รายงานการวิจัย

เรื่อง

การผลิตกรดไขมันระเหยง่ายจากทะลายปาล์มเปล่าเพื่อใช้ในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตและก๊าซชีวภาพ

Volatile Fatty Acid Production from Palm Empty Fruit Bunch for Production of Polyhydroxyalkanoate and Biogas

ปิยะรัตน์ บุญแสวง

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการผลิตกรดไขมันระเหยง่ายจากทะลายปาล์มเปล่าที่ผ่านการหมักแบบไร้อากาศโดยใช้การหมักแบบแห้ง โดยใช้น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในการให้ความชื้นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ ศึกษาเปรียบเทียบการใช้หัวเชื้อ 3 แหล่งคือหัวเชื้อจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศโรงงานสกัดน้ำปาล์ม มูลโค และมูลสุกร ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อน และไม่มีการปรับสภาพ พบว่า มูลสุกรที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาทีเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น ให้ปริมาณ VFA สูงที่สุด หลังจากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเดินระบบสำหรับปริมาตรการหมัก 5 ลิตร โดยวางแผนการทดลองแบบวิธีพื้นผิวตอบสนอง พบว่า ปริมาตรน้ำเสียที่ใช้หมุนเวียน 1200 มิลลิลิตร หมุนเวียนน้ำ 3.51 ครั้งต่อวัน ปริมาตรหัวเชื้อเริ่มต้น 20 เปอร์เซ็นต์ ได้น้ำหมักทะลายปาล์มที่มี VFA 7,131 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมี acetic acid, propionic acid และ butyric acid เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ 28.0, 18.4 และ 17.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่ามาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่า *Pantoea dispersa* TS_1 มีศักยภาพในการผลิต PHA จากน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า โดยสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า ได้แก่ อัตราการให้อากาศ 1.052 vvm การเติมไนโตรเจน ($(NH_4)_2SO_4$) 1.387 กรัมต่อลิตร และการเติมฟอสฟอรัส (KH_2PO_4) 3.619 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งที่ผลิตได้ 2.95 กรัมต่อลิตร ขณะที่ค่าที่เหมาะสมสำหรับการผลิต PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า ได้แก่ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.028 vvm การเติมไนโตรเจน ($(NH_4)_2SO_4$) 1.382 กรัมต่อลิตร และการเติมฟอสฟอรัส (KH_2PO_4) 3.586 กรัมต่อลิตร ซึ่ง PHA ที่ผลิตได้ 2.28 กรัมต่อลิตร และปริมาณ PHA content ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง 77.3 เปอร์เซ็นต์ โดย PHA มีองค์ประกอบมอนอเมอร์ของ HB และ HV เท่ากับ 97.3 และ 2.69 เปอร์เซ็นต์โมล ตามลำดับ จากการศึกษาการผลิต PHA จากน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้ *P. dispersa* TS_1 แบบสองขั้นตอนที่มีการเปลี่ยนอาหารใหม่ที่ชั่วโมงที่ 60 เปรียบเทียบกับแบบขั้นตอนเดียว พบว่า ผลผลิต PHA ของการเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอนมีค่ามากกว่าการเลี้ยงเชื้อแบบขั้นตอนเดียว แต่การเลี้ยงเชื้อแบบขั้นตอนเดียวใช้เวลา 60 ชั่วโมงมีอัตราการผลิต PHA 0.0392 กรัม PHA/ลิตร/ชั่วโมง มากกว่าการเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอนซึ่งใช้เวลา 132 ชั่วโมง คิดเป็นอัตราการผลิต PHA 0.0314 กรัม PHA/ลิตร/ชั่วโมง โดยการเติมทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์และ PHA ได้ 31.2 และ 66.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเพิ่มปริมาณ PHA content ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งจาก 64.3 เปอร์เซ็นต์ เป็น 81.4 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า พบว่า สามารถผลิตก๊าซชีวภาพเฉลี่ยในช่วง steady state เท่ากับ 2040, 1842 และ 1084 มิลลิลิตร มีก๊าซมีเทนเป็นองค์ประกอบอยู่ 66.2, 63.4 และ 60.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาเก็บกัก 10, 15 และ 20 วัน ตามลำดับ คิดเป็นผลผลิตมีเทนเท่ากับ 0.239, 0.248 และ 0.135 มิลลิลิตรมีเทน/กรัม COD ที่ถูกกำจัด ตามลำดับ โดยจากการศึกษาความเป็นไปได้เชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่า การผลิตกรดไขมันระเหยง่ายจากทะลายปาล์มเปล่าเพื่อนำไปเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตมีความคุ้มค่ากว่าการนำน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าไปใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ

Abstract

This research studied the production of volatile fatty acid (VFA) from palm empty fruit brunches (PEFB) under anaerobic solid fermentation. Wastewater from palm oil mill was used to provide moisture for microbial growth. Three inoculum sources; covered lagoon sludge, cow manure and swine manure with and without heat treatment were investigated. The result found that swine manure with heat treatment at 100°C 30 min gave the highest VFA production. Furthermore, the optimization of operating condition with the 5-l fermentor was studied using response surface methodology. It was found that the fermentation using the 1200 ml of wastewater circulation at 3.51 times/day and the 20% of inoculums size gave the maximum VFA of 7,131mg/l with the for thecirculation was the acetic acid, propionic acid and butyric acid content of 28.0, 18.4 and 17.7%, respectively. Afterward, the fermented broth of PEFB was used as substrate for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. The *Pantoea dispersa* TS_1, which was isolated from palm oil wastewater, had the potential of PHA production. The result showed that the fermented broth of PEFB with the addition of $(NH_4)_2SO_4$ 1.387 g/l and KH_2PO_4 3.619 g/l at the aeration rate of 1.052 vvm gave the maximum cell of 2.95 g/l. However, the fermented broth of PEFB with the addition of $(NH_4)_2SO_4$ 1.382 g/l and KH_2PO_4 3.586 g/l at the aeration rate of 1.028 vvm gave the maximum PHA of 2.28 g/l with the PHA content of 77.3%, HB of 97.3%, and HV of 2.69%mol. The two-step fermentation with the medium transfer at 60 h was compared with the one step fermentation. It found that the two step process gave the higher PHA yield than the one-step process. On the other hands, the PHA productivity of the two-step process (0.0314 g/l/h) at 132 h was lower than that of the on-step process (0.0392 g/l/h) at 60 h. The addition of nitrogen and phosphorus enhanced the cell and PHA content with the increases of 31.2 and 66.7%, respectively. PHA content with the nitrogen and phosphorus addition increased from 64.3% to 81.4%. Moreover, the fermented broth of PEFB was used as substrate for biogas production. It was found that the biogas production of 2040, 1842 and 1084 ml was produced with the methane content of 66.2, 63.4 and 60.5% at the hydraulic retention time of 10, 15 and 20 day. The methane yield was 0.239, 0.248 and 0.135 mlCH_4/g COD removed, respectively. From the economic anaylsis, the VFA production from PEFB for the sequently PHA production was more gainful than that for the biogas production.

สารบัญเรื่อง

หน้า

บทคัดย่อ (1)
สารบัญเรื่อง (3)
สารบัญตาราง (5)
สารบัญภาพ (7)
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 2
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร 3
2.1 กระบวนการย่อยสลายในสภาวะไร้อากาศ 3
2.2 การผลิตกรดไขมันระเหยง่าย 5
2.3 การผลิตก๊าซชีวภาพ 6
2.4 พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) 9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 18
3.1 ศึกษาองค์ประกอบของทะลายปาล์มเปล่าและลักษณะของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 18
3.2 การผลิตกรดไขมันระเหยง่ายจากการหมักทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ 18
3.3 การผลิต PHA จากน้ำหมักที่ได้จากการย่อยสลายทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ 21
3.4 การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำหมักที่ได้จากการย่อยสลายทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ 24
3.5 การศึกษาความเป็นไปได้เชิงเศรษฐศาสตร์ 25
บทที่ 4 ผลการวิจัย 26
4.1 ลักษณะน้ำเสียและวัสดุเศษเหลือของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 26
4.2 การผลิตกรดไขมันระเหยง่ายจากการหมักทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ 28
4.2.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นเพื่อใช้ผลิต VFA 28
4.2.2 การคัดเลือกหัวเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิต VFA 28
4.2.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหมักจากทะลายปาล์มเปล่าในถังปฏิกรณ์ไร้อากาศ โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง Response Surface Methodology (RSM) 30
4.3 การผลิต PHA จากน้ำหมักที่ได้จากการย่อยสลายทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ 36
4.3.1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่สะสม PHA ที่คัดแยกจากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 36
4.3.2 ความสามารถในการผลิต PHA จากน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า 40
4.3.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA จากน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง Response Surface Methodology (RSM) ในถังปฏิกรณ์ให้อากาศ 43
4.3.4 การผลิต PHA ในถังปฏิกรณ์ให้อากาศแบบสองขั้นตอน 51

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
4.4 การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำหมักที่ได้จากการย่อยสลายทะลายปาล์มเปล่าในสภาวะไร้อากาศ	58
4.5 การศึกษาความเป็นไปได้เชิงเศรษฐศาสตร์	62
บทที่ 5 บทสรุป	66
เอกสารอ้างอิง	68
ภาคผนวก	75

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ชนิดของ PHA ที่มีการผลิตเชิงพาณิชย์	12
ตารางที่ 2	สมบัติทางเคมีของ PHA ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมต่างๆ เปรียบเทียบกับ polypropylene (PP)	12
ตารางที่ 3	การประยุกต์ใช้ PHA ทางการแพทย์	17
ตารางที่ 4	แผนการทดลองแบบ Box–Behnken Design ในการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อ ปริมาตรการหมุนเวียนน้ำหมักและการหมุนเวียนน้ำหมักต่อการผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่า	20
ตารางที่ 5	แผนการทดลอง RSM แบบ Central composite design 3 ปัจจัย 5 ระดับ คือ ปัจจัยของไนโตรเจนฟอสฟอรัส และอัตราการให้อากาศ	23
ตารางที่ 6	ลักษณะทางกายภาพและเคมีของทะลายปาล์มเปล่า, น้ำเสียจากบ่อทิ้งรวมโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิต VFA	27
ตารางที่ 7	ผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น ปริมาตรการหมุนเวียนน้ำหมัก และความถี่ในการหมุนเวียนน้ำหมัก ต่อการผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้มูลสุกรที่ปรับสภาพด้วยความร้อน	32
ตารางที่ 8	สัมประสิทธิ์ของสมการจำลองการผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้มูลสุกรที่ปรับสภาพด้วยความร้อน	33
ตารางที่ 9	ANOVA สำหรับการออกแบบการทดลองทางสถิติของการผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้มูลสุกรที่ปรับสภาพด้วยความร้อน	34
ตารางที่ 10	ลักษณะของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าที่ได้จากการหมักแบบไร้อากาศ	36
ตารางที่ 11	ประสิทธิภาพการผลิต PHA ของการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	39
ตารางที่ 12	การทดสอบทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ผลิต PHA ที่คัดแยกได้จากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	40
ตารางที่ 13	ศักยภาพของการผลิต PHA จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	43
ตารางที่ 14	ผลของอัตราการให้อากาศ การเติมไนโตรเจน และการเติมฟอสฟอรัสต่อการผลิตเซลล์และ PHA โดย *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	44
ตารางที่ 15	สัมประสิทธิ์ของสมการจำลองปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	45
ตารางที่ 16	สัมประสิทธิ์ของสมการจำลองปริมาณ PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	46
ตารางที่ 17	ANOVA สำหรับการออกแบบการทดลองทางสถิติของปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	47

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 18	ANOVA สำหรับการออกแบบการทดลองทางสถิติของการผลิต PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	47
ตารางที่ 19	ประสิทธิภาพการผลิต PHA ของ *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าในระบบการหมักแบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอน	57
ตารางที่ 20	ประสิทธิภาพการผลิต PHBV จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	58

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต	9
ภาพที่ 2	โครงสร้างของ (a) *scl*-PHA and (b) *mcl*-PHA	10
ภาพที่ 3	ลักษณะโครงสร้างโมเลกุลของ (A) P(HB-*co*-HV) and (B) P(HB-*co*-HHx)	11
ภาพที่ 4	วิถีการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต	13
ภาพที่ 5	วิถีความสัมพันธ์ระหว่างการสังเคราะห์ PHB และ PHBV	14
ภาพที่ 6	การผลิต PHA โดยใช้สารตั้งต้นราคาถูกและการประยุกต์ใช้ PHA	16
ภาพที่ 7	ถังปฏิกรณ์ไร้อากาศขนาด 20 ลิตร	19
ภาพที่ 8	ถังปฏิกรณ์ควบคุมการให้อากาศขนาด 1 ลิตร	22
ภาพที่ 9	ถังปฏิกรณ์หมักก๊าซชีวภาพแบบกวนผสมขนาด 6.5 ลิตร	24
ภาพที่ 10	ผลของการปรับสภาพหัวเชื้อเริ่มต้นโดยการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที ต่อการผลิต VFA	29
ภาพที่ 11	ผลของชนิดของหัวเชื้อเริ่มต้นต่อการหมักทะลายปาล์มเปล่าเพื่อผลิต VFA (มีการปรับสภาพหัวเชื้อเริ่มต้นโดยการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที	30
ภาพที่ 12	การผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้มูลสุกรที่ปรับสภาพด้วยความร้อน ปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรการหมุนเวียนน้ำหมัก 1,000 มิลลิลิตร และความถี่ในการหมุนเวียนน้ำหมัก 3 ครั้งต่อวัน	31
ภาพที่ 13	กราฟพื้นผิว 3-D แสดงความสัมพันธ์ของ (a) recirculated time (T) และ % inoculum (I); (b) recirculated volume (V) และ % inoculum (I); (c) recirculated volume (V) และrecirculated time (T) ต่อการผลิต VFA จากทะลายปาล์มเปล่าโดยใช้มูลสุกรที่ปรับสภาพด้วยความร้อน	35
ภาพที่ 14	การเจริญของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากการเลี้ยงในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	38
ภาพที่ 15	ปริมาณ VFA ที่ถูกใช้ไปจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	38
ภาพที่ 16	ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	39
ภาพที่ 17	การเจริญของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากการเลี้ยงในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	41
ภาพที่ 18	ปริมาณ PHA ที่ผลิตจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	42
ภาพที่ 19	ปริมาณ HB, HV และ PHA content ของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้หลังจากการเลี้ยงในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า 72 ชั่วโมง	42
ภาพที่ 20	การเจริญและปริมาณ PHA ที่ผลิตจากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	43
ภาพที่ 21	กราฟพื้นผิว 3-D แสดงความสัมพันธ์ของ (a) nitrogen และ phosphorus, (b) aeration และ nitrogen (c) aeration และ phosphorus ต่อปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยง P. dispersa TS1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 22	กราฟพื้นผิว 3-D แสดงความสัมพันธ์ของ (d) nitrogen และ phosphorus, (e) aeration และ nitrogen (f) aeration และ phosphorus ต่อการผลิต PHA จากการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	50
ภาพที่ 23	ปริมาณ DCW, VFA และ PHA ระหว่างการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (aeration =1.0 vvm , $(NH_4)_2SO_4$ = 1.4 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 3.6 กรัม/ลิตร) ในระบบสองขั้นตอนโดยมีการนำเซลล์มาเติมในอาหารใหม่ ชั่วโมงที่ 60	53
ภาพที่ 24	ปริมาณ DCW, VFA และ PHA ระหว่างการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าโดยไม่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ และ KH_2PO_4 ในระบบสองขั้นตอนโดยมีการนำเซลล์มาเติมในอาหารใหม่ ชั่วโมงที่ 60	53
ภาพที่ 25	ปริมาณ DCW, VFA และ PHA ระหว่างการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (aeration =1.0 vvm , $(NH_4)_2SO_4$ = 1.4 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 3.6 กรัม/ลิตร) ในระบบขั้นตอนเดียวโดยไม่มีการนำเซลล์มาเติมในอาหารใหม่	54
ภาพที่ 26	ปริมาณ COD ระหว่างการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (aeration =1.0 vvm , $(NH_4)_2SO_4$ = 1.4 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 3.6 กรัม/ลิตร) เปรียบเทียบระบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอน โดยมีการทดลองที่ไม่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ และ KH_2PO_4 ในระบบสองขั้นเป็นชุดควบคุม	55
ภาพที่ 27	COD removal ระหว่างการเลี้ยง *P. dispersa* TS_1 ในน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (aeration =1.0 vvm , $(NH_4)_2SO_4$ = 1.4 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 3.6 กรัม/ลิตร) เปรียบเทียบระบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอน โดยมีการทดลองที่ไม่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ และ KH_2PO_4 ในระบบสองขั้นเป็นชุดควบคุม	55
ภาพที่ 28	pH ระหว่างการผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	59
ภาพที่ 29	ปริมาณ COD ระหว่างการผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	60
ภาพที่ 30	COD removal ระหว่างการผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	60
ภาพที่ 31	การผลิตก๊าซชีวภาพจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	61
ภาพที่ 32	ปริมาณมีเทนในก๊าซชีวภาพจากการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำหมักทะลายปาล์มเปล่า	61