



การผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอน
ของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกับสาหร่ายพวงชะโด
Hydrogen and Methane Production by Two-Stage Anaerobic Co-digestion
of Palm Oil Mill Effluent and *Ceratophyllum demersum*

นิกานต์ณภัส อูสมันบฮา
Nikannapas Usmanbaha

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Applied Chemistry

Prince of Songkla University

2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอน
ของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกับสาหร่ายพวงชะโด
Hydrogen and Methane Production by Two-Stage Anaerobic Co-digestion
of Palm Oil Mill Effluent and *Ceratophyllum demersum*

นิกานต์ณภัส อูสมันบฮา
Nikannapas Usmanbaha

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Applied Chemistry

Prince of Songkla University

2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอน
 ของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกับสาหร่ายพวงชะโด
 ผู้เขียน นางสาวนิกานต์ณภัส อูสมันบาฮา
 สาขาวิชา เคมีประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (ดร.ประวิทย์ คงจันทร์)

.....ประธานกรรมการ
 (ดร.สมรักษ์ พันธุ์ผล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
 (ดร.ประวิทย์ คงจันทร์)

.....
 (ดร.รัตนา จริยาบูรณ์)

.....กรรมการ
 (ดร.รัตนา จริยาบูรณ์)

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพงศ์ โอทอง)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพงศ์ โอทอง)

.....กรรมการ
 (ดร.ชัยสิทธิ์ นียะสม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
 ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระพล ศรีชนะ)
 คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานฉบับนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ดร.ประวิทย์ คงจันทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวนิกานต์ณภัส อุษมันบาฮา)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวนิกานต์ณภัส อุสมันบาฮา)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอน
ของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มกับสาหร่ายพวงชะโด

ผู้เขียน นางสาวนิกานต์ณภัส อุษมันบาฮา

สาขาวิชา เคมีประยุกต์

ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มสำหรับผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทน โดยการย่อยสลายร่วมกับสาหร่ายพวงชะโดด้วยกระบวนการไร้อากาศสองขั้นตอน ซึ่งมีการดำเนินงานทั้งแบบแบทช์และแบบต่อเนื่อง ในกระบวนการแบบแบทช์สองขั้นตอนที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) สำหรับขั้นตอนที่หนึ่งและที่อุณหภูมิเมโซฟิลิก (35°C) สำหรับขั้นตอนที่สอง เมื่อใช้น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มร่วมกับสาหร่ายพวงชะโดที่ความเข้มข้นรวมเริ่มต้น 10 g-VS/L_{substrate} และมีอัตราส่วนผสมโดยปริมาณของของแข็งระเหยได้ (VS Basis) ต่าง ๆ (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 และ 0:10) ผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 65.35±3.37 mL-H₂/g-VS_{added} ได้จากการหมักที่อัตราส่วนการผสมของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายพวงชะโด เท่ากับ 9:1 (VS Basis) ผลิตไฮโดรเจนดังกล่าวเพิ่มขึ้นร้อยละ 19 และร้อยละ 58 เมื่อเทียบกับการหมักเฉพาะน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายพวงชะโดตามลำดับ และน้ำหมักจากขั้นตอนที่หนึ่งที่อัตราส่วนการผสม 9:1 ให้ผลผลิตมีเทนเท่ากับ 360.7±18.0 mL-CH₄/g-VS_{added} การศึกษาการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนแบบต่อเนื่องด้วยกระบวนการไร้อากาศสองขั้นตอนในถังปฏิกรณ์กวนต่อเนื่องที่สภาวะอุณหภูมิเมโซฟิลิก (35°C) และถังปฏิกรณ์ชนิดท่อไหลที่สภาวะอุณหภูมิบรรยากาศตามลำดับ พบว่าถังปฏิกรณ์กวนต่อเนื่องที่ควบคุมระยะเวลาที่เก็บน้ำ 4 วัน โดยใช้ความเข้มข้นของสาหร่ายร้อยละ 10 (VS Basis) ของซบสเตอร์รวมให้ผลผลิตไฮโดรเจนได้ 81±1.2 mL-H₂/g-VS_{added} และถังปฏิกรณ์ชนิดท่อไหลที่ระยะเวลาที่เก็บ 30 วัน ที่มีการป้อนน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจน สามารถผลิตมีเทนได้ 424±4.6 mL-CH₄/g-VS_{added} น้ำหมักในขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนประกอบไปด้วยกลุ่มจุลินทรีย์หลักได้แก่กลุ่มแบคทีเรีย *Clostridium* sp., *Enterobacter* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียผลิตไฮโดรเจนและกลุ่มแบคทีเรีย *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียผลิตแลคติกส่งผลให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลงได้ สำหรับน้ำหมักของขั้นตอนผลิตมีเทนพบกลุ่มจุลินทรีย์อาศัย *Methanocorpusculum* sp., *Methanothrix* sp. และ *Methanoregula* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มอาศัยผลิตมีเทน กระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนในงานวิจัยนี้ให้ผลผลิตไฮโดรเจน 4.13 L-H₂/L_{substrate} และมีเทน 23.15 L-CH₄/L_{substrate} ซึ่งเป็นค่าที่เป็นไปได้สำหรับการขยายขนาดกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายไปเป็นระดับอุตสาหกรรม งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นถึงแนวทางนวัตกรรมที่เป็นไปได้สำหรับการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มร่วมกับสาหร่ายพวงชะโดอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อผลิตแก๊สเชื้อเพลิงชีวภาพ ซึ่งเป็นแก๊สผสมระหว่างไฮโดรเจนและมีเทน

Thesis Title	Hydrogen and Methane Production by Two-stage Anaerobic Co-digestion of Palm Oil Mill Effluent and <i>Ceratophyllum demersum</i>
Author	Miss Nikannapas Usmanbaha
Major Program	Applied Chemistry
Academic Year	2015

ABSTRACT

The aim of this research project was to utilize palm oil mill effluent (POME) co-digesting with *Ceratophyllum demersum* for hydrogen and methane production by using the two-stage anaerobic process in both batch and continuous mode. In batch cultivation at the initial organic concentration of 10 g-VS/L, various POME: *C. demersum* mixing ratios (VS Basis) of 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 and 0:10 were investigated under thermophilic (55°C) and mesophilic (35°C) conditions for the first stage and the second stage, respectively. Highest hydrogen production yield of 65.35 ± 3.37 mL-H₂/g-VS_{added} was obtained from POME: *C. demersum* ratio of 9:1 (VS basis), which is 19% and 58% higher than that from single fermentation of POME and *C. demersum*, respectively. Subsequent methane production yield of 360.7 ± 18.0 mL-CH₄/g-VS_{added} was achieved from hydrogenogenic effluent from POME: *C. demersum* ratio of 9:1 (VS basis). The two-stage anaerobic process for continuous hydrogen and methane production was subsequently investigated in the Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR) operated under thermophilic (55°C) conditions and Plug Flow Reactor (PFR) operated at ambient condition, respectively. Specific hydrogen yield of 81 ± 1.2 mL-H₂/g-VS_{added} using 10% of VS from *C. demersum* concentration in a mixed-substrate was obtained by operating at hydraulic retention time (HRT) of 2 days and methane yield of 424 ± 4.6 mL-CH₄/g-VS_{added} was obtained by operating PFR at a hydraulic retention time (HRT) of 30 days. Dominant hydrogen-producing bacteria in CSTR were *Clostridium* sp. and *Enterobacter* sp. Existence of *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp. and *Lactobacillus* sp. could possibly cause lowering hydrogen production. Meanwhile, PFR broth was dominated with methanogens of *Methanocorpusculum* sp., *Methanothrix* sp. and *Methanoregula* sp. Hydrogen and methane yields of 4.13 L-H₂/L_{substrate} and 23.15 L-CH₄/L_{substrate} satisfactory obtained from the continuous two-stage anaerobic process could be enable potentially for scale-up this two-stage process to the industrial scale. This research work thus demonstrated a novel and feasible approach for co-digesting POME with *C. demersum* to generate valuable gaseous biofuel, mixed hydrogen-methane gas, efficiently.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จัดทำขึ้นด้วยความความวิริยะอุตสาหะจนกระทั่งสำเร็จลุล่วงมาได้ ด้วยการสนับสนุนและให้ความเมตตาช่วยเหลือจากบุคคลหลาย ๆ ฝ่าย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.ประวิทย์ คงจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ดร.รัตนา จริยาบุรณ์ และ ผศ.ดร.สมพงศ์ โอิทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยประสิทธิ์ประสาทวิชา ให้ข้อแนะนำและคำปรึกษา เอาใจใส่ดูแลและแก้ไขข้อบกพร่องของงานจนกระทั่งสำเร็จลุล่วงได้ดี

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 57 ภายใต้แผนงานวิจัยมุ่งเป้าตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศโดยเร่งด่วน : เรื่องปาล์มน้ำมัน ซึ่งบริหารจัดการโดยศูนย์ประสานงานโครงการบริหารจัดการงานวิจัยเรื่องปาล์มน้ำมัน (ศวป.) สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์กรมหาชน)

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการค้นคว้าวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปี 2558 ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์งานวิจัยในครั้งนี้

ขอบคุณโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม บริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ จำกัด และบริษัท ปาล์มพัฒนาไปโอแก๊ส จำกัด จังหวัดปัตตานี ที่ให้ความอนุเคราะห์เอ้าปาล์ม น้ำทิ้งจากการสกัดน้ำมันปาล์ม และตะกอนจุลินทรีย์

ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้ดำเนินการและสำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ อาจารย์ บุคลากรแผนกวิชาเคมี แผนกวิชาชีววิทยา แผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ ศูนย์เครื่องมือกลางคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี และหน่วยวิจัยแปรรูปชีวมวลเพื่อพลังงานและเคมีภัณฑ์ รวมถึงบุคลากรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการวิจัยทำให้การวิจัยนี้สามารถดำเนินการแล้วเสร็จ

นิกานต์ณภัส อูสมันบาฮา

สารบัญชื้อเรื่อง

บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญชื้อเรื่อง	(8)
สารบัญชื้อตาราง	(10)
สารบัญชื้อรูปภาพ	(12)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎี สมมติฐาน	5
2.1.1 กระบวนการในการสกัดน้ำมันปาล์ม	5
2.1.2 สาหร่ายพวงชะโต	6
2.1.3 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ	7
2.1.4 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบแยกเฟสที่อุณหภูมิต่างกัน	8
2.1.5 ถึงปฏิกิริณ่อยสลายแบบไร้อากาศ	10
2.1.6 เถ้าปาล์ม	11
2.1.7 หลักการวิเคราะห์เชื้อด้วย PCR-DGGE	11
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
2.2.1 การย่อยสลายไร้อากาศพรณไม่ได้น้ำและการย่อยสลายร่วมกับซัซสเตรตชนิดต่าง ๆ	12
2.2.2 การผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	14
2.2.3 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนสำหรับการผลิตไฮโดรเจนและมีเทน	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของ POME และสาหร่ายพวงชะโต	18
3.1.1 ศึกษาสมบัติน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	18

3.1.2	ศึกษาสมบัติสาหร่ายพวงชะโด	19
3.2	ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศ	21
3.2.1	การเตรียมกล้าเชื้อสำหรับหมัก	21
3.2.2	ศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) จากการหมักร่วม	23
3.2.3	ศึกษาศักยภาพในการผลิตแก๊สมีเทน (BMP) จากน้ำทิ้งขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจน	23
3.3	การศึกษาการย่อยสลายแบบป้อนต่อเนื่องสองขั้นตอนด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR	24
3.3.1	ศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจนแบบป้อนต่อเนื่องด้วย POME และสาหร่ายพวงชะโด	25
3.3.2	ศึกษาการผลิตแก๊สมีเทนแบบป้อนต่อเนื่องด้วยน้ำทิ้งจากขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน	28
3.3.3	สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ	30
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล		
4.1	ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทางกายภาพของ POME และสาหร่ายพวงชะโด	31
4.2	ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์จากซัสเตรตที่อัตราส่วนผสมของ POME และสาหร่ายต่างกัน	32
4.2.1	ศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) จากการหมักร่วม	32
4.2.2	ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทน (BMP) จากน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน	36
4.3	การผลิตแก๊สไฮโดรเจนแบบป้อนต่อเนื่องด้วย POME และสาหร่ายพวงชะโด	40
4.4	การผลิตแก๊สมีเทนแบบป้อนต่อเนื่องด้วยน้ำทิ้งจากขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน	46
4.5	สมรรถนะกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงชะโด	50
4.6	กลุ่มจุลินทรีย์หลักในระหว่างการทำเนื้องานกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอน	54
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ		
บรรณานุกรม		59
ภาคผนวก ก		67
ภาคผนวก ข		77
ประวัติผู้เขียน		83

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนที่ผลิตได้จาก POME ด้วยถังปฏิกรณ์แบบป้อนต่อเนื่องต่างชนิด	15
ตารางที่ 3.1 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำเสียขาออกโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายฟุงชะโด	20
ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบสำหรับเตรียม BA medium ที่ปริมาตรการทำงานรวมรวม 1 L	22
ตารางที่ 3.3 การเตรียมซัสเตรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ POME กับ สาหร่าย และการใช้สารละลาย BA, โซเดียมไบคาร์บอเนต และแก้ว ปรับความเป็นบัฟเฟอร์ในระบบของถังปฏิกรณ์ CSTR ที่ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน	27
ตารางที่ 3.4 สถานะและปัจจัยที่ควบคุมของกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR	30
ตารางที่ 3.5 สารเคมี ที่ใช้ในการทดลอง	30
ตารางที่ 3.6 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	30
ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME) และสาหร่ายฟุงชะโด	32
ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์หลังการหมักร่วมแบบแบทช์ระหว่าง POME และสาหร่ายฟุงชะโดที่ความเข้มข้นซัสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L	36
ตารางที่ 4.3 ผลผลิตของมีเทนจากการหมักด้วยสารตั้งต้นต่าง ๆ ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างกัน	38
ตารางที่ 4.4 ศักยภาพผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายฟุงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ	40
ตารางที่ 4.5 สมรรถนะของระบบถังปฏิกรณ์ CSTR ผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากการย่อยสลายร่วม POME และสาหร่ายฟุงชะโด	51
ตารางที่ 4.6 สมรรถนะของระบบถังปฏิกรณ์ PFR ผลิตแก๊สมีเทนจากการย่อยสลายร่วม POME และสาหร่ายฟุงชะโด	52
ตารางที่ 4.7 ศักยภาพผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายฟุงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ	53
ตารางที่ 4.8 ผลการ blast ของแบคทีเรียที่ตัดจาก DGGE เจลของกลุ่มจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายฟุงชะโดแบบป้อนต่อเนื่อง	55
ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการทางกายภาพ และทางเคมีของ POME	77
ตารางที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการทางกายภาพ และทางเคมีของสาหร่ายฟุงชะโด	78
ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ COD, TKN, Total phenolic content และ SO_4^{2-} ของน้ำหมักขาออกที่ HRT ต่าง ๆ	79

- ตารางที่ ข.4 ข้อมูลเปอร์เซนไฮโดรเจนจากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนใน
ขั้นตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศ
ของ POME และสาหร่ายพวงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ 80
- ตารางที่ ข.5 ข้อมูลไฮโดรเจนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้น
ตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ
POME และสาหร่ายพวงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ 80
- ตารางที่ ข.6 ข้อมูลเปอร์เซนมีเทน จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของ
กระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบ
ไร้อากาศของ POME และสาหร่ายพวงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ 81
- ตารางที่ ข.7 ข้อมูลผลมีเทนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของ
กระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบ
ไร้อากาศของ POME และสาหร่ายพวงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ 81
- ตารางที่ ข.8 ข้อมูลผลรวม และผลผลิตของไฮโดรเจนและมีเทนสุดท้าย จากการศึกษาศักยภาพ
ของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทน ในกระบวนการหมักสองขั้นตอนจากการย่อยสลาย
ร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายพวงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ 82

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 2.1 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญของสาหร่ายฟุ้งชะโต ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo Microscope)	6
ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ	7
ภาพที่ 3.1 แผนผังลำดับการทดลอง	17
ภาพที่ 3.2 น้ำทิ้งที่เก็บจากท่อน้ำเสียที่ปล่อยลงสู่บ่อพักน้ำเสียจากระบบการสกัดน้ำมันปาล์ม จากบริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ จำกัด	18
ภาพที่ 3.3 สาหร่ายฟุ้งชะโตบริเวณสวนสาธารณะ เทศบาลเมือง จ.ปัตตานี	19
ภาพที่ 3.4 สาหร่ายฟุ้งชะโต (<i>Ceratophyllum demersum</i>)	20
ภาพที่ 3.5 ขวดซีรัมบรรจุเชื้อจุลินทรีย์สำหรับผลิตกรด	22
ภาพที่ 3.6 จุดติดตั้งของถังปฏิกรณ์ Chanel plug flow reactor	23
ภาพที่ 3.7 ขวดซีรัมบรรจุเชื้อจุลินทรีย์สำหรับผลิตมีเทน	24
ภาพที่ 3.8 ระบบสำหรับกระบวนการย่อยสลายขั้นตอนแรกเพื่อผลิตไฮโดรเจนด้วย ถังปฏิกรณ์ CSTR	25
ภาพที่ 3.9 ระบบถังปฏิกรณ์ CSTR สำหรับผลิตไฮโดรเจน	27
ภาพที่ 3.10 ระบบสำหรับกระบวนการย่อยสลายขั้นที่สองเพื่อผลิตมีเทนด้วยถังปฏิกรณ์ PFR	28
ภาพที่ 3.11 ระบบถังปฏิกรณ์ PFR สำหรับผลิตมีเทน	29
ภาพที่ 4.1 ปริมาณผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนรวมจากการหมักร่วมระหว่าง POME และ สาหร่ายฟุ้งชะโต แบบแบคทีเรียที่ความเข้มข้นซับสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L	34
ภาพที่ 4.2 ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโต แบบแบคทีเรียที่ความเข้มข้นซับสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L	34
ภาพที่ 4.3 ปริมาณผลผลิตมีเทนรวมจากการหมักด้วยน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจน จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ	37
ภาพที่ 4.4 ผลผลิตมีเทนจากน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ	38
ภาพที่ 4.5 ผลผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตด้วย ถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะสภาวะ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน	43
ภาพที่ 4.6 อัตราผลผลิตไฮโดรเจนและ pH ขาเข้า และขาออก จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน	44
ภาพที่ 4.7 กรดอินทรีย์จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะ (I) เริ่มต้นป้อน POME สารละลาย NaHCO_3 2.5 g/L และ ป้อน POME ที่ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน ตามลำดับ	46
ภาพที่ 4.8 ผลผลิตมีเทนด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่สภาวะการดำเนินการที่ HRT 52.5, 40 และ 30 วัน	47

ภาพที่ 4.9 อัตราผลผลิตมีเทน pH ขาเข้าและขาออก ด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่สภาวะดำเนินการ ที่ HRT 52.5, 40 และ 30 วัน	48
ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้นของแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมักด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่อุณหภูมิห้อง จากน้ำหมักขาออกของการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME กับสาหร่ายพวงชะโด	49
ภาพที่ 4.11 กรดอินทรีย์ในถัง PFR ที่ควบคุมสภาวะที่ HRT 52.5, 40 และ 30 วัน	50
ภาพที่ 4.12 โครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอน ของ POME และสาหร่ายพวงชะโดแบบป้อนต่อเนื่อง	55
ภาพที่ 4.13 ลักษณะการเกิดโฟมในถังปฏิกรณ์ PFR	56
ภาพที่ 4.14 โครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนโฟม	57

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

ประเทศไทยกำลังเผชิญกับปัญหาการขาดแคลนพลังงานเนื่องจากปริมาณสำรองปิโตรเลียมของโลกลดลงและภาวะโลกร้อน เนื่องจากการปล่อยแก๊สเรือนกระจกจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงปิโตรเลียม ดังนั้นรัฐบาลไทยได้ประกาศนโยบายเรื่องแผนการพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก ร้อยละ 25 ในอีก 10 ปี ข้างหน้า (2555-2564) เพื่อสนับสนุนการพัฒนาพลังงานทดแทนหมุนเวียนที่ยั่งยืน (Renewable energy) สำหรับทดแทนเชื้อเพลิงจากปิโตรเลียม การผลิตแก๊สชีวภาพจากของเสียอินทรีย์และ/หรือชีวมวล เป็นเป้าหมายหนึ่งที่สำคัญในแผนการพัฒนาดังกล่าว แก๊สชีวภาพซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือมีเทนประมาณร้อยละ 60-70 และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 30-40 เกิดจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ใช้ออกซิเจนไปเป็นสารรีดิวซ์และออกซิไดซ์ที่เสถียร ซึ่งได้แก่งै๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ตามลำดับ ในขณะที่กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนสามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้สูงกว่าร้อยละ 90-95 (Chan *et al.*, 2010; Zinatizadeh *et al.*, 2007) ดังนั้นการประยุกต์ใช้กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนเพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นของเสียอินทรีย์จึงถือเป็นการผลิตพลังงานทดแทนควบคู่ไปกับการจัดการคุณภาพสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจุบันมีโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรมากกว่า 200 โรงงานได้ติดตั้งระบบผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำเสียของโรงงาน จากจำนวนกลุ่มโรงงานทั้งหมดที่ได้ติดตั้งระบบผลิตแก๊สชีวภาพดังกล่าวนี้มีกลุ่มโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มอยู่ประมาณ 35 โรงงานซึ่งมีจำนวนโรงงานสูงเป็นลำดับที่ 3 รองจากกลุ่มโรงงานผลิตแบริ่งและแบริ่ง (72 โรงงาน) และกลุ่มโรงงานผลิตอาหารและเครื่องดื่ม (42 โรงงาน) (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2553)

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมหลักที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย แต่กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแบบมาตรฐานหรือแบบเปียกเป็นกระบวนการที่ใช้ไอน้ำและน้ำช่วยในการสกัดดังนั้นจึงเกิดน้ำเสียจากขั้นตอนต่าง ๆ ในกระบวนการสกัดเป็นปริมาณมาก การผลิตน้ำมันปาล์มทุก ๆ 1 ตัน จะเกิดการผลิ น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (Palm Oil Mill Effluents: POME) 2.5 ตันในประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันปาล์ม 1.35 ล้านตันในปี 2010 และเกิดการผลิของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 6 ล้านลูกบาศก์เมตร (Prasertsan *et al.*, 2009; O-Thong *et al.*, 2008) น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีลักษณะเป็นอิมัลชันสีน้ำตาลเข้มและมีปริมาณสารอินทรีย์สูง โดยความเข้มข้นประมาณ 44-103 g-COD/L และถูกจัดเป็นของเสียที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมสูงน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มซึ่งมีปริมาตรและความเข้มข้นสารอินทรีย์สูงได้ถูกจัดให้เป็นวัตถุดิบ (Feedstock) ที่มีศักยภาพสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน ถึงแม้ว่าโรงงานอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มส่วนใหญ่ได้ติดตั้งระบบบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนเพื่อบำบัดสารอินทรีย์ควบคู่กับการผลิตแก๊สชีวภาพเนื่องจากข้อกำหนดทางกฎหมาย แต่ยังมีประสพปัญหาหลักในการดำเนินการได้แก่การมีประสิทธิภาพในการบำบัดสารอินทรีย์และผลิตแก๊สชีวภาพได้ต่ำ (Chin *et al.*, 2013; Harsono *et al.*, 2013) เนื่องจากการใช้น้ำ

ทั้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเสียเพียงอย่างเดียวซึ่งเป็นระบบการย่อยสลายซบสเตรตเดี่ยว (Single substrate digestion) ขาดสารอาหารหลัก (Macronutrient) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียคือ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งส่งผลให้มีองค์ประกอบไม่เหมาะต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ นอกจากนี้แล้ว น้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มมีค่าความเป็นกรดสูงซึ่งส่งผลให้ระบบถึงปฏิกรณ์ไม่เสถียร (O-Thong *et al.*, 2008) โดย Chin *et al.* (2013) ประเมินผลผลิตได้มีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ประมาณ 15.5 L-CH₄/L-POME อย่างไรก็ตาม Angelidaki and Ellegaard (2003) ได้ประเมิน จุดคุ้มทุนทางเศรษฐศาสตร์สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพที่ผลผลิตได้มีเทนสูงกว่า 20 L-CH₄/L-substrate ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อให้ได้ผลผลิตได้มีเทนถึงจุดคุ้มทุนทางเศรษฐศาสตร์ดังกล่าว

แนวทางหลักในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยได้แก่การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศ (Anaerobic co-digestion) ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีสารอินทรีย์สองชนิดหรือมากกว่า (Co-substrates) เกิดการย่อยสลายในถังปฏิกรณ์ในเวลาเดียวกัน เทคโนโลยีการผลิตแก๊สชีวภาพจากการย่อยสลายร่วมของสารอินทรีย์จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพได้สูงกว่าการย่อยสลายแบบไร้อากาศของสารอินทรีย์เพียงชนิดเดียว เนื่องจากการย่อยสลายร่วมจะเกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Positive synergisms) ต่อจุลินทรีย์ในระบบการย่อยสลายและช่วยเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ที่สามารถถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ปรับสัดส่วนสารอาหารหลักของ เช่นอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อฟอสฟอรัส (C:P) ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ลดการเกิดสภาวะกรดเฉียบพลันภายในถังปฏิกรณ์เนื่องจากมี Buffering capacity เพิ่มขึ้น และช่วยเจือจางความเข้มข้นของสารพิษ (Toxic compounds) (Angelidaki and Ellegaard (2003); Costa *et al.*, 2012; Mata-Alvarez *et al.*, 2000) การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพโดยเทคโนโลยีการย่อยสลายร่วมเป็นเป้าหมายหนึ่งในแผนการพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือกร้อยละ 25 ในอีก 10 ปี ข้างหน้า (2555-2564)

พรรณไม้ใต้น้ำ (Submerged macrophytes) ที่สำคัญได้แก่สาหร่ายขนาดใหญ่ (Macro algae) และพืชใต้น้ำ (Submerged plants) กำลังได้รับความสนใจในฐานะชีวมวลน้ำเพื่อการผลิตพลังงานรุ่นที่ 3 ที่ให้พลังงานมากกว่าชีวมวลบกถึง 6-12 เท่า เนื่องจากส่วนประกอบภายในโครงสร้างของพรรณไม้ใต้น้ำที่ประกอบด้วยเซลลูโลสในปริมาณที่ไม่สูงเกินและมีองค์ประกอบของลิกนินต่ำหรือไม่มีเลย ทำให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่า (Vergara-Fernandez *et al.*; 2008, Koyama *et al.*, 2014) อีกทั้งอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่อยู่ในระดับต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น ๆ โดยสาหร่ายน้ำจืดจะมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจนมีค่าเท่ากับ 10.2 (Sialveet *et al.*, 2009) โดยทั่วไปแล้วในระบบการผลิตแก๊สชีวภาพ อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) ควรมีค่าระหว่าง 15-30 ถ้าหากมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนมากเกินไปจะทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย (Weiland, 2010) ดังนั้นการนำสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่บางชนิดที่ไม่ได้เป็นพืชอาหารหลักมาเป็นสับสเตรตร่วมกับน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่มีสัดส่วนธาตุอาหาร C:N สูงกว่า 30 (Mamimin *et al.*, 2012) เพื่อปรับสัดส่วนธาตุอาหาร C:N ให้เหมาะสมสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพโดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศจึงเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพ นอกจากนี้แล้ว

เนื่องจากสาหร่ายรวมถึงพืชใต้น้ำสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในพื้นที่ที่มีน้ำขัง ในแม่น้ำหรือในทะเลโดยใช้สารอาหารหลักไนโตรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และพลังงานจากดวงอาทิตย์ในการสังเคราะห์แสง (Cheewasedtham *et al.*, 2009; Koyama *et al.*, 2014) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงพรรณไม้ใต้น้ำโดยการเชื่อมต่อกับระบบผลิตแก๊สชีวภาพ เนื่องจากน้ำทิ้งที่ผ่านการย่อยสลายแบบไร้อากาศนั้นอุดมด้วยสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพรรณไม้ใต้น้ำและใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของสารละลายไปคาร์บอนเนตจากระบบดูดซึมแก๊สเพื่อทำความสะอาดแก๊สชีวภาพ

ปัญหาที่จะเกิดขึ้นในกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพโดยกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศขั้นตอนเดียวของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายน้ำจืดขนาดใหญ่ เพื่อเป้าหมายการเพิ่มผลได้มีเทนให้ถึงจุดคุ้มทุนทางเศรษฐศาสตร์ ได้แก่ปัญหาอัตราบรรทุกสารอินทรีย์เกิน (organic overloading) ทำให้มีอัตราการแตกตัวของซัสเตรตรวมต่ำซึ่งส่งผลให้เกิดการผลิตมีเทนน้อย และเกิดความไม่เสถียรภายในถังปฏิกรณ์แนวทางที่มีศักยภาพและประหยัด สำหรับการแก้ปัญหาข้างต้นคือการประยุกต์ใช้กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนที่อุณหภูมิต่างกัน (Two-stage temperature phased anaerobic digestion: TPAD) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการสร้างกรด (Acidogenesis) หรือขั้นตอนการหมัก (Fermentation) ที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (50-70 °C) สามารถผลิตแก๊สไฮโดรเจนควบคู่กับการผลิตกรดอินทรีย์จากสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรตและขั้นตอนการผลิตมีเทนจากกรดอินทรีย์ (Methanogenesis) ที่อุณหภูมิเมโซฟิลิก (25-40 °C) กระบวนการสองขั้นตอนดังกล่าว สามารถผลิตแก๊สเชื้อเพลิงชีวภาพซึ่งเป็นแก๊สผสมระหว่างแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนร้อยละ 10-30 ร้อยละ 70-90 โดยปริมาตร ตามลำดับ มีชื่อทางการค้าว่าไฮเทน (Hythane) การผสมไฮโดรเจนปนกับมีเทนช่วยทำให้การเผาไหม้ของเครื่องยนต์ดีขึ้น และลดอัตราส่วนอากาศต่อเชื้อเพลิง ส่งผลให้การเผาไหม้มีเทนมีความเสถียรมากขึ้น (Cooney *et al.*, 2007; Ge *et al.*, 2011) โดยทั่วไปกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกมีข้อดีที่เหนือกว่ากระบวนการหมักที่อุณหภูมิเมโซฟิลิก เช่น เพิ่มความสามารถในการละลายของสารประกอบอินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์สามารถแทรกเข้าไปเร่งปฏิกิริยาได้ดีขึ้น เป็นการเพิ่มอัตราการผลิตไฮโดรเจนและกรดอินทรีย์ ซึ่งช่วยลดระยะเวลาเก็บกักเก็บน้ำในถังปฏิกรณ์ให้สั้นลง (Kongjan *et al.*, 2011) นอกจากนี้แล้วปฏิบัติการหมักที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกสามารถป้อนน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันซึ่งมีอุณหภูมิสูงเข้าถังปฏิกรณ์โดยไม่ต้องพักรอให้มีอุณหภูมิลดลง ช่วยให้เกิดการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถป้องกันการเกิดแก๊สชีวภาพตามธรรมชาติในบ่อพักน้ำได้ ซึ่งสามารถช่วยลดปัญหาการปล่อยแก๊สเรือนกระจกสู่บรรยากาศได้อีกทางหนึ่ง แก๊สมีเทนเป็นแก๊สเรือนกระจกที่มีความรุนแรงกว่าแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 23 เท่า (Tilche and Galatola, 2008)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (บริษัท ปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ จำกัด อ.หนองจิก จ.ปัตตานี) มาย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศกับพรรณไม้ใต้น้ำขนาดใหญ่เพื่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้นตอนการผลิตกรดหรือการหมักที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก และผลิตแก๊สมีเทนจากสารละลายกรดที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการหมัก ในขั้นตอนการผลิตมีเทนที่สภาวะอุณหภูมิเมโซฟิลิก โดยใช้พืชใต้น้ำจืดขนาดใหญ่ชนิดสาหร่ายฟองชะโด (*Ceratophyllum demersum*) ซึ่งเป็นวัชพืชน้ำที่เจริญเติบโตเร็ว (Koyama *et al.*, 2014; Chambers *et al.*, 2014) พรรณไม้ใต้น้ำ

ดังกล่าวสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแก๊สเชื้อเพลิงชีวภาพและสารละลายไบคาร์บอเนตจากกระบวนการทำความสะอาดแก๊สเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยกระบวนการดูดซึมแก๊ส

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทน โดยกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME) และสาหร่ายพวงชะโดทั้งในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์และแบบป้อนต่อเนื่อง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยเน้นการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากซัสเตรตร่วมของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายพวงชะโด ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกซ์ (55°C) และการผลิตแก๊สมีเทนในสภาวะอุณหภูมิต่ำ ($25-30^{\circ}\text{C}$) จากน้ำหมักการผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกซ์ขนาดระดับห้องปฏิบัติการ มีศึกษาดังต่อไปนี้

1.3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของ POME และสาหร่ายพวงชะโด

1.3.2 ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์จากซัสเตรตที่อัตราส่วนผสมของ POME และสาหร่ายพวงชะโดต่างกัน

1.3.3 ศึกษาการเริ่มต้นและหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราบรรจุสารอินทรีย์ (OLR) และระยะเวลาเก็บน้ำ (HRT) ของถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจนแบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ซึ่งมีปริมาตรใช้งานประมาณ 7 ลิตร โดยการป้อนซัสเตรตร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดเข้าไปในถังปฏิกรณ์ที่มีการควบคุมอุณหภูมิคงที่เท่ากับ 55°C

1.3.4 ศึกษาการเริ่มต้นหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราบรรจุสารอินทรีย์ (OLR) และระยะเวลาเก็บน้ำ (HRT) ของถังปฏิกรณ์ผลิตมีเทน Plug flow reactor (PFR) ซึ่งมีปริมาตรใช้งานประมาณ 29 ลิตร โดยใช้ น้ำทิ้งขาออกจากถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจนเป็นซัสเตรตป้อนเข้าถังปฏิกรณ์ PFR ที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ ($28-35^{\circ}\text{C}$)

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี สมมติฐาน

เป้าหมายหลักของงานวิจัยนี้คือต้องการพัฒนาเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตแก๊สชีวภาพ ซึ่งบริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้จำกัดกำลังดำเนินการติดตั้งระบบผลิตแก๊สชีวภาพจาก POME ด้วยถังปฏิกรณ์แบบ Plug flow ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาเพื่อเพิ่มทั้งคุณภาพและปริมาณของแก๊สชีวภาพ โดยการพัฒนาระบบการย่อยสลายสองขั้นตอนแบบไร้อากาศให้มีประสิทธิภาพสูงร่วมกับการประยุกต์การเทคโนโลยีการย่อยสลายร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟงชะโต โดยการใช้ข้อดีที่เสริมกันทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Positive synergisms) ในระบบการย่อยสลายของสารอินทรีย์ต่างชนิดกันส่งผลให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีขึ้น ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตแก๊สชีวภาพสูงตามไปด้วย ในขณะที่เดียวกันกระบวนการย่อยสลายสองขั้นตอนสามารถผลิตได้ทั้งแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนร่วมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และมีแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์อีกเล็กน้อย ซึ่งเมื่อนำแก๊สที่ผลิตได้ ไปผ่านกระบวนการกำจัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีประสิทธิภาพเช่นกระบวนการดูดซึมแก๊สก็จะได้แก๊สผสมระหว่างไฮโดรเจนและมีเทนมีชื่อทางการค้าว่าแก๊สไฮเทน ซึ่งเป็นแก๊สเชื้อเพลิงคุณภาพดี

2.1.1 กระบวนการในการสกัดน้ำมันปาล์ม

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างมากในประเทศไทยที่นักลงทุนหันมาสนใจและมีการเพิ่มพื้นที่ทางการเกษตรเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีการนำปาล์มน้ำมันมาผลิตน้ำมันพืช เป็นวัตถุดิบต่าง ๆ และผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิงไบโอดีเซล โดยข้อมูลจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตรพบว่า การนำน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิงไบโอดีเซลที่มีความต้องการแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นจากที่มีการศึกษาตั้งแต่ปี 2550 - 2553 และทำให้ความต้องการของน้ำมันปาล์มมีแนวโน้มสูงขึ้นซึ่งหมายถึงปริมาณของผลกระทบจากเศษวัสดุ และน้ำเสียจากกระบวนการต่าง ๆ ภายในโรงงานอุตสาหกรรมที่สกัดเพื่อผลิตน้ำมันปาล์มมีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งของเสียที่เกิดจากการสกัดน้ำมันปาล์ม

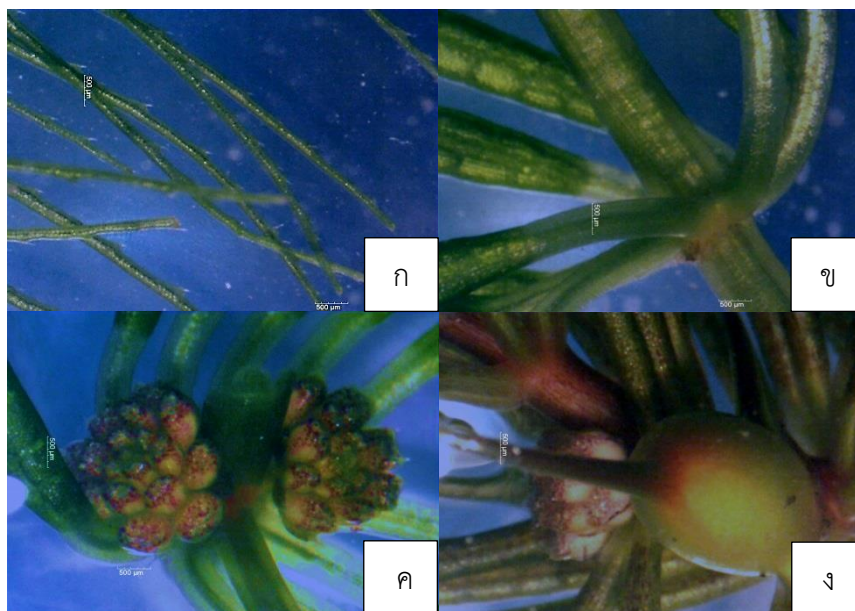
กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มโดยทั่วไปแล้วในโรงงานอุตสาหกรรมนิยมใช้กันเป็นแบบวิธีมาตรฐาน หรือแบบหีบเปียกโดยสกัดน้ำมันปาล์มจากทะลายปาล์มสด ซึ่งผลปาล์มน้ำมันจะมีสองส่วนที่ให้น้ำมันคือเนื้อที่อยู่ระหว่างเปลือกกับกะลาของผลปาล์มและอีกส่วนอยู่ในเมล็ด ขั้นตอนในการสกัดน้ำมันปาล์มแบบหีบเปียกขั้นแรกจะต้องนึ่งทะลายปาล์มสดที่ความร้อนสูงเพื่อทะลายกับผลปาล์มหลุดออกจากกันได้ง่ายขึ้น และเพื่อเป็นการหยุดการเกิดกรดอิสระของน้ำมัน จากนั้นอบและเข้าเครื่องแยกทะลายกับผลปาล์มออกจากกัน และนำผลปาล์มมาสับแยกเปลือกและเนื้อออก เพื่อนำมาหีบให้ได้น้ำมัน ส่วนเมล็ดในจะถูกนำมากะเทาะกะลาออกแล้วอบเนื้อเมล็ดในที่มีมูลค่าสามารถส่งขายเพื่อผลิตน้ำมันคุณภาพสูงต่อไป ซึ่งหลังจากกระบวนการสกัดเอาน้ำมันออกจากผลปาล์มแล้ว จะมีเศษวัสดุที่เหลือจากกระบวนการนี้ได้แก่ กะลาปาล์ม เส้นใยปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า และโดยเฉพาะกระบวนการหีบเปียกที่จะต้องใช้น้ำเป็นปริมาณมาก ซึ่งทำให้เกิดของเสียในรูปของของเหลวใน

ปริมาณที่มากมาย และจำเป็นจะต้องบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เนื่องจากน้ำเสียที่ได้จากการสกัดนี้จะมีการปนเปื้อนของน้ำมันและสารอินทรีย์ต่าง ๆ อุดมไปด้วยองค์ประกอบของธาตุอาหารและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์บางชนิดทำให้แหล่งน้ำนั้นเกิดการบลูมของแพลงตอนพืชเกิดสภาวะขาดออกซิเจนได้ จึงจำเป็นต้องมีการนำไปบำบัดและใช้พืชน้ำบางชนิดที่สามารถช่วยลดสารอินทรีย์ของน้ำเสียจากการนำไปใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโตต่อไป

2.1.2 สาหร่ายพวงชะโด

สาหร่ายพวงชะโดเป็นพืชน้ำที่พบเห็นได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั้งในบริเวณน้ำจืดและน้ำกร่อยโดย Pastare *et al.* (2015) พบว่าพืชน้ำชนิดนี้สามารถใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อมทางน้ำโดยมีความสามารถในการดูดซึมสารอาหารได้ สาหร่ายพวงชะโดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Ceratophyllum demersum* ชื่อเรียกทั่วไป Coontail หรือ Hornwort

ลักษณะสำคัญ ลำต้นเป็นสาขกลมเรียวยาว ไม่มีราก ลอยตัวเป็นอิสระอยู่ในน้ำ มีใบออกมารอบ ๆ ข้อเป็นชั้น 6-12 ใบ แตกกิ่งก้านมาก ลอยตัวเป็นกลุ่มใหญ่ บริเวณผิวน้ำ ใบมีลักษณะเป็นเส้น ขอบใบมีหนาม ปลายใบแตกเป็น 2 แฉก มีการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีดอกแยกเพศเกิดที่ซอกโคนใบ ดอกตัวผู้เห็นได้ชัด มีเกสรตัวผู้สีขาวอยู่เป็นกระจุก ไม่มีกลีบดอกและก้านดอก ดอกตัวเมียจะเห็นชัดเจนเมื่อติดผลแล้ว ผลเป็นรูปไข่ สีดำมีหนามยี่นยาว 3 อัน



ภาพที่ 2.1 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญของสาหร่ายพวงชะโด
ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo Microscope)

ก ใบที่มีหนามของสาหร่ายพวงชะโด

ข ใบที่แตกกิ่งรอบข้อ

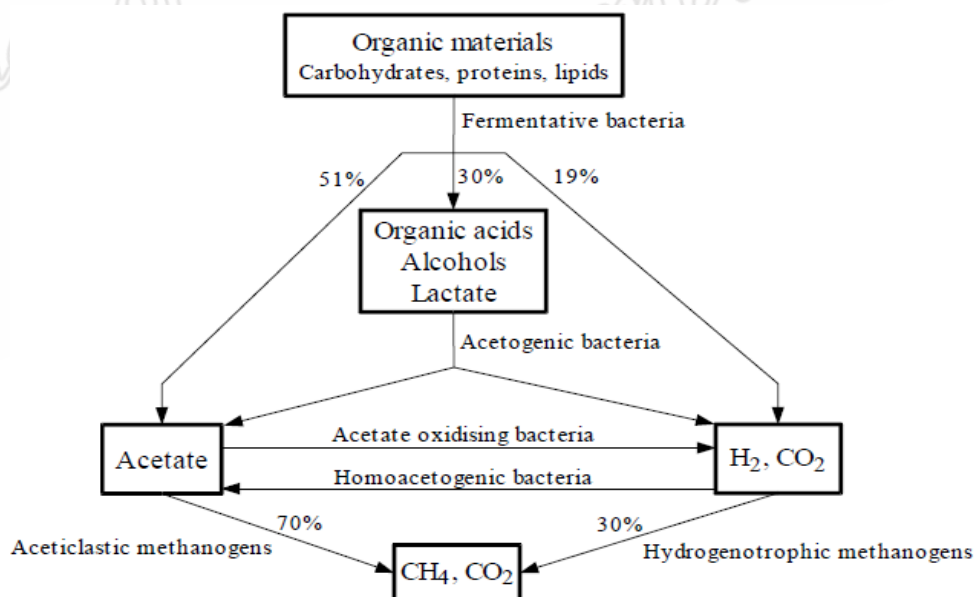
ค ดอกแยกเพศบริเวณซอกโคนใบ

ง ผลรูปไข่มีหนามยี่นสามแฉก

ความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีของสาหร่ายชนิดนี้ทำให้มีการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำธรรมชาติ จึงจำเป็นต้องมีการแก้ปัญหา นอกจากการตกเพื่อกำจัดทิ้งแล้ว ยังมีงานวิจัยต่าง ๆ ที่นำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้เป็นชีวมวลสำหรับหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพได้ (Koyama *et al.*, 2014; Pastare *et al.*, 2015) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มความเป็นไปได้สำหรับการนำสาหร่ายพวงชะโดมาใช้ในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศได้ และคุณสมบัติของสาหร่ายพวงชะโดที่มีองค์ประกอบของธาตุคาร์บอนน้อย (Lauka *et al.*, 2015) ทำให้เป็นวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้สำหรับใช้ในการหมักร่วมกับ POME ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอนสูงกว่าได้เพื่อเป็นการปรับธาตุอาหารที่จะช่วยระบบการย่อยสลายในการเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตแก๊สชีวภาพต่อไป

2.1.3 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ

กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเป็นกระบวนการที่มีการนำจุลินทรีย์ชนิดไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Microorganisms) ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยการปลดปล่อยเอนไซม์และนำสารอาหารไปใช้ภายในเซลล์ โดยกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์ของจุลินทรีย์ จะเปลี่ยนเปลี่ยนสารอินทรีย์ไปเป็นแก๊สชีวภาพที่มีปริมาณของแก๊สมีเทนสูง ซึ่งสามารถใช้เป็นในการผลิตพลังงานเชื้อเพลิง และไฟฟ้าต่อไป โดยมีกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพที่สำคัญ 4 ขั้นตอนหลักดังภาพที่ 2.2 แต่ละขั้นตอนจะอาศัยจุลินทรีย์ต่างชนิดกันในการทำงาน



ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ

ที่มา: Boe (2006)

1) ขั้นตอนไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ขั้นตอนนี้เป็นการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็กกลางเช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมันโซ่ยาวตามลำดับ ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นบริเวณภายนอกเซลล์แบคทีเรีย โดยอาศัยเอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมา เพื่อใช้ในการช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เล็กและง่ายต่อการนำมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์

2) ขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์ (Acidogenesis)

ขั้นนี้สารประกอบโมเลกุลขนาดเล็กที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มาแล้วจะถูกแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด (Acid forming bacteria) ดูดซึมเข้าไปภายในเซลล์เพื่อใช้เป็นอาหารบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานที่ใช้ภายในเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต และอีกส่วนสำคัญคือถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหยได้เช่น อะซิติก บิวทริก โพรพิโอนิก เป็นต้น จะได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ขั้นตอนนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าขั้นตอนการหมัก (Fermentation)

3) ขั้นตอนการผลิตกรดอะซิติก (Acitogenesis)

ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียกลุ่มอะซิโตจีนิค (Acetogenic bacteria) จะเป็นกลุ่มที่สามารถทำการย่อยสลายกรดไขมันระเหยได้ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมขึ้นไปเพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน

4) ขั้นตอนผลิตมีเทน (Methanogenesis)

ขั้นตอนสุดท้ายเป็นขั้นตอนที่สารอินทรีย์จะลดลงจากเริ่มต้นอย่างมากเนื่องจากสารอินทรีย์ที่ถูกเปลี่ยนรูปมาเรื่อย ๆ จากกระบวนการก่อนหน้านี้สามารถถูกนำมาใช้และเปลี่ยนรูปของสารตั้งต้นต่าง ๆ ได้แก่ กรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม Methanogens ที่มีความสามารถในการเกิดกระบวนการสร้างแก๊สมีเทนได้ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนได้

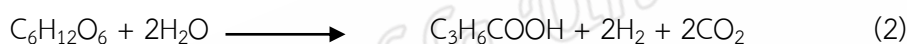
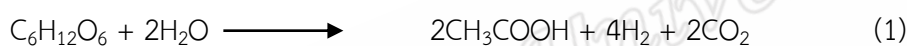
2.1.4 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบแยกเฟสที่อุณหภูมิต่างกัน (Two-stage temperature phased anaerobic digestion: TPAD)

กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบแยกเฟสของอุณหภูมิที่ต่างกัน โดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศนี้จะถูกแยกออกเป็นสองขั้นตอน ขั้นแรกเป็นการย่อยสลายเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ที่เฟสของอุณหภูมิหนึ่ง และขั้นที่สองเป็นการผลิตมีเทน โดย Pohland and Ghosh (1971) ได้มีการดำเนินการศึกษาเป็นครั้งแรก การดำเนินการสองขั้นตอนนี้สามารถแยกถึงปฏิกรณ์ได้ เนื่องจากขั้นตอนทั้งสองมีจุลินทรีย์หลักที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายแตกต่างกัน ทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญสำหรับจุลินทรีย์ต่างกัน จากการศึกษา Kongjan *et al.* (2011) พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรดจะดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่าความเป็นกรดในช่วงพีเอช 5-6 ในขณะที่กลุ่มจุลินทรีย์สร้างมีเทนจะดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่าเป็นด่างในช่วงพีเอช 7-8 และค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) ในกระบวนการหมักทั้งสองขั้นตอนนั้นแตกต่างกัน โดยที่กลุ่มจุลินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างกรดจะเจริญเติบโตเร็วกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างมีเทนอย่างมีนัยสำคัญ จากสภาวะความต้องการและลักษณะในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองขั้นตอน

มีความแตกต่างกันทำให้เหมาะสมต่อการแยกถึงปฏิกรณณ์อย่างเป็นอิสระต่อกันออกเป็นสองชุดสำหรับดำเนินการของสองขั้นตอน

1) ขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์

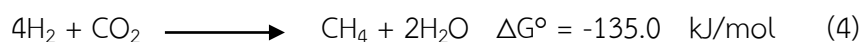
ขั้นตอนนี้ นอกจากจะเป็นขั้นตอนที่ให้ผลผลิตที่มีความเป็นกรดที่อยู่ในรูปของกรดอินทรีย์ขนาดเล็กจากกระบวนการย่อยสลายแล้วยังครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการไฮโดรไลซิส สารชีวโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ ให้มีขนาดเล็กลงอีกด้วย โดยผลผลิตที่เกิดขึ้นนอกในรูปของของเหลวแล้วยังมีผลผลิตในรูปของแก๊สอีกด้วย โดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Enterobacter*, *Bacillus* และ *Clostridium* ผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาพร้อมกับกรดอินทรีย์ โดยการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรต จากสมการที่ (1) ได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสูงสุดทางทฤษฎี 498 mL-H₂/g-Sugar ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนออกมาพร้อมกับการเกิดกรดอะซิติก ในขณะที่สมการที่ (2) เมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดบิวทิริก ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ได้เพียง 249 mL-H₂/g-Sugar



ถึงแม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักมีผลต่อผลผลิตแก๊สแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีการศึกษาโดย O-Thong *et al.* (2008) ยังมีปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการการผลิตแก๊สไฮโดรเจนอีกเช่น ธาตุอาหาร (Nutrient), ระบบบัฟเฟอร์ (Buffers), ค่าความเป็นกรดเบส (pH), ระยะเวลาการกักเก็บของของเหลว (hydraulic retention time: HRT), ความดันย่อย (partial pressure) ของแก๊สไฮโดรเจน และ อุณหภูมิ (Temperature) โดยจากการศึกษา Kengen *et al.* (2009) พบว่าการควบคุมอุณหภูมิที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี และทางชีววิทยาสูงกว่าที่สภาวะเมโซฟิลิก ซึ่งการดำเนินการที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก ยังช่วยเพิ่มการละลายของของเหลวทำให้ใช้พลังงานน้อยกว่าในการผสม (Lee *et al.*, 2009) และผลจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่เร็ว ส่งผลให้ระยะเวลาในการกักเก็บของของเหลว (HRT) สั้นลงทำให้สามารถออกแบบขนาดของถังปฏิกรณ์ลงได้ (Lu *et al.*, 2008) นอกจากนี้การเกิดสารชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากกรดอะซิติก และ บิวทิริก ที่ไม่ให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนร่วมด้วย ได้แก่ กรดแลคติก กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และ แอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ นี้เป็นผลทำให้ผลผลิตที่ได้นั้นมีข้อจำกัด และทำให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ได้จากการหมักจริงน้อยกว่าค่าทางทฤษฎี

2) ขั้นตอนการสร้างมีเทน

ขั้นตอนนี้ เป็นขั้นที่ให้ผลผลิตเป็นแก๊สมีเทนเป็นผลผลิตสุดท้าย ซึ่งขั้นนี้ยังรวมถึงขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติกด้วย โดยกลุ่มแบคทีเรีย (Homo) acetogenic bacteria เช่น *Butyribacterium methylophilicum* ซึ่งเป็นการเปลี่ยนกรดชนิดต่าง ๆ ให้อยู่ในรูปของกรดอะซิติก โดยจุลินทรีย์ผลิตแก๊สมีเทนจะใช้สารละลายกรดอะซิติก ที่ได้จากขั้นตอนการผลิตแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างกรด



จากสมการที่ (3) กรดอะซิติกจะถูกส่งต่อไปยังขั้นตอนการผลิตแก๊สมีเทน พบในจุลินทรีย์กลุ่ม Aceticlastic Methanogens ที่เปลี่ยนได้เฉพาะกรดอะซิติกให้เป็นผลผลิตแก๊สมีเทน ในขณะที่เดียวกัน แก๊สไฮโดรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ถูกเปลี่ยนไปเป็นแก๊สมีเทนได้เช่นกัน พบในกลุ่มจุลินทรีย์ Hydrogenotrophic Methanogens ซึ่งได้แก่จุลินทรีย์สายพันธุ์ *Methanobrevibacter arboriphilus* ที่สามารถเปลี่ยนได้เฉพาะแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ไปเป็นแก๊สมีเทน ดังแสดงในสมการที่ (4) โดย Stams *et al.* (2005) ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Methanosarcina* spp. นั้นสามารถเปลี่ยนได้ทั้งกรดอะซิติกและแก๊สไฮโดรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้ผลผลิตเป็นแก๊สมีเทน

ข้อได้เปรียบของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน

(1) เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้สูงขึ้น เนื่องจากทั้งสองขั้นตอนของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศถูกดำเนินการอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จึงเป็นผลให้ได้ปริมาณแก๊สเชื้อเพลิงสูงตามไปด้วย

(2) มีความเสถียรของกระบวนการสูง จึงสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ที่มีอัตราบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูงได้ สามารถย่อยสลายของเสียชีวมวลได้ในปริมาณมาก

(3) สามารถออกแบบถังปฏิกรณ์ให้มีขนาดเล็กลงได้ เป็นการลดงบประมาณในการสร้างถังปฏิกรณ์

(4) ความเข้มข้นของแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพสูงประมาณร้อยละ 65-75 ซึ่งสูงกว่าแก๊สมีเทนที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายขั้นตอนเดียวเป็นร้อยละ 50-60

(5) มีประสิทธิภาพในการใช้พลังงานสุทธิ

2.1.5 ถังปฏิกรณ์ย่อยสลายแบบไร้อากาศ

ถังปฏิกรณ์ย่อยสลายแบบไร้อากาศ (Conventional anaerobic digesters) ที่ใช้สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพได้แก่ถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์ และถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่อง (Semi-continuous or Continuous) โดยที่ถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องจะได้รับความนิยมมากกว่าเนื่องจากสามารถควบคุมอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (Maximum growth rate) ของจุลินทรีย์ให้สม่ำเสมอได้ในสภาวะการปฏิบัติการแบบคงตัว (Steady state) ด้วยวิธีการควบคุมอัตราการป้อนสารอินทรีย์เข้าถังปฏิกรณ์ ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์ไม่สามารถควบคุมได้เนื่องจากความเข้มข้นของสารอินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์จะเปลี่ยนตามเวลา (Boe, 2005) โดยทั่วไปแล้วถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์จะใช้สำหรับการศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทน (Biomethane potential: BMP) และจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับการออกแบบถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่อง (Angelidaki *et al.*, 2005)

การศึกษานี้สนใจที่จะนำถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องมาพัฒนาเป็นระบบผลิตแก๊สชีวภาพจากของเสียอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากถังปฏิกรณ์ป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องจะทำงานโดยขึ้นอยู่กับสมบัติของสารป้อนเป็นหลัก ถ้าหากสารป้อนมีลักษณะเป็นของแข็งและของแข็งแขวนลอย ถังปฏิกรณ์ที่ใช้จะเป็นชนิดถังกวนแบบต่อเนื่อง (Continuously stirred tank reactor: CSTR) ซึ่งเป็นถังปฏิกรณ์ที่มีการกวนผสมภายในถังตลอดเวลาทำให้จุลินทรีย์ได้สัมผัสกับสารอินทรีย์อย่างทั่วถึง ส่งผลให้ช่วยเพิ่มความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพ (Boe, 2005) ถังปฏิกรณ์อีกชนิดหนึ่งที่มีความนิยมและมีการติดตั้งในระดับเชิงพาณิชย์ สำหรับผลิตแก๊สชีวภาพในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มได้แก่ ถังปฏิกรณ์แบบท่อไหล (Plug flow reactor: PFR) มีลักษณะเป็นบ่อแบบราง ที่มีการไหลในแนวระดับโดยให้มีการผสมในแนวตั้งฉากกับการไหลของน้ำ ถังปฏิกรณ์ PFR สามารถควบคุมให้ Solid retention time (SRT) มีค่าสูงกว่า Hydraulic retention time (HRT) ทำให้ไม่เกิดปัญหาการหลุดออกจากระบบของจุลินทรีย์ เป็นผลให้สามารถออกแบบให้ถังปฏิกรณ์มีขนาดและสามารถรับอัตราบรรทุกสารอินทรีย์และความเข้มข้นสารอินทรีย์ได้สูง (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2553)

2.1.6 ถ้ำปาล์ม

กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ Yin *et al.*, 2008 กล่าวว่า มีขั้นตอนที่ต้องใช้ไอน้ำคือการนึ่งปาล์มและการสกัดน้ำมัน โดยใช้เส้นใยหรือทะเลาะปาล์มเปล่าเป็นเชื้อเพลิงที่อุณหภูมิประมาณ 800°C ถ้ำที่ได้จากการเผาไหม้เป็นองค์ประกอบของสารอนินทรีย์จากการศึกษาของ Lahijani *et al.* (2013) ถ้ำที่ได้เป็นสารประกอบโลหะออกไซด์ โดยสัดส่วนของโลหะออกไซด์ขึ้นอยู่กับปริมาณของเส้นใยหรือทะเลาะปาล์มเปล่าที่ใช้เนื่องจากแต่ละส่วนมีองค์ประกอบของสารอนินทรีย์ต่างกัน องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นออกไซด์ของโพแทสเซียม Madhiyanon *et al.* (2012) รายงานองค์ประกอบของถ้ำจากทะเลาะปาล์มเปล่าดังนี้ K₂O (55.48%), SiO₂ (12.12%), CaO (9.65%), P₂O₅ (3.58%), MgO (1.90%), Al₂O₃ (0.26%) และ Na₂O (0.09%) นอกจากนี้ Yin *et al.* (2008) รายงานว่าจากการวิเคราะห์ถ้ำจากทะเลาะปาล์มเปล่าพบองค์ประกอบของโลหะหนักเช่น Cd, Pb และ Ni น้อยกว่า 0.2 mg/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยไม่เป็นพิษ

สำหรับค่าความเป็นกรดต่างที่ได้จากการละลาย เมื่อนำถ้ำไปละลายน้ำได้สารละลายที่มีค่า pH มากกว่า 10 สารประกอบ K₂O และ Na₂O จะกลายเป็น KOH และ NaOH ซึ่งเป็นด่างแก่ P₂O₅ เปลี่ยนเป็น H₃PO₄CaO และ MgO ละลายน้ำได้เล็กน้อย ในขณะที่มีออกไซด์บางตัวไม่ละลายน้ำเช่น SiO₂ และ Al₂O₃ ดังนั้นจึงเป็นแนวคิดที่น่าสนใจในการนำถ้ำปาล์มเตรียมสารละลายต่างเพื่อใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์

2.1.7 หลักการวิเคราะห์เชื้อด้วย PCR-DGGE

Polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ผสม โดยขั้นตอนสำหรับการศึกษานี้ มีขั้นหลักอยู่ 3 ขั้นตอน คือการสกัด DNA การเพิ่มจำนวน DNA และการทดสอบหาโครงสร้างของเชื้อด้วยเทคนิค DGGE เริ่มต้นการวิเคราะห์ต้องดำเนินการสกัด DNA ของเชื้อที่ผสมหรือปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์เชื้อที่ผสมอยู่ในน้ำหมักผสมที่อยู่ในถังหมักหรือน้ำหมัก

ปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เซลล์ตกตะกอน ล้างด้วยน้ำกลั่นสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นสกัด DNA ออกด้วยชุดทดสอบ QIAgen จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วน DNA ด้วยเทคนิค (Polymerase Chain Reaction: PCR) ที่จำเป็นต้องใช้องค์ประกอบสำหรับการเพิ่มจำนวนดังนี้ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์, DNA polymerase ต้องเป็นเอนไซม์ชนิดทนความร้อน, ไพโรเมอร์ และ deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) 4 ชนิด โดยไพโรเมอร์ universal primer 1492r และ bacteria-specific primer 27f เป็นไพโรเมอร์จำเพาะสำหรับแบคทีเรีย ส่วนในกลุ่มของอาเคียรีจะใช้ไพโรเมอร์ Arch21f และ Arch958r (Lane, 1991) และใช้สารละลาย KCl 50 mM, Tris-HCl (pH 8.4) 20 mM และ MgCl 25 mM ในขั้นตอนการทำ PCR จะเตรียมสารสำหรับทำปฏิกิริยา โดยปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นซ้ำ ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่โดยการเกิดขึ้นในแต่ละรอบจะมีขั้นตอน 3 ขั้นตอนประกอบไปด้วยขั้นตอน ดังนี้

1. ขั้นตอนการแยกสาย DNA เกลียวคู่ออกจากกัน (Denaturation) เป็นขั้นตอนของการแยกสายของ DNA เกลียวคู่ของ DNA แม่พิมพ์ ให้เป็นสายเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 90-95 °C ที่เป็นอุณหภูมิสำหรับการสลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส

2. ขั้นตอนการจับกันของไพโรเมอร์กับ DNA แม่แบบ (Annealing) หลังจากแยกสาย DNA จากกันแล้วจึงลดอุณหภูมิลงที่ 50-55 °C เพื่อให้ DNA สังเคราะห์สายสั้น ๆ หรือเรียกว่า Primer สามารถเข้าไปจับกับ DNA แม่พิมพ์สายเดี่ยวบริเวณที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คู่สม

3. ขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA สายใหม่จากไพโรเมอร์ (Extension) เป็นขั้นตอนที่มีการสร้างสาย DNA สายใหม่ที่ต่อจาก Primer ในทิศทางจาก 5' ไป 3' ที่อุณหภูมิ 68-72 °C

เทคนิควิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้คือเทคนิค DGGE เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสามารถใช้แทนเทคนิคเดิม ๆ ได้หลักการในการดำเนินการเริ่มจากนำส่วนของสาย DNA ที่ได้ถูกแยกไปวิเคราะห์หาลำดับเบส มาจากเทคนิค DGGE คือสายของ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ซึ่งสามารถนำไปเปรียบเทียบกับสายของ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียที่ได้ทราบถึงชนิดแล้วจากฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียว่าเป็นชนิดใด ขั้นตอนของ DGGE analysis เริ่มจากการสกัด DNA ทั้งหมด และทำให้บริสุทธิ์ จากนั้นใช้ Universal primer เข้าไปจับกับสาย DNA บริเวณที่จำเพาะเจาะจงที่บริเวณส่วนของ 16S rRNA gene จากนั้นทำการแยกสาย DNA จากตัวอย่าง โดย DGGE ซึ่งสาย DNA ที่แยกได้จาก DGGE จะถูกแยกออกจาก DGGE gel เพื่อนำไปใช้หาลำดับเบส เป็นการหาความสัมพันธ์ของลำดับเบส 16S rRNA gene ที่ได้มาจากการลำดับเบส (Sequencing) และจำแนกแฉกแฉงชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบได้

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การย่อยสลายไร้อากาศพรรณไม้ได้น้ำและการย่อยสลายร่วมกับซัสเตรตชนิดต่าง ๆ

Costa *et al.* (2012) ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตมีเทนชีวภาพจากสาหร่ายขนาดใหญ่ *Ulva* spp. และ *Gracilaria* spp. ที่ย่อยสลายร่วมกับสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้ง พบว่ามีความเป็นไปได้ในการผลิตมีเทนจากสาหร่ายขนาดใหญ่ 4 สายพันธุ์ ของจีนัส *Ulva* และ *Gracilaria* จากการทดลองแบบแบดซ์ที่ควบคุมอุณหภูมิที่สภาวะเมโซฟิลิกและมีความเข้มข้นของของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 2.5 พบว่าผลผลิตมีเทนต่อหน่วยของแข็งระเหยได้ที่ได้จาก *Ulva* sp. มีค่า 196±9 L-CH₄/kg-VS ซึ่ง

สูงกว่าสาหร่ายขนาดใหญ่ชนิดอื่น ๆ โดยสาหร่ายขนาดใหญ่เหล่านั้นสามารถผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพในขั้นตอนสุดท้ายของการบำบัดน้ำเสียชุมชนเพื่อกำจัดสารอาหาร งานวิจัยนี้ยังได้ประเมินการย่อยสลายร่วมของสาหร่ายขนาดใหญ่กับสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งพบว่าการย่อยสลายร่วมระหว่างสาหร่ายร่อยละ 15 และสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งร่อยละ 85 นั้นมีความเป็นไปได้ โดยมีอัตราการผลิตของมีเทนสูงกว่าการย่อยสลายของสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งเพียงอย่างเดียวถึงร้อยละ 26

Pastare et al. (2015) ศึกษาศักยภาพการผลิตมีเทนจากสาหร่ายพวงชะโด (*Ceratophyllum demersum*) ในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ (ขวดซีรัมขนาด 100 ml และมีปริมาตรใช้งาน 60 ml) ที่สภาวะอุณหภูมิ 37°C และแปรผันอัตราส่วนผสมระหว่างสาหร่ายพวงชะโดและกล้าเชื้อที่อัตราส่วน 1:3 1:5 และ 1:10 (VS Basis) ผลการผลิตมีเทนสูงสุด 471 L-CH₄/kg-VS ได้จากถังปฏิกรณ์ที่ใช้อัตราส่วนผสมระหว่างสาหร่ายพวงชะโดและกล้าเชื้อ 1:10 (VS Basis)

Koyama et al. (2014) พืชน้ำซึ่งรวมถึงพรรณไม้ใต้น้ำได้มีการขยายพันธุ์อย่างมากและก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำจืดในหลาย ๆ ประเทศและได้มีการศึกษาการบำบัดอย่างยั่งยืน ในงานวิจัยนี้ พรรณไม้ใต้น้ำ 5 สายพันธุ์ (*Ceratophyllum demersum*, *Egeriadensa*, *Elodea nuttallii*, *Potamogeton maackianus* และ *Potamogeton malaianus*) ซึ่งมีอยู่ในทะเลสาบ Biwa ประเทศญี่ปุ่น เป็นจำนวนมากได้ถูกนำมาใช้เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายไร้อากาศเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการย่อยสลายไร้อากาศ องค์ประกอบลิกนินของพรรณไม้ใต้น้ำมีปริมาณในช่วงกว้างระหว่างร้อยละ 3.2-20.7 ของปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพรรณไม้ใต้น้ำ นอกจากนี้พบว่าปริมาณลิกนินที่พบในพรรณไม้ใต้น้ำมีการลด hydroxycinnamic acids เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 27.2-59.4 โดยลิกนินชนิดนี้สามารถแตกสลายด้วยด่างได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับไม้ใหญ่ ผลผลิตได้มีเทนผันแปรตามสายพันธุ์ของพรรณไม้ใต้น้ำในช่วง 161.2-360.8 mL-CH₄/g-VS ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนเป็นมีเทนของ *C. demersum*, *El. nuttallii*, *Eg. densa*, *P. maackianus* และ *P. malaianus* เท่ากับร้อยละ 57.1 61.4 60.6 33.9 และ 72.2 ตามลำดับ จากผลการทดลองได้บ่งชี้ว่า *C. demersum*, *El. Nuttallii*, *Eg. densa*, และ *P. malaianus* มีความเป็นไปได้ในการย่อยสลายไร้อากาศเนื่องจากให้ผลผลิตได้มีเทนสูง งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ผลผลิตมีเทนจากพรรณไม้ใต้น้ำขึ้นอยู่กับปริมาณลิกนินเช่นเดียวกับชีวมวลลิกโนเซลลูโลสทั่วไป

Koyama et al. (2015) ศึกษาผลของการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีเคมี-ความร้อนร่วมกับวิธีอัลคาไลน์ต่อความสามารถย่อยสลายของพรรณไม้ใต้น้ำสองสายพันธุ์ ซึ่งมีปริมาณลิกนินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงสุดได้มาจากการใช้ปริมาณ NaOH 0.2 g/g-TS_{substrate} 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทั้งสองสายพันธุ์ การกำจัดลิกนินด้วยวิธีอัลคาไลน์สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนในสายพันธุ์ ที่มีองค์ประกอบลิกนิน (*Potamogeton maackianus*) เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ที่มีลิกนินปริมาณต่ำ (*Egeria densa*) กรด Ferulic ซึ่งเชื่อมระหว่างลิกนินและน้ำตาลโมเลกุลใหญ่มีปริมาณลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ NaOH ดังนั้นจึงบ่งชี้ว่าสารอัลคาไลน์สามารถกำจัดสารประกอบเชิงซ้อน lignin-ferulate ออกจากพื้นผิวของน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ได้ ผลได้ของมีเทนจาก *P. maackianus* ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นเท่ากับ 243 mL-CH₄/g-VS มีค่าสูงกว่าร้อยละ 51 เทียบกับชุดที่ไม่มีการบำบัดเบื้องต้น ตรงกันข้ามกับผลได้มีเทนจาก *E. densa* ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น มี

ค่าสูงกว่าร้อยละ 24 เทียบกับชุดที่ไม่มี การบำบัดเบื้องต้น ผลการทดลองบ่งชี้ว่าการบำบัดเบื้องต้น ด้วยวิธีเคมี-ความร้อนร่วมกับวิธีอัลคาไลน์เป็นวิธีที่มีประสิทธิผลสำหรับการย่อยสลายไร้อากาศของ พรรณไม้น้ำที่มีลิกนินในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามการเติม NaOH ปริมาณสูงสามารถยับยั้งการผลิต มีเทนได้เนื่องจากการเพิ่มการละลายของลิกนินในสารที่ถูกย่อยได้

Toru and Koike (2010) ได้ทำการศึกษาการผลิตแก๊สมีเทนจากการร่วมย่อยสลายของ สาหร่ายทะเลและนมในโรงงานต้นแบบ สาหร่ายทะเลที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นสายพันธุ์ที่พบ ได้ทั่วไปที่ประเทศญี่ปุ่น ได้แก่ *Laminaria* sp. และ *Ulva* sp. โดยการนำสาหร่ายมาผสมกับนมซึ่ง เป็นซับสเตรตหลักในการหมักในอัตราส่วนและปริมาณที่แตกต่างกัน พบสามารถผลิตแก๊สมีเทนมีค่า อยู่ในช่วง 0.2-0.3 $\text{m}^3\text{-CH}_4/\text{Kg-COD}$ และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์หลังการหมักมีค่าน้อยกว่า 1200 ppm เมื่อถึงปฏิกิริยาเข้าสู่สภาวะคงตัว ผลจากการศึกษาได้แสดงถึงสภาวะการเพื่อผลิตแก๊ส ชีวภาพ ที่มีความเสถียรในการใช้สารอินทรีย์ชนิดอื่นเช่นนมเข้าย่อยสลายร่วม ซึ่งช่วยลดความ แปรปรวนของกระบวนการ ซึ่งเกิดจากย่อยสลายเฉพาะสาหร่ายทะเลได้ งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็น ศักยภาพของการใช้สาหร่ายทะเลสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ

Yen and Brune (2007) เนื่องจากสาหร่ายมีสัดส่วนระหว่าง C/N ต่ำ ซึ่งเป็นปัจจัย ข้อจำกัดหลักต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการเพิ่มส่วนของธาตุ คาร์บอนที่ได้จากของเสียกระดาษผสมกับสลัดจ์ของสาหร่ายเพื่อให้ได้สัดส่วนที่สมดุลของ C/N สำหรับการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศระหว่างสลัดจ์ของสาหร่ายและของเสียกระดาษ ที่สภาวะ อุณหภูมิ 35°C อัตราบรรทุกสารอินทรีย์ 4 g-VS/d.L และระยะเวลาพักเก็บของของเหลว 10 วัน จากผลการทดลองพบว่าการเติมของเสียกระดาษร้อยละ 50 (บนฐานสารอินทรีย์ระเหยได้ (VS)) ได้ อัตราการผลิตมีเทน 1173±75 $\text{mL-CH}_4/\text{d.L}$ ซึ่งเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่าเมื่อเทียบกับอัตราผลิตมีเทน 573±28 $\text{mL-CH}_4/\text{d.L}$ ซึ่งได้จากการย่อยสลายสาหร่ายเพียงอย่างเดียว อัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 1607±17 $\text{mL-CH}_4/\text{d.L}$ เกิดจากการใช้อัตราป้อนสารอินทรีย์ 5 g-VS/d.L โดยการเติมของเสียกระดาษ ร้อยละ 60 (VS Basis) ผสมกับของสลัดจ์ของสาหร่าย จากผลการวิจัยในครั้งนี้พบค่าสัดส่วนที่ เหมาะสมของ C/N อยู่ในช่วง 20-25/1

Zhong *et al.* (2012) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศ แบบแบดจ์ของสาหร่ายสีน้ำเงิน (Taihu) โดยใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อประเมินผลกระทบ ของการเติมของซังข้าวโพดซึ่งมีปริมาณคาร์บอนสูงสำหรับการย่อยสลายของสาหร่ายไทหูสีน้ำเงิน เพื่อให้ได้อัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมีเทนให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น การเติมซังข้าวโพดใน สาหร่ายที่อัตราส่วน C/N ที่ 20/1 ให้ผลผลิตของมีเทนเพิ่มขึ้นร้อยละ 61.69 คือ 325 $\text{mL-CH}_4/\text{g-VS}$ (เปรียบเทียบกับ 201 $\text{mL-CH}_4/\text{g-VS}$ ของการย่อยสลายสาหร่ายเพียงอย่างเดียว) อัตราส่วน C/N ที่ 16/1 และที่ 25/1 ดำเนินการที่ 20 g-VS/L และอุณหภูมิ 35°C ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของ C/N สำหรับการย่อยสลายร่วมกับซังข้าวโพดที่อัตราส่วน C/N ที่ 20/1

2.2.2 การผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

POME เป็นซับสเตรตที่มีศักยภาพสูงทั้งในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทน ดังนั้น จึงมีการศึกษาปริมาณแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนด้วยถึงปฏิกิริยาป้อนต่อเนื่องชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 2.1 ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนที่ผลิตได้จาก POME ด้วยถังปฏิกรณ์แบบป้อนต่อเนื่องต่างชนิด

ผู้วิจัย	แหล่ง/เชื้อจุลินทรีย์	ถังปฏิกรณ์ (อุณหภูมิ)	OLR	ผลได้ไฮโดรเจน	ผลได้มีเทน
Badiei <i>et al.</i> (2011)	Mixed microflora	ASBR (37°C)	20 gCOD/L.d	340 mL/gCOD	-
Choorit and Wisarnwan (2007)	Digested sludge	CSTR (55°C)	17 gCOD/L.d	-	3.24 L/L-reactor d
Fang <i>et al.</i> (2011)	Cow manure	UASB (55°C)	5.8 gVS/L _{reactor} .d	-	436 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011)	Cow manure	EGSB (55°C)	5.8 gVS/L _{reactor} .d	-	438 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011) (De-oiled POME)	Cow manure	UASB (55°C)	2.6 gVS/L _{reactor} .d	-	600 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011) (De-oiled POME)	Cow manure	EGSB (55°C)	2.6 gVS/L _{reactor} .d	-	555 mL/gVS _{added}
Mamimin <i>et al.</i> (2012)	<i>Thermoanaerobac trium rich</i> sludge	CSTR (60°C)	2.8 gCOD/L.d	4.2 L/L POME	-
Najafpour <i>et al.</i> (2006)	Anaerobic granular sludge	UASFF (38°C)	23 gCOD/L.d	-	346 mL/gCOD
Zhang <i>et al.</i> (2008)	Digested sludge	EGSB (55°C)	17.5 kgCOD/m ³ .d	-	70%
Zinatizadeh <i>et al.</i> (2006)	Digested sludge	UASFF (38°C)	23.15 gCOD/L.d	-	325 mL/gCOD

ASBR: Anaerobic Sequencing Batch Reactor

CSTR: Continuous Stirred Tank Reactor

EGSB: Expanded Granular Sludge Blanket Reactor

UASB: Up-flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor

UASFF: Up-flow Anaerobic Sludge Fixed Film Reactor

2.2.3 กระบวนการย่อยสลายสองขั้นตอนแบบไร้อากาศสำหรับการผลิตไฮโดรเจน และมีเทน

Lee *et al.* (2010) ศึกษากระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบสองขั้นตอนที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกซ์ โดยใช้อาหารเหลือทิ้งที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ร้อยละ 10 โดยทำให้แปรผันค่าอัตราบรรทุกสารอินทรีย์ (OLR) เพื่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนควบคู่ไปกับการบำบัดค่าความเข้มข้นในการกระจาย COD ไนโตรเจน และการปรับ pH โดยไหลวนสลัดจ์จากถังเก็บสลัดจ์สำหรับการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนเพื่อใช้เป็นบัพเฟอร์ โดยที่ค่า pH ในถังปฏิกรณ์สำหรับการหมักไฮโดรเจน จะสามารถถูกควบคุมให้มีค่าอยู่ในช่วง 5.4-5.7 โดยไหลวนสลัดจ์ในสัดส่วน

$Q_r/Q_i = 1$ อัตราการผลิตเฉลี่ยของไฮโดรเจนและมีเทนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $11.1 \text{ L-H}_2/\text{L}_{\text{substrate}}$ และ $47.4 \text{ L-CH}_4/\text{L}_{\text{substrate}}$ เมื่อใช้ค่า OLR เท่ากับ 39 g-COD/L/d (ถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจน) และเท่ากับ 4.16 g-COD/L/d ตามลำดับผลการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าเสถียรภาพระยะยาวของกระบวนการสองขั้นตอนแบบต่อเนื่องสามารถเกิดขึ้นได้โดยการไหลวนสลัดจ์ที่มีความเป็นต่างสูง ซึ่งมีค่าประมาณ $6.7\text{-}7.5 \text{ g-CaCO}_3/\text{L}$ โดยไม่ต้องมีการเติมสารเคมีเพิ่ม

Kongjan *et al.* (2011) ศึกษากระบวนการสองขั้นตอนของการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิเอ็กซ์ตรีมเทอร์โมฟิลิกซ์ (70°C) พ่วงต่อการผลิตแก๊สมีเทนที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกซ์ (55°C) โดยใช้ไฮโดรไลสเสทของฟางข้าวสาลีและเครื่องปฏิกรณ์ชนิดยูเอเอสบีในระดับปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่ามีค่าผลได้ของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนเท่ากับ $89 \text{ mL-H}_2/\text{g-VS}$ และ $307 \text{ mL-CH}_4/\text{g-VS}$ ตามลำดับจากการปฏิบัติการทดลองที่ระยะเวลาที่เก็บ (HRT) ทั้งหมด 4 วัน (HRT เท่ากับ 1 วัน ในขั้นตอนที่หนึ่ง และ HRT 3 วัน ในขั้นตอนที่สอง) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งระเหยได้เท่ากับร้อยละ 81 กระบวนการสองขั้นตอนนี้ยังสามารถที่จะผลิตพลังงานรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มจากร้อยละ 7.5 ในเฉพาะขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนไปเป็นร้อยละ 87.5 ของศักยภาพการผลิตพลังงานจากไฮโดรไลสเสท ซึ่งคิดเป็นปริมาณพลังงานที่ผลิตได้ประมาณ 13.4 kJ/g-VS

Kongjan *et al.* (2013) ศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของ OLR และ HRT สำหรับการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจาก de-sugared molasses (DM) ด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ Up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) ที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) เมื่อป้อน DM ที่ OLR 42.4 g-VS/d.L (HRT 12 ชั่วโมง) เข้าถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจน พบมีผลได้ไฮโดรเจน $132 \text{ mL-H}_2/\text{g-VS}$ และเมื่อป้อนน้ำทิ้งจากขั้นตอนที่หนึ่งเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ผลิตมีเทนที่ พบมีผลได้มีเทน $239 \text{ mL-CH}_4/\text{g-VS}$ ที่ HRT 3 วัน นอกจากนี้พบว่ากระบวนการสองขั้นตอนสามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้ถึงร้อยละ 95

Kvesitadze *et al.* (2011) ศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศระหว่างขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอนด้วยขยะอินทรีย์ชุมชน (Municipal solid waste: MSW) โดยใช้ถังปฏิกรณ์ Plug flow ที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) และใช้ HRT 12 ชั่วโมง และ 5 วัน ในถังปฏิกรณ์ขั้นที่หนึ่งและสองตามลำดับ ระบบถังปฏิกรณ์สองขั้นตอนสามารถให้ผลได้แก๊สไฮโดรเจนและมีเทน 12 m^3 และ $110 \text{ m}^3/\text{Ton}$ -ขยะเปียกตามลำดับ แก๊สในขั้นตอนที่หนึ่งมีความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 50.7 และ 49.2 ตามลำดับ ส่วนแก๊สในขั้นตอนที่สองมีความเข้มข้นของแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 78.6 และ 21.4 ตามลำดับ ในขณะที่กระบวนการขั้นตอนเดียวสามารถผลิตมีเทนได้ $90 \text{ m}^3/\text{Ton}$ -ขยะเปียก และแก๊สชีวภาพมีความเข้มข้นของแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 และ 40 ตามลำดับ ผู้วิจัยได้ประเมินการเพิ่มกระบวนการหมักในขั้นตอนที่หนึ่งต่อจากกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพขั้นตอนเดียวที่ดำเนินการอยู่แล้วมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนน้อย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยอาศัยจุลินทรีย์ช่วยในกระบวนการย่อยสลายโมเลกุลของสารอินทรีย์ จากโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นโมเลกุลเล็กในสภาวะที่ไร้อากาศและได้ผลผลิตของแก๊สที่สำคัญได้แก่ มีเทน และไฮโดรเจน ซึ่งมีประโยชน์ในการนำมาใช้เพื่อเป็นพลังงานได้ โดยกระบวนการหมักนี้จะหมักเป็นสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกใช้อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกที่ 55°C เป็นกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อผลิตไฮโดรเจนด้วยถังปฏิกรณ์ถังกวนแบบต่อเนื่อง (Continuous Stirred Tank Reactor: CSTR) และขั้นที่สองทดลองที่อุณหภูมิเมโซฟิลิกที่ 35°C เป็นกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อผลิตมีเทนด้วยถังปฏิกรณ์แบบท่อไหล (Plug Flow Reactor: PFR) ซึ่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จำเป็นจะต้องใช้สารอาหารที่เหมาะสมในการเจริญ โดยในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศในงานวิจัยนี้ใช้การย่อยสลายร่วมของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและสาหร่ายพวงชะโด เพื่อปรับธาตุอาหารให้เหมาะสมกับจุลินทรีย์ และมีการใช้สารละลายต่างในกระบวนการหมักเพื่อปรับ pH เฟอร์ในระบบ โดยแสดงผังการทดลองดังนี้



ภาพที่ 3.1 แผนผังลำดับการทดลอง

3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของ POME และสาหร่ายฟุ้งชะโด

ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของ POME และสาหร่ายฟุ้งชะโดเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นก่อนนำไปใช้เป็นซับสเตรตในกระบวนการย่อยสลายไร้อากาศต่อไป โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.1.1 ศึกษาสมบัติน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ตัวอย่างน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม จากบริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้จำกัด อ.หนองจิก จ.ปัตตานี ซึ่งเก็บจากท่อปล่อยน้ำเสียจากการสกัดน้ำมันปาล์มลงสู่บ่อพักน้ำเสีย น้ำเสียที่ถูกปล่อยออกมาจากท่อจะมีอุณหภูมิสูงประมาณ 80°C ที่เกิดมาจากระบวนการนี้ ลักษณะของน้ำเสียที่สังเกตมีสีน้ำตาลเข้มและขุ่น ดังแสดงภาพที่ 3.2 จากนั้นเข้าสู่กระบวนการเก็บรักษาโดยเก็บตัวอย่างน้ำเสียไว้ที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 4°C เพื่อรอการนำมาใช้และตรวจวิเคราะห์ต่อไป POME จะถูกนำมาตรวจวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และทางเคมีต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ผลผลิตต่อไป (ตารางที่ 3.1) ได้แก่ pH, Total Solid Content (TSC), Volatile Solid Content (VSC), Ash, Chemical Oxygen Demand (COD), Sulfate content, Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), $\text{NH}_3\text{-N}$, Alkalinity, Total Phenolic Content, Total Carbohydrate Content, oil and gress และ CHNOS โดยวิธีการวิเคราะห์แสดงรายละเอียดดังภาคผนวก ก



ภาพที่ 3.2 น้ำทิ้งที่เก็บจากท่อปล่อยน้ำเสียจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มจากบริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ จำกัด ลงสู่บ่อพักน้ำเสีย

3.1.2 ศึกษาสมบัติสาหร่ายพวงชะโด

นำตัวอย่างสาหร่ายพวงชะโดที่เก็บจากคูน้ำ บริเวณสวนสาธารณะ เทศบาลเมือง จ.ปัตตานี ดังภาพที่ 3.3 ตัวอย่างสาหร่ายถูกนำไปตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo Microscope) เพื่อยืนยันชนิดของสาหร่ายพวงชะโด โดยวิธีการและผลการตรวจสอบแสดงในภาคผนวก ก และ ข ตามลำดับ บริเวณที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายพวงชะโดจะพบว่ามีการเจริญของสาหร่ายพวงชะโดจะลอยตัวกระจายอยู่ ซึ่งสามารถมองเห็นได้บริเวณผิวน้ำในปริมาณมาก ถึงแม้จะมีการจัดการกำจัดโดยการตักออกแต่ก็ยังมีมีการเจริญเติบโตเป็นจำนวนมากและสามารถมองเห็นได้ทั่วไปบริเวณรอบสวน

การทดลองจะมีการเก็บตัวอย่างสองแบบคือแบบแห้ง และแบบสด การเก็บรักษาแบบแห้งสาหร่ายพวงชะโดจะถูกนำไปตากแดดจนแห้ง บดละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 25 mesh และเก็บลงในกระปุกพลาสติกที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้นและเชื้อรา ส่วนการเก็บรักษาแบบสด ตัวอย่างสาหร่ายพวงชะโดที่เก็บมาจะถูกปั่นให้ละเอียดเพื่อให้มีขนาดเล็กดังภาพที่ 3.4 แล้วนำมาเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง -20°C สาหร่ายพวงชะโดที่เก็บทั้งแบบแห้งและสดจะถูกนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมี โดยถูกบันทึกข้อมูลในฐานของของแข็งทั้งหมด ของด่างตารางที่ 3.1 pH, Total Solid Content (TSC), Volatile Solid Content (VSC), Ash, Chemical Oxygen Demand (COD), Sulfate content, Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), $\text{NH}_3\text{-N}$, Total Phenolic Content, Total Carbohydrate Content, oil and gress และ CHNOS โดยวิธีการวิเคราะห์ที่แสดงรายละเอียดดังภาคผนวก ก



ภาพที่ 3.3 สาหร่ายพวงชะโดบริเวณสวนสาธารณะ เทศบาลเมือง จ.ปัตตานี



(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 3.4 สาหร่ายพุงชะโด (*Ceratophyllum demersum*)

ก สาหร่ายพุงชะโด ข สาหร่ายพุงชะโดสดปั่นละเอียด ค สาหร่ายพุงชะโดแห้งบดละเอียด
 ตารางที่ 3.1 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และสาหร่ายพุงชะโด

ปัจจัยทางเคมีและกายภาพ	POME	<i>C. demersum</i>	วิธีการวิเคราะห์
pH	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1998)
Total solid content (TSC)	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1998)
Volatile solid content (VSC)	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1998)
Ash			APHA, AWWA and WEF (1998)
Chemical oxygen demand (COD)	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1999)
Volatile fatty acid (VFA)	✓	✓	HPLC (Agilent 1100)
Oil and grease	✓	✓	Soxhlet extraction method
Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1999)
NH ₃ -N	✓	✓	APHA, AWWA and WEF (1999)
Total Carbohydrate content	✓	✓	Calculate by difference
Total phenolic content	✓	✓	Watermam and mole (1994) Folin-Ciocalteu reagent
Sulfate content	✓	✓	Turbidimetric method
Alkalinity	✓	-	AOAC Official Method 973.43 (1990)
C/N ratio	✓	✓	C H N S O analyzer

3.2 ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศ

กระบวนการหมักมีความจำเป็นต้องศึกษาศักยภาพในการผลิตแก๊สของจุลินทรีย์กับซับสเตรตที่ใช้เพื่อดูแนวโน้มในการผลิตแก๊สจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ จากซับสเตรตที่ใช้ในการศึกษา จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักมีความสำคัญ และเป็นตัวหลักที่ถูกนำมาใช้ระบบการผลิตแก๊สชีวภาพซึ่งจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในกระบวนการหมักมีสองกลุ่มหลักคือ กลุ่มที่ผลิตกรด และกลุ่มที่ผลิตมีเทน ซึ่งโดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมเชื้อทั้งสองกลุ่มทำหน้าที่ร่วมกันในระบบเดียวกัน แต่สำหรับในการทดลองนี้จะมีการแยกใช้กลุ่มจุลินทรีย์โดยแบ่งออกเป็นสองช่วงคือช่วงแรกเป็นกลุ่มผลิตกรดเป็นช่วงที่มีการผลิตกรดและได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนเกิดขึ้นมาอีกด้วย และช่วงที่สองเป็นการใช้เชื้อในกลุ่มที่ผลิตมีเทน โดยทั้งสองกลุ่มจะมีสภาวะสำหรับการเจริญเติบโตแตกต่างกัน

3.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อสำหรับหมัก

3.2.1.1 กล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักขั้นตอนแรกเพื่อผลิตไฮโดรเจน

ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก (55°C) เป็นกล้าเชื้อที่ใช้ในการผลิตไฮโดรเจน ถูกนำมาจากถังปฏิกรณ์ CSTR ในระดับห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยหน่วยวิจัยการแปรรูปชีวมวลเพื่อพลังงานและเคมีภัณฑ์ (Bio-Mass Conversion to Energy and Chemicals: Bio-MEC Research Unit) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ถังปฏิกรณ์ CSTR ดังกล่าวได้ถูกใช้สำหรับการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และซีรัมน้ำยาสกิมที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก และควบคุมระยะเวลาเก็บของของเหลว (HRT) 4.5 วัน ของงานวิจัยก่อนหน้านี้ และมีความจำเป็นที่จะต้องทำให้เชื้อที่ได้มีความคุ้นชิน (Acclimate) กับซับสเตรตที่จะนำมาใช้ในการทดลอง เป็นขั้นตอนสำหรับการทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะและชนิดของซับสเตรตมากขึ้นและมีความสามารถในการย่อยสลายซับสเตรตได้ดียิ่งขึ้น

ขั้นตอนการทำความคุ้นชินของกล้าเชื้อกับซับสเตรต

- (1) เติมหกล้าเชื้อสำหรับผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ได้จากข้างต้นปริมาตร 18 mL
- (2) เติมน้ำเสียออกโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อซับสเตรตที่ต้องการให้เชื้อมีการปรับตัวที่ความเข้มข้น 10 g-VS/L
- (3) ปรับปริมาตรด้วย BA medium (Angelidaki and Sanders, 2004) ให้ได้ปริมาตรการทำงาน 60 mL วิธีการเตรียม BA medium แสดงในตารางที่ 3.2
- (4) นำขวดซีรัมปิดฝาขวดให้สนิท และพ่นแก๊สไนโตรเจนเพื่อแทนที่อากาศที่มีอยู่บริเวณช่องว่างในขวดหมักนาน 3-5 นาที (Kaparaju *et al.*, 2009)
- (5) ตัวอย่างที่เตรียมได้นำไปบ่มที่ควบคุมอุณหภูมิที่ $55 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ในตู้บ่ม (incubator) ทำการบ่มและเก็บตัวอย่างแก๊สทุกวัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นโดยใช้เครื่อง GC-TCD ซึ่งเมื่อมีการเกิดแก๊สที่เพิ่มขึ้นจนถึงระยะ log phase เป็นช่วงที่แสดงได้ว่าเชื้อสามารถย่อยสลายซับสเตรตได้และจนกระทั่งเริ่ม steady state ที่แสดงถึงการลดลงและหมดไปของซับสเตรตที่ใช้ให้หยุดกระบวนการหมักและสามารถนำเชื้อที่หมักไปเป็นกล้าเชื้อสำหรับการหาศักยภาพของไฮโดรเจนต่อไป

(6) เก็บของเหลวหลังการหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่อุณหภูมิ -20°C ก่อนการนำไปใช้เป็นขั้วสเตรตสำหรับหาค่าศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทนต่อไป



ภาพที่ 3.5 ขวดซีรัมบรรจุเชื้อจุลินทรีย์สำหรับผลิตกรด

ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบสำหรับเตรียม BA medium ที่ปริมาตรการทำงานรวมรวม 1 L

ที่มา: Angelidaki and Sanders (2004)

Solution	Volume (mL)	Compound and concentration (g/L)
A	10	NH_4Cl , 100; NaCl , 10; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5
B	2	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 200
C	1	$\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NO}_4\text{Na}$, 0.5
D	1	H_3BO_3 , 0.05; ZnCl_2 , 0.05; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.038; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05; AlCl_3 , 0.05; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.05; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.092; EDTA, 0.5; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.066
NaHCO_3	50	NaHCO_3 , 52
Vitamin	936	Yeast extract, 1.07

3.2.1.2 กล้าเชื้อสำหรับขั้นตอนที่สองเพื่อผลิตมีเทน

จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้สามารถผลิตมีเทนและเป็นกล้าเชื้อเจริญเติบโตที่สภาวะเมโซฟิลิกที่ช่วงอุณหภูมิห้อง ($28-30^{\circ}\text{C}$) กล้าเชื้อที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากถังปฏิกรณ์ท่อไหล (Chanel plug flow reactor) ขนาด 2000 m^3 และมี HRT 40-50 วัน ของบริษัท ปาล์มพัฒนาไบโอแก๊ส จำกัด อ.หนองจิก จ.ปัตตานี โดยกล้าเชื้อจะถูกเก็บจากบริเวณจุดตั้งตะกอนข้างถังปฏิกรณ์ลักษณะของเชื้อที่ถูกดึงออกจากบ่อหมักมีลักษณะเป็นสารละลายตะกอนสีดำและมีฟองแก๊สเกิดขึ้น

ตลอด ดังนั้นก่อนนำมาใช้จึงควรนำกล้าเชื้อที่ได้ถูกบ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 วันเพื่อให้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ยังคงเหลืออยู่ในกล้าเชื้อหมดก่อน



ภาพที่ 3.6 จุดติดตั้งของถังปฏิกรณ์ Chanel plug flow reactor บริษัท ปาล์มพัฒนาไบโอแก๊ส จำกัด

3.2.2 ศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) จากการหมักร่วม

(1) นำของผสม POME กับสาหร่ายพวงชะโดโดยแปรผันอัตราส่วน (VS Basis) 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 และ 0:10 เติมในขวดซีรัมขนาด 120 mL (ปริมาตรใช้งาน 60 mL) ให้ได้ความเข้มข้น 10 g-VS/L เติมห้าเชื้อผลิตไฮโดรเจนเริ่มต้น 18 mL ใช้สารละลายต่างจากเก้าปาล์ม ปรับปริมาตรให้ได้ 60 mL ปิดด้วยฝาจุกซิลิโคน และฝาจุกอะลูมิเนียมโดยใช้ Hand crimper เปลี่ยนบรรยากาศภายใน Head space ให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยพ่นไนโตรเจนผ่านเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 55°C โดยมี Blank และชุด Control ซึ่งใช้สารละลายต่างจากเก้าปาล์มและกลูโคสแทนซับสเตรตตามลำดับ ในแต่ละชุดการทดลองจะเตรียม 3 ซ้ำ

(2) วิเคราะห์พารามิเตอร์ระหว่างการทดลอง ได้แก่ ปริมาตรแก๊สโดยใช้วิธีการแทนที่น้ำ ส่วนการแยกชนิดและความเข้มข้นของแก๊สที่เกิดขึ้น โดยใช้ GC-TCD

(3) หลังจากการผลิตแก๊สไฮโดรเจนคงที่เก็บตัวอย่างสารละลายไปวิเคราะห์ชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ด้วย HPLC

3.2.3 ศึกษาศักยภาพในการผลิตแก๊สมีเทน (BMP) จากน้ำทิ้งขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจน

(1) ทำการทดลองการผลิตมีเทนจากสารละลายของขั้นตอนการสร้างกรด (ขั้นที่ 3.2.2) ในขวดซีรัมขนาด 120 mL (ปริมาตรใช้งาน 60 mL) โดยเติมน้ำหมักจากขั้นตอนแรก ที่ได้จากการผลิตไฮโดรเจนนำมาใช้เป็นซับสเตรต ของแต่ละชุดการทดลองชุดการหมักเพื่อผลิตมีเทน ใส่ปริมาตร 18 mL ลงในขวดซีรัม จากนั้นเติมห้าเชื้อสำหรับผลิตมีเทนที่เตรียมไว้ 42 mL เพื่อให้ครบปริมาตรการทำงาน ของแต่ละชุดการทดลอง จากนั้นปิดด้วยฝาจุกซิลิโคน และฝาจุกอะลูมิเนียมโดยใช้ Hand crimper เปลี่ยนบรรยากาศภายใน Head space ให้เป็นสภาวะไร้อากาศ โดยการเติมไนโตรเจนผ่าน

เข้าไปในขวดหมักบริเวณที่มีอากาศอยู่เพื่อไล่อากาศออกเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (35°C) โดยมี Blank และ Control ใช้ น้ำหมักจากขั้นตอนแรกที่ผลิตไฮโดรเจน แทนซับสเตรตในแต่ละชุดการทดลองจะเตรียม 3 ซ้ำ

(2) ทำการวิเคราะห์ปริมาณแก๊สโดยใช้วิธีการแทนที่น้ำชนิดและความเข้มข้นของแก๊สที่เกิดขึ้นโดยใช้ GC-TCD

(3) หลังจากการผลิตแก๊สมีเทนคงที่เก็บตัวอย่างสารละลายไปวิเคราะห์ชนิดและความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ด้วย HPLC



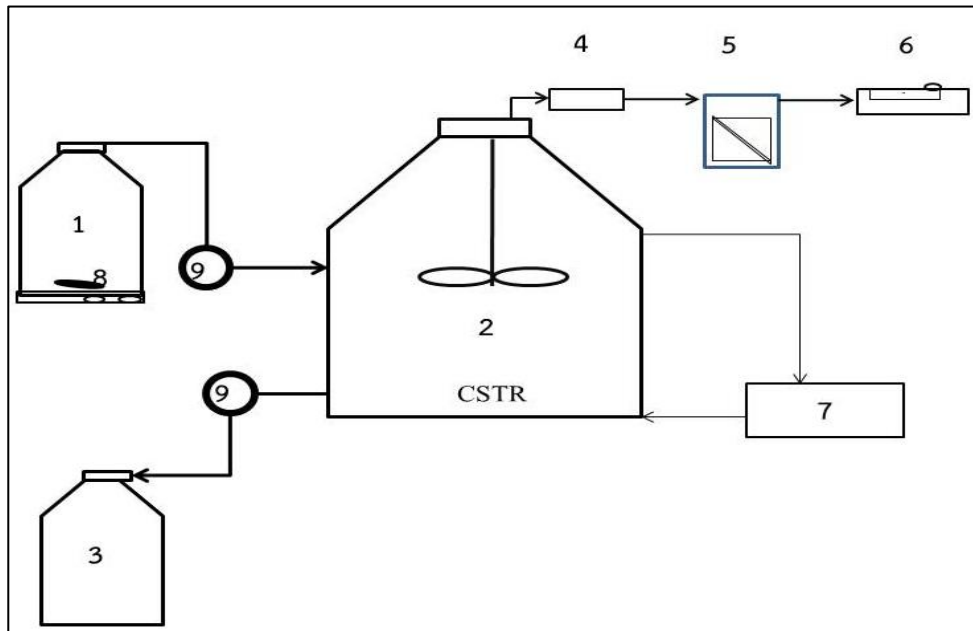
ภาพที่ 3.7 ขวดซีรัมบรรจุเชื้อจุลินทรีย์สำหรับผลิตมีเทน

3.3 การศึกษาการย่อยสลายแบบป้อนต่อเนื่องสองขั้นตอนด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR

เป็นกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศที่มีการป้อนซับสเตรดอย่างต่อเนื่องเข้าสู่ระบบซึ่งประกอบด้วยสองขั้นตอน ด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR โดยขั้นตอนแรกทำการป้อนซับสเตรดอย่างต่อเนื่องเข้าสู่ระบบของถังปฏิกรณ์ CSTR ด้วยเป็นกระบวนการสำหรับผลิตไฮโดรเจน จากนั้นจึงนำน้ำเสียออกของระบบถังปฏิกรณ์ CSTR มาใช้เป็นซับสเตรตในขั้นตอนที่สองโดยป้อนเข้าสู่ระบบถังปฏิกรณ์ PFR เพื่อผลิตมีเทนต่อไป และศึกษาการผลิตแก๊สที่มีระยะเวลาการกักเก็บของเหลวต่าง ๆ กันในระบบของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนทั้งสำหรับการผลิตไฮโดรเจนและมีเทน

3.3.1 ศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจนแบบป้อนต่อเนื่องด้วย POME และสาหร่ายพวงชะโด

3.3.1.1 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ CSTR แบบต่อเนื่อง



ภาพที่ 3.8 ระบบสำหรับกระบวนการย่อยสลายขั้นตอนแรกเพื่อผลิตไฮโดรเจนด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR

อุปกรณ์ในการใช้ประกอบระบบหมักสำหรับผลิตไฮโดรเจน

ลำดับ	อุปกรณ์	ลำดับ	อุปกรณ์
1	POME Feed tank	6	Gas meter
2	CSTR	7	Hot water circulation bath
3	Effluent tank	8	Magnetic Bar
4	Gas sampling port	9	Peristaltic pump
5	Gas counter		

3.3.1.2 การทดลอง

(1) นำกล้าเชื้อซึ่งได้จากถังปฏิกรณ์ CSTR (ปริมาตรการใช้งาน 1.35 L) สำหรับการผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมักร่วมระหว่าง POME และซีรัมน้ำยาสกิมที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกและควบคุมระยะเวลาพักเก็บน้ำ (HRT) 4.5 วัน ปริมาตร 2 L เติมน้ำในถังปฏิกรณ์ CSTR ขนาด 10 L (ปริมาตรใช้งาน 7 L) เทียบเป็นร้อยละ 30 ของปริมาตรใช้งานทั้งหมด ควบคุมอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ที่ 55°C โดยใช้ความร้อนจาก Water Bath ไหลผ่านระบบ Jacket ของถังปฏิกรณ์จากนั้นจึงเติม POME ไปในวันถัดไปวันละ 1 L จนครบปริมาตรการทำงานโดยไม่มีการวัดแก๊ส เมื่อครบปริมาตรการทำงานโดยจะป้อนด้วย POME ผสมกับสารละลาย Basic Anaerobic (BA) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนโดยใช้สารละลาย NaHCO_3 (2.5-5 g/L_{substrate}) เพื่อเป็น

บัพเฟอร์ให้กับน้ำหมักในเครื่องปฏิกรณ์ CSTR ที่อัตราการไหลเริ่มต้นเทียบเท่าระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) 7 วันติดตามอัตราการผลิตแก๊สโดยใช้เครื่องวัดปริมาตรแก๊สแบบแทนที่น้ำและความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจนทุก ๆ 1-3 วัน โดยใช้ GC-TCD

(2) เมื่ออัตราการการผลิตแก๊สคงที่ เปลี่ยนสารป้อนเป็น POME ผสมเถ้าปาล์ม (50 g/L-POME) โดยยังคงควบคุมอัตราการไหลเริ่มต้นเทียบเท่า (HRT) 7 วัน เมื่อถึงปฏิกรณ์เข้าสู่สภาวะคงตัวซึ่งสามารถตรวจสอบจากการเบี่ยงเบนของอัตราการผลิตแก๊สไฮโดรเจนควบคู่กับค่า VS ขาออกไม่เกินร้อยละ 10 (Chang and Lin, 2004; Reungsang *et al*, 2013) ให้คงอัตราการป้อนไว้เป็นเวลาประมาณ 10 วัน

(3) เริ่มการหมักร่วมโดยการผสมสาหร่ายฟงชงโคประมาณร้อยละ 5 (VS Basis) กับ POME ที่มีเถ้าปาล์มละลาย (50 g/L-POME) โดยยังคงควบคุมอัตราการไหลเข้าเทียบเท่า (HRT) 7 วัน

(4) เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวจึงเริ่มเปลี่ยนอัตราการไหลเข้าของซัสเตรตเทียบเท่า HRT เป็น 5 วัน โดยที่ความเข้มข้นของสาหร่ายยังคงเท่าเดิมที่ร้อยละ 5 (VS Basis)

(5) เมื่อถึงปฏิกรณ์เข้าสู่สภาวะคงตัวเพิ่มความเข้มข้นของสาหร่ายฟงชงโคเป็นร้อยละ 30 (VS Basis) โดยยังคงอัตราการไหลเข้าของซัสเตรตเทียบเท่า HRT เป็น 5 วันเพื่อทดสอบสมรรถนะของถังปฏิกรณ์เมื่อความเข้มข้นของสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้นฉบับสิ้น

(6) ปรับลดความเข้มข้นของสาหร่ายฟงชงโคเป็นร้อยละ 10 (VS Basis) และ คงอัตราการไหลเข้าของซัสเตรตเทียบเท่า HRT เป็น 5 วัน

(7) เพิ่มอัตราการไหลเข้าของซัสเตรตเทียบเท่า HRT 4 วันและคงความเข้มข้นของสาหร่ายฟงชงโคเป็นร้อยละ 10 (VS Basis)

3.3.1.3 การวิเคราะห์

(1) วิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สโดยใช้เครื่อง GC-TCD

(2) วิเคราะห์สมบัติสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (COD, SO_4^{2-} , TKN, TS, VS, pH, และ Alkalinity) ของน้ำหมักขาออกที่สภาวะคงตัวซึ่งสามารถตรวจสอบจากการเบี่ยงเบนของอัตราการผลิตแก๊สควบคู่กับค่า VS ขาออกไม่เกินร้อยละ 10 (Chang and Lin, 2004; Reungsang *et al*, 2013)

(3) วิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยวิธี denaturing gradient gel electrophoresis (PCR- DGGE) ในสไลด์ โดยตัวอย่างจะถูกส่งตรวจวิเคราะห์ที่มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ตารางที่ 3.3 การเตรียมซบสเตรตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของ POME กับ สาหร่าย และการใช้ สารละลาย BA โซเดียมไบคาร์บอเนต และเถ้า ปรับความเป็นบัฟเฟอร์ในระบบของถังปฏิกรณ์ CSTR ที่ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน

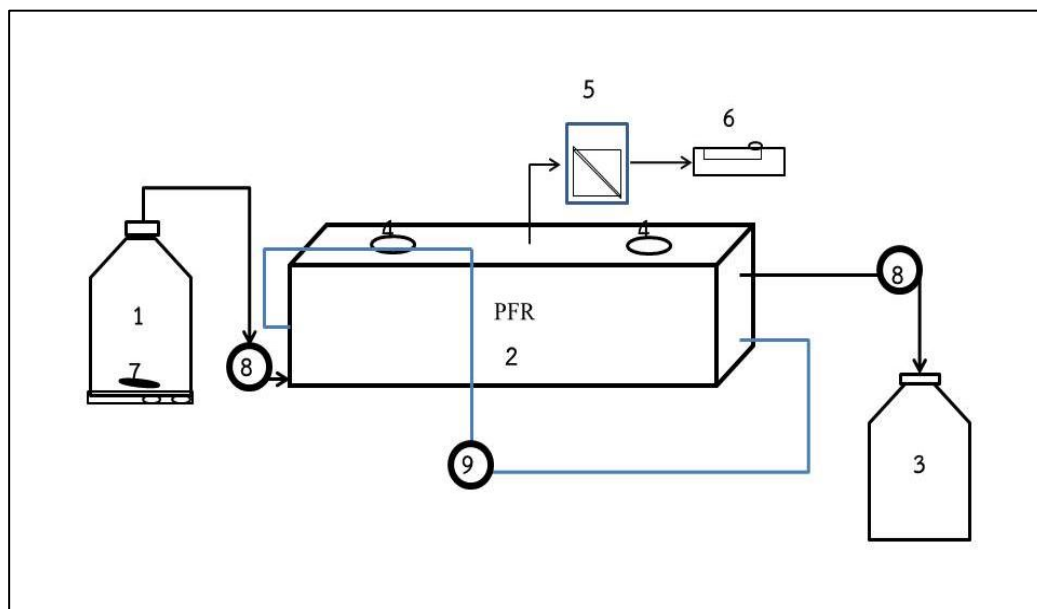
HRT (Day)	Ratio of substrate	buffer
7	50%POME+50%BA	NaHCO ₃
	POME	NaHCO ₃
	POME	Ash
	POME+ <i>C.demersum</i> 5%	Ash
5	POME+ <i>C.demersum</i> 5%	Ash
	POME+ <i>C.demersum</i> 30%	Ash
	POME+ <i>C.demersum</i> 10%	Ash
4	POME+ <i>C.demersum</i> 10%	Ash
3	POME+ <i>C.demersum</i> 10%	Ash
2	POME+ <i>C.demersum</i> 10%	Ash
1	POME+ <i>C.demersum</i> 10%	Ash



ภาพที่ 3.9 ระบบถังปฏิกรณ์ CSTR สำหรับผลิตไฮโดรเจน

3.3.2 ศึกษาการผลิตแก๊สมีเทนแบบป้อนต่อเนื่องด้วยน้ำทิ้งจากขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน

3.3.2.1 การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ PFR แบบต่อเนื่อง



ภาพที่ 3.10 ระบบสำหรับกระบวนการย่อยสลายขั้นที่สองเพื่อผลิตมีเทนด้วยถังปฏิกรณ์ PFR

อุปกรณ์ในการใช้ประกอบระบบหมักสำหรับผลิตมีเทน

ลำดับ	อุปกรณ์	ลำดับ	อุปกรณ์
1	Substrate feed tank	6	Gas meter
2	PFR	7	Magnetic Bar
3	Effluent tank	8	Peristaltic pump
4	Gas sampling port	9	Circulation
5	Gas counter		

3.3.2.2 การทดลอง

(1) ทดลองด้วยถังปฏิกรณ์ Plug flow Reactor (PFR) ขนาดประมาณ 43 ลิตร (60 cm (ยาว) x 30 (กว้าง) cm x 24 (สูง) cm) (ปริมาตรใช้งาน 29 ลิตร) เริ่มต้นระบบโดยการเติมกล้าเชื้อที่ได้จากระบบผลิตแก๊สชีวภาพชนิด H-CSTR บริษัท ปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ อ.หนองจิก จ.ปัตตานี เทียบเป็นร้อยละ 75 ของปริมาตรใช้งานทั้งหมด และเติมน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนที่สภาวะ HRT 7 วันจนถึงปริมาตรการทำงาน

(2) ปล่อยให้กล้าเชื้อปรับสภาพในช่วง 22 วันแรก โดยไม่มีการเติมซัพสเตรต การทดลองพบว่า 7 วันหลังของการทดลองนี้เชื้อเริ่มมีการผลิตแก๊สเกิดขึ้นและ pH ที่เข้าสู่สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ในวันถัดมาเติม POME ให้ได้ปริมาตร 29 ลิตร ติดตามอัตรา

การผลิตแก๊สโดยใช้เครื่องวัดปริมาตรแก๊สแบบแทนที่น้ำและความเข้มข้นของแก๊สมีเทนทุกวันโดยใช้ GC-TCD

(3) เมื่ออัตราการการผลิตแก๊สคงที่ เริ่มป้อนน้ำหมักจากขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนที่สภาวะ HRT 7 วัน และ 5 วัน ตามลำดับเข้าถึงปฏิกรณ์ที่อัตราการไหลเทียบเท่า HRT 52.5, 40 และ 30 วัน

3.3.2.3 การวิเคราะห์

(1) ตรวจสอบสมรรถนะของถังปฏิกรณ์โดยวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สโดยใช้เครื่อง GC-TCD และวัดปริมาตรแก๊สโดยวิธีแทนที่น้ำ

(2) วิเคราะห์สมบัติ (ความเข้มข้นและชนิดของกรดอินทรีย์ระเหยได้ด้วย HPLC, COD, SO_4^{2-} , TKN, TS, VS, pH, และ Alkalinity) ของน้ำหมักขาออกที่สภาวะคงตัวซึ่งสามารถตรวจสอบจากการเบี่ยงเบนของอัตราการผลิตแก๊สควบคู่กับค่า VS ขาออกไม่เกินร้อยละ 10 (Chang and Lin, 2004; Reungsang *et al.*, 2013)

(3) วิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยวิธี denaturing gradient gel electrophoresis (PCR- DGGE) ในสไลด์จ



ภาพที่ 3.11 ระบบถังปฏิกรณ์ PFR สำหรับผลิตมีเทน

ตารางที่ 3.4 สภาวะและปัจจัยที่ควบคุมของกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR

Parameter	CSTR	PFR
Total volume (L)	10	43
Working volume (L)	7	29
Inoculum volume (L)	2.1	20.3
Temperature (°C)	55±1	31±4
HRT (day)	7, 5, 4, 3, 2 and 1	52.5, 40 and 30

3.3.3 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

ตารางที่ 3.5 สารเคมี ที่ใช้ในการทดลอง

Chemical		
K ₂ Cr ₂ O ₇	Acetic	Propionic
H ₂ SO ₄	Lactic	Phenol
HgSO ₄	Butyric	Na ₂ CO ₃
(NH ₄) ₂ SO ₄	H ₃ BO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O
FeSO ₄ ·6H ₂ O	NaOH	K ₂ SO ₄
Ag ₂ SO ₄	Methyl red	Bromoglyceral

ตารางที่ 3.6 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

Equipment		
Buret	Soxhlet extraction	pH meter
Beaker	Volumetric flask	Balance
Desiccators	Rotary evaporator	Oven
Pipette	Stirring rod	Muffle Furnace
Crucible	Filter paper	Gas Chromatography (GC)
Test tube	Glass funnel	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
Ground glass,	Syringe filter	Spectrophotometer
Erlenmeyer flask	Vial	Hot plate
Round bottom flask	Cellulose thimble	Kjeldahl Distillation and Digestion

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทางกายภาพของ POME และสาหร่ายพวงชะโด

น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม บริษัท ปาล์มพัฒนาชายแดนใต้ อ. หนองจิก จ. ปัตตานี ได้ถูกนำมาแช่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C เพื่อรักษา สภาพของวัตถุดิบก่อนที่จะถูกนำมาทดลอง POME มีลักษณะที่ขุ่นและเป็นสีน้ำตาลและจากการ วิเคราะห์องค์ประกอบหลักเป็นสารอินทรีย์ในรูปของของแข็งระเหยได้ (VS) 63.5 g/L แสดงถึงปริมาณ ของสารอินทรีย์ที่มาก (ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีนและกรดอินทรีย์ระเหยได้ (VFA)) ซึ่งหมายถึงมีความเหมาะสมในการบำบัดด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศที่มีการย่อยสลาย ด้วยจุลินทรีย์เป็นตัวหลักในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศนี้ POME มีค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน ต่อไนโตรเจน (C/N) อยู่ในระดับสูงประมาณ 29 ในขณะที่ pH มีค่าค่อนข้างต่ำอาจเนื่องมาจากกรดไขมัน ของน้ำมันปาล์มดิบ และสันนิษฐานว่า POME ที่เก็บมาจากบ่อพักน้ำเสียของโรงงานมีการหมักโดย จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ใน POME ทำให้มีการสร้างและสะสมของกรดไขมันระเหยได้ขึ้น โดยจะเห็นได้ ว่ามีปริมาณของน้ำมันและไขมันที่ปนอยู่ 15.08 g/L เป็นองค์ประกอบอินทรีย์หนึ่งที่ย่อยสลายด้วย จุลินทรีย์ได้ค่อนข้างยาก แต่พบรายงานว่าน้ำมันและไขมันสามารถให้ผลผลิตของแก๊สมีเทนที่เพิ่มขึ้นได้ (Angelidaki *et al.*, 1990) ในขณะที่สาหร่ายพวงชะโดซึ่งถูกเก็บจากคลองบริเวณรอบสวนสาธารณะ เทศบาลเมืองปัตตานี และนำมาเพาะเลี้ยงน้ำออกโดยการตากแดดให้แห้งและบดเพื่อให้สาหร่ายพวงชะโดมี อนุภาคขนาดเล็กลง (25 Mesh < 0.707 mm) ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ในการย่อยสลายด้วยกระบวนการ เชิงกลเพื่อช่วยให้จุลินทรีย์ย่อยสลายได้ง่ายขึ้น จากนั้นนำไปเก็บรักษาสภาพโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ซึ่งจากการศึกษาหาหลักเกณฑ์ทางกายภาพและเคมีของพบว่าสาหร่ายดังกล่าวมีปริมาณสารอินทรีย์ ประมาณร้อยละ 79.7 โดยน้ำหนักและมีอัตราส่วน C/N ประมาณ 17 ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับ POME แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายพวงชะโดมีปริมาณไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในปริมาณค่อนข้างสูง ตารางที่ 4.1 แสดงสมบัติต่าง ๆ ของ POME และสาหร่ายพวงชะโด

สมบัติของทั้ง POME และสาหร่ายพวงชะโดซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า C/N จึงสามารถนำมาผสมกันเป็นซบสเตรตร่วมในกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศ คาดว่าการ ผสมกันของซบสเตรตรองชนิดสามารถส่งผลให้เพิ่มผลผลิตของทั้งไฮโดรเจนและมีเทนในกระบวนการผลิต ไร้อากาศสองขั้นตอน เนื่องจากการย่อยสลายร่วมจะเกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Positive synergisms) ต่อจุลินทรีย์ในระบบการย่อยสลายและช่วยเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ที่สามารถถูกย่อยสลายด้วย จุลินทรีย์ ปรับสัดส่วนสารอาหารหลักของ เช่นอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) และ อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อฟอสฟอรัส (C:P) ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ลดการ เกิดสภาวะกรดเฉียบพลันภายในถังปฏิกรณ์ เนื่องจากมี Buffering capacity เพิ่มขึ้น และช่วยเจือ จางความเข้มข้นของสารพิษ (Toxic compounds) (Angelidaki and Ellegaard, 2003; Costa *et al.*, 2012; Mata-Alvarez *et al.*, 2000)

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME) และสาหร่ายพวงชะโด

Parameters	POME g/L	<i>C. demersum</i> %TS (w/w)
pH	4.43±0.46	6.34±0.31
Total solid content; TSC	51.88±0.11	95.26±0.20
Volatile solid content; VSC	42.76±0.08	83.71±0.14
Ash	9.12±0.03	16.29±0.14
Chemical oxygen demand; COD	63.84±3.14	92.857±0.42
Total Kjeldahl Nitrogen; TKN	0.797±0.05	12.29±0.20
NH ₃ -N	0.140±0.01	0.217±0.02
Oil and grease	15.08±0.62	3.705±0.21
Alkalinity (g-CaCO ₃ /L)	0.261±0.001	N.A.
Total Phenolic content	1.760±0.09	9.267±0.21
Total Carbohydrate content	24.983	58.448
Sulfate content	0.881±0.001	0.415±0.004
C/N ratio*	29	17

N.A.: Not Analyzed

* C/N ratio ถูกวิเคราะห์โดยการวิเคราะห์ CHONS โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ CHNS/O analyzer (Thermo Quest Flash EA 1112)

4.2 ศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์จากซัสเตรตที่อัตราส่วนผสมของ POME และสาหร่ายต่างกัน

4.2.1 ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) จากการหมักร่วม

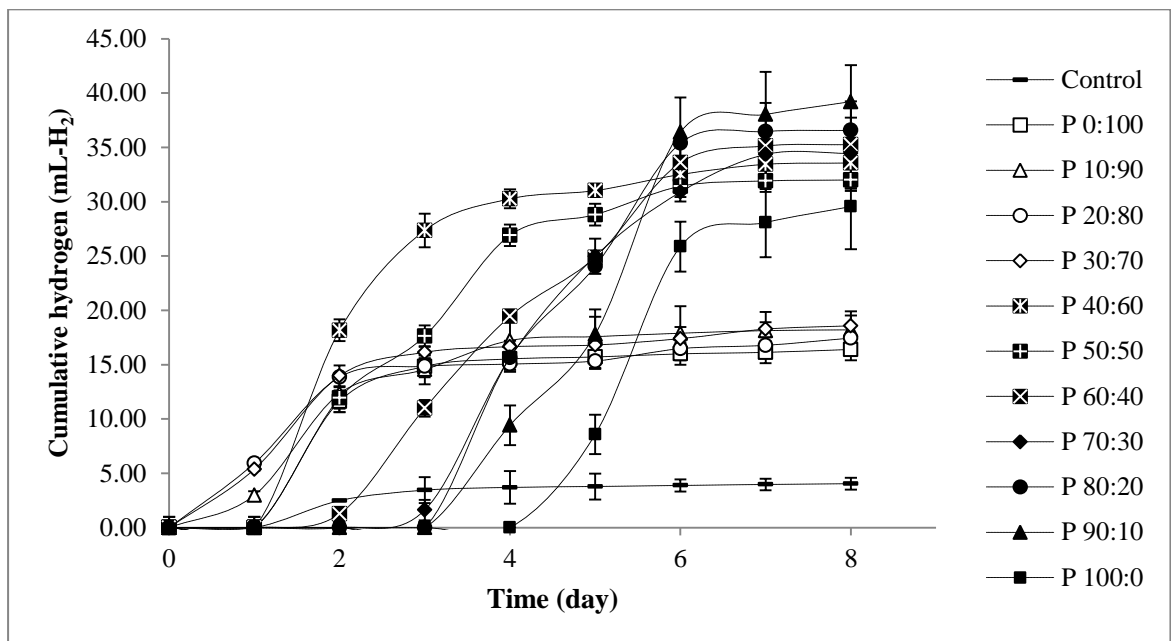
การผลิตไฮโดรเจนโดยการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนร้อยละ (VS Basis) 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 และ 100:0 ในขวดซีรัมขนาด 120 mL (ปริมาตรใช้งาน 60 mL) และควบคุมความเข้มข้นของซัสเตรต 10 g-VS/L จากนั้นเติมกล้าเชื้อผลิตไฮโดรเจน 18 mL ใช้สารละลายต่างจากถ้ำปาล์มซึ่งมี pH ประมาณ 12 ปรับปริมาตรให้ได้ 60 mL ปิดด้วยฝาจุกซิลิโคน และฝาจุกอะลูมิเนียมโดยใช้ Hand crimper เปลี่ยนบรรยากาศภายใน Head space ให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยพ่นไนโตรเจนผ่านเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55°C ในแต่ละชุดการทดลองจะเตรียม 3 ขั้ว และมี Blank ซึ่งใช้สารละลายต่างจากถ้ำปาล์มแทนซัสเตรต และใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 g/L เป็นชุดควบคุม กล้าเชื้อผลิตไฮโดรเจนนำมาจากถังปฏิกรณ์ CSTR ในระดับห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยหน่วยวิจัยการแปรรูปชีวมวลเพื่อพลังงานและเคมีภัณฑ์ (Bio-Mass Conversion to Energy and Chemicals: Bio-MEC Research Unit) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต

ปัตตานี ถังปฏิกรณ์ CSTR ดังกล่าวได้ถูกใช้เพื่อผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และ ซีรัมน้ำยาสกิมที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกและควบคุมระยะเวลาเก็บน้ำ (HRT) 4.5 วันในงานวิจัยก่อนหน้า

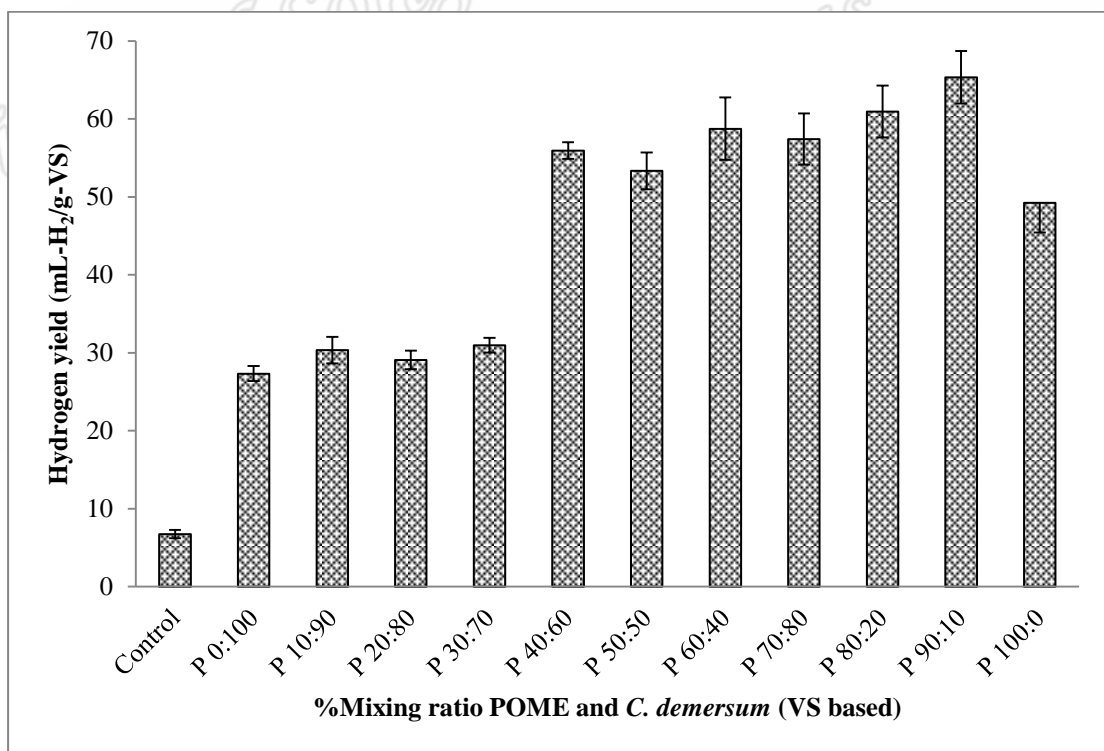
ผลผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 10 g-VS/L ในทุกชุดการทดลองด้วยอัตราส่วนระหว่าง POME กับ สาหร่ายพวงชะโดตั้งที่กล่าวมาข้างต้นและใช้เฉพาะสารละลายเข้าปาล์มเป็นสารบัพเฟอร์โดยไม่มีการเติมสารอาหารอื่น ๆ ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 65.35 ± 3.37 mL-H₂/g-VS_{added} ได้จากการหมักที่อัตราส่วนการผสมของ POME และสาหร่ายพวงชะโดเท่ากับ 90:10 (VS Basis) ผลผลิตไฮโดรเจนดังกล่าวเพิ่มขึ้นร้อยละ 19 และร้อยละ 58 เมื่อเทียบกับการหมักเฉพาะ POME และสาหร่ายพวงชะโด ผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จากการหมักชุดที่มีสัดส่วนของสาหร่ายร้อยละ 10-60 (VS Basis) พบว่าถึงแม้แนวโน้มจะค่อย ๆ ลดลงตามปริมาณของสาหร่ายที่ลดลง แต่ผลผลิตไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P -value > 0.05) แต่จากผลการทดลองที่สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนของผลผลิตไฮโดรเจนที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออัตราส่วนของสาหร่ายสูงกว่าร้อยละ 70 ขึ้นไป

เมื่อหมักโดยใช้เฉพาะสาหร่ายพวงชะโดให้ผลผลิตไฮโดรเจนค่อนข้างต่ำเท่ากับ 27.34 ± 0.98 mL-H₂/g-VS_{added} ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จากการหมักน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 g/L ตลอดช่วงการหมักเป็นระยะเวลา 8 วัน เนื่องจากชุดหมักสาหร่ายพวงชะโดและน้ำตาลกลูโคสที่สัดส่วนของสารอาหารที่ไม่เหมาะสมส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากผลรวมของแก๊สไฮโดรเจนพบว่าในช่วงที่มีอัตราส่วนของสาหร่ายผสมอยู่มากคือ ร้อยละ 70-90 จะสามารถเกิดไฮโดรเจนได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง แต่จะเห็นได้ชัดเจนเมื่อมีอัตราส่วนของสาหร่ายที่ลดลงแต่อัตราส่วนของ POME ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ระยะเวลาช่วงของการปรับตัวจุลินทรีย์ (lag phase) นานขึ้นดังภาพที่ 4.1 เนื่องมาจากองค์ประกอบของน้ำมันที่ปนอยู่ใน POME ที่ย่อยสลายได้ค่อนข้างยากกว่า โดยผลจากการศึกษาของ Rasit *et al.* (2015) พบว่าไขมันมีผลต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสทำให้เกิดผลผลิตของการเกิดแก๊สล่าช้าในระยะเริ่มต้นของการหมัก แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตของแก๊สที่เกิดขึ้นในส่วนที่มี POME ตั้งแต่ร้อยละ 40 ขึ้นไปจะให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (P -value < 0.05) เมื่อเทียบกับที่มี POME ผสมอยู่ตั้งแต่ร้อยละ 30 ลงไป แต่ที่การหมัก POME อย่างเดียวให้ปริมาณรวมของไฮโดรเจนที่ต่ำกว่าแบบผสม ที่มี POME ผสมอยู่ตั้งแต่ร้อยละ 40 ขึ้นไป (ภาพที่ 4.2) โดยผลผลิตไฮโดรเจนของการหมัก POME อย่างเดียวอยู่ที่ 49.25 ± 3.81 mL-H₂/g-VS_{added} ซึ่งก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับที่มีการผสม POME ผสมอยู่ตั้งแต่ร้อยละ 40 ขึ้นไป

ผลการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าเมื่อใช้อัตราส่วนผสมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดที่เหมาะสม ส่งผลให้เกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Positive synergisms) ซึ่งเป็นผลให้เกิดการผลิตไฮโดรเจนได้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยปฏิสัมพันธ์เชิงบวกที่สำคัญได้แก่ อัตราส่วนปริมาณสารคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่เหมาะสมที่พบในงานวิจัยนี้ช่วงอัตราส่วนผสมที่มี POME ต่อสาหร่ายพวงชะโดช่วง 40:60-90:10 คือช่วงที่มีค่า C/N ratio ของซบสเตรตรวมอยู่ในช่วง 21.8-27.7 (ตารางที่ 4.3) มีความเข้มข้นของสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่ำ และค่า pH ในระบบการหมักที่เหมาะสม ซึ่งอยู่ในช่วง 5.15-5.49 ดังแสดงในตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 ปริมาณผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนรวมจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟองชะโดแบบแบทช์ที่ความเข้มข้นซับสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L ที่ระยะเวลา 8 วัน



ภาพที่ 4.2 ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟองชะโดแบบแบทช์ที่ความเข้มข้นซับสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L

การหมักร่วมระหว่าง POME และ สาหร่ายฟองชะโดแบบแบทช์ที่ความเข้มข้นซับสเตรตร่วมเริ่มต้น 10 g-VS/L โดยมีอัตราส่วนเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) โดยกล้าเชื้อผสม

(Mixed cultures) เพื่อศึกษาผลของการผลิตไฮโดรเจนเกิดพร้อมกับการผลิตกรดอะซิติกและบิวทิริก และกรดอื่น ๆ เช่น โพรพิโอนิก และกรด แลคติก (ตารางที่ 4.2) ส่งผลให้ในระหว่างการผลิตไฮโดรเจนค่าพีเอชของน้ำหมักมีค่าลดลง ดังนั้นในระบบหมักผลิตไฮโดรเจนจำเป็นต้องใช้สารบัฟเฟอร์เพื่อควบคุม pH ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฮโดรเจน (5-6) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกลุ่มแบคทีเรียผลิตไฮโดรเจน (Kengen *et al.*, 2009) น้ำหมักซึ่งมีองค์ประกอบเป็นกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ก็จะใช้เป็นซับสเตรตสำหรับการผลิตแก๊สมีเทนในขั้นตอนที่สอง (ขั้นตอนการผลิตมีเทน) ผลิตไฮโดรเจนสูงสุดได้จากการหมักร่วม POME และสาหร่ายพวงคะโทที่อัตราส่วน VS 90:10 พร้อมกับผลผลิตกรดอะซิติก 48.8 mM, กรดบิวทิริก 18.3 mM และกรดแลคติก 17.5 mM

ทั้งนี้ผลผลิตของกรดที่เกิดขึ้นในระบบส่งผลให้ระบบมีความเป็นกรดมากขึ้น แต่ที่อัตราส่วนของ POME ตั้งแต่ร้อยละ 40 ขึ้นไปพบว่าค่าความเป็นกรดที่วัดได้หลังหมักมีค่าที่สูงกว่า pH ก่อนหมัก แต่ในช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตไฮโดรเจน ซึ่งการลดลงของความเป็นกรดที่เกิดขึ้นเป็นไปได้ว่ากรดกรดแลคติกที่มีปริมาณมากใน POME ทำให้ pH เริ่มต้นต่ำ แต่เมื่อมีกระบวนการหมักเกิดขึ้นจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนกรดแลคติกด้วยปฏิกิริยาการหมักและออกซิเดชันเป็นกรด กรดอะซิติกและโพรพิโอนิก (Willquist *et al.*, 2012) ซึ่งมีค่าความเป็นกรดน้อยกว่าจึงเป็นผลให้มีการเพิ่มขึ้นของ pH หลังหมัก โดยกรดอินทรีย์มีค่าความเป็นกรดจากมากไปน้อยดังต่อไปนี้ แลคติก ($K_a=1.37 \times 10^{-4}$) > อะซิติก ($K_a=1.80 \times 10^{-5}$) > บิวทิริก ($K_a=1.51 \times 10^{-5}$) > โพรพิโอนิก ($K_a=1.34 \times 10^{-5}$) ตามลำดับ

ผลการทดลองตารางที่ 4.2 พบผลผลิตไฮโดรเจนมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการผลิตกรดโพรพิโอนิกเพิ่มขึ้นและยังคงมีผลผลิตกรดแลคติกอยู่ในระดับสูงผลผลิตไฮโดรเจนจากการหมักสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรตถูกผลิตออกมาพร้อมกับกรดอะซิติกและกรดบิวทิริก ดังนั้นเมื่อกรดอินทรีย์ชนิดอื่นถูกผลิตร่วมด้วยจึงส่งผลให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลง เนื่องจากระบบหมักมีความดันย่อยของไฮโดรเจนสูงจึงส่งผลให้แบคทีเรียเปลี่ยนวิถีของกระบวนการ (Pathway) ผลิตเป็นกรดแลคติกและหรือกรดโพรพิโอนิกเพิ่มมากขึ้น (Kongjan *et al.*, 2009; Van Niel *et al.*, 2003)

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์หลังการหมักร่วมแบบแบทช์ระหว่าง POME และสาหร่าย พงษะโตที่ความเข้มข้นซับสเตรตรวมเริ่มต้น 10 g-VS/L

Mixing ratio (VS Basis) POME: <i>C. demersum</i>	Concentration (mM)				pH _{initial}	pH _{final}
	Acetic	Butyric	Propionic	Lactic		
Control	14.6	7.2	1.6	11.0	5.50	4.59
100:0	36.4	11.1	0	20.8	4.45	4.95
90:10	48.8	18.3	0	17.5	4.55	5.03
80:20	41.6	13.6	3.2	27.0	4.67	5.09
70:30	37.9	12.9	3.5	25.7	4.80	5.15
60:40	35.1	11.5	3.7	20.2	4.94	5.21
50:50	33.6	10.9	5.8	17.1	5.11	5.34
40:60	35.8	9.6	5.4	15.3	5.32	5.49
30:70	28.4	7.5	6.2	9.9	5.61	5.45
20:80	29.7	6.2	5.7	9.9	5.87	5.49
10:90	25.7	5.6	9.8	5.1	6.22	5.65
0:100	23.6	5.1	8.0	5.0	6.53	5.61

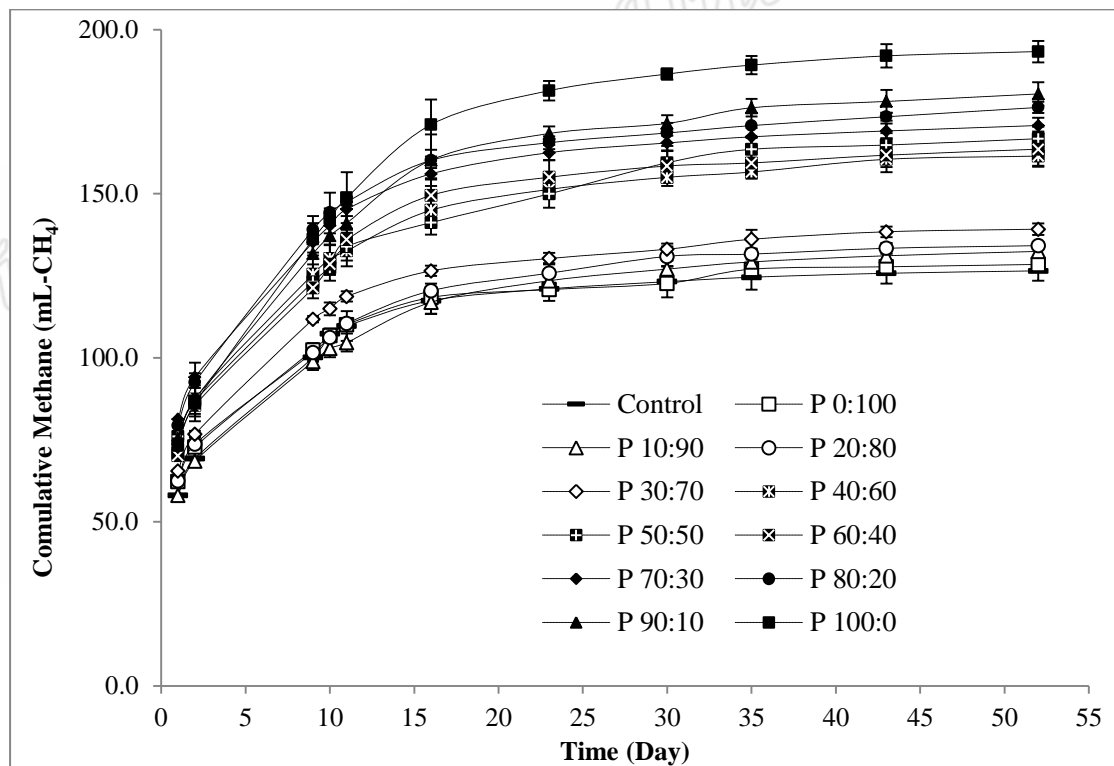
4.2.2 ศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทน (BMP) จากน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน

การผลิตมีเทนจากน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน ได้ถูกทดลองโดยใช้ขวดซีรัมขนาด 120 mL (ปริมาตรใช้งาน 60 mL) โดยเติมสารละลายจากขั้นตอนการหมักของแต่ละชุดการทดลองของขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนปริมาตร 18 mL (ปริมาตรสุดท้ายหลังเก็บตัวอย่าง) ลงในขวดซีรัม จากนั้นเติมกล้ำเชื้อที่เตรียมไว้ 42 mL ปิดด้วยฝาจุกซิลิโคน และฝาจุกอะลูมิเนียมโดยใช้ Hand crimper เปลี่ยนบรรยากาศภายใน Head space ให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยพ่นไนโตรเจนผ่านเป็นเวลา 3-5 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่สภาวะอุณหภูมิห้อง (25-35°C) กล้ำเชื้อที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากถังปฏิกรณ์ชนิดท่อไหล (PFR) ขนาด 2000 m³ และมี HRT 40-50 วัน ของ บริษัท ปาล์มพัฒนาไบโอแก๊ส จำกัด อ.หนองจิก จ.ปัตตานี กล้ำเชื้อที่ได้ถูกบ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน เพื่อให้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ยังเหลืออยู่ในกล้ำเชื้อ

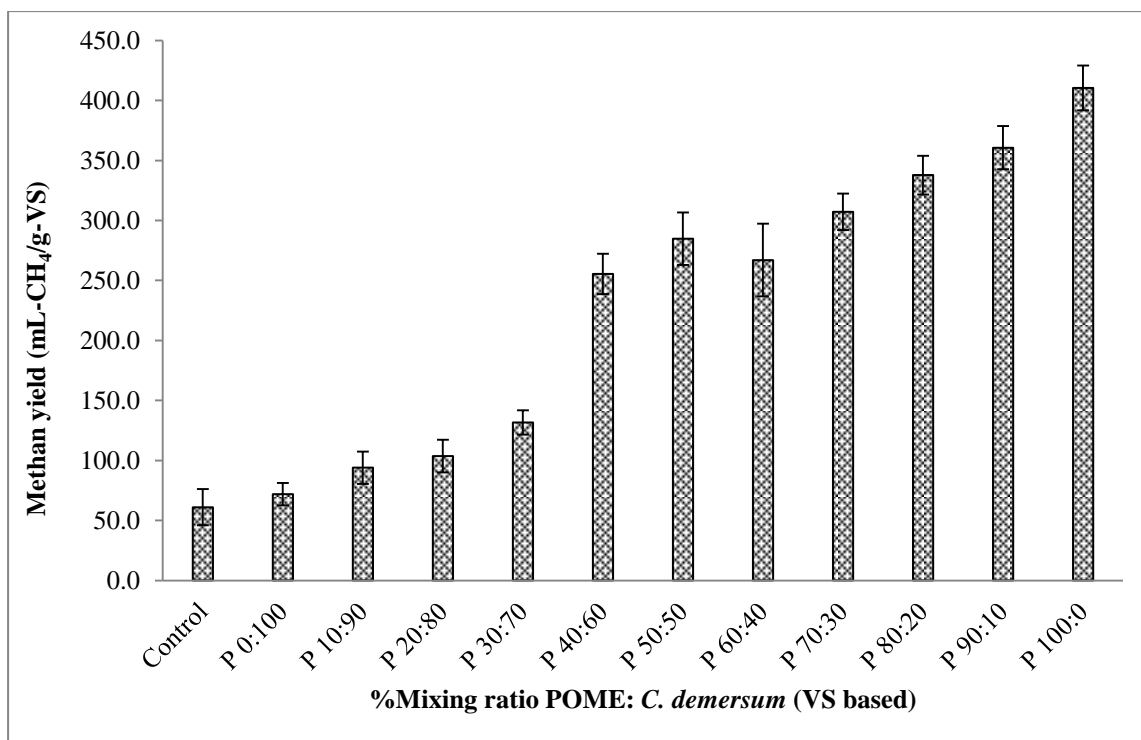
ผลการทดลองการหมักเพื่อผลิตมีเทนซึ่งใช้ระยะเวลาในการทดลอง 52 วัน (ภาพที่ 4.3) จะเห็นได้ว่าการผลิตแก๊สมีเทนเกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 1 ของการทดลอง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้มีความคุ้นชินกับซับสเตรตที่ใช้และอยู่ในสภาวะกระตุ้น โดยผลผลิตมีเทนจากการใช้น้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโตที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.4 ผลผลิตมีเทนสูงสุดเท่า 410.4±18.7 mL-CH₄/g-VS_{added} ได้จากน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนที่หมักเฉพาะ POME ผลผลิตมีเทนที่ได้จากน้ำหมักที่มีสาหร่ายผสมใน POME ที่อัตราส่วนร้อยละ 10-60 มีแนวโน้มลดลง แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P-value>0.05) และเมื่อใช้

น้ำหมักที่มีสาหร่ายสูงกว่าร้อยละ 70 ส่งผลให้ผลผลิตมีเทนลดลงอย่างมีนัยสำคัญและได้ผลผลิตมีเทนต่ำสุดเท่ากับ 71.9 ± 9.4 mL-CH₄/g-VS_{added} เมื่อใช้น้ำหมักที่ได้จากการหมักเฉพาะเฉพาะสาหร่ายมีเทนที่ผลิตได้จากน้ำหมักที่มีสาหร่ายผสมร้อยละ 10 ใน POME มีผลผลิตมีเทนเป็น 360.7 ± 18.0 mL-CH₄/g-VS_{added} เพิ่มขึ้นร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับผลผลิตมีเทนที่ได้จากน้ำหมักที่มีเฉพาะสาหร่าย

ดังนั้นการใช้สาหร่ายในการหมักอัตราส่วนผสมดังกล่าวสามารถทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวกจากการใช้ซั้บเตรตร่วม ส่งผลให้มีอัตราส่วนของสารคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) ในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับสภาวะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งผลของ C/N ratio ที่ได้จากการผลิตมีเทนที่เหมาะสมจากการทดลองอยู่ในช่วง 21.8-29 ส่งผลให้ได้ผลผลิตแก๊สมีเทนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มสัดส่วนสาหร่ายที่สูงเกินไป (ในงานวิจัยนี้คือสูงกว่าร้อยละ 70) จะส่งผลทำให้เกิดผลผลิตมีเทนลดต่ำลง ซึ่งอาจคาดการณ์ได้จากสาเหตุจากมีปริมาณไนโตรเจนในระบบมากเกินไป ซึ่งอาจก่อให้เกิดมีการปล่อยไนโตรเจนในระบบโดยไนโตรเจนที่ปล่อยมาจะอยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมไอออน และมีการปล่อยกรดไขมันระเหยได้เข้าสู่ระบบซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานและมีพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ในระบบการผลิตแก๊สชีวภาพ (Sialve *et al.*, 2009)



ภาพที่ 4.3 ปริมาณผลผลิตมีเทนรวมจากการหมักด้วยน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพุงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ



ภาพที่ 4.4 ผลผลิตมีเทนจากน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนด้วยการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ

ตารางที่ 4.3 ผลผลิตของมีเทนจากการหมักด้วยสารตั้งต้นต่าง ๆ ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่างกัน

C/N ratio	Substrate	Operation mode	Digestion time (d)	Temp. (°C)	CH ₄ yield (mL/g-VS)	references
5.64	Taihu blue algae	Batch, wet one stage	30	35	233.8	Maio <i>et al.</i> 2013
16.8	Chicken manure	Batch, wet one stage	45	37	328.0	Li <i>et al.</i> 2013 a
27.3	manure and corn stover	Batch, wet one stage	30	37	298.0	Li <i>et al.</i> 2013 b
20.0		Batch, wet one stage	30	37	281.0	Li <i>et al.</i> 2014
27.7	POME and <i>C.demersum</i>	Batch, wet two stage	52	31±4	360.7	This study
29.0	POME	Batch, wet two stage	52	31±4	410.4	This study
17.0	<i>C.demersum</i>	Batch, wet two stage	52	31±4	71.9	This study

จากผลการทดลองผลผลิตมีเทนที่ได้จากการหมักร่วมกันของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนของ C/N 27.7 ให้ผลผลิตมีเทน 360.7 ml-CH₄/g-VS ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหมักร่วมกันของ Chicken manure and corn stover (ตารางที่ 4.3) ที่มีอัตราส่วนของ C/N ใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าผลที่ได้มาจากการหมักแบบสองขั้นตอน ที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ดีกว่าแบบขั้นตอนเดียว เนื่องจากการหมักสองขั้นตอน ระบบจะอยู่ในสภาวะเหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตเพื่อผลิตกรดในขั้นตอนแรก และผลิตแก๊สมีเทนในขั้นตอนหลัง ทั้งสองสภาวะที่มีความแตกต่างกัน ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ของสภาวะนั้น ๆ ได้ อย่างเต็มที่ เป็นผลทำให้ผลผลิตของมีเทนที่ได้สูงกว่า แต่อย่างไรก็ตามผลจากการหมักจาก Taihu blue algae ที่มีอัตราส่วน C/N ต่ำมาก 5.64 แต่สามารถให้ผลผลิตที่สูงกว่าการหมักสาหร่ายพวงชะโดเพียงอย่างเดียว ที่อัตราส่วน C/N 17 ซึ่งสูงกว่า แต่ให้ผลผลิตน้อยกว่า ทั้งนี้แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบที่สำคัญนอกจากธาตุอาหารหลัก C/N แล้วก็ยังมีธาตุอาหารอื่น ๆ ที่สำคัญอีกเช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เป็นต้น สัดส่วนของหัวเชื้อกับซับสเตรต และชนิดของจุลินทรีย์ก็ยังเป็นอีกปัจจัยสำหรับการเกิดผลผลิตแก๊สมีเทนอีกด้วย ดังจะสังเกตได้จากผลผลิตไฮโดรเจนจากระบวนการหมักร่วมกันของ POME และสาหร่ายไฟจากการทดลองที่ช่วงร้อยละ 90-40 ของ POME พบว่าเกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Synergism) จากตารางที่ 4.4 ในระบบโดยผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จากการหมักร่วมกันให้ผลผลิตที่สูงกว่าการหมักแบบการหมักด้วยซับสเตรตที่เป็น POME หรือสาหร่ายพวงชะโดเพียงอย่างเดียว ในทางตรงกันข้ามผลจากการหมักร่วมกันบางอัตราส่วนของสารตั้งต้นผสมให้ผลผลิตน้อยกว่าแบบการหมักสารตั้งต้นเพียงอย่างเดียวคือให้ผลในทางลบ (Antagonism) ที่อัตราส่วนของการหมักร่วมกันที่ร้อยละ 30-10 ของ POME ให้ผลในทางตรงกันข้าม โดยผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จะน้อยกว่าผลผลิตไฮโดรเจนที่ควรได้จากการหมักร่วมกันของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนนี้ โดยผลผลิตไฮโดรเจนที่ควรจะได้คิดได้จากการรวมกันของผลผลิตไฮโดรเจนที่เกิดจากการหมักเพียงอย่างเดียวของ POME และสาหร่ายพวงชะโด ตามอัตราส่วนนั้น ๆ

ผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว ถึงแม้ว่าพลังงานรวมที่ผลิตได้จากการย่อยสลายร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดไม่ได้สูงกว่าการย่อยสลาย POME เพียงอย่างเดียว แต่การย่อยสลายร่วมกับมีแนวโน้มที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้สูงกว่า การย่อยสลาย POME อย่างเดียว ซึ่งถ้าพิจารณาในรูปของคุณภาพพลังงานจะได้พลังงานที่มีคุณภาพดีกว่า (ไบโอไฮเทนมีสัดส่วนของไฮโดรเจนมากกว่า) สาหร่ายพวงชะโดเป็นพรรณไม้ใต้น้ำที่ย่อยสลายทางชีวภาพได้ยากกว่าเมื่อเทียบกับ POME ดังนั้นการบำบัดขั้นต้น (Pretreatment) ของสาหร่ายพวงชะโดก่อนนำไปใช้เป็นซับสเตรตร่วมน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเพื่อเพิ่มผลิตไฮโดรเจนและมีเทน นอกจากนี้แล้ว ถ้าพิจารณาในแง่ของเสถียรภาพของปริมาณซับสเตรตที่ใช้ตลอดทั้งปี สาหร่ายพวงชะโดสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดทั้งปี ในขณะที่ผลผลิตปาล์มอาจจะมีน้อยลงบางช่วงเวลา ส่งผลให้มี POME น้อยลง ก็จะสามารถใช้สาหร่ายพวงชะโดทดแทนในอัตราส่วนที่สูงขึ้นได้เพื่อให้ระบบถึงปฏิกรณ์ดำเนินการได้เต็มกำลังการผลิตต่อเนื่องตลอดทั้งปี

ตารางที่ 4.4 ศักยภาพผลผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ

POME: <i>C.demersum</i> (VS Basis)	C/N Ratio Substrate	H ₂ Stage		CH ₄ stage		Total Energy kJ/g-VS
		Yield mL/g-VS	Energy kJ/g-VS	Yield mL/g-VS	Energy kJ/g-VS	
100:0	29.0	49.2	0.63	410.4	16.48	17.11
90:10	27.7	65.3	0.84	360.7	14.48	15.32
80:20	26.6	60.9	0.78	337.8	13.50	14.28
70:30	25.4	57.4	0.74	307.2	12.34	13.08
60:40	24.2	58.7	0.75	267.0	10.72	11.47
50:50	23.0	53.3	0.68	284.8	13.38	14.06
40:60	21.8	55.9	0.72	255.4	10.23	10.95
30:70	20.6	31.0	0.40	131.6	5.26	5.66
20:80	19.4	29.1	0.37	103.7	4.15	4.52
10:90	18.2	30.3	0.39	94.0	3.75	4.14
0:100	17.0	27.3	0.35	71.9	2.85	3.20

4.3 การผลิตแก๊สไฮโดรเจนแบบป้อนต่อเนื่องด้วย POME และสาหร่ายพวงชะโด

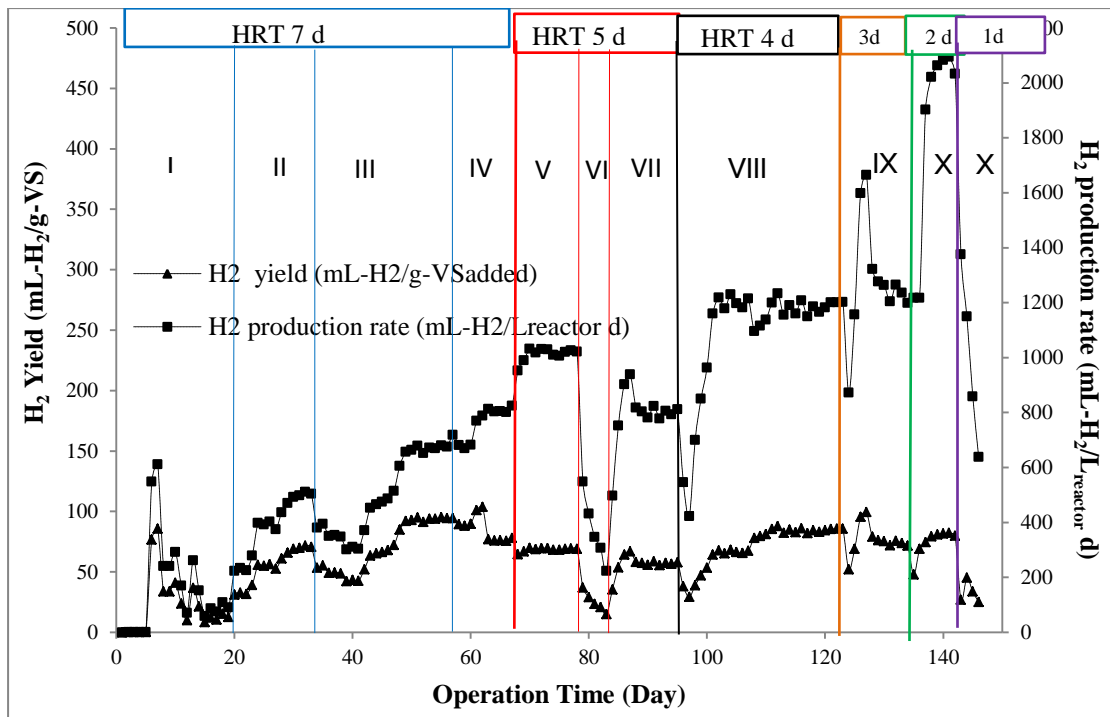
การหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดเพื่อผลิตไฮโดรเจนแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ CSTR ขนาด 10 L (ปริมาตรใช้งาน 7 L) โดยใช้กล้าเชื้อจากถังปฏิกรณ์ CSTR (ปริมาตรใช้งาน 1.35 L) ของการหมักร่วมระหว่าง POME และซีรัมน้ำยาสกิมเพื่อผลิตไฮโดรเจนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกและควบคุมระยะเวลาพักเก็บน้ำ (HRT) 4.5 วัน จากงานวิจัยก่อนหน้านี ในงานวิจัยนี้ได้เตรียมระบบถังปฏิกรณ์ CSTR โดยใช้จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกควบคุมอุณหภูมิภายในถังปฏิกรณ์ที่ 55°C โดยใช้น้ำร้อนจาก Water Bath ไหลผ่านระบบ Jacket ของถังปฏิกรณ์ CSTR ผลผลิตไฮโดรเจนในแต่ละสภาวะปฏิบัติการ (ภาพที่ 4.5) ช่วงการเริ่มต้นระบบการหมักในถังปฏิกรณ์ (18 วันแรก) ได้ป้อน POME ผสมกับสารละลาย Basic Anaerobic (BA) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน โดยควบคุมอัตราการไหลที่ HRT 7 วัน และมีการเติมสารละลาย NaHCO₃ ความเข้มข้น 5 g/L_{substrate} เพื่อควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง 5-6 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกลุ่มแบคทีเรียผลิตไฮโดรเจนในวันที่ 6 และ 7 เกิดไฮโดรเจนขึ้นอย่างรวดเร็วในอัตราการผลิตแก๊สไฮโดรเจนอยู่

ในช่วง 548-612 mL- H₂/L_{reactor}·d แต่เนื่องจาก pH ในระบบหรือน้ำหมักขาออกมีค่าค่อนข้างสูงเกินสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียผลิตไฮโดรเจน ส่งผลให้แบคทีเรียลดกิจกรรมการทำงานในวันที่ 8 เนื่องจาก pH ในระบบจะค่อนข้างสูงประมาณ 7 ส่งผลให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนลดลงอย่างรวดเร็วเป็น 241 mL-H₂/L_{reactor}·d ดังนั้นในวันที่ 9 จึงทำการปรับ pH ในระบบโดยการป้อน POME ผสมกับสารละลาย BA โดยไม่ได้เติม NaHCO₃ เพื่อให้ pH ในระบบลดลง จากนั้นในช่วงวันที่ 10-18 ทำการเติม POME และสารละลาย BA โดยเติม NaHCO₃ (2.5 g/ L_{substrate}) ซึ่งพบว่า pH ในระบบเริ่มกลับเข้าสู่สภาวะที่เหมาะสมมากขึ้นแต่อย่างไรก็ตามอัตราการผลิตไฮโดรเจนลดลงถึง 51 mL-H₂/L_{reactor}·d ในวันที่ 15 หลังจากนั้นผลผลิตไฮโดรเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 15-18 จากนั้นเมื่อจุลินทรีย์ในระบบเกิดการปรับตัวและมีแนวโน้มที่สามารถเจริญเติบโตได้ดี จึงป้อนเฉพาะ POME โดยไม่ต้องผสมกับสารละลาย BA แต่ก็ยังผสมสารกับสารละลาย NaHCO₃ 2.5 g/ L_{substrate} ในช่วงวันที่ 19-33 พบว่าจุลินทรีย์ภายในระบบเกิดความคุ้นชินสามารถเจริญเติบโตได้และมีอัตราการผลิตไฮโดรเจนคงที่ในช่วงวันที่ 28-33 โดยมีผลผลิตได้ไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 61-72 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 436-511 mL-H₂/L_{reactor}·d

จากนั้นจึงเริ่มใช้สารละลายถ้าปาล์ม (50 g/L) ปรับค่า pH ของซบสเตอร์และเป็นตัวบัฟเฟอร์ที่นำมาใช้แทน NaHCO₃ ที่ต้องเติมเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ภายในระบบการหมักในถังปฏิกรณ์ CSTR โดยผสมลงใน POME ที่ใช้เป็นซบสเตอร์ที่สภาวะ HRT 7 วัน (วันที่ 34-56) ผลผลิตไฮโดรเจนในระบบเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 48-56 ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 85-95 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราการการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 606-680 mL-H₂/L_{reactor}·d เมื่อระบบเริ่มคงตัวจึงเริ่มการหมักร่วมโดยเติมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) ของซบสเตอร์รวมในช่วงวันที่ 57-67 ระบบการหมักเริ่มคงตัวในช่วงวันที่ 61-67 โดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 76-101 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 769-824 mL-H₂/L_{reactor}·d เมื่อระบบคงตัวจึงทดสอบสมรรถนะของระบบหมักในถังปฏิกรณ์ที่อัตราการบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูงขึ้น โดยปรับลด HRT ลงเป็น 5 วัน ที่ความเข้มข้นของสาหร่ายเท่าเดิมร้อยละ 5 (VS Basis) ในช่วงวันที่ 68-78 โดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 68-70 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 1,010-1,031 mL-H₂/L_{reactor}·d ที่สภาวะคงตัวในช่วงวันที่ 70-78 จากนั้นเปลี่ยนความเข้มข้นของสาหร่ายพวงชะโดเป็นร้อยละ 30 (VS Basis) ของซบสเตอร์เพื่อเป็นการศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ในในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในช่วงวันที่ 79-83 โดยยังคงสภาวะ HRT 5 วัน พบว่าผลผลิตไฮโดรเจนลดลงอย่างรวดเร็วถึง 224 mL-H₂/L_{reactor}·d เนื่องจากอาจเกิดสภาวะอัตราบรรทุกสารอินทรีย์สูงเกินไปทำให้เชื้อจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถปรับตัวได้และถูกยับยั้งการทำงานจากความเข้มข้นของซบสเตอร์ที่ป้อนเข้าไปสังเกตได้จากภาพที่ 4.6 pH ในระบบยังคงเป็นปกติไม่มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นที่เกิดจากการสร้างของจุลินทรีย์เมื่อมีการย่อยสลายซบสเตอร์ที่ป้อนเข้าไป หรืออัตราส่วน C/N ของซบสเตอร์รวมไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงปรับลดปริมาณของสาหร่ายพวงชะโดเป็นร้อยละ 10 (VS Basis) ของซบสเตอร์รวมโดยพบว่าปริมาณของแก๊สไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกของการลดสาหร่ายพวงชะโดและสูงสุดในวันที่ 87 ของการทดลองโดยหลังจากนั้นไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นลดลงมาในช่วงวันที่ 88 และเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 88-95 ของการทดลองโดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 55-59 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตรา

การผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 778-823 mL-H₂/L_{reactor.d} และผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 57-67 mL-H₂/g-VS_{added} ซึ่งพบว่ามีน้อยกว่าที่ร้อยละ 5 ของสาหร่ายพวงชะโดที่ใช้หมักร่วม แต่อย่างไรก็ตามในการนี้เพื่อเป็นการหาปริมาณของสาหร่ายพวงชะโดที่สูงที่สุด สามารถทดแทนในยามขาดแคลน POME ได้ในปริมาณที่สูง และจากร้อยละของสาหร่ายที่ได้ศึกษาข้างต้นพบว่าที่ร้อยละ 10 มีความเหมาะสมในการนำมาศึกษาต่อไป

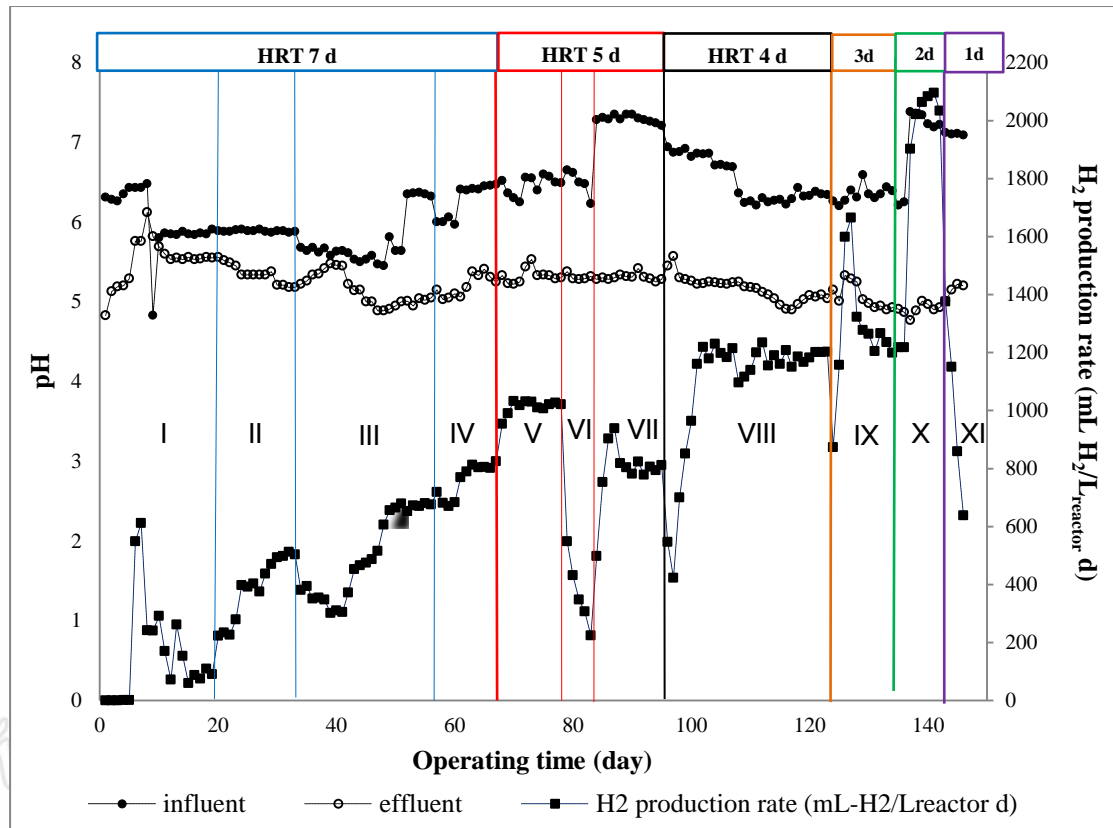
เมื่อระบบคงตัวได้ปรับลด HRT เป็น 4 วัน โดยคงความเข้มข้นของสาหร่ายร้อยละ 10 (VS Basis) ของซัสเตรตรวม ระบบเริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัวในช่วงวันที่ 109-123 โดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 80-88 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 1,116-1,234 mL-H₂/L_{reactor.d} ซึ่งให้ผลผลิตไฮโดรเจนซึ่งถือว่ามีความเหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนได้สูงขึ้นจาก HRT ก่อนหน้าที่ได้ถูกทำการทดลอง ดังนั้นเมื่อระบบเริ่มคงที่ทำการปรับลด HRT ที่ 3 วัน โดยหมักในช่วงวันที่ 126-136 โดยในช่วงแรกของการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ในระบบมีการปรับตัวเนื่องจาก OLR ที่สูงขึ้นส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนลดลงในวันแรกและเมื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาวะได้ทำให้สามารถผลิตแก๊สโดยแก๊สไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งสูงสุดในวันที่ 129 และหลังจากนั้นผลผลิตไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นลดลงอย่างรวดเร็วและคงที่ในวันที่ 128-134 โดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 72-79 mL-H₂/g-VS_{added} และอัตราการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 1,199-1,322 mL-H₂/L_{reactor.d} ซึ่งจากการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์แต่เมื่อถึงสภาวะหนึ่งที่มีการย่อยสลายได้มากก็จะให้ผลผลิตพวกกรดในระบบเพิ่มขึ้นดังจะเห็นในภาพที่ 4.6 ว่า pH ในระบบลดลงซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการทำงานลดลงจึงเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของแก๊สที่เกิดขึ้นมาด้วยจากนั้นทำการปรับลด HRT ที่ 2 วันโดยได้ทำการปรับ pH เริ่มต้นของระบบให้สูงขึ้นด้วยเกลือต่าง เพื่อเป็นการเพิ่มบัฟเฟอร์ในระบบให้ระบบสามารถรองรับความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าในวันแรกผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนลดลงอย่างมากแต่หลังจากนั้นก็เพิ่มปริมาณขึ้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถปรับตัวกับสารอินทรีย์ที่เพิ่มสูงขึ้นถึง 25.48 g-VS/L_{reactor.d} ได้และเริ่มคงที่ในวันที่ 138-142 โดยได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 79-82 mL-H₂/g-VS_{added} และจะเห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนโดยเฉพาะอัตราผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่สูง อยู่ในช่วง 2,022-2,095 mL-H₂/L_{reactor.d} ถึงแม้ว่า pH ระบบจะค่อนข้างต่ำและ OLR ที่สูงแต่การเติมเกลือต่างก็สามารถเป็นบัฟเฟอร์ให้ระบบได้ดี ทำให้สามารถรองรับความเป็นกรดที่เกิดขึ้นภายในระบบ และรักษาสภาวะให้ pH คงที่ได้ แต่เมื่อทำการปรับลด HRT 1 วัน โดยยังคง pH เริ่มต้นให้สูงพบว่ามีการลดลงของปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและ pH ในระบบเพิ่มสูงขึ้น สันนิษฐานได้ว่าระบบอาจเกิดการ Wash out ของจุลินทรีย์ในระบบออกไปเนื่อง pH ที่เพิ่มขึ้นแสดงถึง pH ที่เกิดจากซัสเตรตที่ป้อนเข้าสู่ระบบและถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ผลิตกรดได้ไม่มากทำให้ได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนน้อยตามและหากยังคงดำเนินการเช่นนี้ต่อไป จุลินทรีย์ในระบบอาจลดลงสภาวะที่ HRT 1 วัน จึงไม่เหมาะสมต่อการหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนต่อไป



ภาพที่ 4.5 ผลผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะ HRT 7 วัน (I) ป้อน POME ผสมสารละลาย BA และสารละลาย NaHCO_3 2.5-5 g/L, (II) ป้อน POME ผสมสารละลาย NaHCO_3 2.5 g/L, (III) ป้อน POME ผสมสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, (IV) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) สารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 5 วัน (V) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, (VI) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 30 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50g/L (VII) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 60 g/L, ที่สภาวะ HRT 4 วัน (VIII) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 3 วัน (IX) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 2 วัน (X) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 70 g/L และที่สภาวะ HRT 1 วัน (XI) ป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 70 g/L

จากผลการทดลอง HRT ที่มีความเป็นไปได้และเหมาะสมต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโด ในการทดลองนี้คือ HRT 2 วัน โดยการเติมอัตราส่วนของสาหร่าย ด้วยปริมาณของสาหร่ายพวงชะโดที่ใช้ร้อยละ 10 (VS Basis) ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงอย่างมากคือความเป็น Alkalinity ในระบบ เพราะยังมี OLR ที่สูงหากจุลินทรีย์ผลิตกรดสามารถย่อยสลายได้ดีก็จะเกิดกรดในปริมาณที่มากและหากในระบบมีความเป็นบัฟเฟอร์ไม่มากพออาจมีผลกระทบต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบซึ่งเป็นตัวการหลักในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้ ดังจะเห็นได้จาก HRT 3 วัน ที่มีปริมาณความเป็นกรดที่สูงขึ้นและระบบบัฟเฟอร์ที่ไม่สามารถเพียงพอที่จะรองรับสภาวะกรดที่เกิดขึ้นมีผลทำให้ปริมาณของแก๊สไฮโดรเจนที่ผลิตลดลง

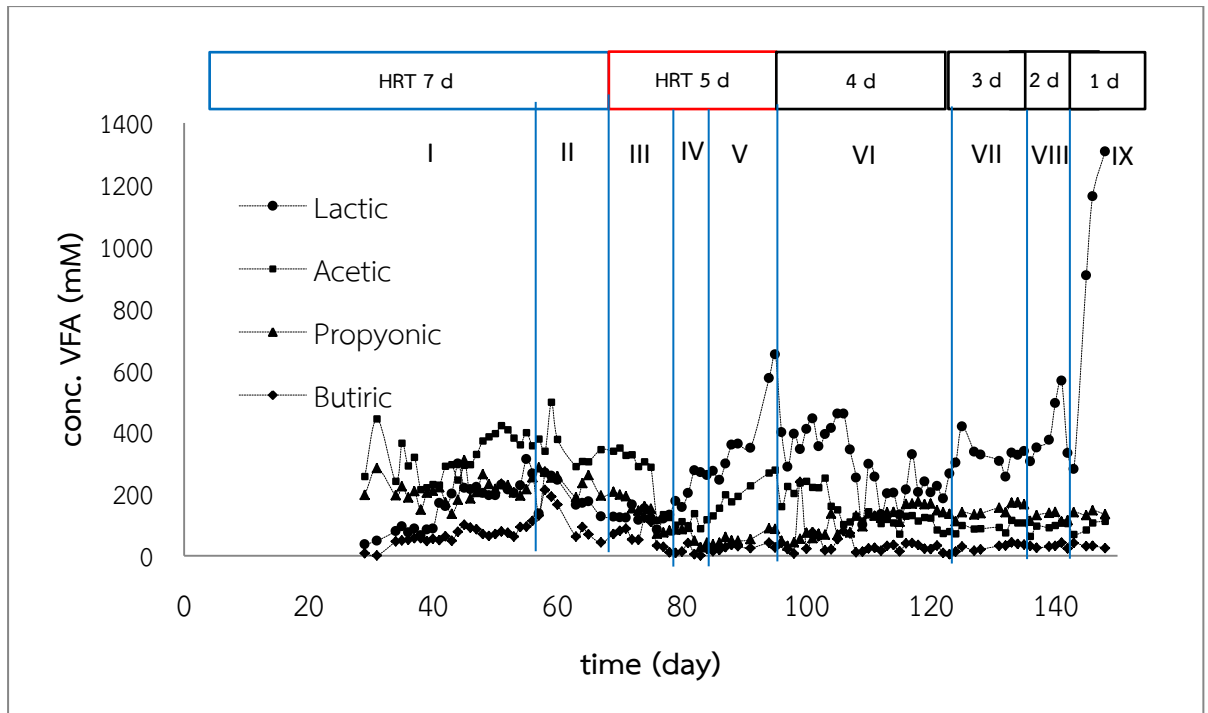
ดังนั้นปัจจัยต่าง ๆ ที่สำคัญที่มีผลต่อผลผลิตไฮโดรเจน หลัก ๆ ในการดำเนินการที่สภาวะนี้ คือ pH ความเป็น Alkalinity ของระบบและปริมาณสารอินทรีย์ในซับสเตรต ที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตไฮโดรเจน



ภาพที่ 4.6 อัตราผลผลิตไฮโดรเจนและ pH ขาเข้า และขาออก จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโดด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะ HRT 7 วัน (I) ป้อน POME ผสมสารละลาย BA และสารละลาย NaHCO_3 2.5-5 g/L, (II) ป้อน POME ผสมสารละลาย NaHCO_3 2.5 g/L, (III) ป้อน POME ผสมสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, (IV) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) สารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 5 วัน (V) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, (VI) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 30 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, (VII) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 60 g/L, ที่สภาวะ HRT 4 วัน (VIII) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 3 วัน (IX) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 50 g/L, ที่สภาวะ HRT 2 วัน (X) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 70 g/L และที่สภาวะ HRT 1 วัน (XI) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโดร้อยละ 10 (VS Basis) และสารละลายเถ้าปาล์ม 70 g/L

ในระบบการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนนั้นสารละลายบัฟเฟอร์มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการรักษาระดับ pH ให้เหมาะสม โดยทั่วไปแล้วการหมักในห้องปฏิบัติการนั้น มีการใช้สารละลาย NaHCO_3 ซึ่งมีผลต่อต้นทุนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้พบว่าสามารถใช้สารละลายเถ้าปาล์มซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากในอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มสามารถนำมาใช้ทดแทนสารละลาย NaHCO_3 และสามารถช่วยรักษาระดับ pH ให้อยู่ในช่วงที่แบคทีเรียผลิตไฮโดรเจนสามารถเจริญได้และให้ผลผลิตไฮโดรเจนในระดับที่น่าพอใจ งานวิจัยก่อนหน้านี้โดย Saritpongteeraka and Chaiprapat (2008) ใช้เถ้าไม้สำหรับการปรับสภาพน้ำเสียโรงงานน้ำตาลขึ้นสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพในถังปฏิกรณ์ชนิด Anaerobic Baffle Reactor ซึ่งได้ผลผลิตแก๊สชีวภาพในระดับดี ($0.29-0.30 \text{ L-CH}_4/\text{g-COD}_{\text{removed}}$)

ผลการวิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้และกรดอินทรีย์ด้วยเครื่อง HPLC ลักษณะของการเกิดกรดจะเห็นว่ามีความสอดคล้องกับการเกิดผลผลิตไฮโดรเจน โดยเฉพาะการเกิดกรดอะซิติกยังมีการผลิตหรือการเกิดกรดอะซิติกในปริมาณมาก การเกิดผลผลิตไฮโดรเจนก็จะได้มากขึ้น ถึงแม้ว่าปริมาณของไฮโดรเจนจะเกิดขึ้นมากกว่าหากมีการผลิตกรดบิวทริก แต่ในกระบวนการผลิตของจุลินทรีย์กลุ่มผลิตกรด มักจะผลิตในรูปของกรดอะซิติกมากกว่ากรดบิวทริกดังแสดงในภาพที่ 4.7 ที่มีการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของกรดที่เกิดขึ้นในระบบของถังหมัก CSTR ที่ HRT 7, 5, 4, 3, 2 และ 1 วัน ซึ่งจากการวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยง่ายพบว่าที่ HRT 7 วันเกิดการผลิตรกรดอะซิติกสูงสุด (200-300 mM) ตามด้วยกรดโพรพิโอนิก (135-260 mM) กรดแลคติก (110-200 mM) และกรดบิวทริก (50-100 mM) ซึ่งแสดงถึงแนวโน้มที่ดีในการเกิดผลผลิตไฮโดรเจนที่สูง แต่หลังจาก HRT 7 วัน พบปริมาณของกรดแลคติกที่สูงที่สุด และมีปริมาณที่สูงขึ้นอย่างมากเมื่อเข้าสู่ HRT 1 วัน แต่ pH ของระบบยังอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมแม้ว่าจะต่ำถึง pH 5.2 แต่ก็ยังอยู่ในสภาวะที่จุลินทรีย์ผลิตกรดยังคงสามารถเจริญได้ ดังนั้นอีกสาเหตุของปริมาณกรดแลคติกที่สูงมาจากองค์ประกอบของซับสเตรต POME ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบมีปริมาณกรดแลคติกสูงถึง 2,397 mM ซึ่งอาจเป็นสาเหตุเมื่อ HRT ต่ำลงปริมาณของซับสเตรตที่ป้อนเข้าสู่ระบบมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการสะสมของกรดไขมันระเหยได้และหรือกรดอินทรีย์ ในกรณีที่เกิดการผลิตกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียวจะให้ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนในทางทฤษฎีคือ $498 \text{ mL-H}_2/\text{g-Sugar}$ (STP) ส่วนในกรณีที่เกิดการผลิตกรดบิวทริกเพียงอย่างเดียวจะให้ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนในทางทฤษฎีคือ $249 \text{ mL-H}_2/\text{g-Sugar}$ (STP) ในขณะที่การผลิตกรดชนิดอื่น ๆ พบว่าไม่เกิดการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและอาจมีการใช้ไฮโดรเจนร่วมเพื่อผลิตด้วยในกรณีของการเกิดกรดโพรพิโอนิก (Angenent *et al.*, 2004) ดังนั้นผลผลิตไฮโดรเจนจึงขึ้นกับการผลิตอินทรีย์ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาการหมักแบบต่อเนื่อง การเกิดกรดหลากหลายชนิดส่งผลให้ผลผลิตไฮโดรเจนมีการเปลี่ยนแปลงได้โดยขึ้นอยู่กับสภาวะการปฏิบัติการและสิ่งแวดล้อม

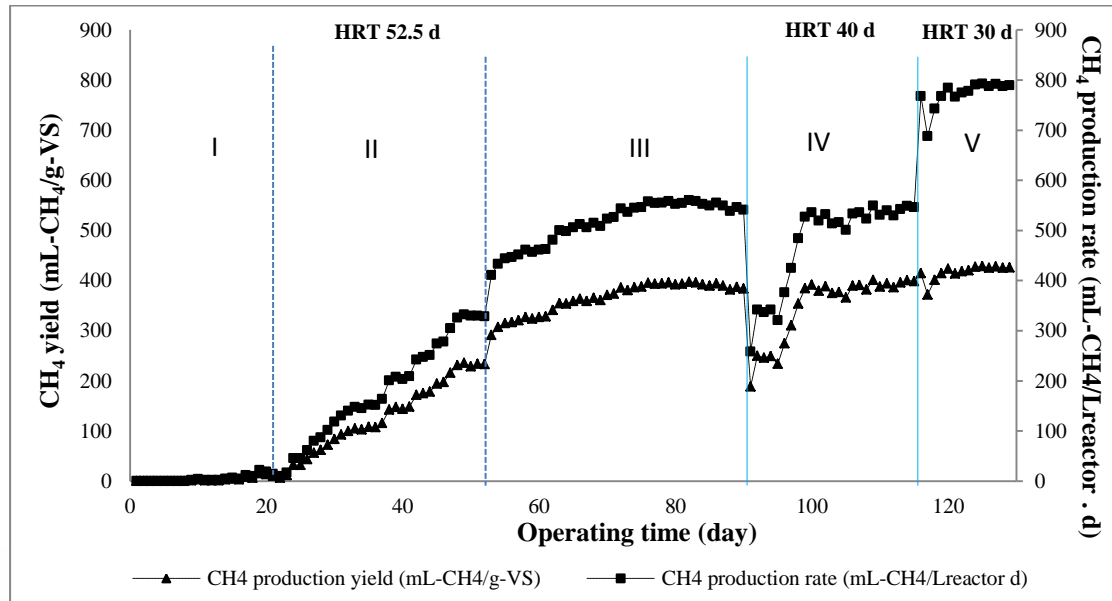


ภาพที่ 4.7 กรดอินทรีย์จากการหมักร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR ที่สภาวะ (I) เริ่มต้นป้อน POME สารละลาย NaHCO_3 2.5 g/L และ ป้อน POME ที่ HRT 7 วัน, (II) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโตร้อยละ 5 (VS Basis) ที่ HRT 7 วัน, (III, IV, V) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโตร้อยละ 5, 30 และ 10 (VS Basis) ตามลำดับ ที่ HRT 5 วัน และ (VI, VII, VIII, IX) ป้อน POME ผสมสาหร่ายฟุ้งชะโตร้อยละ 10 (VS Basis) ที่ HRT 4, 3, 2, และ 1 วัน ตามลำดับ

4.4 การผลิตแก๊สมีเทนแบบป้อนต่อเนื่องด้วยน้ำทิ้งจากขั้นตอนผลิตไฮโดรเจน

การผลิตมีเทนจากน้ำหมักจากกระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ PFR ขนาด 43.0 L (ปริมาตรใช้งาน 29.0 L) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สองของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน ที่สภาวะเมโซฟิลิกที่อุณหภูมิห้อง การทดลองครั้งนี้ทำการผลิตมีเทนโดยควบคุมระยะเวลาที่เก็บน้ำ (HRT) 52.5 วัน ช่วงเริ่มต้นระบบเติมกล้าเชื้อเทียบเป็นร้อยละ 75 ของปริมาตรใช้งานทั้งหมดและเติมน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วม POME และสาหร่ายฟุ้งชะโตที่สภาวะ HRT 7 วัน ให้ได้ปริมาตรใช้งานหลังจากนั้นไม่ทำการป้อนซับสเตรตเข้าสู่ระบบเพื่อปล่อยให้กลุ่มจุลินทรีย์ปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ (22 วันแรก) พบว่า 7 วันหลังของการทดลอง จากภาพที่ 4.8 กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์เริ่มผลิตแก๊สถึงแม้ว่าร้อยละความเข้มข้นช่วงเริ่มต้นของมีเทนจะยังคงมีน้อยดังแสดงในภาพที่ 4.10 แต่ก็มีแนวโน้มค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งคงที่ตั้งแต่วันที่ 18 และมี pH ของน้ำหมักเริ่มสูงและขึ้นเข้าสู่สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ (7.4-7.9) ดังภาพที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH และผลผลิตของแก๊สที่เกิดขึ้น ซึ่งเป็นสภาวะ pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน (Kongjan *et al.*, 2011) จากนั้นจึงเริ่มดำเนินการเติมน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนที่ HRT 7 วัน ที่อัตราการไหลเทียบเท่า HRT 52.5 วัน พบว่าปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดขึ้นนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงวันที่

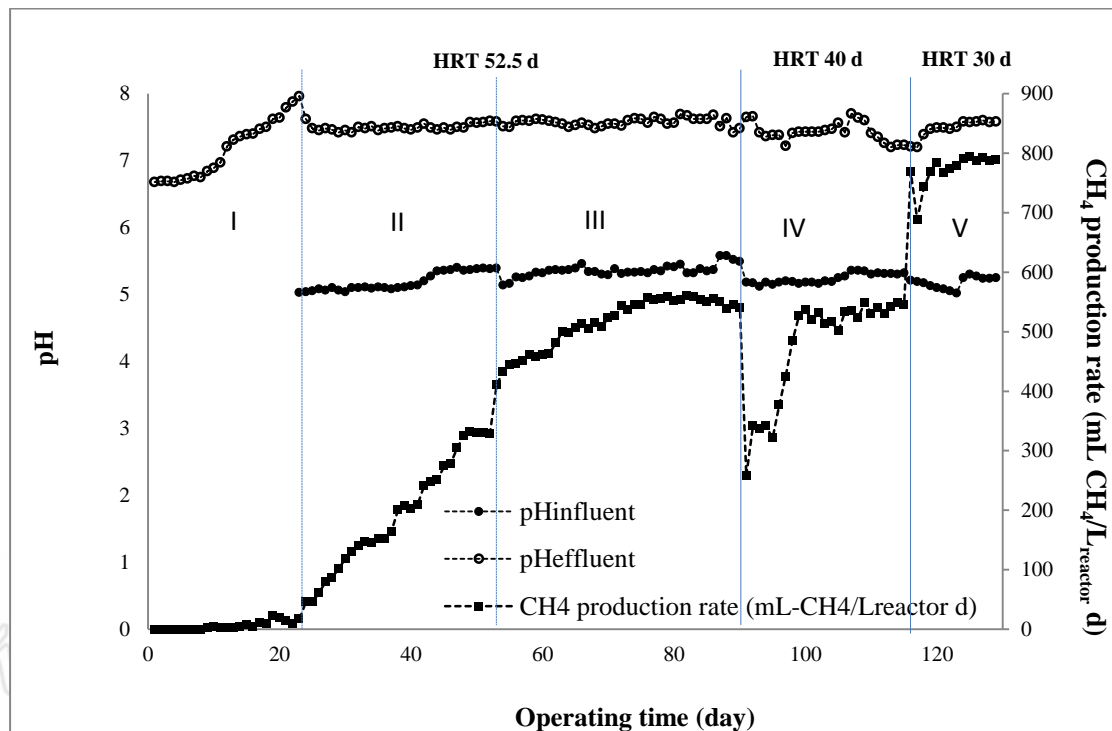
23-47 และผลผลิตมีเทนเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 48-52 โดยมีผลผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 216-236 mL-CH₄/g-VS_{added} และอัตราการผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 326-332 mL-CH₄/L.d จากนั้นจึงป้อนน้ำหมักจากการผลิตไฮโดรเจนที่ HRT 5 วัน ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดขึ้นนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 53-75 ของการทดลองพบว่าผลผลิตมีเทนเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 70-90 วัน โดยมีผลผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 371-398 mL-CH₄/g-VS_{added} และอัตราการผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 523-558 mL-CH₄/L.d



ภาพที่ 4.8 ผลผลิตมีเทนด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่สภาวะ (I) ปรับสภาพกล้าเชื้อเริ่มต้นระบบ, ควบคุม HRT ของถัง PFR 52.5 วัน (II, III) ป้อนน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมกันระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดในถัง CSTR -HRT 7 และ 5 วัน ตามลำดับ, (IV) ควบคุม HRT ของถัง PFR 40 วัน และ (V) ควบคุม HRT ของถัง PFR 30 วัน

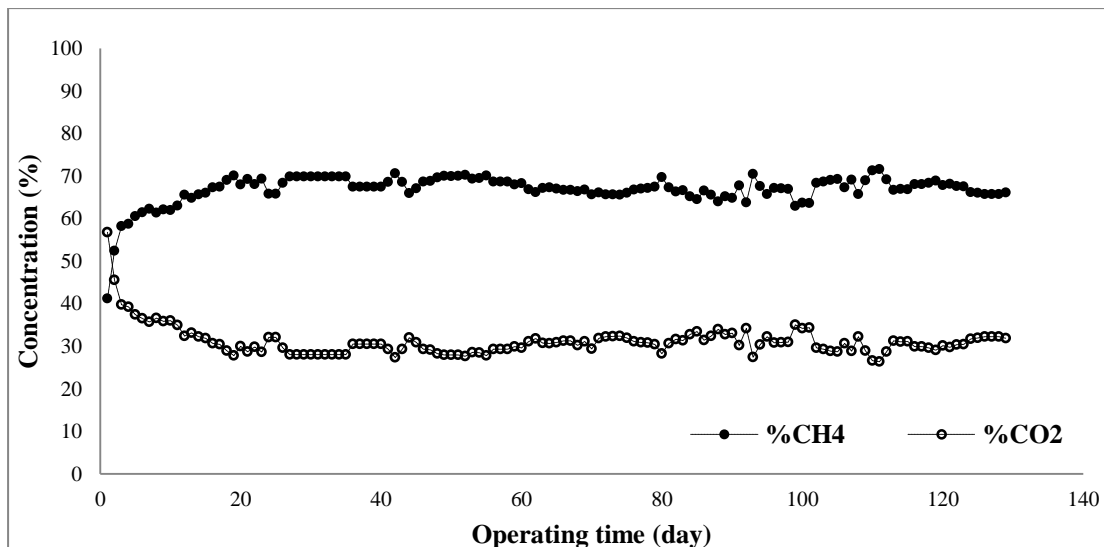
เมื่อทำการทดลองจนกระทั่งเสร็จสิ้น HRT ที่ 52.5 วัน พบว่าระบบมีการผลิตแก๊สที่ลดลงและหยุดการบันทึกผลและตรวจหาสาเหตุ คาดว่ามาจากการรั่วออกของแก๊ส แต่อย่างไรก็ตามหลังจากปิดรอยทั้งหมดที่คาดว่ารั่วก็ยังคงผลผลิตแก๊สน้อยอยู่เช่นเดิม จึงคาดว่าระบบมีปริมาณของตะกอนที่ค่อนข้างสูงจากการสะสมของตะกอนเซลล์จุลินทรีย์และสารอินทรีย์ต่าง ๆ จึงอาจเป็นตัวการหลักทำให้พื้นที่สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ลดลง ดังนั้นจึงถ่ายตะกอนของระบบออกปริมาณร้อยละ 25 ของปริมาตรการทำงาน และเติมน้ำหมักจากขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนที่ถูกดำเนินการ HRT 5 วัน เข้าสู่ระบบพบว่าเริ่มมีการผลิตแก๊สเกิดขึ้นรอนจนกระทั่งปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นลดลง และเริ่มดำเนินการทดลองต่อที่ระยะเวลาการกักเก็บ HRT 40 วัน โดยใช้ น้ำหมักจากการผลิตไฮโดรเจนที่ HRT 4 วัน โดยเริ่มทำการทดลองต่อเนื่องในวันที่ 91 พบว่าปริมาณของแก๊สมีเทนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งเริ่มคงที่ตั้งแต่วันที่ 99-115 ของการทดลองโดยผลผลิตมีเทนที่ได้อยู่ในช่วง 366-401 mL-CH₄/g-VS_{added} และอัตราผลผลิตที่ได้ 501-549 mL-CH₄/L.d จะเห็นได้ว่าปริมาณที่เพิ่มขึ้นของแก๊สมีเทนไม่มากและอัตราผลผลิตที่ไม่แตกต่างกันกับ HRT ก่อนหน้าเนื่องมาจากปริมาณของของแข็งที่ระเหยได้ของซัสเตรตรวมน้อยลงจากเดิมทำให้สารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบนั้นใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ทำให้ผลผลิตของแก๊สที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกันกับ HRT 52.5 วัน ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถเพิ่ม OLR เพื่อผลผลิตมีเทนที่เพิ่มขึ้นได้ จึงดำเนินการปรับลด HRT ลงที่ 30 วัน จะเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อปริมาณสารที่บรรจุเพิ่มสูงขึ้น ผลผลิตมีเทนและอัตราการผลิตที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและเริ่มคงที่ในวันที่ 120-129 ของการทดลอง 52 โดยมีผลผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 414-428 mL-CH₄/g-VS_{added} และอัตราการผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 767-793 mL-CH₄/L.d



ภาพที่ 4.9 อัตราผลผลิตมีเทน pH ขาเข้าและขาออก ด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่สภาวะ (I) ปรับสภาพกล้าเชื้อเริ่มต้นระบบ, ควบคุม HRT ของถัง PFR 52.5 วัน, (II, III) บ่อน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมกันระหว่าง POME และสาหร่ายฟงชะโดในถัง CSTR จาก HRT 7, 3 วันตามลำดับ, (IV) ควบคุม HRT ของถัง PFR 40 วัน และ (V) ควบคุม HRT ของถัง PFR 30 วัน

การดำเนินการทดลองการหมักเพื่อผลิตมีเทนพบว่าความเข้มข้นของมีเทนที่ได้จากการศึกษาจากการหมักร่วมในช่วงตั้งแต่วันที่ 20 ของการทดลองจนกระทั่งการดำเนินการที่ HRT 30 วัน พบว่าความเข้มข้นของมีเทนจะอยู่ในช่วงร้อยละ 64-70 ของมีเทน และผลผลิตมีเทนที่เกิดขึ้นที่ HRT 30 วัน มีการเกิดผลผลิตมีเทนที่สูงขึ้นจาก HRT 40 วัน โดยมีผลผลิตมีเทนเฉลี่ย 391 ± 6.6 เมื่อลดเป็น 30 วัน ปริมาณของมีเทนเฉลี่ยที่เกิดขึ้นเพิ่มขึ้นถึง 424 ± 4.6 mL-CH₄/g-VS (344.4 ± 4.6 mL-CH₄/g-COD) ที่อุณหภูมิห้อง โดยค่าทฤษฎีของผลผลิตมีเทน 350 mL-CH₄/g-COD ที่ STP อย่างไรก็ตามการผลิตยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และ pH ในระบบก็ยังคงอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถดำเนินการหมักที่อัตราการบรรจุสารอินทรีย์สูงขึ้นได้จึงมีความเป็นไปได้ในการปรับลด HRT ที่ลดลงต่อไป



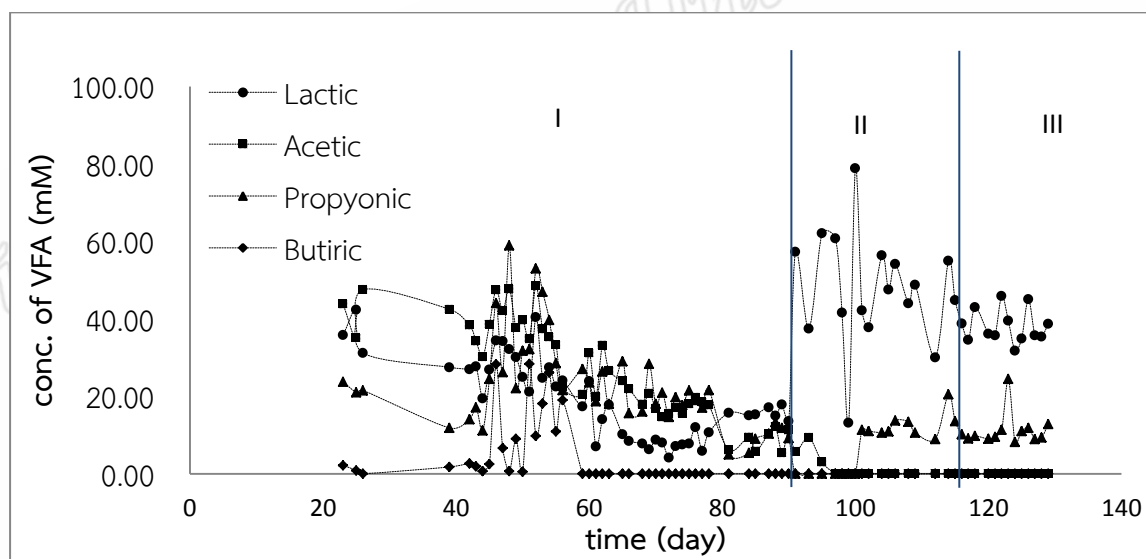
ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้นของแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมักด้วยถังปฏิกรณ์ PFR ที่อุณหภูมิห้อง จากน้ำหมักขาออกของการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมระหว่าง POME กับสาหร่ายฟองชะโด

ในขณะที่ผลการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (ภาพที่ 4.11) ตั้งแต่วันที่ 23 ซึ่งเป็นช่วงที่ระบบในถังปฏิกรณ์ PFR เริ่มมีการดำเนินการที่ HRT 52.5 วัน มีปริมาณกรดสูงในวันแรกของการวิเคราะห์ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ที่ไม่มากพอและเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น ปริมาณของกรดที่ตรวจพบลดลงแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการนำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายได้ และเมื่อการทดลองดำเนินไปจนเข้าสู่สภาวะคงตัวในช่วงวันที่ 70-90 ของการทดลองที่ HRT 52.5 วัน พบว่าน้ำหมักยังมีความเข้มข้นของกรดอะซิติก (14-20 mM) กรดโพรพิโอนิก (15-20 mM) และกรดแลคติก (6-10 mM) ในขณะที่กรดบิวทิริกไม่ถูกตรวจพบ ค่าความเข้มข้นของกรดอินทรีย์มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่ตรวจพบในน้ำหมักจากขั้นตอนที่หนึ่งค่อนข้างมากเป็นการยืนยันได้ว่าในถังปฏิกรณ์ที่สองมีการย่อยสลายของกรดอินทรีย์ที่ผลิตได้จากขั้นตอนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลผลิตมีเทนที่ดีของ HRT 52.5 วัน ($389 \pm 7.2 \text{ mL-CH}_4/\text{g-VS}$) แต่หลังจากการหมักที่ HRT 52.5 วันระบบเกิดการรว่วและมีปัญหาของปริมาณตะกอนอินทรีย์ที่สูงขึ้นในระบบจึงทำการซ่อมและปล่อยตะกอนทิ้งไปและเริ่มการเดินระบบใหม่ด้วยการป้อนน้ำเสียขาออกจากขั้นตอนการผลิตกรดที่ถูกเติมแทนที่ปริมาณตะกอนที่ปล่อยทิ้งไป 25 ของปริมาตรการทำงาน จากนั้นได้ดำเนินการต่อที่ HRT 40 และ 30 วัน

กระบวนการย่อยสลายไร้อากาศขั้นที่สอง จุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทน (Methanogens) สามารถเปลี่ยนกรดอะซิติกและแก๊สไฮโดรเจนกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (H_2/CO_2) เป็นแก๊สมีเทน ดังนั้นกรดอินทรีย์และตัวทำละลายชนิดอื่นต้องถูกออกซิไดซ์เป็นกรดอะซิติกและ/หรือ (H_2/CO_2) ในสภาวะที่ความดันย่อยของไฮโดรเจนต่ำ ($<10^{-4} \text{ atm}$) (Stams *et al.*, 2005) โดยจุลินทรีย์กลุ่มผลิตกรดอะซิติก (Acetogens) โดยที่กรดโพรพิโอนิกเป็นกรดอินทรีย์ที่ถูกออกซิไดซ์ได้ยากที่สุดและจัดเป็นปัจจัยควบคุมที่มีผลต่อปฏิกิริยาผลิตกรดอะซิติกเนื่องจากปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปฏิกิริยา Endergonic ($\Delta G = +76.1 \text{ kJ/mol}$) (Tatara *et al.*, 2008) ดังนั้น

ที่อัตราบรรทุกสารอินทรีย์สูง ๆ ทำให้เกิดปัญหาการสะสมของกรดโพธิโอริกในระบบการย่อยสลาย ไร้อากาศขั้นตอนที่สองได้ ดังนั้นการลดลงอย่างมากของความเข้มข้นกรดอินทรีย์ในระบบถึงปฏิกรณ์ PFR แสดงว่าอัตราการบรรทุกสารอินทรีย์ที่ HRT 52.5 วัน อยู่ในช่วงที่เหมาะสม และเมื่อปรับลด HRT 40 และ 30 วันพบว่าปริมาณของกรดอินทรีย์ที่ตรวจพบมีปริมาณกรดแลคติก และโพธิโอริก ที่ค่อนข้างสูงซึ่งอาจเกิดจากการเติมน้ำหมักปริมาณร้อยละ 25 ของปริมาตรการทำงานของถังปฏิกรณ์ PFR เพื่อเป็นการลดปริมาณของตะกอนที่สะสมในระบบจึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณของกรดสะสมอยู่ในระบบมาก โดยเฉพาะกรดแลคติกที่สะสมในระบบมากที่สุดถึง 78.85 mM ที่ HRT 40 วัน

แต่อย่างไรก็ตาม ความเป็นบัฟเฟอร์ของระบบสามารถช่วยให้ระบบยังคงอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมีเทนของจุลินทรีย์อยู่ สังเกตได้จาก pH ของระบบอยู่ในช่วง 7.22-7.43 แม้ว่า pH ที่ตรวจวัดได้จะลดลงจากเดิมแต่ก็อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตมีเทนซึ่งนำกรดระเหยง่ายไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยจะสังเกตได้จากการลดลงจนไม่สามารถตรวจวัดได้ของกรดอะซิติกและบิวทริกที่ HRT 40 และ 30 วัน ซึ่งสอดคล้องกับผลผลิตมีเทนที่สูง 391 ± 6.6 และ 424 ± 4.6 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.11 กรดอินทรีย์ในถัง PFR ที่ควบคุม (I) HRT 52.5 วันที่มีการป้อนน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมกันระหว่าง POME และสาหร่ายฟุงชะโดในถัง CSTR จาก HRT 7 และ 5 วัน ตามลำดับ และ (II, III) ป้อนน้ำหมักขั้นตอนผลิตไฮโดรเจนจากการหมักร่วมกันระหว่าง POME และสาหร่ายฟุงชะโดในถัง CSTR จาก HRT 4 วัน ที่ควบคุม HRT 40 และ HRT 30 วัน ตามลำดับ

4.5 สมรรถนะกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายฟุงชะโด

สมรรถนะการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากกระบวนการไร้อากาศสองขั้นตอนแบบต่อเนื่องของระบบถังปฏิกรณ์ CSTR-PFR (ตารางที่ 4.5 และ 4.6) พบว่าที่สภาวะ HRT 2 วัน และ 30 วัน ตามลำดับ ให้ผลผลิตไฮโดรเจนและมีเทนประมาณ 81 ± 1.2 mL-H₂/g-VS และ 424 ± 4.6 mL-CH₄/g-VS เทียบเท่าผลผลิตไฮโดรเจน 4.13 L-H₂/L_{substrate} และผลผลิตมีเทน 23.15 L-CH₄/L_{substrate} เมื่อใช้สาหร่ายฟุง

ชะโอดเป็นซับสเตรตรวมประมาณร้อยละ 10 (VS Basis) ที่ความเข้มข้นซับสเตรตรวม 51.0 และ 54.6 g-VS/L ตามลำดับ ทั้งนี้ Angelidaki and Ellegaard (2003) ได้รายงานจุดคุ้มทุนในเชิงเศรษฐศาสตร์นั้นต้องสามารถผลิตแก๊สเชื้อเพลิงได้เทียบเท่ากับผลผลิตแก๊สมีเทนที่สูงกว่า $20 \text{ L-CH}_4/\text{L}_{\text{substrate}}$ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในเชิงเศรษฐศาสตร์ที่จะพัฒนากระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่าย ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป จากอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดในถังปฏิกรณ์ CSTR ($2,059 \text{ mL-H}_2/\text{L.d}$) และอัตราการผลิตมีเทนสูงสุดในถังปฏิกรณ์ Plug flow ($784 \text{ mL-CH}_4/\text{L.d}$) และถังปฏิกรณ์ Plug flow ใช้ระยะเวลา HRT สูงกว่าถังปฏิกรณ์ CSTR ประมาณ 15 เท่า ดังนั้นสัดส่วนของแก๊สไฮโดรเจนจะมีประมาณร้อยละ 15 โดยปริมาตรของแก๊สเชื้อเพลิงผสมระหว่างไฮโดรเจนและมีเทน ซึ่งสัดส่วนของไฮโดรเจนในแก๊สผสมอยู่ในช่วงของคุณภาพแก๊สไบโอไฮเทน แก๊สไบโอไฮเทนที่ผลิตได้สามารถใช้ได้ในเครื่องยนต์สันดาปภายในที่ใช้แก๊สธรรมชาติ/แก๊สชีวภาพได้โดยไม่ต้องปรับแต่งเครื่องยนต์ (Porpatham *et al.*, 2007)

ตารางที่ 4.5 สมรรถนะของระบบถังปฏิกรณ์ CSTR ผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากการย่อยสลายร่วม POME และสาหร่ายพวงชะโอด

Reactor Configuration	H ₂ -CSTR					
HRT (day)	7	5	4	3	2	1
OLR (g-VS/d.l)	10.57	14.8	14.0	16.7	25.4	50.9
H ₂ Yield (mL/g -VS)	76±0.8	59±3.7	84±2.2	75±2.6	81±1.2	25-47
H ₂ Rate (mL/d.l)	809±9.4	825±52.6	1,179±31.0	1,252±43.2	2,059±31.3	634-1375
Energy Rate (kJ/d.l)	10.39	10.6	15.2	16.1	26.5	-
% H ₂	54-55	53-55	56-58	54-58	50-58	33-46
pH	5.20±0.13	5.31±0.04	5.06±0.01	4.99±0.12	4.91±0.07	5.14±0.09
Acetate (mM)	353.9±66.4	320.0±24.0	110.0± 22.5	91.3±14.9	94.9±15.3	69-112
Butyrate (mM)	120.8±63.9	77.3±28.6	26.0±10.2	28.2±10.7	31.7±6.1	25-41
Propionate (mM)	243.3±35.0	152.8±24.6	142.0±22.7	145.1±20.5	130.8±20.2	131-146
Lactate (mM)	193.3±55.7	132.8±18.6	215.32±59.7	325.1±45.7	394.0±72.2	279-1,307

ผลผลิตของแก๊สมีเทนเฉลี่ยในช่วงที่เริ่มคงที่ของ HRT 52.5, 40 และ 30 วัน มีผลผลิตของมีเทนในฐานของ VS ดังนี้ 389 ± 7.2 , 391 ± 6.6 และ 424 ± 4.6 mL-CH₄/g-VS ตามลำดับซึ่งตรงกับ 320.0 ± 7.2 , 315.8 ± 6.6 และ 344.4 ± 4.6 mL-CH₄/g-COD ซึ่ง COD ที่ใช้ในการคำนวณในหน่วยของ (mL-CH₄/g-COD) ที่ HRT 52.2 วัน ที่ 89.95 g-COD/L ที่ของแข็งอินทรีย์ที่ระเหยได้ 74.0 g-VS/L และที่ HRT 40 และ 30 วัน COD ที่ป้อน 67.20 g-COD/L ที่ของแข็งอินทรีย์ที่ระเหยได้ 54.6 g-VS/L เนื่องมาจากข้อผิดพลาดที่ต้องนำมาใหม่เพราะระบบที่ใช้อย่างต่อเนื่องเวลานานทำให้ต้องมีการนำตัวอย่างข้อผิดพลาดมาเพิ่มแต่ละช่วงการทดลองที่มีการเปลี่ยนชุดข้อผิดพลาดที่เก็บมามีปริมาณขององค์ประกอบอินทรีย์ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.6 สมรรถนะของระบบถังปฏิกรณ์ PFR ผลิตแก๊สมีเทนจากการย่อยสลายร่วม POME และสาหร่ายพวงกะโศ

Reactor Configuration	CH ₄ -PFR		
	52.5	40	30
HRT (day)	52.5	40	30
OLR (g-VS/d·l)	1.40	1.36	1.80
CH ₄ Yield (mL/g -VS)	389 ± 7.2	391 ± 6.6	424 ± 4.6
CH ₄ Yield (mL/g-COD)	320.0 ± 7.2	315.8 ± 6.6	344.4 ± 4.6
CH ₄ Rate (mL-H ₂ /d·l)	548 ± 10.2	535 ± 9.1	784 ± 8.5
Energy Rate (kJ/d·l)	21.9	21.4	31.4
% CH ₄	65-70	64-70	66-69
pH	7.59 ± 0.06	7.43 ± 0.14	7.54 ± 0.05
Acetate (mM)	17.1 ± 1.6	ND	ND
Butyrate (mM)	ND	ND	ND
Propionate (mM)	18.9 ± 2.3	12.5 ± 1.3	11.2 ± 4.2
Lactate (mM)	8.0 ± 2.3	46.3 ± 8.3	38.1 ± 4.3

ND: Non detectable

ตารางที่ 4.7 ศักยภาพผลผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนผสมต่าง ๆ

Stages	HRT (d)	Total COD effluent (mg/L)	COD removal (%)	Total VS effluent (mg/L)	VS removal (%)	Total phenol Effluent (mg/L)	phenol removal (%)
H ₂ Stage	5	61,920	31.16	44.96	39.27	1,298.0	46.97
	4	43,360	35.47	37.9	51.32	1,088.0	55.57
	3	37,760	43.81	34.15	51.33	1,038.0	57.59
	2	31,680	52.86	25.17	50.61	1,008.0	58.82
	1	42,720	36.43	24.19	52.54	1,258.0	48.60
CH ₄ stage	52.5	4,200	95.33	6.08	88.59	361.2	85.24
	40	3,100	95.39	8.55	87.81	117.5	95.20
	30	2,100	96.88	6.43	90.83	73.7	96.99

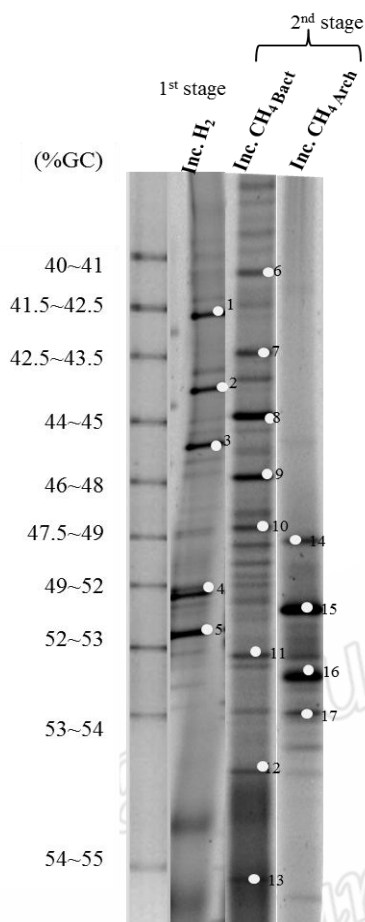
ผลที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายร่วมของ POME และสาหร่ายพวงชะโด จากตารางที่ 4.7 สามารถบอกถึงศักยภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในระบบได้ สูงในขั้นตอนแรกของกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากถังปฏิกรณ์ CSTR พบว่าที่ HRT 2 วันสามารถที่จะกำจัด COD ได้สูงที่สุดร้อยละ 52.86 ซึ่ง และที่กระบวนการหมักขั้นที่สองสามารถกำจัด COD ได้สูงสุดถึงร้อยละ 96.88 ที่ระยะเวลาการกักเก็บ HRT 30 วัน ผลที่ได้แสดงถึงศักยภาพของระบบที่ได้ทำการทดลองว่ามีประสิทธิภาพที่สูงในการกำจัด COD ซึ่งใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Yacob *et al.*, (2005) การหมัก POME แบบบ่อหมัก (Anaerobic Ponding system) ที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ได้มากถึงร้อยละ 97.8 ที่ HRT 40 วัน โดยผลจากการทดลองของการกำจัดของถังปฏิกรณ์ PFR สามารถกำจัด COD ได้สูงที่การดำเนินการ HRT ที่ต่ำกว่าจึงเป็นผลดีของการดำเนินการหมักที่สามารถลดขนาดของถังปฏิกรณ์ให้เล็กลงและลดพื้นที่ในการหมักลงได้ ของจากนี้ผลของการกำจัดสารอินทรีย์ที่ระเหยได้ (VS removal) และการกำจัดฟีนอล (Phenol removal) ของน้ำหมักที่ได้สอดคล้องกันกับการกำจัด COD เช่นกัน โดยที่ขั้นตอนที่สองของการย่อยสลายร่วมกันระหว่าง POME และสาหร่ายพวงชะโดสูงถึงร้อยละ 73.7 และ 96.99 ตามลำดับที่ HRT 30 วัน ถึงแม้การกำจัดฟีนอลในขั้นแรกในการผลิตไฮโดรเจนที่ HRT 2 วันจะให้ผลในการกำจัดฟีนอล 58.82 ซึ่งน้อยกว่าผลจากการทดลองของ Mamimin *et al.*, (2012) หมัก POME แบบแบทช์เพื่อผลิตไฮโดรเจนที่ให้ผลในการกำจัดฟีนอลสูงสุตร้อยละ 65 ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองถูกจำกัดความเข้มข้นของฟีนอลเริ่มต้นที่ต่ำกว่า 100-400 mg/L โดยในการศึกษาข้างต้นพบว่าถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นของฟีนอลสูงกว่า 600 mg/L ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

4.6 กลุ่มจุลินทรีย์หลักในระหว่างการทำเนิงานกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอน

กลุ่มจุลินทรีย์หลักในระหว่างการทำเนิงานกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอน โดยป้อน POME ผสมสาหร่ายพวงชะโดร้อยละ 5 (VS Basis) เข้าถังปฏิกรณ์ CSTR ที่ HRT 7 วัน และป้อนน้ำหมักจากขั้นตอนแรกเข้าถังปฏิกรณ์ PFR ที่ HRT 52.5 วัน ได้ถูกตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) วิธีการตรวจวิเคราะห์นี้สามารถให้ข้อมูลโครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ในกลุ่มจุลินทรีย์ผสม (Mixed cultures) และสามารถทราบข้อมูลเชิงปริมาณของกลุ่มเชื้อแต่ละชนิดจาก DNA band intensities (Stamper *et al.*, 2003) ผลการวิเคราะห์โครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์และชนิดของจุลินทรีย์หลักที่ถูกตรวจพบในถังปฏิกรณ์ CSTR และ PFR ของขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนตามลำดับ (ภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.8)

กลุ่มจุลินทรีย์ที่เด่นในขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนได้แก่ *Clostridium* sp., *Enterobacter* sp., *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. การตรวจพบ *Clostridium* sp. เป็นการยืนยันการผลิตไฮโดรเจนได้ เนื่องแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดอะซิติก/บิวทิริกควบคู่กับแก๊สไฮโดรเจนในกระบวนการหมักไร้อากาศในสภาวะเทอร์โมฟิลิกได้ดี (Jariyaboon *et al.*, 2015) ส่วน *Enterobacter* sp. ซึ่งเป็น Facultative anaerobes จึงสามารถกำจัดออกซิเจนส่วนเกินและช่วยเสริมสร้างสภาวะไร้อากาศและสามารถผลิตไฮโดรเจนได้จากคาร์โบไฮเดรต (Hung *et al.*, 2011) นอกจากนี้ยังพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Weissella* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. เป็นกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกและยังมีฤทธิ์ในการต่อต้านการเจริญของเชื้อในกลุ่ม *Clostridium* sp. ได้ ซึ่งหากมีจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มากอาจทำให้ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนเกิดน้อยลงได้ (Adams and Nicolaidis, 1997) ซึ่งยืนยันได้จากการสะสมของกรดแลคติกในน้ำหมักในขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจน

การผลิตแก๊สมีเทนจากกระบวนการป้อนต่อเนื่องด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนพบว่ามีกลุ่มเชื้อต่าง ๆ ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี DGGE (ภาพที่ 4.12) ซึ่งพบกลุ่มจุลินทรีย์ที่แบ่งออกเป็นสองกลุ่มหลัก (ภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.6) ได้แก่แบคทีเรีย *Pusillimonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Proteiniphilum* sp., *Pedobacter* sp., *Thiobacillus* sp., *Anaerobaculum* sp., *Thermocrispum* sp. และ *Paenibacillus* sp. ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนกรดระเหยง่ายทุกชนิดให้เป็นอะซิติกและกลุ่มที่สามารถผลิตไฮโดรเจนให้เกิดขึ้น (Khemkhao *et al.* 2012) และอเคียร์เป็นกลุ่มที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอะซิติกเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยบางชนิดสามารถใช้ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ให้ผลผลิตเป็นมีเทนได้อีกด้วย โดยพบว่ากลุ่มอเคียร์ที่โดดเด่นของการทดลองนี้คือ *Methanocorpusculum* sp., *Methanothrix* sp. และ *Methanoregula* sp. ซึ่งเป็นกลุ่มประชากรหลักที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สมีเทน (Poh and Chong, 2010)

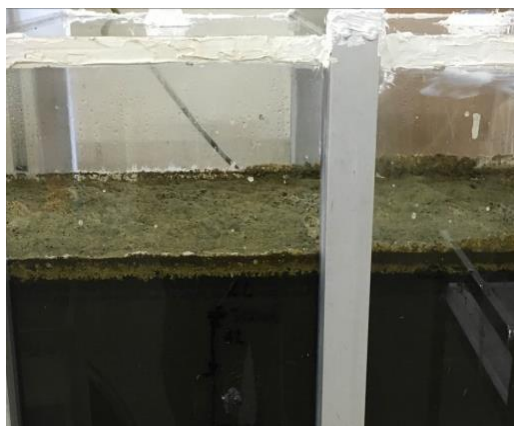


ภาพที่ 4.12 โครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงพะโตแบบป้อนต่อเนื่อง

ตารางที่ 4.8 ผลการ blast ของแบนที่ตัดจาก DGGE เจลของกลุ่มจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายพวงพะโตแบบป้อนต่อเนื่อง

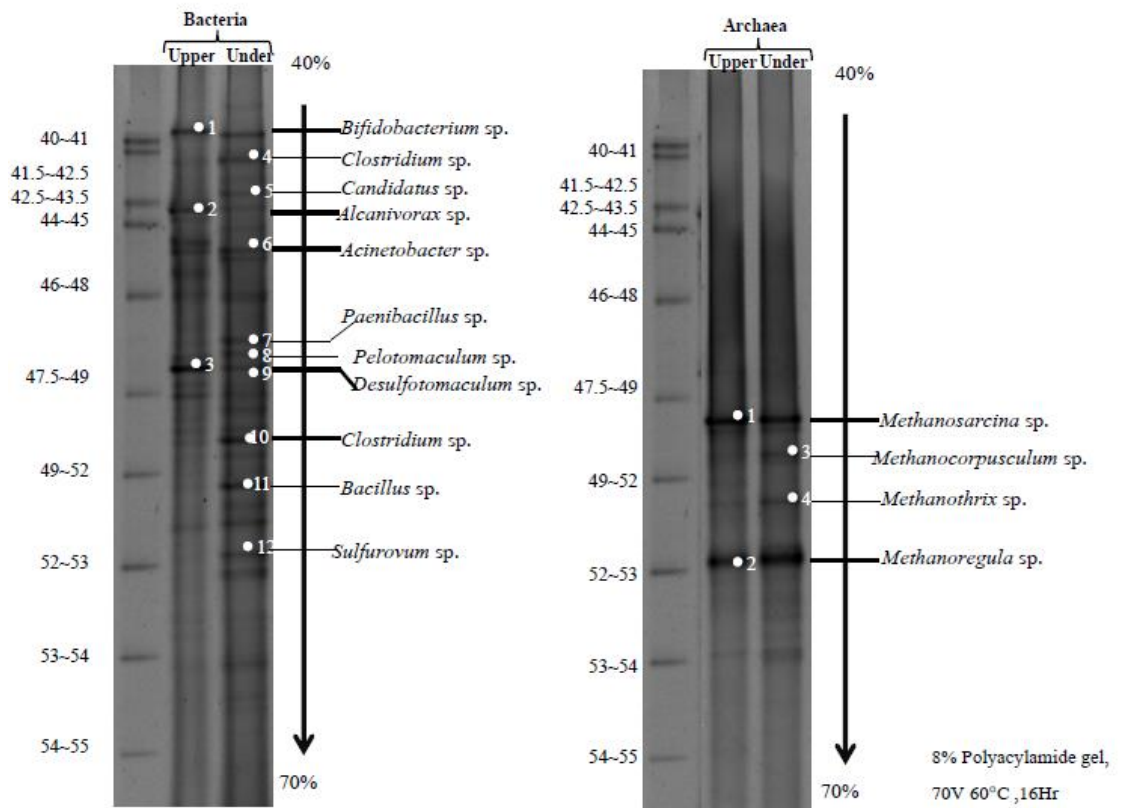
Affiliation Strains (Band)		
First stage	Second stage	
Bacteria	Bacteria	Archea
<i>Weissella</i> sp. (1)	<i>Pusillimonas</i> sp. (6)	<i>Methanosarcina</i> sp. (14)
<i>Leuconostoc</i> sp. (2)	<i>Acinetobacter</i> sp. (7)	<i>Methanocorpusculum</i> sp. (15)
<i>Enterobacter</i> sp. (3)	<i>Proteiniphilum</i> sp. (8)	<i>Methanothrix</i> sp. (16)
<i>Lactobacillus</i> sp. (4)	<i>Pedobacter</i> sp. (9)	<i>Methanoregula</i> sp. (17)
<i>Clostridium</i> sp. (5)	<i>Thiobacillus</i> sp. (10)	
	<i>Anaerobaculum</i> sp.(11)	
	<i>Paenibacillus</i> sp. (12)	
	<i>Thermocrispum</i> sp. (13)	

การเกิดโพลิมในถังปฏิกรณ์ PFR (ภาพที่ 4.13) เป็นปัญหาวิกฤตอย่างหนึ่งในกระบวนการย่อยสลายไร้อากาศซึ่งอาจก่อให้เกิดระบบการผลิตแก๊สชีวภาพล้มเหลวได้ โพลิมสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายเมื่อใช้ซับสเตรตที่มีองค์ประกอบของโปรตีนและไขมันสูง (Boe *et al.*, 2012) จุลินทรีย์กลุ่ม Filamentous ซึ่งได้แก่ *Gordonia* species และ *Microthrix parvicella* สามารถยึดเกาะฟองแก๊สให้อยู่ติดที่พื้นผิวด้านบนของน้ำหมัก (Heard *et al.*, 2008)



ภาพที่ 4.13 ลักษณะการเกิดโพลิมในถังปฏิกรณ์ PFR

จากปัญหาการเกิดโพลิมนั้นจึงได้นำตัวอย่างตะกอนไปวิเคราะห์หากกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี DGGE (ภาพที่ 4.14) พบแบคทีเรีย Filamentous *Desulfotomaculum* sp., *Candidatus* sp., *Paenibacillus* sp., *Desulfotomaculum* sp. และ *Bacillus* sp. ซึ่งอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งของการเกิดโพลิมในถังปฏิกรณ์ ถึงแม้ว่าการเกิดโพลิมจะเป็นการป้องกันการสัมผัสกับออกซิเจนของน้ำหมักในระบบแต่ก็ เป็นสาเหตุที่ทำให้ปิดกั้นการออกของแก๊สที่เกิดขึ้นในระบบซึ่งอาจทำให้แรงดันที่มากขึ้นลดความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ได้ การเกิดโพลิมมีปัจจัยอื่น ๆ ที่สำคัญเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น องค์ประกอบของซับสเตรต การสะสมของกรดอินทรีย์ในน้ำหมัก และสภาวะปฏิบัติการ (Ganidi *et al.*, 2009) ดังนั้นจึงมีความสำคัญที่ควรแก้ปัญหาการเกิดโพลิมภายในระบบที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 4.14 โครงสร้างกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนโพม

Prince of Suan
Pattani Campus

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ศักยภาพการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนจากการหมักร่วม POME กับ *C. demersum* ในกระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญในจุดที่มีสัดส่วนของสาหร่ายร่อยละ 10-60 (VS Basis) จึงสามารถนำมาปรับใช้ได้ในช่วงที่ปริมาณ POME ลดลงการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนแบบต่อเนื่องในระบบถังปฏิกรณ์ CSTR-PFR พบว่าสามารถใช้สารละลายเข้าปาล์มความเข้มข้น (50-70 g/ L_{substrate}) ปรับ pH ให้อยู่ในช่วงที่พอเหมาะกับการเจริญเติบโตของทั้งสองถังปฏิกรณ์ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมากในการช่วยเป็นบัฟเฟอร์ให้กับระบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการในระบบของ CSTR ใช้ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่มีการเกิดกรดขึ้นในระบบ ผลจากการทดลองนี้ระบบถังปฏิกรณ์ CSTR-PFR เมื่อใช้สาหร่ายฟงชะโตเป็นซับสเตรตรวมประมาณร่อยละ 10 (VS Basis) ที่สภาวะ HRT 2 วันและ 30 วัน ตามลำดับให้ผลผลิตไฮโดรเจนและมีเทนได้ประมาณ 81 ± 1.2 mL-H₂/g-VS และ 424 ± 4.6 mL-CH₄/g-VS (344.4 ± 4.6 mL-CH₄/g-COD) เทียบเท่าผลผลิตไฮโดรเจน 4.13 L-H₂/ L_{substrate} และผลผลิตมีเทน 23.15 L-CH₄/ L_{substrate} ซึ่งมีความเป็นไปได้ในเชิงเศรษฐศาสตร์ที่จะพัฒนากระบวนการย่อยสลายร่วมไร้อากาศสองขั้นตอนของ POME และสาหร่ายฟงชะโตเพื่อการผลิตไบโอไฮเทนในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ถึงแม้ว่าผลการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนเป็นที่น่าพอใจ แต่การศึกษาปัจจัยที่สามารถลดการผลิตกรดแลคติกหรือกรดอินทรีย์อื่น ๆ ในถังปฏิกรณ์ CSTR เพื่อเพิ่มผลผลิตไฮโดรเจนให้สูงขึ้นได้ และควรมีการทดสอบสมรรถนะของระบบถังปฏิกรณ์ชนิดไหลท้อ (PFR) ของขั้นตอนผลิตมีเทน ที่อัตราบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูงขึ้นโดยการลด HRT ซึ่งจะเป็ประโยชน์ต่อการออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดเล็กลง ปัญหาสำคัญที่พบในระหว่างการทำงานถังปฏิกรณ์ PFR ได้แก่การสะสมของกรดอินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ PFR การเกิดโฟมหนาขึ้นบริเวณผิวของน้ำหมักซึ่งจำเป็นต้องศึกษาวิจัยเพื่อแก้ไขต่อไป

บรรณานุกรม

- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2553. เทคโนโลยีการออกแบบระบบก๊าซชีวภาพ. คู่มือการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการออกแบบการผลิตการควบคุมคุณภาพและหลักการใช้ก๊าซชีวภาพ (Biogas) สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม
- Adams, M.R. and Nicolaidis, L. 1997. Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. *Food Control*. 8, 227-230.
- Angelidaki, I. and Ellegaard, L. 2003. Co-digestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 109 (1-3), 95-105.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van. and Lier, J.B. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*. 59 (5), 927-934.
- Angelidaki, I., Petersen, S.P. and Ahring, B.K. 1990. Effects of lipids on thermophilic anaerobic digestion and reduction of lipid inhibition upon addition of bentonite. *Applied Microbiology and Biotechnology*., 33 (4), 469-472.
- Angenent, L.T., Karim, K., Al-Dahhan, M. H., Wrenn, B. A. and Domínguez-Espinosa, R. 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *TRENDS in Biotechnology*. 22 (9), 477-485.
- Badie, M., Jahim, J.M., Anuar, N. and Abdullah, S.R.S. 2011. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production from palm oil mill effluent in anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*. 36, 5912–5919.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A. and Vavilin, V.A. 2002. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM 1). *Water Science and Technology*. 45 (10), 65-73.
- Blumensaat, F. and Keller, J. 2005. Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). *Water Research*. 39 (1), 171-183.
- Boe, K. 2005. Online monitoring and control of the biogas process. PhD dissertation, Department of Environmental Engineering. Technical University of Denmark.
- Boe, K., Kougias, P.G., Pacheco, F., O-Thong, S. and Angelidaki, I. 2012. Effect of substrates and intermediate compounds on foaming in manure digestion systems. *Water Science and Technology*. 66 (10), 2146–2154.

- Chambers, P.A., Lacoul, P., Murphy, K.J. and Thomaz, S.M. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia*. 595 (1), 9-26.
- Chan, Y.J., Chong, M.F. and Law, C.L. 2010. Biological treatment of anaerobically digested palm oil mill effluent (POME) using a Lab scale Sequencing Batch Reactor (SBR) Start up and operation of anaerobic EGSB reactor treating palm oil mill effluent. *Journal of Environmental and Management*. 91 (8), 1738-46.
- Cheewasedtham, C., Cheewasedtham, W. and Tjell, J. 2009. Marine algae as biomass for energy production. Proposal submitted to EGAT. Thailand.
- Chin, M.J., Poh, P.E., Tey, B.T., Chan, E.S. and Chin, K. L. 2013. Biogas from palm oil mill effluent (POME): Opportunities and challenges from Malaysia's perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 26, 717-726.
- Cooney, M., Maynard, N., Cannizzaro, C. and Benemann, J. 2007. Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures. *Bioresource Technology*. 98 (14), 2641-2651.
- Coorit, W. and Wisarnwan. 2007. Effect of temperature on the anaerobic digestion of palm oil mill effluent. *Electronic Journal of Biotechnology*. 10 (3), 376-385.
- Costa, J., Goncalves, P., Nobre, A. and Alves, M. 2012. Biomethanation potential of macroalgae *Ulva* spp. and *Gracilaria* spp. and in co-digestion with waste activated sludge. *Bioresource Technology*. 114, 320-326.
- Fang, C., O-Thong, S., Boe, K. and Angelidaki, I. 2011. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and de-oiled palm oil mill effluent (POME). *Journal of Hazardous Materials*, 189, 229-234.
- Ganidi, N., Tyrrel, S. and Cartmell, E. 2009. Anaerobic digestion foaming causes—a review. *Bioresource Technology*, 100 (23), 5546-5554.
- Ge, H., Jensen, P.D. and Batstone, D.J. 2011. Increased temperature in the thermophilic stage in temperature phased anaerobic digestion (TPAD) improves degradability of waste activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 187 (1), 355-361.
- Harsono, S., Grundmann, P. and Soebronto, S. 2013. Anaerobic treatment of palm oil mill effluents: potential contribution to net energy yield and reduction of greenhouse gas emissions from biodiesel production. *Journal of Cleaner Production: Article Impress*.
- Heard, J., Harvey, E., Johnson, B.B., Wells, J.D. and Angove, M.J. 2008. The effect of filamentous bacteria on foam production and stability. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 63 (1), 21-26.

- Hung, C.H., Chang, Y.T., and Chang, Y.J. 2011. Roles of microorganisms other than *Clostridium* and *Enterobacter* in anaerobic fermentative biohydrogen production systems—a review. *Bioresource Technology*. 102 (18), 8437-8444.
- Jariyaboon, R., Sompong, O., and Kongjan, P. 2015. Bio-hydrogen and bio-methane potentials of skim latex serum in batch thermophilic two-stage anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 198, 198-206.
- Kengen, S., Goorissen, H., Verhaart, M., Stams, A., van., Niel, E. and Claassen, P. 2009. Biological hydrogen production by anaerobic microorganisms. *Biofuels*. 197–221.
- Khemkhao, M., Nuntakumjorn, B., Techkarnjanaruk, S. and Phalakornkule, C. 2012. UASB performance and microbial adaptation during a transition from mesophilic to thermophilic treatment of palm oil mill effluent. *Journal of Environmental and Management*. 103, 74-82.
- Kongjan, P., Min, B. and Angelidaki, I. 2009. Biohydrogen production from xylose at extreme thermophilic temperatures (70°C) by mixed culture fermentation. *Water Research*. 43 (2), 1414-1424.
- Kongjan, P., O-Thong, S. and Angelidaki, I. 2011. Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from hydrolysate in UASB reactors. *Bioresource Technology*. 102 (5), 4028-4035.
- Koyama, M., Yamamoto, S., Ishikawa, K., Ban, S. and Toda, T. 2014. Anaerobic digestion of submerged macrophytes: Chemical composition and anaerobic digestibility. *Ecological Engineering*. 69, 304-309.
- Koyama, M., Yamamoto, S., Ishikawa, K., Ban, S. and Toda, T. 2015. Enhancing anaerobic digestibility of lignin-rich submerged macrophyte using thermochemical pre-treatment. *Biochemical Engineering Journal*, 99, 124-130.
- Kufel, L. and Kufel, I. 2002. *Chara* beds acting as nutrient sinks in shallow lakes - a review. *Aquatic Botany*. 72 (3), 249-260.
- Kvesitadze, G., Sadunishvili, T., Dudaui, T., Zakariashvili, N., Partskhaladze, G., Ugrekhelidze, V. and Jobava, M. 2012. Two-stage anaerobic process for bio-hydrogen and bio-methane combined production from biodegradable solid wastes. *Energy*. 37 (1), 94-102.
- Lahijani, P., Zainal, Z.A, Mohamed, A.R. and Mohammadi, M. 2013. Ash of palm empty fruit bunch as a natural catalyst for promoting the CO₂ gasification reactivity of biomass char. *Bioresource Technology*. 132, 351–355.

- Lane, D.J. 1991. 16S/23 S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow M, editors. Nucleic acid techniques in bacterial systematics. Chichester: John Wiley and Sons. 115–176.
- Lauka, D., Pastare, L., Blumberga, D., and Romanoli, F. 2015. Preliminary analysis of anaerobic digestion process using *Ceratophyllum demersum* and low carbon content additives: a batch test study. Energy Procedia. 72, 142-147.
- Lee, D., Ebie, Y., Xu, K., Li, Y. and Inamori, Y. 2010. Continuous H₂ and CH₄ production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge. Bioresour Technol. 101 (15), 42-47.
- Lee, M., Hidaka, T., Hagiwara, W. and Tsuno, H. 2009. Comparative performance and microbial diversity of hyperthermophilic and thermophilic co-digestion of kitchen garbage and excess sludge. Bioresource Technology. 100 (2), 578-585.
- Linke, B. 2006. Kinetic study of thermophilic anaerobic digestion of solid wastes from potato processing. Biomass and Bioenergy. 30, 892-896.
- Li, Y.Q., Zhang, R.H., Chen, C., Xiao, X., Feng, L., He, Y.F., Liu, G.Q. 2013a. Evaluating methane production from anaerobic mono- and co-digestion of kitchen waste corn stover and chicken manure. Energy Fuel. 27, 2085-2091.
- Li, Y.Q., Zhang, R.H., Chen, C., Liu, G.Q. He, Y.F., Liu, X.Y. 2013b. Biogas production from co-digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet hemi-solid and solid state conditions. Bioresour Technology. 149, 406-412.
- Li, Y.Q., Zhang, R.H., He, Y.F., Zhang, C. Liu, X.Y., Chen, C. 2014. Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor. Bioresour Technology. 149, 342-347.
- Lu, J., Gavala, H., Skiadas, I., Mladenovska, Z. and Ahring, B. 2008. Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyper-thermophilic prehydrolysis step. Journal of Environmental and Management. 88 (4), 881-889.
- Madhyanon, T., Sathitruangsak, P., Sungworagarn, S., Pipatmanomai, S. and Tia, S. 2012. A pilot-scale investigation of ash and deposition formation during oil-palm empty-fruit-bunch (EFB) combustion. Fuel Processing Technology. 96, 250–264.

- Mamimin, C., Thongdumyu, P., Hniman, A., Prasertsan, P., Imai, T. and O-Thong, S. 2012. Simultaneous thermophilic hydrogen production and phenol removal from palm oil mill effluent by *Thermoanaerobacterium*-rich sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (20), 15598-15606.
- Mata-Alvarez, J., Mace S. and Labres, P. 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*. 74, 3-16.
- Miao. H., Lu, M., Zhao, M., Huang, Z., Ren, H. and Yan. Q. 2013. Enhancement of taihu blue algae anaerobic digestion efficiency by natural storage. *Bioresource Technology*. 149, 359-366.
- Najafpour, G.D., Zinatizadeh, A.A.L., Mohamed, A.R., Isa, M.H. and Nasrollahzadeh, H. 2006. High-rate anaerobic digestion of palm oil mill effluent in an up-flow anaerobic sludge-fixed film bioreactor. *Process Biochemistry*. 41, 370–379.
- O-Thong, S., Prasertsan, P., Intrasungkha, N., Dhamwichukorn, S. and Birkeland, N.K. 2008. Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by *Thermoanaerobacterium*-rich sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*. 33, 1221–1231.
- Pastare, L., Romagnoli, F., Rugele, K., Dzene, I. and Blumberga, D. 2015. Biochemical methane potential from anaerobic digestion of the macrophyte *Ceratophyllum demersum*: A batch test study for Latvian conditions. *Energy Procedia*. 72, 310-316.
- Pohland, F. and Ghosh, S. 1971. Developments in anaerobic stabilization of organic wastes: the two-phase concept. *Environmental Letters*. 1 (4), 255-266.
- Poh, P.E. and Chong, M.F. 2010. Biomethanation of palm oil mill effluent (POME) with a thermophilic mixed culture cultivation using POME as a substrate. *Chemical Engineering Journal*. 164, 146-154.
- Porpatham, E., Ramesh, A. and Nagalingam, B. 2007. Effect of hydrogen addition on the performance of a biogas fuelled spark ignition engine. *International Journal of Hydrogen Energy*. 32, 2057–2065.
- Prasertsan, P., O-Thong, S. and Birkeland, N.K. 2009. Optimization and microbial community analysis for production of biohydrogen from palm oil mill effluent by thermophilic fermentative process. *International Journal of Hydrogen Energy*. 34, 7448–7459.
- Nazaitulshila Rasit, N., Idris, A., Harun, R. and Ghani, W.A.W.A.K. 2015. Effects of lipid inhibition on biogas production of anaerobic digestion from oily effluents and

- sludges: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 45. 351–358.
- Reungsang, A. Sreela-or, C. and Plangklang, P. 2013. Non-sterile bio-hydrogen fermentation from food waste in a continuous stirred tank reactor (CSTR): Performance and population analysis. *International Journal of Hydrogen Energy*. 38 (35), 15630-15637.
- Saritpongteeraka, K. and Chaiprapat, S., 2008. Effects of pH adjustment by parawood ash and effluent recycle ratio on the performance of anaerobic baffled reactors treating high sulfate wastewater. *BioresourceTechnology*. 99 (18), 8987-8994.
- Sialve, B., Bernet, N. and Bernard, O. 2009. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advance*. 27, 409-416.
- Stamper, D., Walch, M. and Jacobs, R. 2003. Bacterial population changes in a membrane bioreactor for graywater treatment monitored by denaturing gradient gel electrophoretic analysis of 16S rRNA gene fragments. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 (2), 852.
- Stams, A., Plugge, C., de Bok, F., Van Houten, B., Lens, P., Dijkman, H. and Weijma, J. 2005. Metabolic interactions in methanogenic and sulfate-reducing bioreactors. *Water Science and Technology*. 52 (1-2), 13-20.
- Tatara, M., Makiuchi, T., Ueno, Y., Goto, M. and Sode, K. 2008. Methanogenesis from acetate and propionate by thermophilic down-flow anaerobic packed-bed reactor. *Bioresource Technology*. 99 (11), 4786-4795.
- Tilche, A. and Galatola, M. 2008. The potential of bio-methane as bio-fuel/bio-energy for reducing greenhouse gas emissions: a qualitative assessment for Europe in a life cycle perspective. *Water Science Technology*. 57 (11), 1683-1692.
- Toru, M. and Koike, Y. 2010. Methane fermentation of a mixture of seaweed and milk at a pilot-scale plant. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 110 (5), 558-563.
- Van Niel, E., Budde, M., De Haas, G., van der Wal, F., Claassen, P. and Stams, A. 2002. Distinctive properties of high hydrogen producing extreme thermophiles, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotogaelfii*. *International Journal of Hydrogen Energy*. 27 (11-12), 1391-1398.
- Vergara-Fernandez, A., Vargas, G., Alarcon, N. and Velasco, A. 2008. Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. *Biomass and Bioenergy*. 32, 338-344.

- Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85 (4), 849-860.
- Willquist, K., Nkemka, V. N., Svensson, H., Pawar, S., Ljunggren, M., Karlsson, H., and Liden, G. 2012. Design of a novel biohythane process with high H₂ and CH₄ production rates. *International Journal of Hydrogen Energy*. 37 (23), 17749-17762.
- Yacob. S., Ali Hassan, M., Shirai, Y., Wakisaka, M. and Subash, S. 2006. Baseline study of methane emission from anaerobic ponds of palm oil mill effluent treatment. *Sci total Environ*. 366, 96-187.
- Yen, HW. and Brune, DE. 2007. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. *Bioresource Technology*. 98 (1), 130-134.
- Yin, C.Y., Kadir, S.A.S.A, Lim, Y.P., Syed-Arifin, S.N. and Zamzuri, Z. 2008. An investigation into physicochemical characteristics of ash produced from combustion of oil palm biomass waste in a boiler. *Fuel Processing Technology*. 89, 693-696.
- Zhang, Y., Yan, L., Chi, L., Long, X., Mei, Z. and Zhang, Z. 2008. Startup and operation of anaerobic EGSB reactor treating palm oil mill effluent. *Journal of Environmental Sciences*. 20, 658-663.
- Zhong, w., Zhang, Z., Luo, Y., Qiao, W., Xiao, M. and Zhang, M. 2012. Biogas productivity by co-digesting Taihu blue algae with corn straw as an external carbon source. *Bioresource Technology*. 114, 281-286.
- Zinatizadeh, A., Mohamed, A., Mashitah, M., Abdullah, A. and Isa, M. 2007. Optimization of pre-treated palm oil mill effluent digestion in an up-flow anaerobic sludge fixed film bioreactor: a comparative study. *Biochemical Engineering Journal*. 35 (2), 226-237.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1) การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ปีกเกอร์ขนาด 50 ml
- 2.) เครื่องวัด pH
- 3.) สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7
- 4.) สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.1

ข. วิธีการวิเคราะห์

การทดลองวัดค่าตัวอย่างต้องมีการ calibrate เครื่องวัด pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 และ 4.1 ตามลำดับ เพื่อความน่าเชื่อถือของค่าที่ได้จากการวัด

ตัวอย่างสารละลาย นำสารละลายตัวอย่างใส่ปีกเกอร์ 25 ml และวัด pH ด้วยเครื่องวัด pH และอ่านค่า หากตัวอย่างเป็นของแข็งให้ชั่งตัวอย่างที่ต้องการ 5 g ลงในปีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป 25 ml คนตัวอย่างจนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ปล่อยให้ตัวอย่างตกตะกอนแล้วจึงนำไปวัดค่า pH ได้

2) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณของแข็งระเหยได้ และปริมาณเถ้า

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ครุชีเปิล
- 2.) ตู้อบ
- 3.) เดซิเคเตอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เตาเผา
- 6.) ปีเปต
- 7.) ซ้อนตักสาร

ข. วิธีการวิเคราะห์

นำครุชีเปิลอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105°C เพื่อไล่ความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ตั้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (A) ปีเปตตัวอย่างน้ำเสีย 10 ml ใส่ในครุชีเปิลชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (B) กรณีสตัวอย่างสาหร่ายจะถูกตัดด้วยซ้อนตักสาร ตักตัวอย่างแล้วนำไปชั่งที่ 10 g ทำการไล่ความชื้นออกจากตัวอย่าง โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนมีน้ำหนักที่คงที่ วางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (C) จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550±50°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงเพื่อระเหยสารอินทรีย์ออก เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างออกจากเตาเผา วางทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักหลังเผา (D)

การคำนวณ

$$\text{Total Solid (\%)} = \frac{(C - A) \times 100}{B - A}$$

$$\text{Volatile Solid (\%)} = \frac{(B - D) \times 100}{B - A}$$

$$\text{Ash (\%)} = \frac{(D - A) \times 100}{B - A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของครุชชีเบล (g)
 B = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างก่อนอบ (g)
 C = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างหลังอบ (g)
 D = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างหลังเผา (g)

3) วิธีการวิเคราะห์ซีโอดี (Chemical Oxygen demand: COD)

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณความต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย การย่อยวิธีนี้จะแตกต่างกับการย่อยแบบบีโอดีคือในการวิเคราะห์บีโอดี ตัวที่จะเป็นตัวย่อยของเสียหรือสารอินทรีย์ในน้ำคือ แบคทีเรีย แต่ในการวิเคราะห์ซีโอดีตัวที่จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์คือ สารเคมี ซึ่งสารอินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ โพลีแซคคาไรด์โครเมต เป็นสารออกซิไดซ์ซึ่งเอเจนต์ มีอำนาจในการออกซิไดซ์สูง การเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเพื่อให้สารละลายมีสภาพเป็นกรดและช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ ที่อุณหภูมิสูงภายในภาชนะที่ป้องกันการระเหยออกของไอได้

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

อุปกรณ์เครื่องแก้ว

- 1.) หลอดทดลองพร้อมฝาเกลียวขนาด 15 mL
- 2.) ตู้อบ
- 3.) ปีกเกอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เตาเผา
- 6.) บีเปต
- 7.) ซ้อนตักสาร
- 8.) ขวดน้ำกลั่น
- 9.) ขวดปรับปริมาตร
- 10.) ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL
- 11.) บิวเรต

สารเคมีและการเตรียม

1) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.1 N โดยอบแห้งโพแทสเซียมไดโครเมตที่อุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งสาร 4.93 g ละลายในน้ำกลั่น และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 mL และ เมอคิวรีซัลเฟต 33.33 g ปรับปริมาตร 1L ด้วยน้ำกลั่น

2) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น เติมซิลเวอร์ซัลเฟต ลงไป 22 กรัม ต่อกรดซัลฟิวริก 2.65 ลิตร การเติมซิลเวอร์ซัลเฟต เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

3) ละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ ละลาย 1,10- ฟีนานโทรีน-โมโนไฮเดรต 1.485 g และไอร์ออน (II) ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.695 g

4) สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต เตรียมชั่งโดยผลึกแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต 19.6 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 mL คนให้สารละลาย รอให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

สารละลายนี้จะต้องหาค่ามาตรฐานทุกครั้งที่ใช้ดังนี้

นำสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.01 ปริมาตร 5 mL เจือจางด้วยน้ำกลั่นประมาณ 50 mL เติมกรดซัลฟิวริก 15 mL ทิ้งไว้ให้เย็นในที่มืด 5 นาที หยดสารละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวแกมฟ้าไปเป็นสีน้ำตาลแดงเป็นจุดยุติ

คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟตได้ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต (N)} = \frac{(0.1) (5)}{\text{ปริมาณของสารละลายแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟตที่ใช้}}$$

ข. วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางให้อยู่ในช่วงที่จะวิเคราะห์ COD ลงไป 5 mL ในหลอดทดลองขนาด 15 mL

2. ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.1 N ปริมาตร 3 mL

3. ปิเปตตัวอย่างน้ำที่ใส่ลงไป 20 mL (หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจาง) การทำแบลนด์ทำไปพร้อม ๆ กับน้ำตัวอย่าง โดยใช้สารเคมีเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แตกต่างตรงที่ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง

4. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งมีซิลเวอร์ซัลเฟตอยู่ ปิเปตลงไป 7 mL

7. อบที่ความร้อน 150°C ติดต่อกันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วางไว้ให้เย็นเทสารละลายลงในขวดรูปชมพู่

8. หยดเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ลง 2-3 หยดลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเขียวแกมฟ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

การคำนวณ

$$\text{COD (mg/L)} = \frac{(a-b) (N) (8000)}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

เมื่อ a =mL ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟตที่ใช้กับแบลงค์

b = mL ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่าง

c = ความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟต 0.1 N

4) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และแอมโมเนียไนโตรเจน (วิธี Kjeldahl)

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ครุชีเบิล
- 2.) ตู้อบ
- 3.) เดซิเคเตอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เต้าเผา
- 3.) ปีเปต
- 4.) ซ้อนตักสาร

ข. วิธีการวิเคราะห์

ตอนที่ 1 การย่อย

เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนในสารตัวอย่างให้เป็นเกลือไนโตรเจนของแอมโมเนีย โดยนำกากข้าวโพดปริมาณ 0.1 กรัม ลงในขวด Kjeldahl พร้อมกับ boiling chip 2-3 ชิ้น เติม Digestion reagent ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องย่อย ตั้งอุณหภูมิในการย่อยสลาย 375°C ย่อยใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมงย่อยจนได้สารละลายใส จากนั้นย่อยต่อไปอีก 20-30 นาที (ถ้ายังไม่ใสให้เติม Digestion reagent ลงไปอีก 50 มิลลิลิตร) แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

ตอนที่ 2 การกลั่น

เมื่อสารตัวอย่างถูกเปลี่ยนสภาพเป็นเกลือไนโตรเจนของแอมโมเนียด้วยการย่อยทั้งหมดแล้ว ตั้งสารละลายทิ้งให้เย็น และทำให้สารละลายเป็นด่าง โดยการเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลาย Phenolphthlein ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์- โซเดียมไทโอซัลเฟต 50 มิลลิลิตร ใน Digestion tube สารละลายถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สแอมโมเนียที่สามารถระเหยได้ เมื่อทำการกลั่นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สแอมโมเนียที่ถูกกลั่นออกมาเป็นไอจะผ่านตัวควบแน่นแล้วถูกจับด้วย 2% H₃BO₃ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ที่ผสมด้วย Mixed indicator โดยสารละลายที่ได้เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีเขียวแล้วทำการไทเทรตต่อไป

ตอนที่3 การไทเทรต

นำสารที่กลั่นได้จากตอนที่ 2 ไปทำการไทเทรตด้วย H₂SO₄ เข้มข้น 0.01 mol/L จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีชมพู

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (mg/g),(mg/L)} = \frac{(A-B) \times C \times 2800}{\text{mg ตัวอย่าง หรือ mL ตัวอย่าง}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในตัวอย่าง (mL)

B = ปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ในแบลงค์ (mL)

C = ความเข้มข้นของ H_2SO_4 (mol/L) ที่ใช้ในการไทเทรต

ส่วนของแอมโมเนียไนโตรเจนมีวิธีการทดลองและการคำนวณเดียวกันกับการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด แต่ไม่ต้องมีทำกระบวนการย่อย เติมนสารรีเอเจนต์แล้วสามารถสกัดได้เลย

5) วิเคราะห์ Oil and grease วิธีการ (Soxhlet method)

ปรับสภาพตัวอย่างที่เป็นของเหลวให้เป็นกรด (pH น้อยกว่า 2-1) เพื่อให้ไขมันและน้ำมันแตกตัวจากน้ำและทำให้แยกจากการกรอง นำมาสกัดด้วยเครื่องมือสกัดซอกซ์เลต โดยใช้เฮกเซนหรือฟริออนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำไประเหยให้เหลือแต่น้ำมันที่ละลายผสมอยู่ ซึ่งน้ำหนักที่เหลือซึ่งเป็นปริมาณไขมันและน้ำมันในตัวอย่าง

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) ชุดสกัดซอกซ์เลต
- 2) เครื่องดูดสุญญากาศ
- 3) กรวยบुकเนอร์
- 4) เครื่องอ่างน้ำ
- 5) ขวดสกัด
- 6) เครื่องชั่งละเอียด
- 7) ตู้อบ
- 8) กระดาษกรองเบอร์ 40 ขนาด 7 cm
- 9) เอกซ์แทรคชันทิมเบล
- 10) ลูกแก้ว
- 11) กรดซัลฟิวริก หรือไฮดรคลอริก
- 12) เฮกเซน

ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 1 L แล้วปรับ pH ด้วยกรดซัลฟิวริก (ใช้ประมาณ 5mL)
- 2) กรองด้วยกระดาษกรองในกรวยบुकเนอร์แล้วเทสารแขวนลอย โดยใช้เครื่องสุญญากาศดูดน้ำออก ล้างกรดออกด้วยน้ำกลั่นประมาณ 1 L ดูดน้ำออกจนแห้ง
- 3) ใช้ครีมีคิบบกระดาษกรองนำไปใส่ในทิมเบล ใช้สำลีชุบเฮกเซน เช็ดไขมันที่ติดอยู่ให้หมดแล้วใส่ลงในทิมเบลด้วย

4) นำทิมเบลไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 30 นาที ใส่เม็ดแก้วให้เต็มทิมเบล ชั่งน้ำหนักขวดที่ใช้สกัดซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่

5) นำทิมเบลใส่ชุดชอกเลตส์ แล้วสกัดด้วยเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย 20 รอบต่อชั่วโมง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 85°C

6) กลับเฮกเซนจากขวดสกัดออกจนแห้งในเครื่องอังน้ำที่สามารถนำเฮกเซนกลับไปใช้ได้ใหม่อีก ปล่อยขวดสกัดให้เย็นในโถทำแห้ง 30 นาที แล้วนำชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ไขมันและน้ำมัน (mg/L)} = \frac{(B-A) \cdot 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

A=ขวดเปล่า

B=ขวดและตัวอย่าง

6) Alkalinity (วิธีโพเทนทิโอเมตริก)

การใช้วิธีโพเทนทิโอเมตริกมีหลักการหาค่าอัลคาไลด์ด้วยวิธีการใช้อินดิเคเตอร์ แต่การใช้วิธีโพเทนทิโอเมตริกด้วยการวัดด้วย pH ในการแสดงผลแทนสีจากจุดยุติ ของจุดสมมูลที่ได้จากการไตเตรตแทน

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) เครื่องวัด pH
- 2) เครื่องกวนแม่เหล็ก
- 3) ปิเปต
- 4) บีกเกอร์
- 5) บิวเรต
- 6) H₂SO₄ 0.02 N

ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) ปิเปตตัวอย่างน้ำเสีย ที่ไม่มีการกรองและเจือจางใด ๆ 50 mL ลงในบีกเกอร์
- 2) จุ่มอิเล็กโตรดลงในบีกเกอร์วัด pH
- 3) จากนั้นไตเตรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.02 N ทำการไตเตรตตัวอย่างจนกระทั่ง pH ลดลงถึง 4.3 จดปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรต แต่ถ้าหาก pH ของสารละลายตัวอย่างต่ำกว่า 4.3 ไม่มีค่าสภาพต่าง

การคำนวณ

$$\text{สภาพต่างทั้งหมด} = \frac{(\text{ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรต}) (N) (50,000)}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

7) Total phenolic content

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 2) หลอดทดลอง
- 3) ปีกเกอร์
- 4) ปิเปต
- 5) Folin-Ciocalteu's phenol
- 6) 7% NaCO₃
- 7) กรดแกลลิก

ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) ปิเปตตัวอย่าง 0.25 mL ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 mL โดยสารละลายตัวอย่างจะต้องเจือจางให้อยู่ในปริมาณความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 2) ปิเปตน้ำกลั่น 3 mL ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายตัวอย่างอยู่
- 3) เติม Folin-Ciocalteu's phenol ลงในหลอดทดลองตัวอย่าง ปริมาณ 0.25 mL
- 4) เติม 7% NaCO₃ 2.5 mL ลงในหลอดทดลอง จากนั้นผสมทั้งหมดให้เข้ากันอย่างดี
- 5) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 6) สารละลายมาตรฐานที่ใช้เป็นกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นการเส้นตรงเป็นข้อมูลจากค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในการคำนวณความเข้มข้นในการคำนวณความเข้มข้นในตัวอย่างจากค่าการดูดกลืนแสงต่อไป

8) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate content)

จากการศึกษาเพื่อทราบปริมาณขององค์ประกอบหลักของพืชสำหรับเป็นอาหารเพื่อป้อนเข้าสู่กระบวนการหมักจะต้องมีการหาองค์ประกอบต่าง ๆ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่สำคัญคือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งสามารถคำนวณได้จากการหักลบองค์ประกอบต่าง ๆ ที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตออกไป

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด} = 100 - (\text{ความชื้น} + \text{ไขมัน} + \text{โปรตีน} + \text{เถ้า} + \text{ฟีนอลิก})$$

9) Sulfate content

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) Sulfate cell test
 - หลอดทดลองพร้อมน้ำยาสำหรับทำปฏิกิริยา
 - ผงแบเรียมไอออนสำหรับทำปฏิกิริยากับซัลเฟต (reagent SO₄ -1K)
- 2) เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์รุ่น ฟาโร 300

3) เครื่องผสมสารในหลอดทดลอง (Vortex รุ่น Genie 2)

ข. วิธีวิเคราะห์

1) นำสารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางเพื่อให้ปริมาณความเข้มข้นของซัลเฟตอยู่ในช่วง 500 mg/L SO_4^{2-} โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างลงในหลอดทดลอง 2 mL ที่มีสารเคมีสำหรับทำปฏิกิริยาจากชุดทดลอง

2) ตักผงแบเรียมไอออน (reagent SO_4^{-1}K) ลงในหลอดทดลองปริมาณ 1 ซ้อนของชุดทดลอง

3) จากนั้นปิดฝาหลอดให้แน่นแล้วเขย่าให้สารละลายและตะกอนทั้งหมดผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารในหลอดทดลอง

4) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น ฟาโร 300 เครื่องจะทำการเรียกข้อมูลและดำเนินการตรวจวัดตามข้อมูลที่ถูกระบุจากการจากบาร์โคดของหลอดทดลองและได้ค่าความเข้มข้นของซัลเฟตออกมาในหน่วย mg/L

10) การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereo Microscope)

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) จานใส่ตัวอย่าง
- 2) ที่คีบ
- 3) น้ำกลั่น
- 4) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ
- 5) คอมพิวเตอร์สำหรับแสดงภาพและบันทึกภาพถ่าย

ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) คีบตัวอย่างที่ต้องการใส่ลงในจานสำหรับใส่ตัวอย่าง โดยเทน้ำกลั่นลงไปใ้ในภาควัตถุตัวอย่างให้ท่วมตัวอย่าง
- 2) นำภาควัตถุตัวอย่างไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอแบบใช้แสง ที่ขนาดขยายต่าง ๆ ด้วยการปรับกำลังขยายและเลนส์โฟกัสตามที่ต้องการ และเลื่อนภาควัตถุตัวอย่างเพื่อหาบริเวณตัวอย่างที่ต้องการสังเกตเพื่อศึกษาและบันทึกภาพถ่ายไว้ ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

11) การวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยง่าย

ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography รุ่น HP 1100, Hewlett-Packard

ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

1. เครื่อง HPLC ที่ประกอบด้วย คอลัมน์ รุ่น Pinnacle II C18 และ UV Detector
2. ชุดกรอง Mobile Phase
3. Ultrasonic bath
4. ขวดใส่ Solvent ขนาด 1
5. ขวดวัดปริมาตร
6. ไมโครปิเปต

7. เมมเบรน ขนาด 0.25 μm
8. Syringe พลาสติก ขนาด 1 mL
9. หลอดหยด
10. ซ้อนตักสาร
11. 2.5 mM กรดซัลฟิวริก
12. Methanol (HPLC grade)
13. Deionized water
14. กรดแลคติก อะซิติก บิวทิริก และ โพรพิโอนิกทำเป็นสารมาตรฐานผสม

ข. วิธีวิเคราะห์

Condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารละลายตัวพา : 2.5 mM H_2SO_4

อัตราการไหล : 0.60 mL/min

ปริมาตรที่ฉีดเข้าคอลัมน์ : 10 μL

ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด : 210 nm

ก่อนหน้านี้เป็นการหา VFA ที่ง่ายโดยการไตเตรตแต่ไม่สามารถวิเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ของกรดได้ แต่การวิเคราะห์โดยวิธีนี้สามารถที่จะบอกได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ ซึ่งก่อนทำการทดลองด้วยเครื่อง HPLC ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ได้ก่อนนำมาวิเคราะห์ โดยต้องถูกทำให้ตกตะกอนโดยการปั่นเหวี่ยงแล้วนำส่วนใสกรองลงในขวด Vial จากนั้นจึงสามารถนำไปวัดด้วยเครื่อง HPLC ได้ ซึ่งจะต้องมีการเตรียม standard mix ที่ ได้แก่ กรดแลคติก อะซิติก บิวทิริก และโพรพิโอนิก ความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ลงใน Vial เพื่อวิเคราะห์เช่นเดียวกันกับตัวอย่าง

ในส่วนของสารละลายตัวพาที่ใช้คือสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 mM เป็นสารละลายตัวพาตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ให้ผ่านคอลัมน์ และไปยังดีเทคเตอร์ที่จะต้องทำการกรองและไล่ฟองแก๊สออก ส่วนน้ำกลั่น และเมทานอลจะถูกเตรียมเช่นเดียวกันใช้เป็นสารละลายตัวพาสำหรับล้างคอลัมน์หลังจากเสร็จสิ้นการวิเคราะห์

นำค่าพื้นที่ใต้กราฟตัวอย่างที่ขึ้นตรงกับเวลาของมาตรฐานของกรดชนิดนั้น ๆ ไปคำนวณหาความเข้มข้น จากสมการเส้นตรงค่าความชันกราฟของสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

12) การวิเคราะห์ผลผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมัก

ก. สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องวิเคราะห์ Gas chromatography – Thermal conductivity detector
- 2) เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับประมวลผลพื้นที่ใต้กราฟ
- 3) เข็มฉีดยา และหลอดที่มีการต่อกับวาล์วล็อก
- 4) ถังเก็บแก๊สสำหรับแก๊สมาตรฐาน
- 5) ถังแก๊สไฮโดรเจน
- 6) ถังแก๊สอาร์กอน
- 7) ถังแก๊สมีเทน

ข. วิธีวิเคราะห์

Condition ที่ใช้ในการทดลอง

แก๊สตัวพา : Ar 30 mL/min

จุดฉีดสาร : 100°C

ตู้อบ : 50 °C

ตัวตรวจวัด : 100°C

ปริมาตรที่ฉีด : 0.5 mL

เริ่มจากการวิเคราะห์แก๊สมาตรฐานแก๊สไฮโดรเจน และมีเทน โดยบรรจุแก๊สมาตรฐานลงในถุงเก็บแก๊ส จากนั้นใช้เข็มเก็บแก๊สปริมาตร 0.5 mL ฉีดลงที่จุดฉีดสารของเครื่อง GC และเมื่อดีเทคเตอร์ตรวจวัดได้ คอมพิวเตอร์จะประมวลผลเป็นพื้นที่ใต้กราฟออกมา ใช้เป็นค่ามาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณและความเข้มข้นของแก๊สที่เกิดขึ้นในถังหมักได้ ซึ่งแก๊สตัวอย่างที่เก็บจากถังหมักเก็บที่ปริมาตร 0.5 mL นำมาฉีดที่จุดฉีดสารเช่นเดียวกัน เมื่อได้ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ก็สามารถคำนวณหาปริมาณของแก๊สไฮโดรเจน มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นได้ที่เกิดขึ้นได้ เพื่อหาปริมาณแก๊สของไฮโดรเจนและมีเทนที่เกิดขึ้นในถังหมัก ในการทดลองนี้ใช้เครื่อง Model SHIMADZU GC 14 A ดีเทคเตอร์ชนิด Thermal conductivity detectors (TCD) โดยใช้ Column ชนิด molecular sieve containing stainless steel SS350A 80/100 mesh long 1.5 m

Prince of Songkhla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ข

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการทางกายภาพและทางเคมีของ POME

Date	TS (g/L)	VS (g/L)	COD (g/L)	TKN (g/L)	NH ₃ -N (g/L)	Oil and greass (g/L)
13/6/57	51.88	42.76	63.84	-	0.140	15.08
5/11/57	71.62	61.84	-	-	-	-
29/11/57	72.61	63.15	-	-	-	-
20/4/58	74.74	59.10	67.58	0.797	-	14.11
13/6/58	60.35	50.37	-	-	-	-
19/10/58	81.02	74.04	89.95	-	-	-
13/10/58	83.58	74.14	-	-	-	-
30/10/58	80.10	70.16	-	-	-	-
11/11/58	65.91	54.60	67.20	-	-	-
10/12/58	77.90	69.18	-	-	-	-
10/12/58	64.47	48.22	-	-	-	-
10/12/58	55.03	46.72	-	-	-	-
17/2/59	55.60	46.20	-	-	-	-
9/3/59	50.14	41.21	-	-	-	-
9/3/59	48.84	44.40	-	-	-	-
15/6/59	72.90	63.62	96.60	1.120	-	-

ตารางที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาหร่ายพวงชะโด

Date	TS % (w/w)	VS %TS (w/w)	COD %TS (w/w)	TKN %TS (w/w)	NH ₃ -N %TS (w/w)	Oil and grease %TS (w/w)
29/11/57	95.26*	83.71	-	14.34	-	-
20/11/57	92.74*	75.81	-	-	0.217	-
13/10/58	89.05*	79.61	-	-	-	-
18/8/58	4.20	98.25	-	-	-	-
2/3/59	5.20	98.97	-	-	-	-
14/3/59	5.63	99.17	-	-	-	-
4/4/59	4.36	99.01	-	-	-	-
15/6/16	4.24	99.30	92.86	12.29	-	3.705

*ตัวอย่างสาหร่ายพวงชะโดที่ใช้วิเคราะห์เป็นแบบแห้ง

ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ COD, TKN, Total phenolic content และ SO_4^{2-} ของน้ำหมักขาออกที่ HRT ต่าง ๆ

substrat	COD (mg/L)	TKN (mg/L)	Total phenolic content (mg/L)	SO_4^{2-} (mg/L)	TS (g/L)	VS (g/L)
Effluent CSTR HRT 5 d	61,920	4,42.4	1,298.0	772.1	53.43	44.96
Effluent CSTR HRT 4 d	43,360	603.4	1,088.0	878.0	54.68	37.9
Effluent CSTR HRT 3 d	37,760	582.4	1,038.0	873.0	51.05	34.15
Effluent CSTR HRT 2 d	31,680	588.0	1,008.0	777.3	38.05	25.17
Effluent CSTR HRT 1 d	42,720	572.6	1,258.0	896.2	38.96	24.19
Effluent PFR HRT 52.5 d	4,200	427.7	361.2	129.8	17.15	6.08
Effluent PFR HRT 40 d	3,100	318.5	117.5	59.0	19.77	8.55
Effluent PFR HRT 30 d	2,100	233.8	73.7	41.4	18.58	6.43

ตารางที่ ข.4 ข้อมูลความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจนจากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้นตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโต ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Hydrogen Concentration (%)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7	8.8	4.5	0.0
2	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	17.8	24.0	17.5	18.8	17.0	10.6
3	0.0	0.0	0.0	1.7	17.0	24.6	35.6	20.2	18.8	19.0	13.2
4	0.0	13.5	21.3	22.5	26.7	32.9	34.7	18.3	17.4	21.2	13.1
5	13.8	24.2	28.7	30.5	29.2	24.5	23.1	15.6	15.2	21.4	12.1
6	29.1	36.9	37.6	32.5	35.5	27.0	21.6	15.8	16.7	22.0	9.7
7	21.1	31.4	33.5	36.4	32.8	25.8	20.6	14.5	14.3	20.6	9.0
8	17.3	30.1	21.0	20.5	22.9	18.0	24.8	13.2	15.4	14.0	9.1

ตารางที่ ข.5 ข้อมูลไฮโดรเจนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้นตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโตที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Cumulative hydrogen (mL-H ₂)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	0.09	11.94
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.62	0.95	10.99	0.76	17.63
5	0.00	0.00	9.43	1.82	15.64	0.31	15.67	0.89	19.45	0.05	26.91
6	8.59	0.93	17.80	2.30	24.05	0.53	24.98	1.62	24.88	0.55	28.81
7	25.87	4.77	36.41	3.19	35.38	2.92	30.89	0.88	33.60	2.25	31.42
8	28.09	3.74	38.04	3.93	36.46	3.33	34.35	2.38	35.13	3.97	31.91

ตารางที่ ข.6 ข้อมูลความเข้มข้นของแก๊สมีเทน จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟุ้งชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Methane Concentration (%)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	83.7	88.8	91.1	91.5	83.0	87.6	83.6	80.6	80.2	80.9	82.3
2	58.9	64.1	59.8	70.3	70.6	72.4	69.5	62.7	68.1	64.8	64.3
3	69.3	68.6	70.1	70.2	69.3	76.4	77.5	78.7	77.3	76.7	82.5
4	52.7	53.0	57.1	54.4	67.6	65.3	67.9	70.9	70.6	70.9	74.9
5	55.9	52.8	54.8	57.9	65.6	72.2	66.6	71.7	71.6	67.9	70.3
6	65.6	64.9	64.8	64.5	64.8	74.0	77.1	78.2	78.6	76.2	78.9
7	63.9	62.7	64.0	63.9	64.1	70.6	73.7	73.1	74.0	73.3	76.9
8	61.3	59.5	61.0	62.9	63.2	71.3	71.6	73.9	73.3	72.0	76.1
9	65.8	62.0	59.6	61.8	59.9	69.7	66.9	75.4	69.3	74.3	81.3
10	58.2	56.4	57.7	57.8	60.0	63.8	68.6	68.7	69.3	68.3	71.9
11	59.9	58.5	60.6	59.8	62.1	65.9	57.0	69.4	70.0	64.5	74.0

ตารางที่ ข.7 ข้อมูลผลมีเทนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟุ้งชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Cumulative methane (mL-H ₂)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	73.1	75.3	79.4	81.3	70.1	76.0	71.0	65.5	62.4	58.1	62.2
2	86.1	87.4	92.5	94.1	85.4	86.8	87.5	76.7	73.7	68.5	72.8
3	136.1	131.7	139.1	135.2	121.3	123.1	125.5	111.8	101.6	98.9	102.4
4	142.5	137.2	144.3	140.3	128.5	127.4	130.2	114.9	106.2	102.9	106.7
5	148.8	141.0	147.5	145.3	136.0	133.9	132.6	118.7	110.4	104.6	110.1
6	171.1	160.3	160.2	156.0	149.5	141.2	145.0	126.5	120.4	116.9	118.4
7	181.4	168.3	165.5	162.5	155.0	149.9	151.3	130.2	125.8	123.5	120.8
8	186.5	171.4	168.5	165.5	158.4	159.4	155.0	133.1	130.9	127.0	122.7
9	189.2	176.2	170.8	167.3	159.4	163.5	156.6	136.1	131.6	129.2	127.0
10	192.0	178.1	173.5	169.1	161.7	164.8	160.5	138.4	133.4	131.1	127.7
11	193.3	180.4	176.3	170.8	163.6	166.8	161.5	139.2	134.2	132.4	128.4

ตารางที่ ข.8 ข้อมูลผลรวม และผลผลิตของไฮโดรเจนและมีเทนสุดท้าย จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทน ในกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

POME: C. demersum (VS Basis)	C/N ratios	Cumulative hydrogen (mL-H ₂)	Hydrogen production yield (mL-H ₂ /g-VS)	Cumulative methane (mL-CH ₄)	Methane production yield (mL-CH ₄ /g-VS)
100:0	29.0	29.55±3.81	49.2±3.81	77.8±3.4	410.4±18.7
90:10	27.7	39.21±3.37	65.3±3.37	64.9±3.2	360.7±18.0
80:20	26.6	36.57±3.33	60.9±3.33	60.8±2.9	337.8±16.1
70:30	25.4	34.46±3.27	57.4±3.27	55.3±2.7	307.2±15.1
60:40	24.2	35.25±4.00	58.7±4.00	48.1±5.4	267.0±30.2
50:50	23.0	32.00±2.36	53.3±2.36	51.3±3.9	284.8±21.9
40:60	21.8	33.57±1.07	55.9±1.07	46.0±3.0	255.4±16.8
30:70	20.6	18.58±0.94	31.0±0.94	23.7±1.8	131.6±10.0
20:80	19.4	17.45±1.19	29.1±1.19	18.7±2.4	103.7±13.5
10:90	18.2	18.21±1.72	30.3±1.72	16.9±2.4	94.0±13.5
0:100	17.0	16.40±0.98	27.3±0.98	12.9±1.7	71.9±9.4

