บทความวิชาการ

การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายดีพยูเทคติคเพื่อกระบวนการกลั่นทางชีวภาพ

ธีราวุฒิ ภู่สันติสัมพันธ์ และ ณิชารีย์ วิสุทธิแพทย์
ศูนย์วิจัยอุตสาหกรรมเคมีชีวภาพและวิศวกรรมกระบวนการแบบอัตโนมัติ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
ณิชาภัทร กิติบวรกุล*
ศูนย์วิจัยอุตสาหกรรมเคมีชีวภาพและวิศวกรรมกระบวนการแบบอัตโนมัติ ภาควิชาวิศวกรรมเคมีและกระบวนการ บัณฑิตวิทยาลัยวิศวกรรมศาสตร์นานาชาติสิรินธรไทย-เยอรมัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 2555 2000 ต่อ 2927 อีเมล: nichaphatkitii@gmail.com
DOI: 10.14416/j.kmutnb.2024.07.014
รับเมื่อ 29 มิถุนายน 2566 แก้ไขเมื่อ 4 กันยายน 2566 ตอบรับเมื่อ 5 ตุลาคม 2566 เผยแพร่ออนไลน์ 31 กรกฎาคม 2567
© 2025 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

ลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของพืชและมีแหล่งที่มาหลากหลาย โดยสามารถนำไปเข้าสู่กระบวนการกลั่นทางชีวภาพ เพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพและผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่าง ๆ ที่มีมูลค่าสูง โดยหนึ่งในกระบวนการกลั่นทางชีวภาพของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก คือ การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีหลายวิธีโดยการเลือกใช้แต่ละวิธีนั้นจะต้องปรับให้เหมาะสมกับชีวมวลที่แตกต่างกัน เป็นขั้นตอนที่ถือว่ามีความท้าทายเป็นอย่างมากเนื่องจากจะเกี่ยวข้องกับการลดต้นทุนและทำให้มีศักยภาพสูงในกระบวนการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพและผลิตภัณฑ์ชีวภาพต่าง ๆ บทความปริทัศน์นี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติของสารละลายดีพยูเทคติคในการปรับสภาพชีวมวล เป็นความท้าทายใหม่ในการนำชีวมวลมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์เพื่อการผลิตผลผลิตมูลค่าสูง อีกทั้งสารละลายดีพยูเทคติคยังเป็นตัวทำละลายสีเขียวที่มีประสิทธิภาพสูง เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ ความเป็นพิษต่ำ ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ สามารถรีไซเคิลและนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่าย จึงได้รับการยอมรับจากนักวิจัยทั่วโลกเป็นอย่างมากในการนำมาพัฒนาต่อยอด นอกจากนั้นยังมีการอภิปรายข้อดีและข้อเสียของวิธีการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส ปัจจัยต่าง ๆ ที่เป็นพารามิเตอร์ของกระบวนการ รวมถึงแนวทางการประยุกต์ใช้ และความก้าวหน้าของสารละลายดีพยูเทคติคที่มีศักยภาพต่อไป ดังนั้นก็จะสอดคล้องกับแนวความคิดของหลักโมเดลเศรษฐกิจสู่การพัฒนาที่ยั่งยืนของโลก

คำสำคัญ: ลิกโนเซลลูโลส สารละลายดีพยูเทคติค การปรับสภาพ กระบวนการกลั่นทางชีวภาพ ระบบตัวทำละลายสีเขียว

การอ้างอิงบทความ: ธีราวุฒิ ภู่สันติสัมพันธ์, ณิชารีย์ วิสุทธิแพทย์ และ ณิชาภัทร กิติบวรกุล, "การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลายดีพยูเทคติคเพื่อกระบวนการกลั่นทางชีวภาพ," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 35, ฉบับที่ 2, หน้า 1–15, เลขที่บทความ 252-186974, เม.ย.–มิ.ย. 2568.

Academic Article

Pretreatment of Lignocellulosic Biomass Using Deep Eutectic Solvents for Biorefining Processes

Theerawut Phusantisampan and Nicharee Wisuthiphaet
Biorefinery and Process Automation Engineering Center, Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok, Thailand
Nichaphat Kitiborwornkul*
Biorefinery and Process Automation Engineering Center, Department of Chemical and Process Engineering, The Sirindhorn Thai-German International Graduate School of Engineering, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 0 2555 2000 Ext. 2927, E–mail: nichaphatkitii@gmail.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2024.07.014
Received 29 June 2023; Revised 4 September 2023; Accepted 5 October 2023; Published online: 31 July 2024
© 2025 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

Lignocellulose is a primary component of plants and can be obtained from a wide array of sources. It can be used in various biorefinery processes to produce biofuels and various high-value bioproducts. One of the highly significant processes in lignocellulosic biorefinery is the pretreatment of lignocellulose, which can be accomplished through several methods. Each method needs to be tailored to suit different types of biomass. This step is considered highly challenging as it is related to cost reduction and the efficiency in the production of biofuel and bioproducts. The objective of this article is to highlight the characteristics of the deep eutectic solvents (DESs) for the pretreatment of the biomass, which presents a new challenge in utilizing biomass technology for enhanced-value commercial purposes. Additionally, DESs are considered efficient, green and sustainable solvents due to its low cost, low toxicity, biodegradability, along with recyclability and reusability properties. Therefore, it has gained global attention for the future development. Furthermore, the advantages and disadvantages of DES-based lignocellulose pretreatment methods, including various parameters, application guidelines, new trends and future prospects of the DES solvents are taken into account. These aspects are particualarly consistent with the conceptural framework for economic sustainability that promotses sustainable growth at the global level.

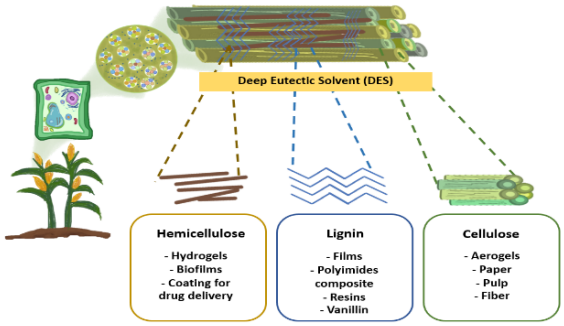
Keywords: Lignocellulose, Deep Eutectic Solvent, Pretreatment, Biorefinery, Green Solvent System

Please cite this article as: T. Phusantisampan, N. Wisuthiphaet, and N. Kitiborwornkul, "Pretreatment of lignocellulosic biomass by using deep eutectic solvent for biorefining process," *The Journal of KMUTNB*, vol. 35, no. 2, pp. 1–15, ID. 252-186974, Apr.–Jun. 2025 (in Thai).

1. บทนำ

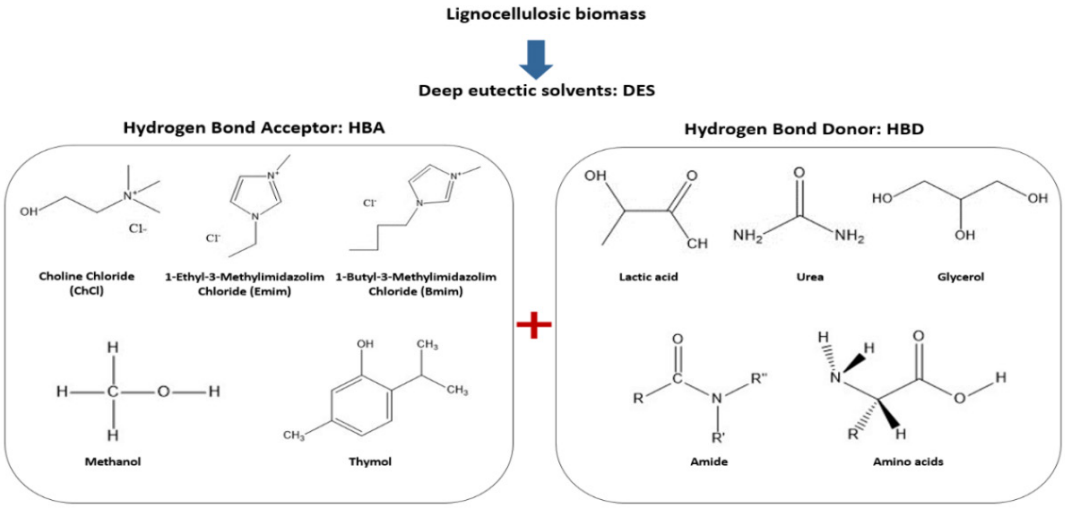
ในปัจจุบันชีวมวลลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose Biomass) ได้รับความสำคัญในด้านผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงเศรษฐกิจในระบบอุตสาหกรรม เนื่องมาจากมีความต้องการในการใช้พลังงานฟอสซิลเพื่อดำเนินกิจการต่าง ๆ ในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจนอกจากนี้หลังจากการระบาดของโรคโควิด COVID-19 (SARs-CoV-2) รวมไปถึงภาวะปัญหาทางด้านภูมิรัฐศาสตร์และสงครามระหว่างประเทศ ทำให้เกิดแนวคิดในการผลิตพลังงานทดแทนในรูปแบบต่าง ๆ เชื้อเพลิงชีวภาพจากชีวมวลมีส่วนสำคัญอย่างมาก โดยแหล่งที่มาของชีวมวล ได้แก่ เศษอาหารเหลือทิ้ง วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พืชพลังงาน (Dedicated Crops) เป็นต้น ซึ่งชีวมวลลิกโนเซลลูโลสสามารถนำไปเข้าสู่กระบวนการกลั่นทางชีวภาพ (Biorefinery) เพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพและชีวเคมี เช่น ไบโอเอทานอลและไบโอบิวทานอล [1], [2] การใช้ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเหล่านี้จะช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก เนื่องจากนำเอาวัสดุชีวภาพเหล่านี้มาผลิตเป็นพลังงานที่ช่วยปรับปรุงความมั่นคงด้านพลังงานและเศรษฐกิจอีกทั้งยังช่วยลดการกำจัดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยการเผาที่เป็นแหล่งมลภาวะทางอากาศ [3]

จากผลการสำรวจปริมาณการผลิตชีวมวลลิกโนเซลลูโลสทั่วโลกโดยประมาณพบว่า มีสูงถึง 820 ล้านตันต่อปี [4] ซึ่งแสดงถึงศักยภาพที่สำคัญในการใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตพลังงานชีวภาพและผลิตภัณฑ์มูลค่าสูงในรูปแบบต่าง ๆ เช่น พลังงานชีวภาพ สารเคมีแพลตฟอร์ม สารตั้งต้นไบโอโพลิเมอร์ สารเติมแต่งอาหาร และสารเคมีเวชภัณฑ์ เป็นต้น [5]–[7] ดังตัวอย่างในรูปที่ 1 ซึ่งการเปลี่ยนชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นผลผลิตเหล่านี้ก็สอดคล้องกับแนวความคิดของหลักโมเดลเศรษฐกิจสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน (BCG Economy) ที่ประกอบด้วย เศรษฐกิจชีวภาพ (Bioeconomy), เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) และ เศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) ซึ่งเป็นแนวทางในการนำไปสู่เป้าหมายของอุตสาหกรรมแบบยั่งยืน (Sustainable Development) [8] และเป็นไปตามข้อตกลงระดับนานาชาติโดยองค์กร United Nation (UN) นอกจากปริมาณของชีวมวลที่มีอยู่มากแล้วนั้น ชีวมวลลิกโนเซลลูโลส ยังประกอบด้วยโพลีเมอร์ของเซลลูโลส (Cellulose) 30–50 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) 20–34 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน (Lignin) 21–30 เปอร์เซ็นต์ [9], [10] ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยจับตัวกันเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสจะถูกนำไปผ่านกระบวนการหมักน้ำตาลที่ได้จากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส แต่ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสนั้นจะต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพ เนื่องจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลสมีคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพอีกทั้งโครงสร้างที่ซับซ้อน จึงไม่เหมาะสมต่อการถูกไฮโดรไลซิสหรือย่อยสลายเป็นน้ำตาลได้ การปรับสภาพชีวมวลจะทำให้คุณสมบัติเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไป เช่น เพิ่มพื้นที่ผิว กำจัดสารยับยั้งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เปลี่ยนแปลงความเป็นผลึก (Crystallinity) ของเซลลูโลส [11], [12] เป็นต้น ทำให้กระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์มีประสิทธิภาพดีขึ้น ได้ผลิตภัณฑ์คือน้ำตาลเพิ่มขึ้น โดยกระบวนการที่ผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จากชีวมวลลิกโนเซลลูโลสนี้ เรียกว่ากระบวนการกลั่นทางชีวภาพ (Biorefinery)



รูปที่ 1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจากตัวอย่างชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย DES (Deep Eutectic Solvents)

กระบวนการกลั่นทางชีวภาพของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยสามขั้นตอน ได้แก่ การปรับสภาพ (Pretreatment) การไฮโดรไลซิสเป็นน้ำตาล (Hydrolysis) และการหมัก (Fermentation) โดยต้นทุนในการปรับสภาพและเปลี่ยนแปลงชีวมวลลิกโนเซลลูโลสนั้นสูงถึง 40–60 เปอร์เซ็นต์ [1]



รูปที่ 2 ตัวอย่างสารกลุ่ม HBA (Hydrogen Bond Acceptor) และสารกลุ่ม HBD (Hydrogen Bond Donor) ที่ใช้ในสารละลาย DES (Deep eutectic solvents)

ถือว่าเป็นความท้าทายอย่างมากที่จะทำให้เกิดภาวะแข่งขันในด้านอุตสาหกรรม และหากมีการลดต้นทุนในส่วนนี้ลงได้จะช่วยให้สามารถลดต้นทุนของกระบวนการกลั่นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสได้ดียิ่งขึ้น [13]

การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสมีหลายวิธีโดยการเลือกใช้แต่ละวิธีนั้นจะต้องปรับให้เหมาะสมกับชีวมวลที่แตกต่างกัน โดยวิธีการปรับสภาพสามารถแบ่งได้เป็นการปรับสภาพทางกายภาพ (Physical Pretreatment) การปรับสภาพทางเคมี (Chemical Pretreatment) การปรับสภาพทางชีวภาพ (Biological Pretreatment) [11], [12] ซึ่งปัจจุบันเพื่อให้สอดคล้องกับหลักการ BCG economy การเลือกใช้สารเคมีเพื่อการปรับสภาพชีวมวล โดยการใช้สารเคมีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญ เช่น สารละลายไอออนิกลิควิด (Ionic Liquid; IL) สารละลายออร์แกโนโซลฟ์ (Organosolv) และสารละลายยูเทคติกแบบลึก (Deep Eutectic Solvent; DES)

สาร DES เป็นตัวทำละลายที่มักจะมีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง มีคุณสมบัติเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatible) สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradable) รีไซเคิลได้ (Recyclable) และมีประสิทธิภาพสูงสำหรับการปรับสภาพลิกโนเซลลูโลส [14] สารละลาย DES ประกอบด้วยการผสมสารอย่างน้อยสองชนิดขึ้นไป โดยสารกลุ่มแรกจะทำหน้าที่ให้โปรตรอน (Hydrogen Bond Donor; HBD) และกลุ่มที่ทำหน้าที่รับโปรตรอน (Hydrogen Bond Acceptor; HBA) โดยสารทั้งสองกลุ่มทำปฏิกิริยากันระหว่างพันธะไฮโดรเจน ทำให้คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ จุดหลอมเหลวของสาร DES ที่ได้นั้นจะต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของสารตั้งต้นทั้งสองชนิด จึงทำให้สาร DES มักจะมีสถานะของเหลวที่เหมาะแก่การนำไปใช้ในกระบวนการปรับสภาพชีวมวล [15] โดยตัวอย่างสารกลุ่ม HBA และ HBD แสดงดังรูปที่ 2 นอกจากนี้สารละลาย DES ยังทำให้โครงสร้างการจัดเรียงพันธะเคมีภายในของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่จับกันอย่างแข็งแรง เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธะไฮโดรเจน พันธะไกลโคซิดิก และพันธะอีเทอร์ ทำให้มีการดึงเอาลิกนินออกจากลิกโนเซลลูโลส [16] ถึงแม้ว่า DES จะกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ยังคงมีปัญหาบางอย่างที่เป็นอุปสรรคในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม ตัวอย่างเช่น การสกัดแยกลิกนินโดยสาร DES อาจทำให้เกิดผลกระทบจากการย่อยสลายของโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสอย่างรุนแรงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำตาล ดังนั้น

การใช้งาน DES จึงยังมีการใช้งานที่จำกัด และยังมีปัญหาอีกประการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการปรับสภาพ DES คือสาร DES บางชนิดมีความหนืดที่สูงจึงทำให้การใช้งานมีความยากในการทำปฏิกิริยา เช่นการผสมให้เข้ากันระหว่างสารละลายDES กับตัวอย่างชีวมวลที่นำมาปรับสภาพ [17]

2. สารละลายดีพยูเทคติกและการประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ (DES and its Application)

สารละลาย DES ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในเรื่องของการเป็น "ตัวทำละลายสีเขียว" เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำ ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพสูง การเตรียมที่ไม่ยุ่งยาก สามารถออกแบบคุณสมบัติได้โดยการเลือกชนิดสารตั้งต้นและอัตรา

ส่วนผสมที่เหมาะสมเป็นผลให้ DES ได้รับความสนใจในการวิจัยด้านอาหาร เครื่องสำอาง ยา และการแปรรูปชีวมวล อีกทั้ง DES มีคุณสมบัติบางอย่างคล้ายกับไอออนิกลิควิด เช่น ไม่ติดไฟ ไม่ระเหย รีไซเคิลได้ และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีค่าความดันไอต่ำ จุดหลอมเหลวต่ำ ความเสถียรทางความร้อน และความเสถียรของสาร แต่ในทางกลับกันสาร DES นั้นแตกต่างจากไอออนิกลิควิด เนื่องจากสามารถละลายลิกนินได้สูงเมื่อเทียบกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้ยังมีข้อดีอื่น ๆ ได้แก่ มีต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับสารไอออนิกลิควิด มีความเป็นพิษน้อย ย่อยสลายได้ดี อีกทั้ง DES นั้นมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพได้มากกว่าและให้ผลผลิตได้มากกว่าเมื่อเทียบกับสารไอออนิกลิควิด [18]

สารละลาย DES สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภท ตามลักษณะของส่วนประกอบที่ใช้ โดยประเภทที่ 1 และ 2 เตรียมโดยการผสมของเกลือแอมโมเนียม (เช่น โคลีนคลอไรด์ ChCl) กับโลหะคลอไรด์ (เช่น ซิงค์คลอไรด์ $ZnCl_2$) หรือโลหะคลอไรด์ไฮเดรต (เช่น เฟอริกคลอไรด์เฮกซะไฮด์เดรต $FeCl_36H_2O$) ตามลำดับ ประเภทที่ 3 จะประกอบด้วย ChCl เป็น HBA และเอไมด์ กรดคาร์บอกซิลิก หรือแอลกอฮอล์เป็น HBD ประเภทที่ 4 จะประกอบด้วยโลหะคลอไรด์ไฮเดรต เป็น HBA และ HBD เช่น เอไมด์ (Amide) และ โพลิออลล์ (Polyols) และประเภทที่ 5 ประกอบด้วยส่วนประกอบที่ไม่ใช่ไอออนิก โดยเฉพาะ HBA และ HBD [17] โดยองค์ประกอบและอัตราส่วนของ HBA/HBD มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานอย่างมาก เช่น จากการศึกษาของ Yao และคณะ [19] มีการทดลอง DES ที่มีอัตราส่วนของ HBA/HBD แตกต่างกัน 6 อัตราส่วน (ได้แก่ 1:1 1:2 1:3 1:4 1:5 และ 1:6) โดยใช้ ChCl เป็นตัว HBA และใช้ 1,3-butanediol เป็นตัว HBD ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) จากตัวอย่าง *Pyrola incarnata* Fisch โดยผลการทดลองพบว่า มีการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ เฮพาลิน (Heparin) เพิ่มขึ้น จาก 1.19 มิลลิกรัมต่อกรัม เป็น 1.52 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อใช้สาร DES ในอัตราส่วนของ HBA/HBD ที่ 1:1 ถึง 1:5 และผลผลิตเฮพาลินมีค่าลดลงเหลือ 1.39 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่อัตราส่วน HBA/HBD 1:6 การเพิ่มขึ้นของผลผลิตโดยใช้อัตราส่วนโมลาร์ของ HBD ที่สูงขึ้นอาจเป็นผลมาจากการลดลงของความหนืด ดังนั้น สาร DES จึงช่วยเพิ่มปริมาณสารที่สกัดได้ [19]

ในปัจจุบันสาร DES นั้นถูกนำไปใช้งานในวัตถุประสงค์ต่างๆ เช่น สารนำไฟฟ้า สารสื่อนำความร้อน สารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยา ตัวเร่งปฏิกิริยาและใช้เป็นตัวทำละลายในการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลส โดยฟังก์ชันของรูปแบบการทำงานรวมถึงกลไกของสาร DES จะแตกต่างกันในการประยุกต์ใช้กับการปรับสภาพชีวมวลที่แตกต่างกัน เช่น การปรับสภาพร่วมกับน้ำร้อน จะเหมาะสำหรับชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินต่ำ [20] การปรับสภาพด้วยกรดหรือด่างเหมาะกับชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินสูง (Rezaniaet และคณะ [x]) การปรับสภาพด้วยสารละลายไอออนิกลิควิด ตัวทำละลายดีพยูเทคติก และออร์แกโนโซลฟ์ เหมาะสำหรับชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินสูง

3. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับสภาพด้วยสารละลายดีพยูเทคติก

ในการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลาย ประสิทธิภาพของการปรับสภาพ DES จะขึ้นอยู่กับพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น อัตราส่วนของ HBA และ HBD อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว อุณหภูมิ รวมไปถึง ระยะเวลา

ที่ใช้ในการทดลอง เป็นต้น โดยการค้นหาสภาวะที่เหมาะสม สามารถทำการออกแบบการทดลองด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น One Factor At A Time (OFAT) หรือการใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง Response Surface Methodology (RSM) [21], [22], [23]

3.1 อัตราส่วนของ HBA และ HBD

จากการศึกษา Jablonský และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาผลของอัตราส่วนโมลาร์ของ HBA และ HBD โดยทำการทดสอบอัตราส่วนโมลาร์ของ โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl: LA) ที่เพิ่มขึ้นจาก 1:2 เป็น 1:9 พบว่า มีความสามารถในการสกัดแยกของแข็งจากชีวมวลลิกโนเซลลูโลสลดลง (Solid Recovery) และมีการกำจัดลิกนิน (Lignin Removal) เพิ่มขึ้นจาก 33 เป็น 76 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ผลผลิตกลูโคสที่ได้รับจากตัวอย่างฟางข้าวที่ถูกปรับสภาพแล้วเพิ่มขึ้น 36–40.5 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาวะการปรับสภาพด้วยสาร DES ที่ใช้อัตราการบรรจุชีวมวลที่ 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่สภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยผลกระทบของอัตราส่วนโมลาร์ของ HBA และ HBD ก็ได้รับการวิจัยในแนวทางเช่นเดียวกัน เช่นการผสมสาร DES จากโคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก โดยทำการทดสอบกับชีวมวลที่แตกต่างกัน ได้แก่ ซังข้าวโพด ฟางข้าวสาลี ทะลายปาล์มเปล่า ไผ่โมโซ เป็นต้น โดยพบว่า อัตราการกำจัดลิกนินออกจากชีวมวลเพิ่มขึ้น เมื่อใช้อัตราส่วนโมลาร์ของ โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติกจาก 1:1 เป็น 1:15 [24] นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้ดีขึ้นและได้ผลผลิตน้ำตารีดิวซ์ในขั้นตอนสุดท้ายเพิ่มขึ้น ดังนั้นอัตราส่วนโมลาร์ของ HBA และ HBD จึงมีอิทธิพลอย่างมากต่อประสิทธิภาพการแยกส่วนของชีวมวลและเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับสภาพ

3.2 อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว (Solid Loading Ratio)

เมื่อกระบวนการปรับสภาพชีวมวลได้ทำการบรรจุมวลชีวภาพต่อปริมาตรสาร DES ที่ต่ำ ทำให้ปริมาตรของตัวทำละลาย DES ที่ทำปฏิกิริยามีอัตราส่วนพื้นที่ผิวรวมของอนุภาคชีวมวลที่สัมผัสกับสาร DES ที่สูง ดังนั้นความถี่ของการชนและอันตรกิริยาระหว่างอนุภาคชีวมวลและตัวทำละลาย DES จึงสูงขึ้นตามไปด้วย และในทางกลับกัน เมื่อใช้อัตราการบรรจุชีวมวลที่สูงขึ้น จะส่งผลให้ความหนืดของส่วนผสมนั้นเพิ่มขึ้นไปด้วย เมื่อเทียบกับการโหลดมวลชีวภาพที่ต่ำกว่า ซึ่งส่งผลให้การกระจายตัวของอนุภาคในสารละลาย DES ลดลง และทำให้ประสิทธิภาพของการปรับสภาพชีวมวลลดลง

จากการศึกษาของ Krishania และคณะ [25] ทำการโหลดมวลชีวภาพที่อัตราส่วนแตกต่างกันตั้งแต่ 3–20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก พบว่า ผลผลิตน้ำตาลสูงสุดได้รับจากการใช้อัตราการบรรจุชีวมวลที่ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก และมีการศึกษาผลของการเติมน้ำในสาร DES ต่อความสามารถในการละลายลิกนินพบว่า ความหนืดของ DES ที่อุณหภูมิต่าง ๆ และอัตราส่วนระหว่าง DES และน้ำ เมื่อความเข้มข้นของ DES เพิ่มขึ้น ความหนืดก็เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 30 องศาเซลเซียส เช่นสารละลาย DES ที่มีอัตราส่วนของน้ำที่ 50 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าความหนืดได้เท่ากับ 21 cSt และในส่วนของ DES 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความหนืดที่ 127 cSt แต่เมื่อวัดค่าความหนืดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความหนืดที่วัดได้จะต่ำกว่ามาก คือ 0.78 cSt สำหรับสารละลาย DES 50 เปอร์เซ็นต์ และ 11 cSt สำหรับสารละลาย DES 100 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าเมื่อทำการผสมน้ำในสาร DES ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ทำให้ความสามารถในการละลายลิกนินเพิ่มขึ้น 22 เปอร์เซ็นต์

3.3 อุณหภูมิ และเวลา

อุณหภูมิที่ใช้ในการปรับสภาพด้วยสารละลาย DES มีความสำคัญในด้านของประสิทธิภาพที่จะช่วยในการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น และส่วนใหญ่ในการปรับสภาพ DES อุณหภูมิที่ใช้จะเริ่มต้นตั้งแต่ 60–200 องศาเซลเซียส จากการศึกษาของ Gundupalli และคณะ [26] มีการศึกษาการปรับสภาพด้วยน้ำร้อน (Hot Water Treatment; HW) และ DES ผลการทดลองพบว่ามีปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้น 1.5 1.4 และ 1.3 เท่า เมื่อทำการปรับสภาพด้วยน้ำร้อนและสารละลายโคลีนคลอไรด์ผสมกับกรดแลคติก (HW-ChCl/LA), น้ำร้อนและสารละลาย

โคลีนคลอไรด์ผสมกับกลีเซอรัล (HW-ChCl/Gly) และ น้ำร้อนและสารละลายโคลีนคลอไรด์ผสมกับยูเรีย (HW-ChCl/U) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า มีการกำจัดเฮมิเซลลูโลสที่ปริมาณ 76.3 29.6 และ 46.0 เปอร์เซ็นต์ ของการปรับเปลี่ยนโครงสร้างลิกนินระหว่างการปรับสภาพด้วย HW [27] เวลาที่ใช้ในการปรับสภาพชีวมวลก็เป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลต่อการกำจัดลิกนินและรักษาคาร์โบไฮเดรตจากการถูกย่อยสลายที่อาจเกิดขึ้นเมื่อใช้สภาวะการปรับสภาพชีวมวลที่รุนแรงเกินไป

จากการศึกษาของ Saha และ Cotta [x] ได้ทดสอบการปรับสภาพชีวมวลในสภาวะอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้ข้าวบาร์เลย์เป็นตัวอย่างในการทดลอง โดยพบว่า ได้รับผลผลิตกลูโคส 42 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างข้าวบาร์เลย์ที่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อทำการปรับสภาพด้วย HW จะทำให้ได้ผลผลิตกลูโคสเพิ่มขึ้น 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับชีวมวลที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ [28] และจากการศึกษาของ Ji และคณะ ที่ได้ใช้ ChCl/LA อัตราส่วน 1:2 มาใช้ในการปรับสภาพชานอ้อยที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า ได้ผลผลิตกลูโคส 74.18 เปอร์เซ็นต์ จากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ [29] เช่นเดียวกับการทดลองในการ ปรับสภาพซังข้าวโพดด้วยสาร DES ChCl/LA อัตราส่วน 5:1 ที่สภาวะ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตกลูโคสจากชีวมวลที่ปรับสภาพแล้ว 36 เปอร์เซ็นต์ [30]

4. การพัฒนากระบวนการปรับสภาพด้วยสารละลายดีพยูเทคติค

จากแนวโน้มการประยุกต์ใช้สาร DES ในการปรับสภาพชีวมวล จึงได้มีงานวิจัยต่อยอดโดยการผสมผสานการทำงานของ DES ที่เป็นการปรับสภาพทางเคมีร่วมกับวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การปรับสภาพร่วมกับวิธีการทางกายภาพ เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา หรือเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำตาล จากการศึกษาของ Guo และคณะ [31] นำดอกกุหลาบมาปรับสภาพด้วยสารละลาย DES ควบคู่กับการใช้อัลตราโซนิก (DES/Ultrasonic) โดยทำการเปรียบเทียบกับการปรับสภาพด้วยวิธีที่ใช้เอทานอลในการปรับสภาพเพียงอย่างเดียว เพื่อทำการสกัดสารแอนโทไซยานินจากดอกกุหลาบ ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการสกัดสารแอนโทไซยานินได้รับการปรับปรุงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้สารละลาย DES ได้แก่ สารละลายโคลีนคลอไรด์/กรดแลกติก ทำให้ได้สารแอนโทไซยานินสูงถึง 8.26 มิลลิกรัมต่อกรัม นอกจากนี้อัตราการสูญเสียระหว่างการสกัดของอนุพันธุ์อะซิเลตแอนโธไซยานินนั้นยังต่ำกว่าแอนโธไซยานินตามธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญภายใต้ภาวะที่ใช้อุณหภูมิหรือสภาพแสงเดียวกันสกัด เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Zhang และคณะ ที่ได้นำตัวอย่างหญ้า *Indocalamus tessellatus* (I.tessellatus) มาปรับสภาพด้วยสารละลาย DES และเปรียบเทียบระหว่างการปรับสภาพด้วยสารละลาย DES โดยใช้อัลตราโซนิกร่วม และการปรับสภาพด้วยสารละลาย DES โดยใช้น้ำร่วมพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการใช้ DES ร่วมกับอัลตราโซนิก ได้แก่ โคลีนคลอไรด์และกรดมาโลนิกในอัตราส่วนโมลาร์ 1:4 โดยผลผลิตสารสกัดจากตัวอย่างหญ้าโดยเฉพาะกรดยูริกที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี DES ร่วมกับอัลตราโซนิก และ DES ร่วมกับน้ำ เท่ากับ 4.01 เปอร์เซ็นต์ และ 3.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อีกทั้งในการใช้ DES ร่วมกับอัลตราโซนิก ในขณะที่การสกัดแบบดั้งเดิมคือไม่มีการใช้ร่วมกับไมโครเวฟได้รับปริมาณผลผลิตโปรตีนเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ โปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี DES-microwave ยังทำให้ผลผลิตโปรตีนที่ได้นั้นมีความสามารถในการละลายน้ำที่สูงขึ้น (Soluble Protein) และพบว่า โปรตีนที่ได้มีความสามารถในการอุ้มน้ำที่ดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่ใช้ DES ร่วมกับไมโครเวฟเป็นเทคนิคที่มีแนวโน้มว่าจะได้โปรตีนบริสุทธิ์สูงขึ้นกว่าการไม่ใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วย [33] เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Xu และคณะ [34] ได้ใช้การปรับสภาพด้วย DES โดยมีการใช้ไมโครเวฟร่วมด้วยเพื่อแยกโครงสร้างองค์ประกอบหลักของลิกโนเซลลูโลสในต้นป็อปลาร์ หลังจากการปรับสภาพด้วย DES สองชนิด ได้แก่ DES/Ethylene Glycol (เอทิลีนไกลคอล) และ DES/Glycerol (กลีเซอรอล) ผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาลที่ได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญถึง 96.15 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 กระบวนการปรับสภาพและผลผลิตที่ได้รับจากกระบวนการวิธีการปรับสภาพร่วมกับสารละลายดีพยูเทคติก

ชนิดของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส	สารละลายยูเทคติกที่ใช้ในการปรับสภาพ	วิธีการปรับสภาพร่วม	อัตราส่วนสาร DES ที่ใช้ในการทดลอง	สภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพ	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
ทลายปาล์มเปล่า (Oil Palm Empty Fruit Bunch; OPEFB)	โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl-LA), โคลีนคลอไรด์/ยูเรีย (ChCl-U), โคลีนคลอไรด์/กลีเซอรัล (ChCl-G)	อัลตราโซนิค (Ultrasonic)	(ChCl-LA 1:5) (ChCl-U 1:2) (ChCl-G 1:2)	- ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที ความถี่ 53 กิโลเฮิรตซ์ 210 วัตต์ - ขั้นตอนไฮโดรไลซิส ตัวอย่าง 2 เปอร์เซ็นต์ โดยมวล OPEFB-to-cellulase (*Trichoderma viride*) 45 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง	น้ำตาลรีดิวซ์ 36.7 เปอร์เซ็นต์	[38]
เปลือกแตงโม (Watermelon Rind)	โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl-LA)	อัลตราโซนิค (Ultrasonic)	1:6	- ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที ความถี่ 40 กิโลเฮิรตซ์ 180 วัตต์ - ขั้นตอนไฮโดรไลซิสตัวอย่าง 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมวล 55 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง	กลูโคส 60.17 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลรีดิวซ์ 83.03 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตเอทานอลอยู่ระหว่าง 0.276 ถึง 0.458 กรัมต่อกรัม	[39]
ซังข้าวโพด (Corncob)	โคลีนคลอไรด์/กลีเซอรัล/กรดแลคติก (ChCl-Gly-LA)	อัลตราโซนิค (Ultrasonic)	1:1:2	- ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 180 นาที ความถี่ 20 40 และ 60 กิโลเฮิรตซ์ 300 วัตต์ - ขั้นตอนไฮโดรไลซิส ตัวอย่าง 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมวล 50 องศาเซลเซียส เวลา 24 ถึง 72 ชั่วโมง	กลูโคส 76.94 เปอร์เซ็นต์ ไซโลส 41.26 เปอร์เซ็นต์ อัตราการกำจัดลิกนิน 63.24 เปอร์เซ็นต์อัตราการกำจัดเฮมิเซลลูโลส 50.32 เปอร์เซ็นต์	[40]
ฟางข้าว (Rice Straw)	โคลีนคลอไรด์/กรดซิตริก (ChCl-CA)	คลื่นไมโครเวฟ (Microwave)	1:2	การปรับสภาพ 2 ขั้นตอน - ปรับสภาพตัวอย่าง ด้วย DES ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เวลา 180 นาที - การปรับสภาพด้วยไมโครเวฟ อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที	น้ำตาลเท่ากับ 252.36 มิลลิกรัม/กรัมมวลชีวภาพ ผลผลิตเอธานอล 214 มิลลิกรัม/กรัมมวลชีวภาพ	[41]
ยูคาลิปตัส (Eucalyptus)	โคลีนคลอไรด์/1,2-propanediol/methyl isobutyl ketone biphasic (ChCl-PG)	คลื่นไมโครเวฟ (Microwave)	1:2	3 กรัม ของตัวอย่างยูคาลิปตัสผสมกับ 12 กรัม DES และ 24 มิลลิลิตร Methyl Isobutyl Ketone (MIBK) ทำการปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 120 140 และ 160 องศาเซลเซียส เวลา 2 ถึง 25 นาที ภายใต้รังสีไมโครเวฟ 400 วัตต์	เฟอร์ฟูรัล 55.4 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 90.3 เปอร์เซ็นต์ อัตราการแยกส่วน 92.4 เปอร์เซ็นต์ ลิกนินตกค้างในตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพแล้วลดลงจาก 30.1 เป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์	[42]

ตารางที่ 1 กระบวนการปรับสภาพและผลผลิตที่ได้รับจากกระบวนการวิธีการปรับสภาพร่วมกับสารละลายดีพยูเทคติก (ต่อ)

ชนิดของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส	สารละลายยูเทคติกที่ใช้ในการปรับสภาพ	วิธีการปรับสภาพร่วม	อัตราส่วนสาร DES ที่ใช้ในการทดลอง	สภาวะที่ใช้ในการปรับสภาพ	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
ฟางข้าว : หญ้าเนเปียร์ : อ้อย (Rice Straw, Napier Grass, and Sugarcane Bagasse)	โคลีนคลอไรด์/ยูเรีย (ChCl-U) โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl-LA)	การปรับสภาพด้วยความร้อน (Hot Water)	1:2	10 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่าง ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที 120 รอบต่อนาที ภายใต้รังสีไมโครเวฟ 2,450 เมกะเฮิรตซ์	(HW-ChCl/LA) กลูโคสไซโลส และ ลิกนิน เท่ากับ 67.75 7.57 และ 5.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (HW-ChCl/Gly) กลูโคสไซโลส ลิกนิน 61.32 22.74 และ 12.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (HW-ChCl/U) กลูโคสไซโลสลิกนิน 59.02, 20.57 และ 11.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ	[26]
ขี้เลื่อย (Poplar Sawdust)	โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl-LA)	การปรับสภาพด้วยความร้อน (Hot water)	1:2, 1:6, 1:10	10 กรัม ของตัวอย่าง 100 กรัม DES ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 110 และ 130 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที ขั้นตอนไฮโดรเทอร์มอล อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง	ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (XOS) 53.2 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 76.7 เปอร์เซ็นต์	[43]
ไผ่ (Moso Bamboo)	โคลีนคลอไรด์/กรดแลคติก (ChCl-LA)	การปรับสภาพด้วยความร้อน (Hot water)	10:1	1 กรัม ของตัวอย่าง 20 กรัม DES ปรับสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 120 และ 140 องศาเซลเซียส เวลา 6 ชั่วโมง ขั้นตอนไฮโดรเทอร์มอล อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที	เซลลูโลส 53.7 เปอร์เซ็นต์ มีการกำจัดลิกนินเหลือเพียง 7.3 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายเหลือเพียง 1.8 เปอร์เซ็นต์	[44]

นอกจากนี้ผลผลิตของลิกนินที่แยกออกมาได้นั้นเพิ่มขึ้นเป็น 62.66 เปอร์เซ็นต์ และ 72.89 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการปรับสภาพด้วย Ethylene Glycol และ Glycerol ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการปรับสภาพที่มีปริมาณลิกนินอยู่ที่ 48.06 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าลิกนินที่ได้จากการสกัดแยกนั้นเป็นอนุภาคนาโนลิกนิน (LNPs) ที่มีขนาดเล็กอย่างสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกันเมื่อผ่านการปรับสภาพด้วย DES ที่ใช้กลีเซอรอล โดยกระบวนการปรับสภาพและผลผลิตที่ได้รับจากกระบวนการวิธีการปรับสภาพร่วมกับสารละลายยูเทคติกแสดงตัวอย่างในตารางที่ 1

ในการประยุกต์ใช้วิธีการปรับสภาพร่วมกับสารละลาย DES ต่าง ๆ นั้น หนึ่งในประเด็นที่สำคัญของกระบวนการที่นับว่าเป็นข้อได้เปรียบของสาร DES คือ ความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ เนื่องจากสาร DES เป็นตัวทำละลายสีเขียวที่มีการใช้งานในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมโยงระหว่าง HBA และ HBD นั้นเป็นพันธะชั่วคราวที่

สามารถทำลายและสร้างใหม่ได้ง่ายกว่าสาร IL [35] นอกจากนี้ การพัฒนาการปรับสภาพ DES เพื่อให้ได้กระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายลดลงและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในโรงกลั่นชีวภาพ จึงเป็นที่มาของการศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่หรือใช้ซ้ำของสาร DES ในการปรับสภาพชีวมวล อย่างไรก็ตามเมื่อนำเอาสาร DES กลับมาใช้ใหม่จะต้องมีการประเมินประสิทธิภาพของการปรับสภาพ และวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสาร DES จากการศึกษาของ Yang *et. al.*, 2013 [36] ที่ได้ปรับสภาพตัวอย่างหญ้า (Pennisetum purpureum) ด้วย DES (ChCl: Gly) ร่วมกับ ไอออนคลอไรด์ FeCl3 โดยใช้สภาวะที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง อัตราการบรรจุมวลชีวภาพ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ซึ่งผลการทดลองพบว่า สามารถสกัดแยกลิกนินจากตัวอย่างได้สูงถึง 78.88 เปอร์เซ็นต์ และเฮมิเซลลูโลส 93.63 เปอร์เซ็นต์ และแม้ว่าได้ทำการรีไซเคิลสาร DES ทั้งสิ้น 5 รอบ เซลลูโลสเกือบทั้งหมดยังถูกรักษาไว้ ไม่ถูกย่อยสลายระหว่างการปรับสภาพ ทำให้ถูกเปลี่ยนเป็นกลูแคนและน้ำตาลได้ในขั้นตอนไฮโดรไลซิสได้อย่างเต็มที่ จากงานวิจัยของ Abbott และคณะ [37] ทำการสกัดแยกส่วนมวลชีวภาพ (Fractionation) ด้วยสาร DES (โคลีนคลอไรด์/กรดออกซาลิก, ChCl/Oxalic acid) โคลีนคลอไรด์/ยูเรีย ChCl/Urea) โคลีนคลอไรด์/กลีเซอรอล ChCl/Glycerol) โคลีนคลอไรด์/กรดมาโลนิก ChCl/Malonic acid) และทำการสกัดแยกด้วยการเติมน้ำที่เป็นสารแอนติโซลเวนต์ (Anti-Solvent) และเมื่อผ่านการสกัดแยกส่วนชีวมวลแล้ว น้ำที่ยังคงอยู่ในตัวอย่างถูกกำจัดด้วยการกลั่นระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 48 มิลลิบาร์ ทำให้ได้สาร DES กลับมาใช้ซ้ำหลังจากที่ระเหยน้ำออกไป โดยพบว่า มีปริมาณสาร DES ที่นำกลับมาได้สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เมื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสาร DES ที่นำกลับมาใช้ใหม่ด้วยเทคนิค FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) พบว่า มีรูปแบบของ สเปคตรัมที่ได้คล้ายคลึงกับ DES ที่ไม่ผ่านการใช้ซ้ำ

นอกจากแนวทางการพัฒนากระบวนการด้วยการเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับสภาพชีวมวลแล้ว การคัดเลือกสาร DES ที่มีราคาเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ให้เกิดเป็นผลกำไรของกิจการสูงสุด ดังนั้นการวิเคราะห์ราคาของสารตั้งต้นที่ใช้ผลิตสาร DES แต่ละชนิดจึงมีความสำคัญเพื่อนำมาใช้เป็นปัจจัยในการพัฒนากระบวนการปรับสภาพชีวมวล จากงานวิจัยที่ทำการปรับสภาพชีวมวลด้วยสาร DES พบว่า ส่วนใหญ่สาร HBA มักจะใช้ ChCl เป็นสารตั้งต้น หรือมีการใช้สารเอทิลลาไมด์ คลอไรด์ (Ethylamine Chloride; EAC) และในส่วนของ HBD ก็มีการใช้สาร Carboxylic Acid ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดแลคติก กรดออกซาลิก หรือ โพลิออล เช่น กลีเซอรอล ซอร์บิทอล เป็นต้น โดยสารตั้งต้นแต่ละชนิดก็จะมีราคาตามท้องตลาดที่แตกต่างกันไปดังแสดงตัวอย่างในตารางที่ 2 เช่น เมื่อทำการผสมสารโคลีนคลอไรด์และกรดแลคติกที่อัตราส่วนโมลเท่ากับ 1:2 และ 1:4 ทำให้ได้ราคาเท่ากับ 144 และ 127 ดอลลาร์สหรัฐ ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นความแตกต่างของราคา 13.39 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น หรือเมื่อทำการผสมระหว่างสาร Benzalkonium chloride และ กรดแลคติกที่อัตราส่วนโมลเท่ากับ 1:2 และ 1:4 จะทำให้ได้ราคาเท่ากับ 821 และ 600 ดอลลาร์สหรัฐ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันเท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเห็นได้ชัดว่าการเลือกจับคู่ผสมสารและการกำหนดอัตราส่วนมีผลอย่างยิ่งต่อราคาต้นทุนวัตถุดิบของกระบวนการ

5. สรุป

ปัจจุบันสารละลาย DES ได้รับการยอมรับว่าเป็นตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับหลักการของโมเดลเศรษฐกิจสู่การพัฒนาที่ยั่งยืน (BCG Economy) อย่างไรก็ตาม DES ยังมีข้อบกพร่องบางประการ เช่น เสถียรภาพต่อความร้อน รวมถึงเสถียรภาพทางเคมีไฟฟ้าของ DES นอกจากนี้การดูดความชื้นจากอากาศของ DES อาจทำให้เกิดการยับยั้งหรือลดประสิทธิภาพระหว่างกระบวนการเกิดปฏิกิริยา

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีจากการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยสารละลาย DES ในระดับอุตสาหกรรมยังคงต้องได้รับการพัฒนา โดยการปรับสภาพของชีวมวล

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบราคาของสาร DES (USD/kg) เมื่อใช้ตัวอย่างสารแต่ละชนิด

สารรับอิเล็กตรอน HBA	ราคาสารต่อกิโลกรัม (USD/kg)	สารให้อิเล็กตรอน Hydrogen Bond Donor; HBD	ราคาสารต่อกิโลกรัม (USD/kg)	อัตราส่วนโมลาร์ของ HBA:HBD	ราคาของสาร DES (USD/kg)
โคลีนคลอไรด์ (Cholinechloride; ChCl)	210	กรดแลคติก	100	1:2	144
		กรดแลคติก	100	1:4	127
		กรดออกซาลิก	80	1:2	132
		กรดออกซาลิก	80	1:4	112
		กรดฟอร์มิก	202	1:2	206
		กรดฟอร์มิก	202	1:4	205
เบนซอลโคเนียมคลอไรด์ (Benzalkonium chloride; BAC)	1,392	กรดแลคติก	100	1:2	821
		กรดแลคติก	100	1:4	600
		กรดออกซาลิก	80	1:2	813
		กรดออกซาลิก	80	1:4	588
		กรดฟอร์มิก	202	1:2	1.107
		กรดฟอร์มิก	202	1:4	860

ลิกโนเซลลูโลสถือเป็นขั้นตอนแรกและสำคัญที่สุดของกระบวนการกลั่นชีวภาพเนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ส่งผลต่อต้นทุนและเวลาของการดำเนินงานของกระบวนการ และวิธีการปรับสภาพที่มีประสิทธิภาพเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้เกิดการใช้พลังงานได้อย่างคุ้มค่าและดีที่สุด

อย่างไรก็ตามผลกระทบของ DES ต่อกระบวนการปรับสภาพจะแตกต่างกันไปตามประเภทของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส รวมไปถึงองค์ประกอบขอบชีวมวล อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา เป็นต้น จึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์กลไกของปัจจัยเหล่านี้ในการปรับสภาพ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์อย่างมีประสิทธิภาพของการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลส โดยคำนึงถึงหลักการต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น 1) การทดลองในระดับห้องปฏิบัติการหรือระดับโรงงานนำร่องเพื่อนำข้อมูลมาทำการขยายขนาดในระดับอุตสาหกรรม 2) ศึกษาโครงสร้างทางเคมีและทางกายภาพของสาร DES เช่น ความหนืด จุดหลอมเหลว เพื่อใช้ในการออกแบบพารามิเตอร์ของกระบวนการปรับสภาพที่เหมาะสม 3) ศึกษาประสิทธิภาพของสาร DES ที่เป็นเป้าหมายและประสิทธิภาพในการสกัดแยกเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน และ 4) ราคาของสาร DES ที่ใช้ในกระบวนการกลั่นทางชีวภาพเมื่อเทียบกับผลผลิตที่ได้รับ เป็นต้น และเมื่อได้รับข้อมูลของการศึกษาปัจจัยเหล่านี้เป็นข้อมูลในการออกแบบกระบวนการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วย DES ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

[1] E. J. Panakkal and M. Sriariyanun, "Valorization of lignocellulosic biomass to value added products," *The Journal of KMUTNB*, vol. 33, no. 1, 2023 (in Thai).

[2] V. Phakeenuya and N. Kitiborwornkul "Recent progress in biorefining process for production of biofuels, biochemicals and biomaterials from lignocellulosic biomass," *The Journal of KMUTNB*, vol. 34, no. 4, 2024 (in Thai).

[3] T.Ruensodsai and M. Sriariyanun, "Sustainable development and progress of lignocellulose

conversion to platform chemicals," *The Journal of KMUTNB*, vol. 32, no. 4, 2022 (in Thai).

[4] V. C. Deivayanai, P. R. Yaashikaa, P. Senthil Kumar, and G. Rangasamy, "A comprehensive review on the biological conversion of lignocellulosic biomass into hydrogen: Pretreatment strategy, technology advances and perspectives," *Bioresource Technology*, vol.365, no. 9, pp. 1634–50, 2012.

[5] M. Sriariyanun, J. H. Heitz, P. Yasurin, S. Asavasanti, and P. Tantayotai, "Itaconic acid: A promising and sustainable platform chemical?," *Applied Science and Engineering Progress,* vol. 12, no. 2, pp. 75–82, 2019.

[6] P. Rachamontree, T. Douzou, K. Cheenkachorn, M. Sriariyanun, and K. Rattanaporn, "Furfural: A sustainable platform chemical and fuel," *Applied Science and Engineering Progress*, vol. 13, no. 1, pp. 3–10, 2020.

[7] E. J. Panakkal, N. Kitiborwornkul, M. Sriariyanun, J. Ratanapoompinyo, P. Yasurin, S. Asavasanti, W. Rodiahwati, and P. Tantayotai, "Production of Food Flavouring Agents by Enzymatic Reaction and Microbial Fermentation," *Applied Science and Engineering Progress*, vol. 14, no. 3, pp. 297–312, 2021.

[8] W. Noo-ngam and T. Silpcharu, "Management strategies for achieving sustainable excellence in the industrial business sector," *The Journal of KMUTNB,* vol. 31, no. 1, 2021 (in Thai).

[9] T. Phusantisampan and N. Kitiborwornkul, "Progress in Chemical Pretreatment of Lignocellulose Biomass for Applications in Biorefinery," *The Journal of KMUTNB*, vol. 32, no. 4, 2022 (in Thai).

[10] A. Thanapimmetha, S. Tiyanusorn, P. Srinophakun, and M. Saisriyoot, "Reducing sugar production from empty fruit bunches with enzyme Cellic Ctec2®," *The Journal of KMUTNB*, vol. 28, no. 2, pp. 285–290, 2018 (in Thai).

[11] D. Jose, N. Kitiborwornkul, M. Sriariyanun, and K. Keerthi, "A review on chemical pretreatment methods of lignocellulosic biomass: recent advances and progress," *Applied Science and Engineering Progress,* vol. 15, no. 4, pp. 6210, 2018.

[12] S. Areeya, E. J. Panakkal, M. Sriariyanun, T. Kangsadan, A. Tawai, S. Amornraksa, U. W. Hartley, and P. Yasurin," A review on chemical pretreatment of lignocellulosic biomass for the production of bioproducts: mechanisms, challenges and applications," *Applied Science and Engineering Progress*, vol. 16, no. 3, pp. 6767, 2023.

[13] M. Carlsson, A. Lagerkvist, and F. Morgan-Sagastume, "The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review," *Waste Management*, vol.32, no. 19, pp. 1634–1650, 2012.

[14] Y. Sheng, S. S. Lam, Y. Wu, S. Ge, J. Wu, L. Cai, Z. Huang, Q. V. Le, C. Sonne, and C. Xia, "Enzymatic conversion of pretreated lignocellulosic biomass: A review on influence of structural changes of lignin," *Bioresource Technology*, vol. 324, pp. 124631, 2021.

[15] D. Jose, A. Tawai, D. Divakaran, D. Bhattacharyya, P. Venkatachalam, P. Tantayotai, and M. Sriariyanun, "Integration of deep eutectic solvent in biorefining process of lignocellulosic biomass

valorization," *Bioresource Technology Reports*, vol. 21, pp. 101365, 2023.

[16] Z. Xia, J. Li, J. Zhang, X. Zhang, X. Zheng, and J. Zhang, "Processing and valorization of cellulose, lignin and lignocellulose using ionic liquids," *Journal of Bioresources and Bioproducts*, vol. 5, no. 2, pp. 79–95, 2020.

[17] M. D. M. Contreras-Gámez, Á. Galán-Martín, N. Seixas, A. M. D. C. Lopes, A. Silvestre, and E.Castro, "Deep eutectic solvents for improved biomass pretreatment: Current status and future prospective towards sustainable processes," *Bioresource Technology*, vol. 369, pp. 128396, 2023.

[18] X. Yin, L. Wei, X. Pan, C. Liu, J. Jiang, and K. Wang, "The pretreatment of lignocelluloses with green solvent as biorefinery preprocess: A minor review," *Frontiers of plant science*, vol. 12, 2021.

[19] X. H. Yao, D. Y. Zhang, M.H. Duan, Q. Cui , W. J. Xu, M. Luo, C. Y. Li, Y. G. Zu, and Y. J. Fu, "Preparation and determination of phenolic compounds from *Pyrola incarnata* Fisch. with a green polyols based-deep eutectic solvent" *Separation and Purification Technology*, vol. 149, pp. 116-123, 2015.

[20] D. Haldar, and M. K. Purkait, "A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements," *Chemosphere*, vol. 264, no. 2, pp. 128523, 2021.

[21] P. Khwanchai, and S. Fong-In, "Optimization of concentrated jambulan (*Syzygium cumin*) juice production process by vacuum evaporation using response surface methodology," *The Journal of KMUTNB*, vol. 33, no. 1, pp. 245–256, 2023 (in Thai).

[22] M. Lomjabok, N. Krasaechol, and S. Sai-Ut, "Effect of pepsin and hydrolysis time on antioxidative activity of collagenhydrolysate from chicken feet through response surface methodology," *The Journal of KMUTNB*, vol. 31, no. 2, 2021 (in Thai).

[23] N. Ratasukharom, B. Chomtee, C. Wongoutong, and S. Nidsunkid, "A comparison of missing Value Estimation Methods for Response Surface Design," *The Journal of KMUTNB*, vol. 32, no. 3, pp. 758–769, 2022 (in Thai).

[24] M. Jablonský, A. Škulcová, L. Kamenská, M. Vrška, and J. Šima, "Deep Eutectic Solvents: Fractionation of Wheat Straw," *BioResources*, vol.10, no.4, pp. 8039–8047, 2015.

[25] M. Krishania, V. Kumar, and R. S. Sangwan, "Integrated approach for extraction of xylose, cellulose, lignin and silica from rice straw," *Bioresource Technology Reports*, vol. 1, pp. 89–93, 2018.

[26] M. P. Gundupalli, S.T. A. Sahithi, E. P.Jayex, S. Asavasanti, P.Yasurin, Y. S. Cheng, and M. Sriariyanun, "Combined effect of hot water and deep eutectic solvent (DES) pretreatment on a lignocellulosic biomass mixture for improved saccharification efficiency," *Bioresource Technology Reports*, vol.17, pp. 100986, 2022.

[27] M. Li, S. Cao, X. Meng, M. Studer, C. E. Wyman, A. J. Ragauskas, and Y. Pu, "The effect of liquid hot water pretreatment on the chemical–structural alteration and the reduced recalcitrance in poplar," *Biotechnology for Biofuels*, vol. 237, 2017.

[28] B. C. Saha, and M. A. Cotta, "Comparison of pretreatment strategies for enzymatic saccharification and fermentation of barley straw to ethanol," *New Biotechnology*, vol. 27, no. 1, pp. 10–16, 2010.

[29] Q. Ji, X. Yu, P. Wu, A. El-Gasim. Yagoub, L. Chen, A. T. Mustapha, and C. Zhou, "Pretreatment of sugarcane bagasse with deep eutectic solvents affect the structure and morphology of lignin," *Industrial Crops and Products*, vol. 173, pp. 114108, 2021.

[30] A. K. Kumar, B.S. Parikh, E. Shah, L. Z. Liu, and M. A. Cotta, "Cellulosic ethanol production from green solvent-pretreated rice straw," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* vol. 7, pp. 14–23, 2016.

[31] J. Li, X. Guo, R. Wang, Z. Geng, J. Jia, S. Pang, Y. Du, S. Jia, and J. Cui, "Ultrasonic assisted extraction of anthocyanins from rose flower petal in DES system and enzymatic acylation," *LWT*, vol. 180, pp. 114693, 2023.

[32] Y. Zhang, L. He, Q. Li, Ju. Cheng, Y. Wang, J. Zhao, S. Yuan, Y. Chen, and R. Shi, "Optimization of ultrasonic-assisted deep eutectic solvent for the extraction of polysaccharides from *Indocalamus tessellatus* leaves and their biological studies," *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, vol. 30, pp. 100855, 2022.

[33] O. A. Olalerea and C. Y. Ganb, "Extractability of defatted wheat germ protein and their functionalities in a deep eutectic solvent (DES)-Microwave extraction approach compared to conventional processing," *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, vol. 32, pp. 101002, 2023.

[34] L. H. Xu, C. Y. Ma, C. Zhang, J. Liu, X. P. Peng, S. Q. Yao, D. Y.Min, T. Q. Yuan, and J. L. Wen, "Ultrafast fractionationof wild-type and CSE down-regulated poplars by microwave-assisted deep eutectic solvents (DES) for cellulose bioconversion enhancement and lignin nanoparticles fabrication," *Industrial Crops and Products*, vol. 176, pp. 100855, 2022.

[35] A. Satlewal, R. Agrawal, S. Bhagia, and J. Sangoro, "Natural deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass pretreatment: Recent developments, challenges and novel opportunities," *Biotechnology Advances*, vol. 36, no. 8, 2018.

[36] X. Y. Yang, C. Huang, H. J. Guo, L. Xiong, Y. Y. Li, H. R. Zhang, and X. D. Chen, "Bioconversion of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) acid hydrolysate to bacterial cellulose by Gluconacetobacter xylinus," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 115, no. 4, pp. 995–1002, 2013.

[37] A. P. Abbott, D. Boothby, G. Capper, D. L. Davies, and R. K. Rasheed, "Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, no. 29, pp. 9142–9147, 2004.

[38] K. M. Lee, J. C. Quek, W. Y. Tey, S. Lim , H. S. Kang, L. K. Quen, W. A. W. Mahmood, S. I. S. Jamaludin, K. H. Teng, and K. S. Khoo, "Biomass valorization by integrating ultrasonication and deep eutectic solvents: Delignification, cellulose digestibility and solvent reuse," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 187, pp. 108587, 2022.

[39] A. Forouhar, N. Hamdami, G. Djelveh, C. Gardarin, G. Pierre, A. V. Ursu, and P. Michaud, "The effect of ultrasound pretreatment on pectin extraction from watermelon rind using microwave-assisted extraction," *Applied Sciences*, vol. 13, no. 9, pp. 5558, 2023.

[40] Q. Ma, Q. Ji, L. Chen, Z. Zhu, S. Tu, C. E. Okonkwo, P. Out, and C. Zhou, "Multimode ultrasound and ternary deep eutectic solvent sequential pretreatments enhanced the enzymatic saccharification of corncob biomass," *Industrial Crops and Products*, vol. 188, pp. 115574, 2022.

[41] D. Sawhney, S. Vaid, R. Bangotra, S. Sharma, H. C. Dutt, N. Kapoor, R. Mahajan, and B. K. Bajaj, "Proficient bioconversion of rice straw biomass to bioethanol using a novel combinatorial pretreatment approach based on deep eutectic solvent, microwave irradiation and laccase," *Bioresource Technology*, vol. 375, pp. 128791, 2023.

[42] L. L. Sun, Z. Yue, S. C. Sun, Y. Li, X. F. Cao, and S. N. Sun, "Microwave-assisted choline chloride/1,2-propanediol/methyl isobutyl ketone biphasic system for one-pot fractionation and valorization of Eucalyptus biomass," *Bioresource Technology*, vol. 369, pp. 128392, 2023.

[43] B. Shen, S.Hou, Y. Jia, C. Yang, Y. Su, Z. Ling, C. Huang, C. Lai, and Q. Yong, "Synergistic effects of hydrothermal and deep eutectic solvent pretreatment on co-production of xylo-oligosaccharides and enzymatic hydrolysis of poplar," *Bioresource Technology*, vol. 341, pp. 125787, 2021.

[44] R. Wang, K. Wan, M. Zhou, J. Xu, and J. Jiang, "Efficient fractionation of *moso* bamboo by synergistic hydrothermal-deep eutectic solvents pretreatment," *Bioresource Technology*, vol. 328, pp. 124873, 2021.