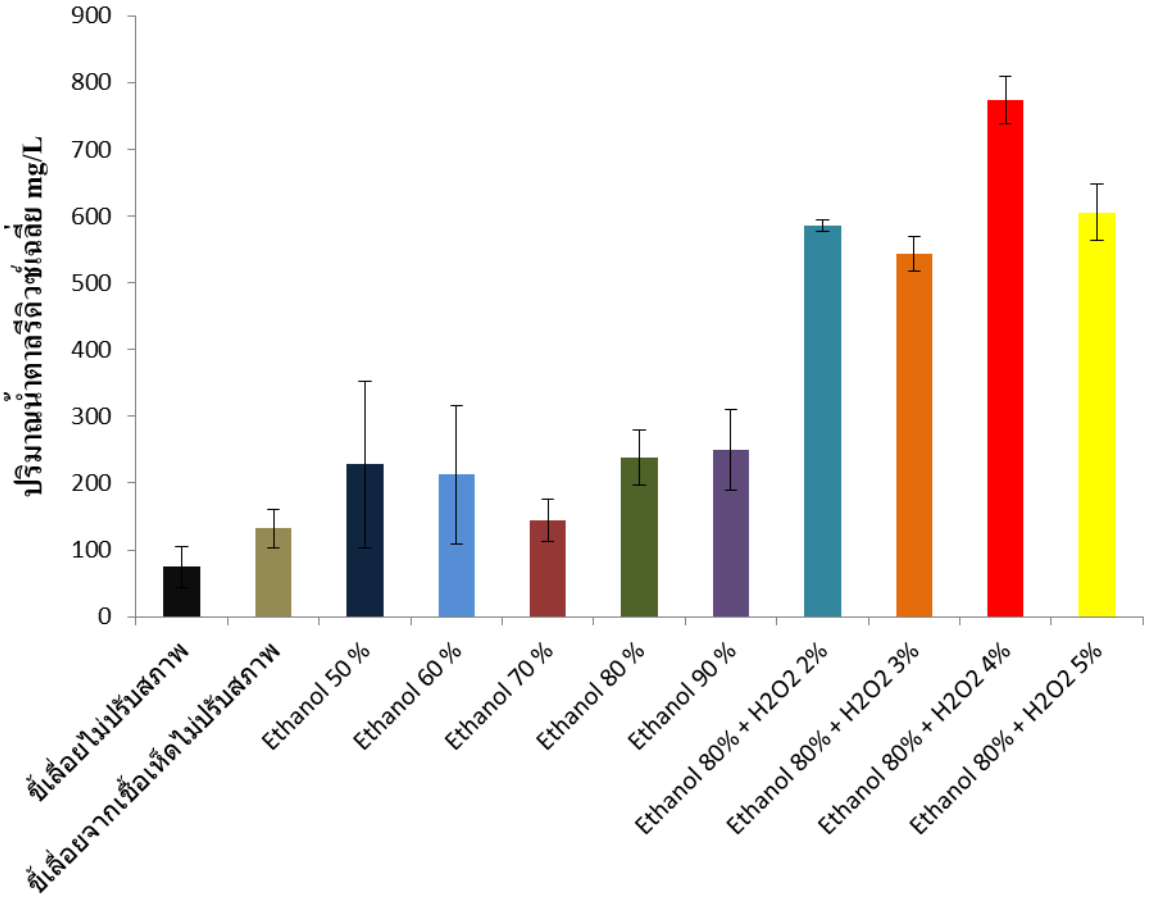
จากการศึกษาโครงสร้างและพื้นที่ผิวของขี้เลื่อยที่ปรับสภาพและที่ไม่ปรับสภาพดังภาพที่ 2 จะเห็นว่าพื้นผิวของขี้เลื่อยใหม่ที่ไม่ปรับสภาพ มีผิวมัน ขรุขระ และมีรูพรุนน้อยกว่าขี้เลื่อยเก่าที่ไม่ปรับสภาพ (รูป B) ส่วนขี้เลื่อยเก่าที่ปรับสภาพ พบว่าขี้เลื่อยเก่าที่ปรับสภาพด้วยเอทานอล (รูป C) และขี้เลื่อยเก่าที่ปรับสภาพด้วยเอทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (รูป E) พื้นผิวมีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบมาก ผิวไม่มัน มีรอยแตกและรูพรุนมากกว่าขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (รูป D) และขี้เลื่อยที่ไม่ปรับสภาพ(รูป A และ B)

3.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการปรับสภาพขี้เลื่อย

เป็นการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสให้สามารถย่อยเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น ซึ่งผลการปรับสภาพขี้เลื่อยแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/L)
ขี้เลื่อยใหม่ไม่ปรับสภาพ	74.78±31.07
ขี้เลื่อยเก่าไม่ปรับสภาพ	132.17±29.14
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 50% v/v	227.88±124.49
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 60% v/v	212.73±103.42
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 70% v/v	144.85±31.80
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v	237.58±41.34
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 90% v/v	249.70±60.00
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 2 % v/v	585.51±7.81
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 3% v/v	543.19±26.14
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v + H_2O_2 4% v/v	773.33 ±35.89
ขี้เลื่อยเก่าปรับสภาพด้วย Ethanol 80% v/v +H_2O_2 5% v/v	605.22 ±42.09



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากตารางที่ 2 และภาพที่ 3 พบว่าขี้เลื่อยเก่าที่ผ่านการปรับสภาพแล้วให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าขี้เลื่อยเก่าไม่ปรับสภาพ และขี้เลื่อยใหม่ไม่ปรับสภาพ ตามลำดับ แสดงว่า ขี้เลื่อยเก่าสามารถใช้เป็นวัสดุตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ แต่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อน