



การปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพืชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็ก
Enhancement of Biohydrogen Production from Aquatic Plants
and Microalgae

คณศ จรัสวิชากร
Kanes Jaraswichakorn

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพืชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็ก
Enhancement of Biohydrogen Production from Aquatic Plants
and Microalgae

คณศ จรัสวิชากร
Kanes Jaraswichakorn

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพีชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็ก
 ผู้เขียน นายคณศ จรัสวิชากร
 สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

.....ประธานกรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

.....กรรมการ
 (ศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ เขียรศิลป์)

.....กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลธิศา สุขเกษม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็น
 ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการ
 สิ่งแวดล้อม

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นายคณศ จรัสวิชากร)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นายคณศ จรัสวิชากร)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพีชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็ก
 ผู้เขียน นายคณศ จรัสวิชากร
 สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม
 ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

พีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำประเทศไทยมีการแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว หากพีชน้ำตายจะเกิดการย่อยสลายส่งผลให้เกิดปัญหาแหล่งน้ำขาดออกซิเจน และคุณภาพน้ำเสื่อมลง อย่างไรก็ตามพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กยังคงมีข้อดีในเรื่องการลดสารอินทรีย์ในน้ำได้ การนำพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กที่มีในแหล่งน้ำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยใช้เป็นวัสดุหมักในการผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เพื่อผลิตเป็นพลังงานทดแทนลดการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีการปลดปล่อย CO₂ จากการเผาไหม้ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะโลกร้อน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กด้วยคลื่นไมโครเวฟ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศ โดยการศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นแทน ผักตบชวา สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก ด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ระดับการให้พลังงาน Energy intensity (EI) ตั้งแต่ 0 - 99,000 kJ/kgTS พบว่า EI เท่ากับ 13,200 kJ/kgTS ให้ผล solubilization yield สูงสุด และเมื่อ EI มากกว่า 33,000 kJ/kgTS ส่งผลให้ solubilization yield ลดลง แสดงว่าคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายโครงสร้าง Lignocellulose ของพีชน้ำได้เพียง EI ค่าหนึ่งๆ เท่านั้น สำหรับการศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตไฮโดรเจนด้วยความร้อนปานกลาง แล้วค่อยเพิ่มความร้อนสูงขึ้น (slow heat) และการใช้ความร้อนสูงทันที (fast heat) โดยใช้วัสดุหมักเป็นกลูโคส และแป้ง ทำการหมักด้วย pH 5.5 ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C พบว่า slow heat สามารถส่งเสริมให้หัวเชื้อจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนได้ดีกว่า fast heat ซึ่งการหมักกลูโคสได้ hydrogen yield สูงสุดที่ 35°C ในขณะที่ hydrogen yield จากแป้ง สูงสุดที่ 55°C จากผลการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนคัดเลือก slow heat เพื่อเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กที่อุณหภูมิ 55°C pH 5.5 ที่ระดับ EI เท่ากับ 13,200; 26,400; 52,800 kJ/kgTS พบว่าสาหร่ายขนาดเล็กที่ระดับ EI เท่ากับ 13,200 kJ/kgTS ให้ประสิทธิภาพผลิตไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 26.0 mL/gTS เมื่อเปรียบเทียบกับหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธี micro oxygenation โดยการเติมออกซิเจน เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O₂/mL_{inoculum} ที่ระยะเวลา 168 h พบว่าการใช้ออกซิเจน 10 mL O₂/mL_{inoculum} ได้ประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 37.1 mL/gTS วิธีการนี้สามารถช่วยลดระยะเวลา ค่าใช้จ่าย และการใช้พลังงานที่เกิดขึ้นในกระบวนการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน จึงเป็นแนวทางในการจัดการด้านสิ่งแวดล้อม และผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศที่มีประสิทธิภาพอย่างยั่งยืน

Thesis title	Enhancement of Biohydrogen Production from Aquatic Plants and Microalgae
Author	Mr. Kanen Jaraswichakorn
Major program	Environmental Management
Academic year	2018

ABSTRACT

Aquatic plants and microalgae in Thailand has rapidly expanded, The degradation of aquatic plants consequently deteriorates the water quality. However, aquatic plants and microalgae have advantages in reducing organic matter in water. Using aquatic plants and microalgae as a substrates in biohydrogen production from dark fermentation can be produced as an alternative energy to reduce the use of fossil fuels with CO₂ emissions from combustion which is the cause of global warming. The objective of this research was to evaluate effectiveness of aquatic plants and microalgae pretreatment using microwave radiation to enhance biohydrogen production from dark fermentation. Results illustrated pretreatment of duckweed, water hyacinth, hydrilla and microalgae using microwave irradiation energy intensity of 0 - 99,000 kJ/kgTS, EI > 33,000 kJ/kgTS decrease solubilization yield of all substates demonstrating that the microwave irradiation can destroy the lignocellulose structure. The study of specific hydrogenic activity was conducted at 35°C and 55°C pH 5.5 to evaluate the potential of inoculum using different thermal pretreatment. Slow heat showed higher hydrogenic activity than fast heat, glucose and starch could be used to represent the effectiveness of hydrogen production at 35°C and 55°C respectively. Biochemical hydrogen potential assay was performed with slow heat at 55°C pH 5.5 using aquatic plants and microalgae to estimate the effect of microwave energy intensity (EI) 13,200; 26,400; 52,800 kJ/kgTS. Microalgae gave highest H₂ yield was 26.0 mL/gTS at 13,200 kJ/kgTS, In the subsequent experiment, Microalgae via micro oxygenation with oxygen dose 0, 10 and 15 mL O₂/mL_{inoculum} at 168 h, Oxygen dose 10 mL O₂/mL_{inoculum} exhibit highest H₂ yield was 37.1 mL/gTS. This approach can reduce cost, time and energy consumption during inoculum pretreatment. Thus it could be feasible strategy for sustainable environmental and energy management.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาอย่างสูงในการให้คำปรึกษา คำแนะนำจากรองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ไชยประพัทธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมอันเป็นประโยชน์ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่านในคณะกรรมการจัดการสิ่งแวดล้อม ที่ได้ให้ความรู้เชิงวิชาการ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ บริษัททดลองอุตสาหกรรมน้ำยางขึ้น จำกัด อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในการเข้าเก็บตะกอนจุลินทรีย์

ขอขอบคุณ บริษัท เหลียงเฮงหลีฟาร์ม จำกัด อำเภอนาหม่อม จังหวัดสงขลา ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในการเข้าเก็บพืชน้ำ

ขอขอบคุณ ดร.บุญญา ชาญนอก และดร.กัญญารัตน์ สฤกษ์พงศ์ทิรฆ ที่คอยช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ และสมาชิกในห้องปฏิบัติการวิจัยก๊าซชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์ ทุกคนที่ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจ และการช่วยเหลือในการทำงานวิจัยด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่เป็นแรงผลักดันพร้อมให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน และเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยต่อสู้กับปัญหา และอุปสรรคต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณศ จรัสวิชาการ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญรูปภาพ	(13)
สัญลักษณ์คำย่อ และตัวย่อ	(14)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การทบทวนเอกสาร	5
2.1 วัสดุหมัก	5
2.2 หัวเชื้อจุลินทรีย์	7
2.3 การปรับสภาพขั้นต้นสำหรับผลิตไฮโดรเจน	8
2.4 กระบวนการผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพ	16
2.5 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไฮโดรเจน	20
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน	21
2.7 ศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Biological Hydrogen Production	22
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานโครงการ	24
3.1 ภาพรวมขั้นตอนวิธีการดำเนินงานวิจัย	24
3.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ และวัสดุหมัก	24
3.3 การทดลองที่ 1 ศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นของวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ ที่ระดับการให้พลังงาน และระยะเวลาต่างๆ	27
3.4 การทดลองที่ 2 การศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจน และศักยภาพ การผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมัก	29
3.5 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเติมออกซิเจนต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน	33
3.6 วิธีวิเคราะห์	34
3.7 วิเคราะห์ทางสถิติ	34
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผล	35
4.1 คุณลักษณะของวัสดุหมัก	35
4.2 ผลการทดลองที่ 1 ศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นของวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ ที่ระดับการให้พลังงาน และระยะเวลาต่างๆ	37

4.3 ผลการทดลองที่ 2 การศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจน และศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมัก	41
4.4 ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเติมออกซิเจนต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน	50
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	55
อ้างอิง	58
ภาคผนวก	65
ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบจากการทดลอง	66
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	97
ประวัติผู้เขียน	103

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	การปรับสภาพขั้วต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน	11
3-1	เงื่อนไขระยะเวลาการปรับสภาพขั้วต้นของวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ	28
3-2	องค์ประกอบ และปริมาณของสารละลายสารอาหารในการทดลอง SHP	30
4-1	ลักษณะของวัสดุหมัก และหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	36
4-2	การประเมิน Empirical formula และซีโอดีทางทฤษฎี (COD _{th})	36
4-3	การวิเคราะห์เส้นใยของวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้วต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ ที่กำลัง 330 W	41
4-4	ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน, อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด และระยะเวลา Lag phase จากการผลิต H ₂ ของวัสดุหมักด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่ระยะเวลา 168 ชั่วโมง	49
4-5	ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน, อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด และระยะเวลา Lag phase จากการผลิต H ₂ ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ ที่เติมออกซิเจนที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง	52
 ตารางภาคผนวก		
ก-1	ค่า SCOD ของแหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก หลังการปรับสภาพขั้วต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W และ 1,100 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	67
ก-2	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 35°C ในการผลิต H ₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat	69
ก-3	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 55°C ในการผลิต H ₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat	69
ก-4	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 35°C ในการผลิต H ₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้วต้น (No heat)	70
ก-5	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 55°C ในการผลิต H ₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้วต้น (No heat)	70
ก-6	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 35°C	71
ก-7	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C	71
ก-8	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 35°C	72

ก-9	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C	72
ก-10	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ และ CH ₄ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat) ที่อุณหภูมิ 35 และ 55°C	73
ก-11	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ และ CH ₄ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat) ที่อุณหภูมิ 35 และ 55°C	74
ก-12	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 55°C ในการผลิต H ₂ จากวัสดุหมัก 4 ชนิด ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat	75
ก-13	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมักแทนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	75
ก-14	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมักผักตบชวาด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	77
ก-15	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมักสาหร่ายหางกระรอกด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	79
ก-16	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	81
ก-17	ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H ₂ และ CH ₄ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กที่ความเข้มข้น O ₂ เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O ₂ /mL _{inoculum}	83
ก-18	ปริมาณ CH ₄ สะสม (Cumulative CH ₄ production) จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กที่ระดับความเข้มข้น O ₂ เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O ₂ /mL _{inoculum}	86
ก-19	ค่า Specific VFA จากการผลิต H ₂ ของแทนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	88
ก-20	ค่า Specific VFA จากการผลิต H ₂ ของผักตบชวากับหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	90
ก-21	ค่า Specific VFA จากการผลิต H ₂ ของสาหร่ายหางกระรอกด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	92
ก-22	ค่า Specific VFA จากการผลิต H ₂ ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข-1	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของແ່ນหลังปรับสภาพขั้นต้น ด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	99
ข-2	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของผักตบชวาหลังปรับสภาพขั้นต้น ด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	99
ข-3	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายหางกระรอกหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	100
ข-4	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายขนาดเล็กหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	100
ข-5	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของผักตบชวาหลังปรับสภาพขั้นต้น ด้วยคลื่นไมโครเวฟ 1,1000 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	101
ข-6	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายขนาดเล็กหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 1,1000 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS	101
ข-7	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมัก Glucose ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ Fast และ Slow	102
ข-8	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมัก Glucose ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ Fast และ Slow	102
ข-9	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักແ່ນด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	103
ข-10	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักผักตบชวด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	103
ข-11	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักสาหร่ายหางกระรอกด้วย หัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	104
ข-12	ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วย หัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS	104

สารบัญรูปร่างภาพ

รูปที่		หน้า
2-1	วัสดุหมัก ก) แหนบ ข) ผักตบชวา ค) สาหร่ายขนาดเล็ก ง) สาหร่ายหางกระรอก	7
2-2	การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์	8
2-3	การปรับสภาพขั้นต้นพีชลิกลินเซลลูโลส	10
2-4	สาหร่ายสายพันธุ์ <i>Monoraphidium</i> sp. a) ก่อนการปรับสภาพ b) หลังการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ	14
2-5	ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศ	18
3-1	ภาพรวมขั้นตอนวิธีการดำเนินงานวิจัย	26
3-2	วัสดุหมักแห้งหลังจากกลดให้ได้ขนาดประมาณ 3 mm	27
3-3	การเตรียมตัวอย่างสำหรับการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟในห้องปฏิบัติการ	29
3-4	ขั้นตอนการทดลองศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) ในห้องปฏิบัติการ	31
3-5	เครื่อง Oxidation Reduction Potential	33
4-1	Solubilization yield ของวัสดุหมักหลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ ก) 330 W ข) 1,100 W	40
4-2	Hydrogen yield ของจากการหมักกลูโคสด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast, Slow และ No heat ก) 35°C ข) 55°C โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ	44
4-3	Hydrogen yield ของจากการหมักแป้งด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast, Slow และ No heat ก) 35°C ข) 55°C โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ	45
4-4	ปริมาณไฮโดรเจนสะสมชั่วโมงที่ 168 ของวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W ที่ EI ต่างๆ	48
4-5	สัดส่วน Acetic ต่อ Butyric สะสมชั่วโมงที่ 168 จากการผลิต H ₂ ของวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI ต่างๆ	48
4-6	ประสิทธิภาพไฮโดรเจนของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O ₂ /mL inoculum ก) ปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W ข) ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ	51
4-7	ค่า pH จากการผลิต H ₂ ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ ก) 0, ข) 10 และ ค) 15 mL O ₂ /mL inoculum	53
4-8	ค่า ORP จากการผลิต H ₂ ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ ก) 0, ข) 10 และ ค) 15 mL O ₂ /mL inoculum	54

สัญลักษณ์คำย่อ และตัวย่อ

η_s	= Solubilization yield คือ ประสิทธิภาพการละลาย
R^2	= R-square คือ ค่าความสอดคล้อง
BHP	= Biochemical hydrogen potential คือ ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน
C	= Carbon คือ ธาตุคาร์บอน
CH ₄	= Methane คือ ก๊าซมีเทน
C/N	= Carbon to Hydrogen ratio คือ สัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน
COD _{th}	= Theoretical Chemical Oxygen Demand คือ ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ด้วยวิธีทางทฤษฎี
DF	= Dark fermentation คือ กระบวนการหมักแบบไร้อากาศ
EI	= Energy intensity คือ ระดับการใช้พลังงาน
FH	= Fast heat คือ การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบให้ความร้อนรวดเร็ว
GC	= Gas Chromatography คือ เทคนิคการแยกสารโดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส และเฟสอยู่กับที่เป็นคอลัมน์
H	= Hydrogen คือ ธาตุไฮโดรเจน
h	= hour คือ ชั่วโมง
H ₂	= Biohydrogen คือ ก๊าซไฮโดรเจน
HCB	= Hydrogen Consume Bacteria คือ กลุ่มจุลินทรีย์ใช้ไฮโดรเจน
HPB	= Hydrogen Produce Bacteria คือ กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน
J	= joule คือ หน่วยของพลังงานในระบบ SI
M	= molarity คือ โมลาริตี หรือ โมลาร์ เป็นหน่วยความเข้มข้นของอัตราส่วนจำนวนโมลของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารละลายปริมาตร 1 ลิตร
min	= minute คือ นาที
mol	= mol คือ โมล
mV	= Millivolts คือ มิลลิโวลต์
N	= Nitrogen คือ ธาตุไนโตรเจน
O	= Oxygen คือ ธาตุไนโตรเจน
ORP	= Oxidation Reduction Potential คือ ระดับความสามารถในการเกิดออกซิเดชันและการเกิดรีดักชัน
pH	= ความเป็นกรด-ด่าง

- rpm = Revolutions per minute คือ รอบต่อนาที
- S = Sulfur คือ ธาตุซัลเฟอร์
- SCOD = Soluble Chemical Oxygen Demand คือ ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ด้วยวิธีทางเคมีที่อยู่ในรูปละลายน้ำ
- SD = Standard Deviation คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- SH = Slow heat คือ การปรับสภาพขั้วตันหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบให้ความร้อนช้า
- SHP = Specific hydrogen production potential คือ ศักยภาพผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์
- TS = Total solid คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมด
- VS = Volatile solid คือ ปริมาณของแข็งระเหยง่าย
- VFA = Volatile Fatty Acid คือ กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 6 ตัว
- W = Watt คือ วัตต์

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สถานการณ์พลังงานของโลกในปัจจุบันยังจำเป็นต้องพึ่งพาเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น ถ่านหิน น้ำมัน และก๊าซธรรมชาติเป็นหลัก เพื่อการผลิตพลังงานให้เพียงพอต่อความต้องการ ส่งผลให้เชื้อเพลิงฟอสซิลสำรองที่ยังคงเหลืออยู่มีราคาสูงขึ้น (Bundhoo & Mohee, 2016) อีกทั้งการใช้พลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิลจำนวนมากยังก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อม จากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงฟอสซิล นำไปสู่ปัญหาภาวะโลกร้อน (Chong et al., 2009) วิธีในการแก้ปัญหาจากการใช้พลังงานที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อโลก จำเป็นต้องหาแหล่งพลังงานทางเลือก เพื่อทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป หนึ่งในทางเลือกที่น่าสนใจ คือ การใช้กระบวนการทางชีวภาพในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Hallenbeck & Ghosh, 2009) ในบรรดาทางเลือกของเชื้อเพลิงชีวภาพก๊าซมีเทน (CH₄) และก๊าซไฮโดรเจน (H₂) ถือว่าเป็นพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลที่น่าสนใจทั้งคู่ สำหรับมีเทนเป็นสารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นสาเหตุของภาวะเรือนกระจก โดยที่มีเทน 1 โมเลกุล มีความสามารถดูดซับรังสีอินฟราเรดจากดวงอาทิตย์ได้มากกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ถึง 25 เท่า (Rodhe, 1990) ในขณะที่ไฮโดรเจน ไม่มีมีสารประกอบคาร์บอนจึงไม่ปลดปล่อย CO₂ จากการเผาไหม้จึงไม่ก่อให้เกิดมลพิษ และไม่เป็สาเหตุของการเกิดภาวะโลกร้อน จึงถือว่าเป็นเชื้อเพลิงสะอาดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังให้ค่าความร้อนสูง เท่ากับ 122 kJ/g (Singh & Wahid, 2015) ไฮโดรเจนเป็นพลังงานที่สามารถผลิตได้จากกระบวนการทางชีวภาพ แบ่งเป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ อาศัยกระบวนการหมักแบบใช้แสง (photo fermentation) และกระบวนการหมักแบบไร้แสงหรือหมักแบบไร้อากาศ (dark fermentation) (Won & Lau, 2011) การผลิตไฮโดรเจนผ่านกระบวนการหมักแบบไร้อากาศมีข้อได้เปรียบ คือ ไม่ต้องการแสงสามารถดำเนินได้ตลอดเวลา (Lo et al., 2010)

ชีวมวลที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นแรกมาจากพืชแป้ง เช่น ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพืชอาหาร อาจส่งผลกระทบต่อความมั่นคงทางอาหาร (Chang et al., 2010) จึงเกิดเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นสองที่ยังคงใช้พืชแป้ง และพืชชนิดอื่นๆ รวมถึงวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ชังข้าวโพด ฟางข้าว (Guo et al., 2010) และรุ่นที่สามหรือเชื้อเพลิงชีวภาพได้ปรับมาใช้เป็นพืชที่ไม่ได้เป็นพืชอาหาร แต่ยังคงจำเป็นต้องมีการปลูกในที่ดิน จึงเกิดทางเลือกในการหาพืชที่ไม่จำเป็นต้องแบ่งแยกพื้นที่สำหรับปลูกพืชอาหาร และพืชพลังงาน สาหร่ายขนาดเล็กจึงเป็นหนึ่งในตัวเลือกสำหรับการนำมาใช้เป็นชีวมวลในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพรุ่นที่สาม

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติมีการเจริญเติบโตเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับพืชทั่วไป (Chu et al., 2013) การเพาะเลี้ยงทำได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่มากเพื่อแย่งพื้นที่เพาะปลูกสำหรับพืชชนิดอื่นๆ (Mussgnug et al., 2010) และยังไม่มียังมีองค์ประกอบของลิกนิน

(Sambusiti et al., 2015) จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาเป็นวัสดุหมักในการผลิตไฮโดรเจน อีกทั้งสำหรับขนาดเล็กรังมีองค์ประกอบภายในเซลล์เป็นโปรตีน (55%), คาร์โบไฮเดรต (9%) และไขมัน (25%) (Sialve et al., 2009) จากรายงานของ Sun et al. (2011) ผลิตไฮโดรเจนจากสำหรับขนาดเล็กรังมีองค์ประกอบได้ประสิทธิภาพ เท่ากับ 7.13 mL/gVS มีความเข้มข้นของไฮโดรเจน 45.3% และ Yun et al. (2012) ผลิตไฮโดรเจนจากสำหรับขนาดเล็กรังได้ประสิทธิภาพ เท่ากับ 31.2 mL/gTS

ในขณะที่ที่พืชน้ำในแหล่งน้ำประเทศไทย ได้มีการขยายและแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะผักตบชวาสำรวจข้อมูล ณ ก.ค. 2559 พบในแหล่งน้ำทั่วประเทศไทยมีปริมาณกว่า 6 ล้านตัน (กรมโยธาธิการและผังเมือง, 2559) ปัญหาที่เกิดจากพืชน้ำ เช่น ลดการไหลเวียนของน้ำ กีดขวางการสัญจรทางน้ำ อีกทั้งเมื่อพืชน้ำมีปริมาณมากและตายลงจะเกิดการทับถมกัน ทำให้แหล่งน้ำเน่าเสียได้ แต่ถึงอย่างไรพืชน้ำก็ยังคงมีประโยชน์ในด้านการบำบัดน้ำเสีย เพราะพืชน้ำสามารถดูดซึมสารอินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในแหล่งน้ำเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ชีวมวลของพืชน้ำจึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์โดยการเปลี่ยนชีวมวลพืชน้ำเป็นพลังงานทดแทนในรูปก๊าซไฮโดรเจน โดยพืชน้ำมีองค์ประกอบของเซลลูโลส เช่น แหน (9.25%) ผักตบชวา (39.93%) (Zhao et al., 2014b) เมื่อย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาลที่สามารถเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นชีวมวลทางเลือกสำหรับนำมาใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้เช่นกัน

สำหรับขนาดเล็กรังมีผนังเซลล์ที่แข็งแรง และผนังเซลล์พืชน้ำมีองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งทนทานต่อการถูกทำลายจึงเป็นข้อจำกัดของการย่อยสลายทางชีวภาพ ทำให้ต้องมีการปรับปรุงการเพิ่มการย่อยสลายของสำหรับขนาดเล็กรัง และพืชน้ำด้วยวิธีการปรับสภาพขั้นต้น (pretreatment) การปรับสภาพขั้นต้นสามารถปรับใช้กับวัสดุหมัก หรือหัวเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นทางกายภาพ, ทางเคมี, ทางกายภาพเคมี และทางชีวภาพ โดยสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ที่ต้องการศึกษา สำหรับกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนด้วยเทคนิคการปรับสภาพขั้นต้นทางกายภาพ สำหรับการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (Heat shock) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้นำมาใช้ปรับสภาพขั้นต้นกลุ่มหัวเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายชนิดปะปนกัน (mixed microflora) เพื่อยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มใช้ไฮโดรเจน (Hydrogen consume bacteria) เช่น กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน (methanogens) และเพิ่มการผลิตไฮโดรเจนจากกลุ่มหัวเชื้อ Hydrogen producing bacteria (HPB) นอกจากนี้การเติมออกซิเจนปริมาณเล็กน้อย (Micro oxygenation) เป็นวิธีทางหนึ่งที่สามารถยับยั้งการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน โดยที่ความเข้มข้นของออกซิเจนมากกว่า 0.1 mg/L สามารถยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทนได้ (Deublein & Steinhauser, 2008) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการทำปฏิกิริยาของจุลินทรีย์กลุ่ม hydrolysis ให้สามารถผลิตเอโนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสภายใต้สภาวะ micro oxygenation จึงมีส่วนช่วยในขั้นตอนการย่อยสลาย (hydrolysis) ของกระบวนการ dark fermentation (DF) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันระเหยง่าย (Sawatdeenarunat et al., 2017b) นอกจากนี้การเติมออกซิเจนสามารถยับยั้ง Hydrogen consume bacteria (HCB) และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ HPB ได้ จากผลการทดลองปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์โดยเติมออกซิเจนเป็นเวลา 2 - 24 h สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการ

ผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการ DF เท่ากับ 22.1 - 84.2% (Chang et al., 2011; Dong et al., 2010; Ren et al., 2008b; Wang & Wan, 2008)

สำหรับการปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave pretreatment) มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradability) รวมถึงการปรับปรุงการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ เนื่องจากข้อจำกัดในการผลิตไฮโดรเจนที่ต่ำ ซึ่งเป็นผลมาจากขั้นตอนในการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์ขององค์ประกอบที่มีความแข็งแรง และซับซ้อนของวัสดุหมัก การใช้คลื่นไมโครเวฟทำลายโครงสร้างภายในของพืชมูลึกโกลีโคเซลลูโลสที่มีลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ หรือทำลายผนังเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก ส่งผลให้องค์ประกอบสารอินทรีย์ในรูปของแข็งถูกเปลี่ยนเป็นสารละลายน้ำได้จึงช่วยลดการพึ่งพาปฏิกิริยาขั้นไฮโดรไลซิส (Park & Ahn, 2011) ทำให้เอนไซม์ของจุลินทรีย์เข้าถึงเซลลูโลส และองค์ประกอบภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กทำให้การผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพิ่มขึ้น การปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ค่าการใช้พลังงาน (energy intensity) เท่ากับ 65,400 kJ/kgTS สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ solubilization ได้สูงสุด เท่ากับ 800% (Passos et al. (2013a) ทำให้จุลินทรีย์สามารถเข้าถึงวัสดุหมักได้มากขึ้นลดระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลให้ประสิทธิภาพผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น

ดังนั้นการผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพแบบไร้อากาศ โดยใช้เทคโนโลยีการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนเพื่อยับยั้ง HCB และวัสดุหมักที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ และการเติมอากาศปริมาณเล็กน้อย (micro oxygenation) ซึ่งช่วยลดภาระการพึ่งพาปฏิกิริยาในขั้นตอนการการย่อยสลาย (hydrolysis) ของกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ ทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนสามารถเข้าถึงวัสดุหมักได้ดีขึ้นส่งผลดีกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศ

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาค่าการใช้พลังงาน (Energy intensity) สำหรับการปรับสภาพขั้นต้นแทนผักตบชวา สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็กที่เหมาะสมด้วยคลื่นไมโครเวฟ
2. ศึกษาเปรียบเทียบกิจกรรมการทำงานของหัวเชื้อจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน (specific hydrogenic activity, SHA) จากการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (heat shock) แบบ fast heat และ slow heat
3. ศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมักที่ปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ และการเติมอากาศปริมาณน้อย (micro oxygenation)

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศโดยใช้วัสดุหมักแห้งบดละเอียดขนาด 250 μm ได้แก่ แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก สายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* เริ่มจากการศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟให้ทำลายผนังเซลล์ของโครงสร้างพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กที่ระดับการใช้พลังงานต่างๆ และนำไปใช้ทำการศึกษการผลิตไฮโดรเจนต่อไป จากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานน้ำยางข้น ไปปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ fast และ slow heat แล้วทำการศึกษากิจกรรมการทำงานผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วย pH 5.5 โดยทำการทดลองเป็นแบบกะที่อุณหภูมิ 35 และ 55°C กำหนดความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ เท่ากับ 5 gTS/L และวัสดุหมัก 15 gTS/L เพื่อคัดเลือกสภาวะที่หัวเชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตไฮโดรเจนได้เหมาะสมมาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมักที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ นอกจากนี้มีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนปริมาณเล็กน้อย แทนการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถแก้ไขปัญหาแหล่งน้ำที่มีการเจริญเติบโตของพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กปริมาณมาก โดยใช้เป็นชีวมวลสำหรับผลิตไฮโดรเจนเพื่อใช้เป็นพลังงานทางเลือกได้
2. ทำให้ทราบถึงการใช้ระดับพลังงานที่สามารถทำลายโครงสร้างพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็ก จากการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสม
3. ทำให้ทราบถึงการใช้ความร้อนในการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์สามารถยับยั้งการผลิตมีเทน และส่งเสริมการผลิตไฮโดรเจนได้มากขึ้น
4. ทำให้ทราบถึงปริมาณความเข้มข้นของออกซิเจนที่สามารถยับยั้งการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน และออกซิเจนเพิ่มการย่อยสลายวัสดุหมัก

บทที่ 2

การทบทวนเอกสาร

2.1 วัสดุหมัก (Substrate)

พืชน้ำเป็นพืชที่เจริญเติบโตอยู่ในน้ำ แบ่งแยกเป็นประเภท เช่น พืชลอยบนผิวน้ำ พืชใต้น้ำ พืชโผล่พ้นน้ำ และพืชชายน้ำ ซึ่งพืชน้ำสามารถนำมาใช้ประโยชน์ เช่น การบำบัดน้ำเสีย โดยพืชน้ำสามารถดูดซับธาตุอาหารที่มีอยู่ในแหล่งน้ำเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโต จึงเป็นการลดหรือกำจัดธาตุอาหารในแหล่งน้ำได้ (Kanabkaew & Udomphon, 2004) นอกจากนี้พืชน้ำที่เจริญเติบโตได้รวดเร็วเหมาะที่จะนำมาเป็นชีวมวลเช่นเดียวกับพืชพลังงานชนิดอื่นได้ (Gunaseelan, 1997)

2.1.1. แหน (Duckweed)

แหนเป็นพืชน้ำขนาดเล็กที่ลอยอยู่บนน้ำ ไม่มีราก ลำต้น และใบที่แท้จริงเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำนิ่ง ดังรูปที่ 2-1 จัดอยู่ในวงศ์ Lemnaceae มี 37 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 4 สกุล ได้แก่ *Lemna*, *Wolffiella*, *Spirodela* และ *Wolffia* (Cheng & Stomp, 2009) ซึ่งมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือ ต้นจะมี thallus เล็กๆ สีเขียวอยู่เดี่ยวๆ หรืออยู่ติดกันเป็นกลุ่มตั้งแต่ 1 ถึงหลาย thallus ซึ่งส่วนนี้จะทำหน้าที่เป็นใบและลำต้นพร้อมๆ กัน ส่วนใบมีลักษณะเป็นรูปวงรี เป็นเกล็ดขนาดเล็กประมาณ 0.2 ซม. สีเขียว เชื่อมติดกันเป็นกระจุก 2-4 ใบ ใตใบมีรากฝอยเล็กๆ แหนจะมีดอกเป็นช่ออยู่ในช่องตรงขอบของ thallus มีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย แหนสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แต่ส่วนใหญ่จะขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อหรือแตกแผ่นใบใหม่ เนื่องจากทำให้เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว (วิลาส, 2553)

2.1.2. ผักตบชวา (Water hyacinth)

ผักตบชวาเป็นพืชน้ำลอยอยู่บนน้ำ ประเภทใบเลี้ยงเดี่ยวอยู่ในวงศ์ Pontederiaceae สกุล *Eichhornia* มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Eichhornia crassipes* (แต็ม, 2544) ดังรูปที่ 2-1 และแพร่พันธุ์ได้รวดเร็วจากวิธีสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อจากต้นแม่ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยเมล็ด แผ่นใบมีลักษณะคล้ายรูปหัวใจเป็นมันหนา ก้านใบของผักตบชวาจะพองออกตรงช่องกลางซึ่งภายในมีลักษณะเป็นรูพรุนช่วยพยุงลำต้นให้ลอยน้ำได้ ผักตบชวาสามารถอยู่ได้ทุกสภาวะน้ำทั้งในน้ำสกปรกและน้ำสะอาด ในต้นผักตบชวาจะมีน้ำเฉลี่ยประมาณ 95% ผักตบชวาช่วยในการบำบัดน้ำเสีย ทำหน้าที่เป็นตัวกรอง เพราะผักตบชวาที่ขึ้นอยู่อย่างหนาแน่นเปรียบเสมือนการบรรจุวัสดุพรุน ซึ่งกรองน้ำที่ไหลผ่านกอผักตบชวาอย่างช้าๆ จึงทำให้ของแข็งแขวนลอยต่างๆ ที่ปนอยู่ในน้ำเสียถูกสกัดกั้น นอกจากนี้ ระบบรากที่มีจำนวนมาก ช่วยกรอง

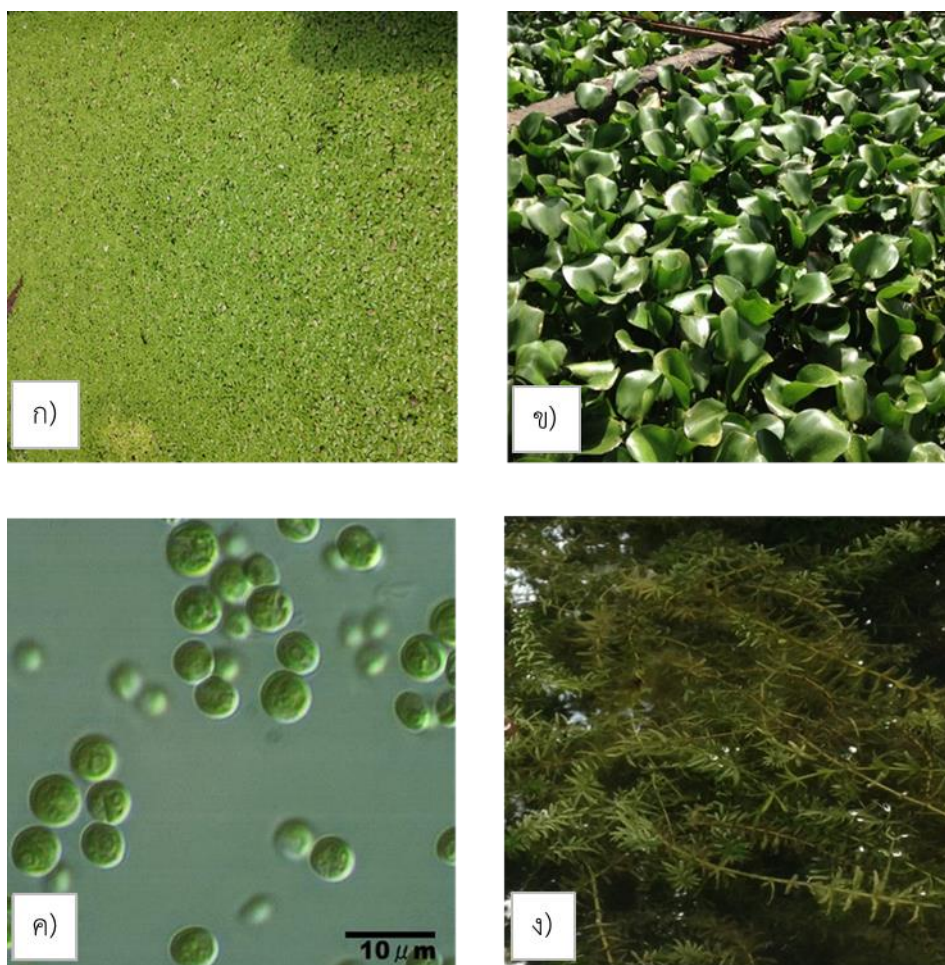
สารอินทรีย์ที่ละเอียด และจุลินทรีย์ที่อาศัยเกาะอยู่ที่ราก ช่วยดูดสารอินทรีย์ไว้ด้วยอีกทางหนึ่ง ผักตบชวาสามารถดูดสารอาหารที่อยู่ในน้ำได้ เช่น ลดไนโตรเจนลง 72% และฟอสฟอรัส 63% ในน้ำทิ้งของโรงงานนม (Tripathi & Upadhy, 2003) ทำให้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียถูกกำจัดไป

2.1.3. สาหร่ายหางกระรอก (Hydrilla)

สาหร่ายหางกระรอกเป็นพืชใต้น้ำจัดอยู่ในวงศ์ Hydrocharitaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hydrilla verticillata* ลำต้นเป็นสายเรียวยาวทอดไปตามระดับน้ำ ลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยวแผ่นบางเรียวยาวออกรอบข้อ 3-8 ใบ รูปแบบใบคล้ายแฉกหรือรูปไข่ยาว 8-40 mm กว้าง 1.5 mm ขอบใบเป็นรูปจักรฟันเลื่อย ดังรูปที่ 2-1 ดอกเพศผู้ออกตามซอกใบมีก้านดอกสั้น ดอกเพศเมียก้านดอกยาว เมื่อดอกแก่จึงจะลอยขึ้นมาบานเหนือผิวน้ำ

2.1.4. สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) ดังรูปที่ 2-1 จัดอยู่ในดิวิชันคลอโรไฟตา (Division Chlorophyta) สาหร่ายดิวิชันนี้ส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียว (Green Algae) สาหร่ายขนาดเล็กมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวๆ รูปร่างกลม และรูปวงรี มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-10 ไมครอน ขนาดอาจแตกต่างกันแม้ว่าจะรวมกันเป็นกลุ่ม หรือกระจายเป็นกระจุกไม่สม่ำเสมอ ลัดดา (2544) ได้กล่าวถึงลักษณะภายในของสาหร่ายขนาดเล็ก มีคลอโรพลาสต์เป็นรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์บีจำนวนมาก ซึ่งบดบังรงควัตถุอื่นๆไว้ นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ (carotenoid), แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) อีกหลายชนิด สาหร่ายสีเขียวมีไพเรินอยด์ (pyrenoid) อยู่ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางการสร้างแป้งในเซลล์สาหร่าย โดยคลอโรพลาสต์จะมีรูปร่างลักษณะต่างๆ เช่น รูปถ้วย (cup-shaped) เป็นวงรอบเซลล์ หรือรูปเกือกม้า (griddle-shaped) เป็นต้น สาหร่ายสีเขียวมักพบได้ทั่วไปทั้งในแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้แตกต่างกันตามสภาพอุณหภูมิของน้ำ ความเข้มแสง และความสมบูรณ์ของสารอาหาร สาหร่ายสีเขียวที่อยู่น้ำจืดจะเจริญอยู่ในแหล่งน้ำตื้นๆ หรือน้ำลึกที่แสงส่องถึง และหลายชนิดมีสภาพเป็นแพลงก์ตอนพืช โครงสร้างเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ผนังชั้นในเป็นเซลลูโลส ส่วนผนังชั้นนอกเป็นเพกติน (pectin) นอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กจะไม่มีลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบของเซลล์ ซึ่งจะแตกต่างจากพืชลิกโนเซลลูโลส (Sambusiti et al., 2015) สาหร่ายขนาดเล็กสะสมอาหารในรูปแป้ง ประกอบด้วยอะไมโลส (Amylose) และ อะไมโลเพกติน (Amylopectin) และจะสะสมอาหารไว้ในรูปของน้ำมันหากสาหร่ายขนาดเล็กไม่มีไพเรินอยด์ ประกอบกับสาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการผลิตไบโอดีเซลสูง เป็นที่น่าสนใจสำหรับการผลิตพลังงานทางเลือกชีวภาพ โดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กเป็นชีวมวลสำหรับการผลิตเป็นก๊าซไฮโดรเจน (Santos et al., 2013)



รูปที่ 2-1 วัสดุหมัก ก) แหน ข) ผักตบชวา ค) สาหร่ายขนาดเล็ก ง) สาหร่ายหางกระรอก
ที่มา: ค) Santos et al. (2013)

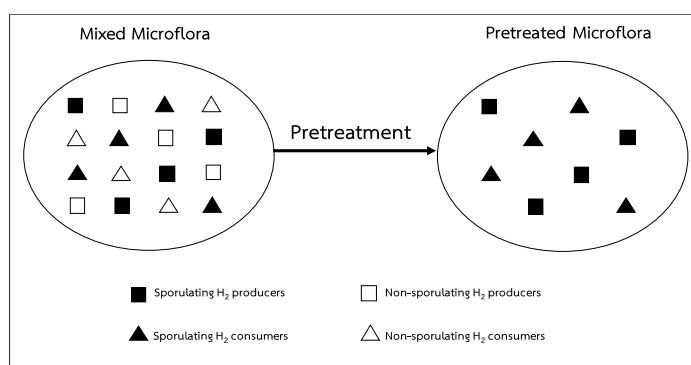
2.2 หัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum)

หัวเชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไปเป็นตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ไร้อากาศที่มีการเดินระบบอย่างต่อเนื่อง เช่น ตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ของโรงงาน หรือตะกอนจุลินทรีย์จากบ่อหมักมูลสัตว์ของฟาร์มปศุสัตว์ หรือชั้นตะกอนในถังหมักยูเอเอสบี (upflow anaerobic sludge blanket) เป็นต้น ตะกอนจุลินทรีย์ที่เก็บมาควรเป็นช่วงเวลาที่ยังโรงงานดำเนินงานปกติ และเป็นตะกอนเนื้อชั้นจากถังปฏิกรณ์ของโรงงานที่ไม่มีเศษวัสดุขนาดใหญ่เจือปน ตะกอนจุลินทรีย์ที่เก็บจากแหล่งผลิตควรได้รับการไล่ก๊าซ (degassing) และนำไปพักไว้ในสภาวะอุณหภูมิเดียวกับแหล่งผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ (De Vrieze et al., 2015; Lawal et al., 2016) หรือดำเนินการในสภาวะอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับการทดลอง เพื่อให้สารอินทรีย์ที่หลงเหลือติดมากับตะกอนจุลินทรีย์ถูกย่อยสลายทางชีวภาพจนเหลือปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถส่งผลกระทบต่อผลการศึกษาก๊าซชีวภาพจากวัสดุหมัก (Angelidaki et al., 2009; Li et al., 2013)

2.3 การปรับสภาพขั้นต้นสำหรับผลิตไฮโดรเจน (Pretreatment of biohydrogen)

การปรับสภาพขั้นต้นสามารถประยุกต์ใช้ตามความเหมาะสมที่ต้องการศึกษาได้ทั้งหัวเชื้อจุลินทรีย์ และวัสดุหมัก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการ dark fermentation (DF) ซึ่งการปรับสภาพขั้นต้นสามารถจำแนกออกเป็นเทคโนโลยีทางกายภาพ ทางเคมี ทางกายภาพเคมี และทางชีวภาพ (Pan et al., 2010) สำหรับเทคโนโลยีทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน คลื่นอัลตราโซนิก คลื่นไมโครเวฟ และการเติมอากาศ เทคโนโลยีทางเคมี เช่น การใช้สารละลายกรด และต่าง เทคโนโลยีทางกายภาพ-เคมี เช่น การระเบิดด้วยไอน้ำ

การใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีกลุ่มจุลินทรีย์หลากหลายชนิดปะปนกันเพื่อผลิตไฮโดรเจนได้นั้น จำเป็นต้องมีการปรับสภาพขั้นต้นเพื่อทำลาย Hydrogen consume bacteria (HCB) เช่น กลุ่มจุลินทรีย์ homoacetogens, hydrogenotrophic methanogenes เป็นต้น (Li Fang, 2007; Yasin et al., 2013) แต่ถึงอย่างไรก็ตามอาจส่งผลยับยั้ง Hydrogen producing bacteria (HPB) ได้เช่นกัน ซึ่งการปรับสภาพขั้นต้น HPB สามารถสร้างสปอร์เพื่อปกป้องตัวเองจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงของ pH และอุณหภูมิ เพื่อให้สามารถดำรงต่อไปในสภาพแวดล้อมที่รุนแรงจากผลของการปรับสภาพขั้นต้นได้ดีกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ HCB ที่ไม่สร้างสปอร์ แต่เมื่อสภาพแวดล้อมลดระดับความรุนแรงลงจนกลับมาอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม HPB ที่อยู่ในรูปของสปอร์สามารถเจริญเติบโตกลับมาได้อีกครั้ง (Ren et al. 2008; Dong et al. 2010) แต่ในทางตรงข้ามกลุ่มจุลินทรีย์ HCB ที่ไม่อยู่ในรูปของสปอร์ เช่น methanogen จะอ่อนแอต่อความรุนแรงที่ได้รับจากการปรับสภาพขั้นต้นทำให้การทำงาน รวมถึงการเจริญเติบโตจะถูกยับยั้งจึงมีปริมาณลดลง ส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนสามารถเพิ่มขึ้นได้ (Yasin et al. 2013) แต่ถึงอย่างไรก็ตามเทคโนโลยีการปรับสภาพขั้นต้นอาจยับยั้ง HPB ที่ไม่สร้างสปอร์ ในขณะที่ HCB ที่สร้างสปอร์สามารถดำรงอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่รุนแรงได้เช่นกัน ดังรูปที่ 2-2 ดังนั้นเทคโนโลยีการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญอย่างมาก เพื่อให้เหมาะสมกับแหล่งหัวเชื้อที่จะนำมาใช้ผลิตไฮโดรเจนว่าสามารถ เพิ่มการทำงานของ HPB และยับยั้ง HCB



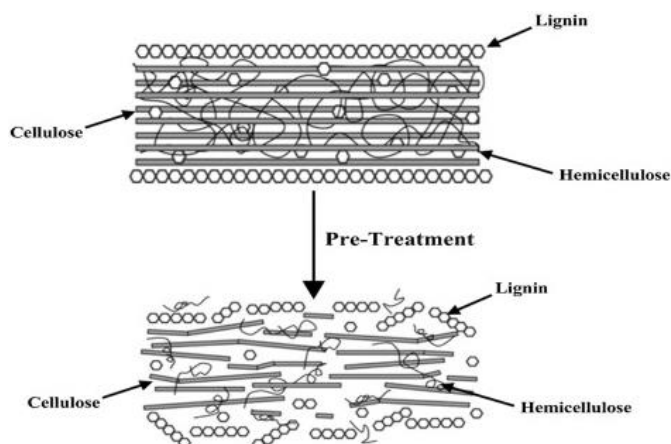
รูปที่ 2-2 การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์
ที่มา : ดัดแปลงจาก Bundhoo et al. (2015)

สำหรับวัสดุหมักที่ใช้ในการผลิตไฮโดรเจนที่มีโครงสร้างแข็งแรง เช่น พืชลิกโนเซลลูโลส ยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ การปรับสภาพขั้นต้นจึงมีความสำคัญในเรื่องของการเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพ เพื่อปรับปรุงการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการ dark fermentation (DF) วัสดุหมักที่เป็นกลุ่มลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ได้แก่ พืช และ เศษเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด เป็นต้น ลิกโนเซลลูโลสเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเซลลูโลส (Cellulose), เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชที่แข็งแรง (Bundhoo et al., 2015)

เซลลูโลส (cellulose) เป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ประเภท โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (glucose) มาต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ที่ตำแหน่งบีตา-1,4 (β-1,4) เป็นสายยาวมากกว่า 2,000 โมเลกุล

เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส เป็น heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด มีน้ำตาลไซโลส (xylose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ที่ตำแหน่ง บีตา (1-4) เป็นโซ่หลัก อาจมีน้ำตาลแมนโนส (mannose) กาแล็กโทส (galactose) หรือกลูโคส (glucose) มาต่อกันเป็นโซ่หลักด้วยและมีน้ำตาลชนิดอื่นมาต่อกันเป็นโซ่สาขา หรือโซ่แขนงได้แก่ น้ำตาลอะราบินโนส (arabinose) กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid)

ลิกนิน (lignin) เป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) โครงสร้างโมเลกุลของลิกนินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยโซ่โมเลกุลของออกซิเจนเตเตตฟีนิลโพรเพน (oxygenated phenyl propane) มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1,000-4,500 ดาลตัน สันเคราะห์จากอนุพันธ์ ของแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ คูมาริล (coumaryl) โคนิเฟอร์ิล (coniferyl) และไซนาพิล (sinapyl) ไม่สลายทั้งในกรดและด่างแก่ ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อพืช โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง อยู่ร่วมกับเซลลูโลส (cellulose) และ hemicellulose เป็นส่วนประกอบของเปลือก ชัง หรือส่วนที่เป็นเยื่อใยของราก ลำต้น และจะถูกสร้างจากส่วนโคนต้นไปสู่อยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้นปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นด้วย และลิกนินทำให้การย่อยได้ของเซลลูโลสและ hemicellulose ลดลง โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจะถูกป้องกันด้วยลิกนิน ดังรูปที่ 2-3 เพื่อป้องกันจากการทำลายด้วยเอนไซม์ จึงเป็นข้อจำกัดต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังนั้นการปรับสภาพขั้นต้นลิกโนเซลลูโลสเพื่อแตกชั้นโครงสร้างที่มีลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส รวมถึงทำลายโครงสร้าง crystalline และลดระดับความแข็งแรงของเซลลูโลส เพื่อส่งเสริมความสามารถของเอนไซม์ในการเข้าถึงเซลลูโลสในกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ที่จะย่อยสลายกลายเป็นคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการทางชีวภาพ และถูกเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ และไฮโดรเจนในกระบวนการ dark fermentation (Ghimire et al., 2015)



รูปที่ 2-3 การปรับสภาพขั้นต้นพีชลิกโนเซลลูโลส
ที่มา : Bundhoo et al. (2015)

2.3.1 เทคโนโลยีทางกายภาพ (Physical technologies)

1) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน (Thermal pretreatment)

การปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนเป็นการใช้ความร้อนเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของวัสดุหมัก ส่งผลให้เกิดการละลายเฮมิเซลลูโลส ทำให้จุลินทรีย์เข้าถึงเซลลูโลสได้มากขึ้น โดยใส่วัสดุหมักลงในน้ำที่อุณหภูมิสูง น้ำสามารถที่จะซึมเข้าไปในโครงสร้างของเซลล์วัสดุหมักทำให้เกิดย่อยสลายได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มศักยภาพในขั้นตอนไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) จากการศึกษาของ (Marsolek et al., 2014) ปรับสภาพขั้นต้นสาหร่ายสายพันธุ์ *Nanochloropsis oculata* ด้วยความร้อน 4 hr ที่อุณหภูมิ 30, 60 และ 90°C พบว่าอุณหภูมิ 30 และ 60°C ไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ ในขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน 1, 3.5 และ 12 h ทำให้เพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพเป็น 0.41, 0.43, และ 0.44 L biogas/gVS ในขณะที่ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ทำการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้เพียง 0.32 L biogas/gVS

การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่หลากหลายแหล่งประมาณ 50 – 600% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์แบบไม่ผ่านการปรับสภาพดังตารางที่ 2-1 ซึ่งการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อนแบบอุณหภูมิเดียวระหว่าง 70 – 100°C และการใช้ระยะเวลาในการให้ความร้อน 15 – 60 นาที (Fast heat) สามารถเพิ่มการทำงานของจุลินทรีย์ HPB ส่งผลดีต่อการประสิทธิผลการผลิตไฮโดรเจนที่เพิ่มขึ้น 105 – 577% (Venkata Mohan et al. 2008; Mohammadi et al., 2011; Liu et al. (2009) แต่การปรับสภาพด้วยความร้อนอาจส่งผลยับยั้งการทำงานของ HPB ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์เมื่อใช้อุณหภูมิสูงแบบทันที (Elbeshbishy et al. 2010) จากรายงานของ O-Thong et al. (2009) ทำการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์จากระบบผลิต

ก๊าซชีวภาพโรงงานปาล์มน้ำมันด้วยความร้อน 100°C เป็นเวลา 1 h สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ 1.1 mol H₂/mol hexose เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ปรับสภาพได้ไฮโดรเจน เท่ากับ 0.14 mol H₂/mol hexose และเกิดมีเทน เท่ากับ 0.27 mol H₂/mol hexose และจากรายงาน Baghchehsaraee et al. (2008) และ Wang et al. (2011) ปรับสภาพด้วยความร้อนแบบเพิ่มอุณหภูมิ (slow heat) จาก 65 - 100°C ของพบว่าประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนลดลงเมื่อให้ความร้อนที่มากเกินไปซึ่งไม่เป็นผลดีต่อการผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากโดยทั่วไปแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ทำการศึกษการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนมักจะมาจากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดแบบไร้อากาศที่เดินระบบอยู่ในช่วงอุณหภูมิ mesophilic จึงมีการเลือกใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งความร้อนอื่นที่ไม่จำเป็นต้องนำตะกอนจุลินทรีย์มาปรับสภาพด้วยความร้อน เช่น ตะกอนจากบ่อน้ำพุร้อน จากรายงานของ O-Thong et al. (2011) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากแป้งมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 60°C pH 5.5 ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์จากบ่อน้ำพุร้อนภาคใต้ประเทศ โดยไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น พบว่าตะกอนจุลินทรีย์จากบ่อน้ำพุร้อน 3 แหล่ง คือ จังหวัดพังงา Klong Pai Poo hot spring (PK), Romani hot spring (PR) และ Wat Than Nam Ron hot spring (SW) จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถผลิตไฮโดรเจน เท่ากับ 249.3, 180 และ 124.9 mL H₂/g starch สำหรับการให้ความร้อนปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์สามารถลดความเข้มข้นของกรดอะซิติก ซึ่งเป็นผลจากการยับยั้ง homoacetogenesis ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศ (Yin et al. 2014) แต่การลดลงของกรดอะซิติกอาจทำให้ pathway ในการผลิตไฮโดรเจนเปลี่ยนแปลง (Ren et al. 2008) อย่างไรก็ตามการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนเป็นวิธีการที่งานวิจัยส่วนใหญ่นิยมนำมาศึกษาเพื่อยับยั้ง HCB และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจน

ตารางที่ 2-1 การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน

Inoculum	Pretreatment conditions	H ₂ yields (ΔY)	Reference
Anaerobic sludge	Substrate: Glucose Temperature: 100°C Time: 15 min	Control: 178.6 mL Heated: 356.9 mL ΔY: +99.8%	(Yin et al., 2014)
Sludge	Substrate: Glucose Temperature: 100°C Time: 30 min	Control: 0.2 mol/ mol glucose Heated: 0.41 mol/ mol glucose ΔY: +105.0%	(Liu et al., 2009)
Anaerobic sludge	Substrate: palm oil mill effluent Temperature: 100°C Time: 1 h	Control: 0.12 mol/g COD Heated: 0.41 mol/g COD ΔY: +241.7%	(Mohammadi et al., 2011)

ตารางที่ 2-1 การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (ต่อ)

Anaerobic mixed microflora	Substrate: Dairy wastewater Temperature: 100°C Time: 1 h	Control: 0.0018 mol/gCOD Heated: 0.0122 mol/gCOD ΔY : +577.8%	(Venkata Mohan et al., 2008)
Anaerobic digested sludge	Substrate: Glucose Temperature: 65, 80, 95°C Time: 30 min	Control: 0.43 mol/mol glucose 65°C : 2.30 mol/mol glucose ΔY : +434.9%	(Baghchehsaraee et al., 2008)
Anaerobic sludge	Substrate: Glucose Temperature: 70°C Time: 30 min	Control: 0.7 mol/mol glucose Heated: 1.04 mol/mol glucose ΔY : +48.6%	(Elbeshbishy et al., 2010)
Anaerobic mixed microflora	Substrate: Glucose Temperature: 80, 90 and 100°C Time: 15, 30 min	Control: 292.7 mL/gCOD 80°C, 30 min: 448.3 mL/gCOD ΔY : +53.2%	(Wang et al., 2011)

ΔY = การเปลี่ยนแปลงหลังการปรับสภาพขั้นต้นเมื่อเทียบกับ control

2) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic pretreatment)

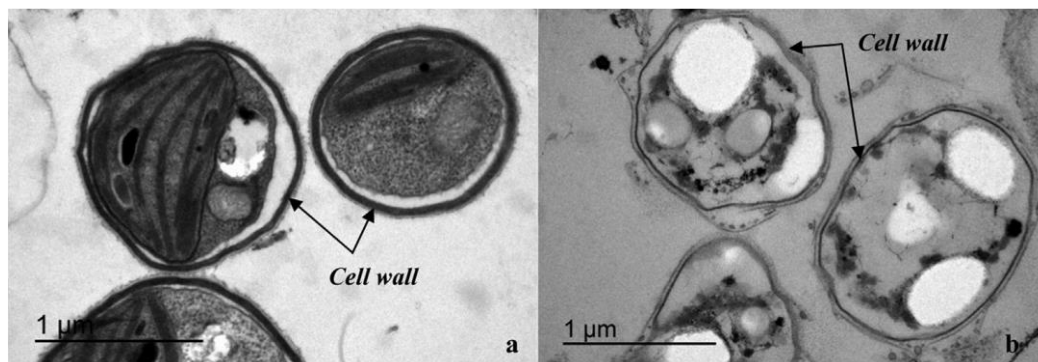
การปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นการใช้คลื่นความถี่สูงในช่วง 10 KHz - 20 MHz ทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ของวัสดุหมัก ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ละลายหลุดออกมา จากการศึกษาการย่อยสลายแบบไร้อากาศที่ได้ปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิกของ คณศ และสุเมธ (2559) ทำการปรับสภาพขั้นต้น *Chlorella vulgaris* ที่ความเข้มข้น TS 20, 30 และ 40 g/L energy intensity (EI) เท่ากับ 3,000; 5,000 และ 7500 J/gTS ตามลำดับ พบว่า ปริมาณ SCOD เพิ่มขึ้น 30.4, 43.6 และ 59.5% ตามลำดับ ส่งผลให้ไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นตามค่า EI ทั้งยังช่วยให้ lag phase ในการผลิตไฮโดรเจนสั้นลง และ Park et al. (2013) รายงาน *Chlorella vulgaris* มีผนังเซลล์เป็นข้อจำกัดในการย่อยสลาย จึงใช้คลื่นอัลตราโซนิกในช่วงพลังงาน 5-200 J/mL ซึ่งการคลื่นอัลตราโซนิก สามารถช่วยให้เกิดการแตกของเซลล์สาหร่าย จึงสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ดี

ขึ้น และ SCOD เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับพลังงานที่ใช้ปรับสภาพ สอดคล้องกับ Lee *et al.* (2014) ปรับสภาพขั้นต้นสำหรับสาหร่ายสายพันธุ์ *Hydrodictyon reticulatum* ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นสาย พบว่าเซลล์ของสาหร่ายถูกทำลายเมื่อได้รับพลังงานตั้งแต่ 10-5,000 J/mL ทำให้มีการแตกสลายของเซลล์สาหร่ายส่งผลให้เพิ่ม SCOD จากระดับพลังงาน 10 J/mL SCOD เท่ากับ 250 mg/L เป็น 1,000 mg/L ที่ระดับพลังงาน 2,500 J/mL นอกจากนี้การปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นอัลตราโซนิกยังสามารถลดระดับความซับซ้อนของโครงสร้างวัสดุหมักได้ และสามารถกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสออกจากวัสดุหมักได้อีกด้วย นำไปสู่การย่อยสลายทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้น เพราะลิกนินและเฮมิเซลลูโลส มีผลให้กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นได้ยาก

3) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment)

การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟเป็นการใช้คลื่นไมโครเวฟที่เป็นกระบวนการใช้จากความร้อน และไม่ใช้ความร้อน เกิดจากสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าใช้กำลังที่เปลี่ยนทิศทางอย่างรวดเร็วในอัตรา 2.4×10^9 ครั้งต่อวินาที ทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของซิวโมเลกุล และเกิดการเคลื่อนที่ของไอออนอย่างรวดเร็วทำให้เกิดความร้อนและการชนกันระหว่างโมเลกุล ส่งผลให้มีการเร่งกระบวนการทางกายภาพ, ทางเคมี และทางชีวภาพได้ ปฏิสัมพันธ์ของคลื่นไมโครเวฟต่อวัสดุแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับ dielectric properties และ dielectric loss factor ของวัสดุแต่ละชนิด กล่าวคือ ค่าความสามารถของวัสดุในการบรรจุ electromagnetic energy และความสามารถของวัสดุในการเปลี่ยน electromagnetic energy เป็นพลังงานความร้อน ทำให้วัสดุแต่ละชนิดตอบสนองต่อคลื่นไมโครเวฟแตกต่างกัน ข้อดีของไมโครเวฟสามารถให้ความร้อนได้มากกว่าวิธีการให้ความร้อนแบบทั่วไปอีกทั้งยังช่วยลดความต้องการพลังงานและกระบวนการของวิธีการให้ความร้อน การปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave pretreatment) ยังสามารถทำลายโครงสร้างภายในของพืชที่มีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ จากรายงานของ Binod *et al.* (2012) ปรับสภาพขานอ้อยซึ่งเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมต่าง พบว่า สามารถกำจัดลิกนินได้เกือบ 90% และ Passos *et al.* (2013a) ทำการปรับสภาพขนาดเล็กด้วยคลื่นไมโครเวฟ พบว่า solubilization มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานในการปรับสภาพ ซึ่งระดับพลังงานที่ให้ผลดีที่สุดเท่ากับ 65,400 kJ/kg TS มีค่า solubilization เท่ากับ 730-800% ส่งผลให้อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพเพิ่มขึ้น 27-75% ซึ่งสอดคล้องกับ Passos *et al.* (2014) ในการย่อยสลายสาหร่าย *Monoraphidium sp.* เพื่อผลิตมีเทนที่ HRT 15 และ 20 วัน พบว่าการไม่ใช้คลื่นไมโครเวฟเกิดมีเทน 0.12 และ 0.14 L CH₄/L day และการใช้คลื่นไมโครเวฟ 900W เป็นเวลา 3 นาที ในการปรับสภาพสาหร่ายเกิดมีเทนเพิ่มขึ้น 0.16 และ 0.2 L CH₄/L day ตามลำดับ สาหร่ายที่ผ่านการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟสามารถเกิดมีเทนได้ดีขึ้น เมื่อนำสาหร่ายไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ได้ แต่ผนังเซลล์ยังคงเหมือนเดิม ดังรูปที่ 2-4 และจากรายงานของ Keshwani and Cheng (2009) ทำการปรับสภาพ Switchgrass และ bermudagrass ด้วยคลื่นไมโครเวฟ 250 W ผสมต่าง (NaOH) ที่ความเข้มข้น 1-3% เป็นเวลา 5-20 นาที พบว่าการใช้ NaOH 3% เป็นเวลา 20 นาที สามารถลดปริมาณลิกนินของ Switchgrass และ

bermudagrass ได้ดีที่สุดในที่นี้ เท่ากับ 83% และ 81% ซึ่งปริมาณลิกนินที่ลดลงเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับความเข้มข้นของต่าง และเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพมากขึ้น



รูปที่ 2-4 สาหร่ายสายพันธุ์ *Monoraphidium* sp. a) ก่อนการปรับสภาพ b) หลังการปรับสภาพ ด้วยคลื่นไมโครเวฟ

ที่มา : Passos et al. (2014)

4) การเติมอากาศ (micro oxygenation)

การเติมอากาศเป็นเทคโนโลยีการปรับสภาพขั้นต้นจุลินทรีย์ เพื่อยับยั้ง HCB และเพิ่มการทำงานของ HPB โดยทั่วไปจะใช้กับจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนเจนที่เป็นจุลินทรีย์ประเภทไร้อากาศ เนื่องการเติมอากาศจะเป็นพิษ และยับยั้งการทำงานของเมทาโนเจน แต่กลุ่มจุลินทรีย์ประเภทกึ่งไร้อากาศยังคงสามารถทนอยู่ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อยได้ จากรายงานของ Chang et al. 2011 ปรับสภาพขั้นต้น waste activated sludge ด้วยการเติมอากาศ 24 ชม. สามารถเพิ่มประสิทธิภาพไฮโดรเจนได้ 84.2% และรายงานของ (Ren et al., 2008a) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพไฮโดรเจน 24.4% ด้วยการเติมอากาศหัวเชื้อจุลินทรีย์ mixed microbial เป็นเวลา 12 ชม. (Sawatdeenarunat et al., 2017a) ศึกษาปรับสภาพลิกโนเซลลูโลสด้วย micro oxygenation พบว่า การเติมออกซิเจนสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ hydrolysis ทำให้เกิดการผลิต VFA มากขึ้นโดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด พบว่าการเติมออกซิเจน 30 mL/gVS ให้ผลดีที่สุดจากหัวเชื้อ anaerobic digested waste activated sludge (ADWAS) และ การเติมออกซิเจน 15 mL/gVS ให้ผลดีที่สุดจากหัวเชื้อ anaerobic digested cattle manure (ADCM) และ Li et al. (2016) ผลิตไฮโดรเจนจากฟางข้าวโพดแบบไร้อากาศเปรียบเทียบกับวิธี micro oxygenation พบว่า การเติมอากาศ 0.28 mL/gTS/day เกิด VFA เป็นกลุ่ม butyric acid และสามารถผลิตไฮโดรเจนเท่ากับ 41.6 mL/gVS และ 28.9 mL/gVS จากการหมักแบบไร้อากาศ

2.3.2 เทคโนโลยีทางเคมี (Chemical technologies)

1) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยกรด (Acid pretreatment)

การปรับสภาพขั้นต้นด้วยกรดเป็นการใช้สารละลายกรด เช่น กรดไฮโดรคลอริก (HCl) หรือ กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เป็นต้น มีวัตถุประสงค์เพื่อละลายเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในวัสดุหมัก ส่งผลให้เกิดการย่อยสลาย และได้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาการปรับสภาพขั้นต้น waste activated sludge ด้วยกรด HCl ปริมาณกรดที่เติม (mL/kg wet sludge) ปรับสภาวะการทดลองเป็นระดับ pH 6-1 พบว่าการปรับสภาพขั้นต้นด้วยกรดส่งผลต่อความเข้มข้นของการละลายคาร์โบไฮเดรต, โปรตีน และ COD เพิ่มขึ้นตามระดับ pH ที่ลดลง สอดคล้องกับการเกิดก๊าซชีวภาพจากระดับ pH 1 และ 2 เพิ่มขึ้น 17% และ 32% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่ปรับสภาพขั้นต้นด้วยกรด (Devlin *et al.*, 2011)

2) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยด่าง (Alkaline pretreatment)

การปรับสภาพขั้นต้นด้วยด่าง เป็นการใช้สารละลายด่าง เช่น โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นต้น มีวัตถุประสงค์เพิ่มการละลายของสารประกอบหรือกำจัดลิกนินที่อยู่ในวัสดุหมัก อีกทั้งยังสามารถช่วยรักษาสภาพความเป็นกลางจากกรดที่ถูกผลิตและปล่อยมาจากสารประกอบเชิงซ้อนของวัสดุหมักพวกลิกโนเซลลูโลส (Taherdanak & Zilouei, 2014) จากการศึกษาของ Zhang *et al.* (2013) ทำการปรับสภาพขั้นต้นก้านกล้วยด้วย NaOH ที่ความเข้มข้น 6% โดยน้ำหนักปริมาณลิกนินลดลง 1.26% และเฮมิเซลลูโลสลดลง 3.9% สามารถเพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพ 12 % เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ทำการปรับสภาพ

2.3.3 เทคโนโลยีทางกายภาพ-เคมี (Physico-chemical technologies)

1) การระเบิดด้วยไอน้ำ เป็นวิธีการปรับสภาพขั้นต้นที่นิยมใช้สำหรับวัสดุหมักกลุ่มลิกโนเซลลูโลส โดยส่วนใหญ่จะทำที่อุณหภูมิช่วง 160-260°C ภายใต้ความดัน 0.69-4.82 เมกะปาสคาล ทำให้เกิดแยกจากกันของโครงสร้างของลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสออกจากกันที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้เกิดการแตกตัวของเซลลูโลส ช่วยให้จุลินทรีย์เข้าถึงการย่อยเซลลูโลสได้ดีขึ้น

2.4 กระบวนการผลิตไฮโดรเจน

การผลิตไฮโดรเจนในปัจจุบันจากวัตถุดิบเป็นหลักแบ่งออกเป็น 3 แหล่งหลัก คือ จากเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น ก๊าซธรรมชาติ น้ำมันปิโตรเลียม ถ่านหิน จากแหล่งพลังงานหมุนเวียน เช่น น้ำ ชีวมวล และจากพลังงานนิวเคลียร์ (Dincer, 2012) การผลิตไฮโดรเจนเพื่อเป็นเชื้อเพลิงเพื่อทดแทนการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลยังคงมีข้อจำกัด และข้อเสียได้แก่

1) ก๊าซไฮโดรเจนที่ได้จากการสังเคราะห์มีราคาสูง เนื่องจากขั้นตอนการผลิตและการทำให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนบริสุทธิ์นั้นมีขั้นตอนที่ซับซ้อน จำเป็นต้องอาศัยการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง จึงต้องมีระบบหล่อเย็นในเชิงพาณิชย์จำเป็นต้องเสียค่าใช้จ่ายมากส่งผลให้ต้นทุนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงตาม

2) แหล่งวัตถุดิบที่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน การผลิตก๊าซไฮโดรเจนในปัจจุบันส่วนใหญ่ยังคงใช้สารประกอบพวกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งวิธีนี้จะไม่สามารถลดการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกสู่สิ่งแวดล้อมจากกระบวนการผลิตไฮโดรเจนได้ เพราะสารตั้งต้นดังกล่าวจะให้สารผลิตภัณฑ์หลักสุดท้ายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3) การกักเก็บก๊าซไฮโดรเจน การกักเก็บในรูปก๊าซเนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนจะเบาและเป็นก๊าซที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าความดันบรรยากาศ ถึงเก็บต้องมีปริมาตรใหญ่เพื่อให้สามารถกักเก็บมวลไฮโดรเจนได้มากจึงต้องอัดด้วยความดันสูงเพื่อลดปริมาตรถึงเก็บ แต่ก็ยังคงมีผลข้างเคียงของการบรรจุก๊าซไฮโดรเจนลักษณะนี้คือ เสี่ยงต่อการลุกไหม้ และอาจเกิดการระเบิดได้ การกักเก็บในรูปของเหลว ต้องเก็บในถังความดันที่มีอุณหภูมิต่ำมากถึง -273°C ต้องเสียค่าพลังงานไฟฟ้ามากในการทำให้อุณหภูมิต่ำ

2.4.1 กระบวนการทางความร้อนเคมี

การผลิตไฮโดรเจนวิธีทางเคมี โดยใช้ความร้อนกับวัตถุดิบหลักที่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น ถ่านหิน ก๊าซธรรมชาติ หรือชีวมวล ซึ่งจะได้ผลลัพธ์เป็นก๊าซสังเคราะห์ประกอบด้วย คาร์บอนมอนนอกไซด์ คาร์บอนมอนนอกไซด์ น้ำ มีเทน และไฮโดรเจน หลังจากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนที่บริสุทธิ์มากขึ้น ซึ่งการผลิตไฮโดรเจนโดยกระบวนการความร้อนเคมี ได้แก่ กระบวนการแก๊สซิฟิเคชัน (Gasification) และกระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ (Steam Reforming) (Nikolaidis & Poullikkas, 2017) ในปัจจุบันกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่ใช้กันแพร่หลายในเชิงพาณิชย์ จะใช้กระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำจากก๊าซธรรมชาติ ซึ่งในประเทศไทยใช้กระบวนการนี้ในการผลิตไฮโดรเจนเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมต่างๆ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, ม.ป.ป.) แต่ปัญหาหลักที่สำคัญมากของกระบวนการนี้คือ การปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณมาก และยังสามารถประสบปัญหาการขาดแคลนแหล่งไฮโดรคาร์บอนที่นำมาใช้ในกระบวนการอีก ดังนั้นการผลิตไฮโดรเจนจึงควรเลือกกระบวนการที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

2.4.2 กระบวนการทางเคมีไฟฟ้า

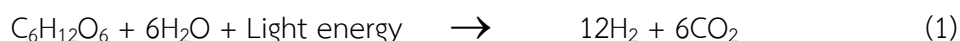
เป็นวิธีการผลิตไฮโดรเจนด้วยการใช้ไฟฟ้าเพื่อแยกน้ำออกให้ได้เป็นไฮโดรเจน และ ออกซิเจน โดยที่สามารถใช้ไฟฟ้าจากแหล่งกำเนิดไฟฟ้าได้ทุกชนิดกับกระบวนการผลิตไฮโดรเจนด้วยวิธีนี้ (Dincer & Acar, 2015) อย่างไรก็ตามกระบวนการนี้ถึงแม้จะใช้น้ำเป็นสารตั้งต้นแทนการใช้ก๊าซธรรมชาติที่เป็นเชื้อเพลิงฟอสซิล ซึ่งไม่มีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่ยังคงจำเป็นต้องใช้ไฟฟ้าปริมาณมาก และหากไฟฟ้าที่ใช้นั้นผลิตมาจากถ่านหิน หรือ ก๊าซธรรมชาติก็ยังคงถือว่ามีการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลอยู่ยังคงมีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทางอ้อมจากการใช้ไฟฟ้า แต่ถ้าหากไฟฟ้าที่ใช้ในกระบวนการนี้ผลิตจากพลังงานหมุนเวียน เช่น ลม แสงแดด เป็นต้น การผลิตไฮโดรเจนด้วยกระบวนการนี้จะถือว่าไม่มีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเป็นพลังงานไฮโดรเจนที่มิตรต่อสิ่งแวดล้อม

2.4.3 กระบวนการทางชีวภาพ (Biohydrogen production)

Biohydrogen (H₂) สามารถผลิตได้จากแหล่งพลังงานหมุนเวียน เช่น พืชน้ำ เศษเหลือทิ้งการเกษตร และสาหร่ายขนาดเล็ก ข้อดีของวิธีการนี้คือ ไม่ต้องพึ่งพาแหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล จึงไม่ก่อให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสาเหตุของปรากฏการณ์ภาวะเรือนกระจก จึงเป็นวิธีการผลิตไฮโดรเจนที่สะอาด แต่วิธีการนี้มีข้อเสียคือ ไฮโดรเจนที่ผลิตได้จากกระบวนการนี้มีประสิทธิภาพต่ำ สำหรับการผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพสามารถผลิตด้วยกระบวนการหมัก (Fermentation process) ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ในกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพจากขั้นตอนอะซิโดเจนิซิส (Acidogenesis) และขั้นตอนอะซิโทเจนิซิส (Acetogenesis) ซึ่งเป็นกระบวนการไม่ใช้แสง (Dark fermentation) และยังสามารถผลิตได้จากกระบวนการใช้แสง (Photo fermentation) ไฮโดรเจนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยกระบวนการ dark fermentation โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนหลายกลุ่ม (anaerobic bacteria) มาย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลที่เล็กลงจนกลายเป็นก๊าซชีวภาพ

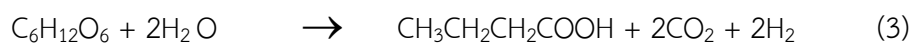
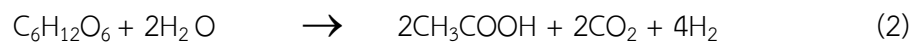
1) กระบวนการใช้แสง (Photo fermentation)

กระบวนการหมักของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงในสภาวะที่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน และใช้สารอินทรีย์ (CO₂) เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ในสภาวะไร้อากาศจุลินทรีย์สังเคราะห์แสงจะใช้กรดอินทรีย์และพลังงานแสงเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน ดังสมการที่ 1

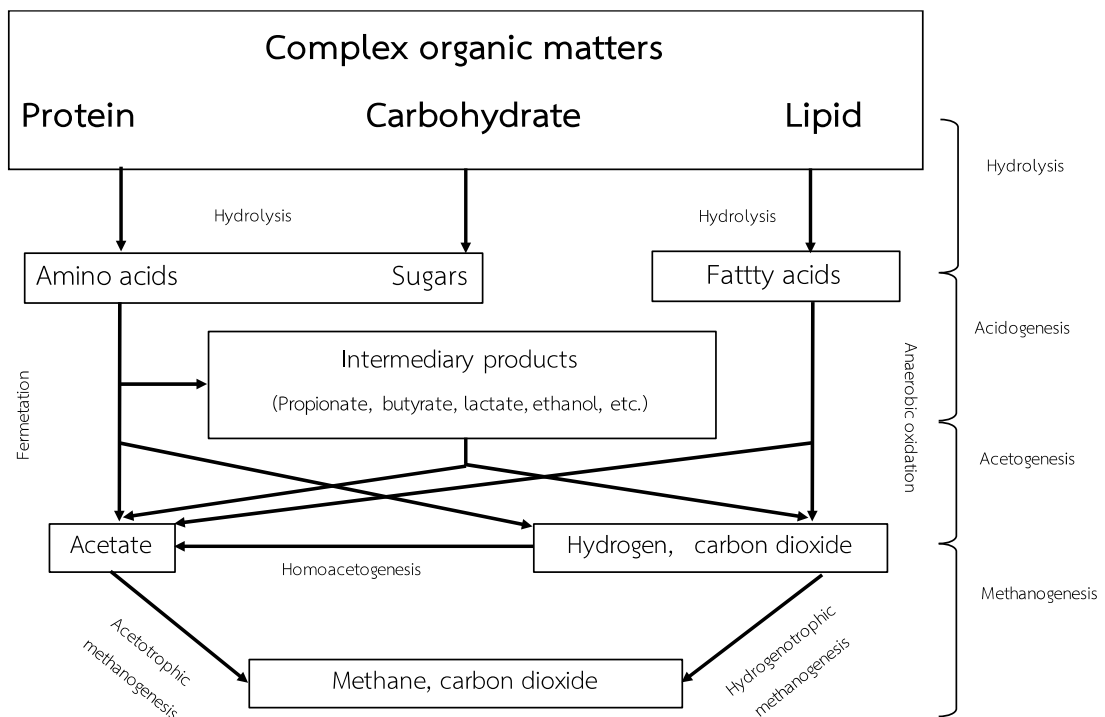


2) กระบวนการไม่ใช้แสง (Dark fermentation)

เป็นกระบวนการหมักของจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนในสภาวะมืด จะใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน การหมักน้ำตาลกลูโคสเป็นไฮโดรเจนจะใช้กลูโคส 1 โมเลกุล ได้ไฮโดรเจน 4 โมเลกุล เมื่อเกิดกรดอะซิติก ดังสมการที่ 2 หรือได้ก๊าซไฮโดรเจน 2 โมเลกุล เมื่อเกิดกรดบิวทิริก ดังสมการที่ 3 แต่ในกระบวนการหมักอาจสูญเสียไฮโดรเจนได้ ถ้าเกิดมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ไฮโดรเจนไปผลิตเป็นมีเทนได้

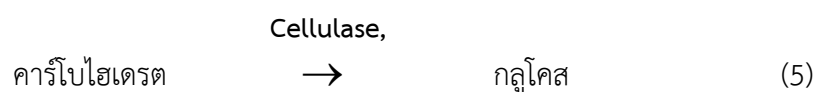
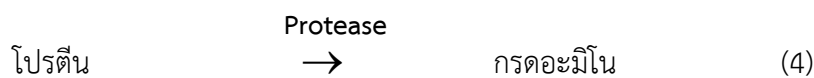


2.1) ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้ออกซิเจนประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ปฏิกริยาหลัก 1) ขั้นตอนการย่อยสลาย (Hydrolysis) 2) ขั้นการสร้างกรด (Acidogenesis) 3) ขั้นอะซิโทเจเนซิส (Acetogenesis) 4) ขั้นการสร้างมีเทน (Methanogenesis) ดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้ออกซิเจน
ที่มา : Khanal (2008)

2.1.1) ขั้นตอนการย่อยสลาย (Hydrolysis) เป็นปฏิกิริยาแรกที่เกิดขึ้น ซึ่งสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ (Polymer) เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ของจุลินทรีย์กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก (Monomer) เช่น กลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมัน ดังสมการที่ 4-6 ในกระบวนการ hydrolysis มักเป็นขั้นจำกัดปฏิกิริยา (Rate Limiting Step) ของปฏิกิริยารวมในวัสดุที่เป็นของแข็งเนื่องจากมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ช้ากว่ากระบวนการอื่นๆ

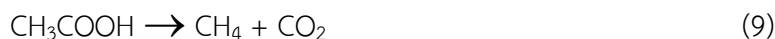


2.1.2) ขั้นตอนการสร้างกรด (Acidogenesis) เป็นกระบวนการสร้างกรดอินทรีย์ด้วยจุลินทรีย์ประเภทสร้างกรด (Acid Forming Bacteria) จะย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลเดี่ยว เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน กลูโคส ที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส สารอินทรีย์โมเลกุลเดี่ยวเหล่านี้จะถูกจุลินทรีย์ดังกล่าวดูดซึมเข้าสู่เซลล์ และหลังเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในเซลล์ให้เป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลสั้นลงซึ่งมีองค์ประกอบของคาร์บอนไม่เกิน 5 อะตอม (C_1-C_5) เรียกว่า กรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid, VFA) ได้แก่ กรดฟอร์มิก (Formic acid) $HCOOH$, กรดอะซิติก (Acetic acid) CH_3COOH , กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) CH_3CH_2COOH , กรดบิวทิริก (Butyric acid) $CH_3CH_2CH_2COOH$, กรดวาเลอริก (Valeric acid) $CH_3CH_2CH_2CH_2COOH$ และ กรดแลคติก (Lactic acid) $CH_3CHOHCOOH$ ซึ่งจะเกิดกรดอะซิติกในปริมาณมากที่สุด รวมถึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน (H_2) ในขั้นตอน acidogenesis เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นรวดเร็วเมื่อเทียบกับอีก 3 ขั้นตอนในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ

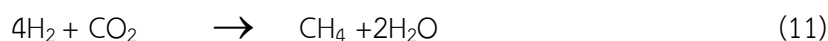
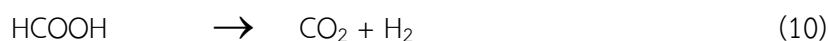
2.1.3) ขั้นตอนอะซีโทเจเนซิส (Acetogenesis) เป็นกระบวนการสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นในกระบวนการ acidogenesis เนื่องจากกระบวนการสร้างมีเทนส่วนใหญ่ต้องการใช้กรดอะซิติกเป็นสารตั้งต้น แต่กรดไขมันระเหยง่ายที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม จุลินทรีย์สร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการสร้างมีเทนได้ ทำให้เกิดการสะสมของกรดอินทรีย์ประเภทนี้ในระบบ จึงมีจุลินทรีย์กลุ่มอะซีโทเจเนติก (Acetogenic bacteria) ที่สามารถเปลี่ยนกรดไขมันระเหยง่าย ($> C_2$) ให้สั้นลงในกระบวนการ syntrophic acetogenesis กลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) หรือการสังเคราะห์กรดอะซิติกจากไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการ homoacetogenesis

2.1.4) ขั้นตอนการสร้างมีเทน (Methanogenesis) เป็นขั้นตอนการผลิตมีเทน (CH_4) ด้วยจุลินทรีย์กลุ่มอาร์เคีย (Archea) ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนการสร้างมีเทน จากกรดอะซิติก, คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน โดยจุลินทรีย์กลุ่ม Methanogenic bacteria กระบวนการสร้างมีเทนแบ่งออกได้ 2 ประเภทตามสารตัวกลางที่มีในระบบ

(1) ไฮโดรจิโนโทรฟิค เมทาโนเจน (Hydrogenotrophic methanogens) เป็นการผลิต CH_4 จากการเปลี่ยนกรดอะซิติกคิดเป็น 70% ของมีเทนที่เกิดขึ้นได้ในระบบ โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนกรดไพรูวิกให้เป็นกรดอะซิติก ดังสมการที่ 8 ซึ่งกรดอะซิติกสามารถเปลี่ยนเป็น CH_4 ได้ด้วยสมการที่ 9



(2) อะซีโตโทรฟิคเมทาโนเจน (Acetotrophic methanogens) หรือ อะซีโตคลาสติกเมทาโนเจน (Acetoclastic methanogens) เป็นการผลิต CH_4 จากการใช้กรดฟอร์มิก, ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเปลี่ยนกรดฟอร์มิกเป็นไฮโดรเจน และ คาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 10 และเปลี่ยนเป็น CH_4 ดังสมการที่ 11



2.5 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไฮโดรเจน

ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน จำเป็นต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่มร่วมกัน ซึ่งกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน ได้แก่

1) Hydrolytic Bacteria จุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจนกลุ่มนี้ เช่น *Clostridium*, *Streptococcus* (Zverlov *et al.*, 2010) ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน เซลลูโลส ลิกนิน และไขมันเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน กลูโคส และกลีเซอรอล เป็นต้น การย่อยสลายสารอินทรีย์เหล่านี้ถูก Catalyzed โดย Extracellular enzyme เช่น ไลเปส โปรติเอส และเซลลูเลส การย่อยสลายขั้นตอนนี้เป็นไปได้ช้าและมีข้อจำกัดในการย่อยสลายวัสดุหมักบางประเภท เช่น วัสดุหมักกลุ่มลิกโนเซลลูโลสที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบ

2) Acidogenic Bacteria หรือ Acidogen จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีทั้งที่เป็น facultative และ obligate anaerobic แบคทีเรียสร้างกรดจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูง และทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* (Deublein & Steinhauser, 2008) มีหน้าที่เปลี่ยนสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็กให้กลายเป็นกรดไขมันสายสั้นที่มีขนาดคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 อะตอม (C1 - C5)

3) Acetogenic Bacteria หรือ Acetate- H_2 Producing Bacteria จุลินทรีย์กลุ่มนี้ เช่น *Clostridium* และ *syntrophomonas wolfeii* (Deublein and Steinhauser, 2008) ย่อยสลายกรดไขมัน ระเหยง่ายและแอลกอฮอล์ได้เป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน

1) หัวเชื้อจุลินทรีย์ และวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพจากแหล่งของจุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการผลิตไฮโดรเจนมีความสำคัญมาก เนื่องจากส่วนใหญ่เป็นกลุ่มหัวเชื้อผสมที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดปะปนกัน โดยเฉพาะกลุ่ม methanogens และ homoacetogens ที่สามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นสารตั้งต้นในการผลิตมีเทน และกรดอะซิติกได้ ซึ่งจะพบได้ทั่วไปในแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ผสม การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์จึงเป็นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ผสม แต่การเลือกใช้วิธีในการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ควรคำนึงถึงความเหมาะสมของแหล่งจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ผลิตไฮโดรเจน เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ เช่น methanogens ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์สามารถมีบทบาทในการผลิตไฮโดรเจนมากขึ้น (Li Fang et al., 2007; Wong et al. 2014)

2) การปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมักสามารถช่วยเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากวัสดุหมักที่มีความแข็งแรง และโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น พีช กลุ่มลิกโนเซลลูโลส การปรับสภาพขั้นต้นสามารถลดระดับความแข็งแรงของ crystallinity เพิ่มการเข้าถึงเซลลูโลส และสามารถทำลายเฮมิเซลลูโลส หรือลิกนินที่เป็นอุปสรรคในกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศ (Saratale et al. 2008)

3) พีเอช (pH) เป็นพารามิเตอร์ที่บ่งชี้สถานะในกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพ ค่าพีเอช มีความสำคัญต่อการทำงานของจุลินทรีย์ การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีช่วงเหมาะสมของ pH ที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสภาวะแวดล้อมในการผลิตไฮโดรเจน นอกจากนี้ค่า pH อาจเปลี่ยนแปลงได้ตามองค์ประกอบของวัสดุหมัก pH ที่เหมาะสำหรับการผลิตไฮโดรเจนที่มีจุลินทรีย์กลุ่มไฮโดรไลซิสและกลุ่มสร้างกรดควรอยู่ในช่วง 5.5 - 6.8 (Liu et al., 2011) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Khan et al. (2016) ที่ pH 5.5 สามารถผลิตไฮโดรเจนได้สูงสุด แต่จะเกิดผลยับยั้งต่อการเติบโตของจุลินทรีย์หาก pH ต่ำกว่า 4.5 ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถทนทานต่อสภาวะกรดอ่อนๆได้ แต่ในทางตรงข้ามจุลินทรีย์สร้างอะซิติกและกลุ่มผลิตมีเทน เจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอช 7.8 - 8.2 การควบคุมพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มควรควบคุมให้อยู่ในช่วง 6.8 - 7.4 เป็นสภาวะที่ทั้งสองกลุ่มทำงานได้อย่างเหมาะสม

4) อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ และการทำงานของจุลินทรีย์ในการผลิตไฮโดรเจน ซึ่งจุลินทรีย์สามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ต่างกัน แบ่งอุณหภูมิออกเป็น mesophilic (35 °C), thermophilic (55 °C) และ extreme thermophilic (> 65 °C) (Ghimire et al., 2015) เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มสามารถเกิดเมตาบอลิซึม และเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิเหมาะสม จากรายงานของ Valdez-Vazquez et al. (2005) แสดงถึงการผลิตไฮโดรเจนด้วย thermophilic สามารถให้ประสิทธิภาพดีกว่า mesophilic เนื่องจากอิทธิพลของอุณหภูมิมีผลต่อการย่อยสลาย (Shin et al., 2004) ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มย่อยสลายที่รวดเร็วทำให้เกิดกรดอินทรีย์สะสมมากขึ้น แต่อาจเกิดการยับยั้งการผลิตไฮโดรเจนได้ (Mao et al., 2015) เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถปรับตัวได้ทันทีในสภาวะอุณหภูมิสูงจึงอาจถูกทำลายด้วยความร้อนได้ (Cheong & Hansen, 2008)

5) อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพอยู่ในช่วง 20 - 30 ถ้า C/N ratio สูงเกินไป ไนโตรเจนจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้เสริมโปรตีนให้ตัวเองหมดอย่างรวดเร็ว ทำให้การเกิดเซลล์จุลินทรีย์ใหม่ลดลง เพราะปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอส่งผลให้ได้ปริมาณก๊าซน้อย แต่ถ้าหาก C/N ratio ต่ำ จะมีไนโตรเจนมากเกินไปเกิดการสะสมเป็นแอมโมเนีย ทำให้ค่า pH เพิ่มขึ้น จากรายงานของ Xia et al. (2014) ทำการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนโดยผสมชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella pyrenoidosa* และ แป้งมันสำปะหลัง แบ่งเป็นสาหร่าย, แป้งมันสำปะหลัง, และผสมระหว่างสาหร่ายกับแป้งมันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสัดส่วน C/N พบว่าการผสมชีวมวลทั้งสาหร่ายและแป้งมันที่สัดส่วน C/N เท่ากับ 25.3 ได้ประสิทธิผลไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักไร้แสง เท่ากับ 276.2 mL/g TVS มากกว่าเฉพาะการหมักสาหร่ายอย่างเดียว 3.7 เท่า และ เฉพาะการหมักแป้งมันอย่างเดียว 1.8 เท่า

2.7 ศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Biological Hydrogen Production (BHP assay)

BHP assay เป็นวิธีการประเมินหาศักยภาพสูงสุดในการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมักในสภาวะไร้อากาศแบบ batch โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งค่าศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจะแสดงถึงก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นทั้งหมดกรัม TS, VS หรือ COD ของวัสดุหมักที่ใช้ในการศึกษา และหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา BHP ควรได้รับการไล่ก๊าซ (degassing) เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพซึ่งยังคงเหลือติดมากับตะกอนให้ลดน้อยลงจนไม่รบกวนผลผลิตก๊าซชีวภาพจากตัวอย่างวัสดุที่สนใจศึกษา รวมทั้งต้องปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ไฮโดรเจน การศึกษาของ Batista et al. (2014) ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* แบบ batch โดยการหมักแบบแห้ง (ความชื้น 5%) และการหมักแบบเปียก (ความชื้น 69%) พบว่าผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเกิดจากแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes* เท่ากับ 57.6 mL H₂/g VS_{alga} จาก 2.5 g_{alga}/L และ จากแบคทีเรีย *Clostridium butyricum* เท่ากับ 113.1 mL H₂/gVS_{alga} จาก 50 g_{alga}/L การหมักแบบเปียกให้ผลคล้ายกับหรือมากกว่าการหมักแบบแห้ง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความไม่จำเป็นและยังประหยัดพลังงานในขั้นตอนการทำแห้ง สำหรับ Plangklang et al. (2012) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำอ้อยโดยการตรึง *Clostridium butyricum* บนขานอ้อย พบว่าสามารถปรับปรุงอัตราการเกิดไฮโดรเจนประมาณ 1.2 เท่า เมื่อเทียบกับเซลล์อิสระ อัตราการเกิดไฮโดรเจนและประสิทธิผลไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 3.11 L H₂/L substrate/d และ 1.34 mol H₂/mol hexose consumed ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้วิธี BHP ในการศึกษาการผลิตไฮโดรเจน ควบคู่ผลิตมีเทนของ (Xia et al., 2014) โดยการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนและมีเทน จากการผสมชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Chlorella pyrenoidosa* และ แป้งมันสำปะหลัง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสัดส่วน C/N พบว่าการผสมชีวมวลทั้งสาหร่ายและแป้งมันที่สัดส่วน C/N เท่ากับ 25.3 ได้ประสิทธิผลไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักไร้แสง เท่ากับ 276.2 mL/g TVS มากกว่าเฉพาะการหมักสาหร่ายอย่างเดียว 3.7 เท่า และ เฉพาะการหมักแป้งมันอย่างเดียว 1.8 เท่า โดยอัตราการเกิด

ไฮโดรเจนสูงสุดจากชีวมวลผสมเท่ากับ 31.96 mL/g TVS /h ที่สัดส่วน C/N 15.6 ส่วนประสิทธิผล การผลิตก๊าซมีเทน เท่ากับ 126.0 mL/g TVS ซึ่งมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการผลิตพลังงาน ที่เพิ่มขึ้น 67.2% โดยการผลิตร่วมกันระหว่างไฮโดรเจน และมีเทน

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ภาพรวมขั้นตอนวิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ส่วน ประกอบด้วย 1) การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ และวัสดุหมัก 2) การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน และศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ 3) การปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมักด้วยคลื่นไมโครเวฟ และศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมัก 4) การผลิตไฮโดรเจนด้วยการเติมออกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 3-1

3.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ และวัสดุหมัก

3.2.1 หัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum)

หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง เป็นตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศของโรงงานผลิตน้ำยางข้นในจังหวัดสงขลา ตะกอนจุลินทรีย์ที่เก็บจากโรงงานควรตั้งให้แยกชั้นตะกอนแล้วถ่ายน้ำออกเพื่อให้ได้เนื้อขึ้น และควรได้รับการไล่ก๊าซ (degassing) ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง เพื่อให้สารอินทรีย์ที่ติดมากับตะกอนจุลินทรีย์ย่อยสลายลดน้อยลงจนไม่รบกวนผลผลิตไฮโดรเจนจากตัวอย่างวัสดุที่ศึกษา โดยนำตะกอนจุลินทรีย์มาตั้งพักไว้ในขวดปิด และวัดปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นทุกวันจนกระทั่งก๊าซชีวภาพลดลงเหลือ $1 \text{ mL/gVS}_{\text{inoculum}}$ และวิเคราะห์ TS และ VS ก่อนใช้ในการทดลอง

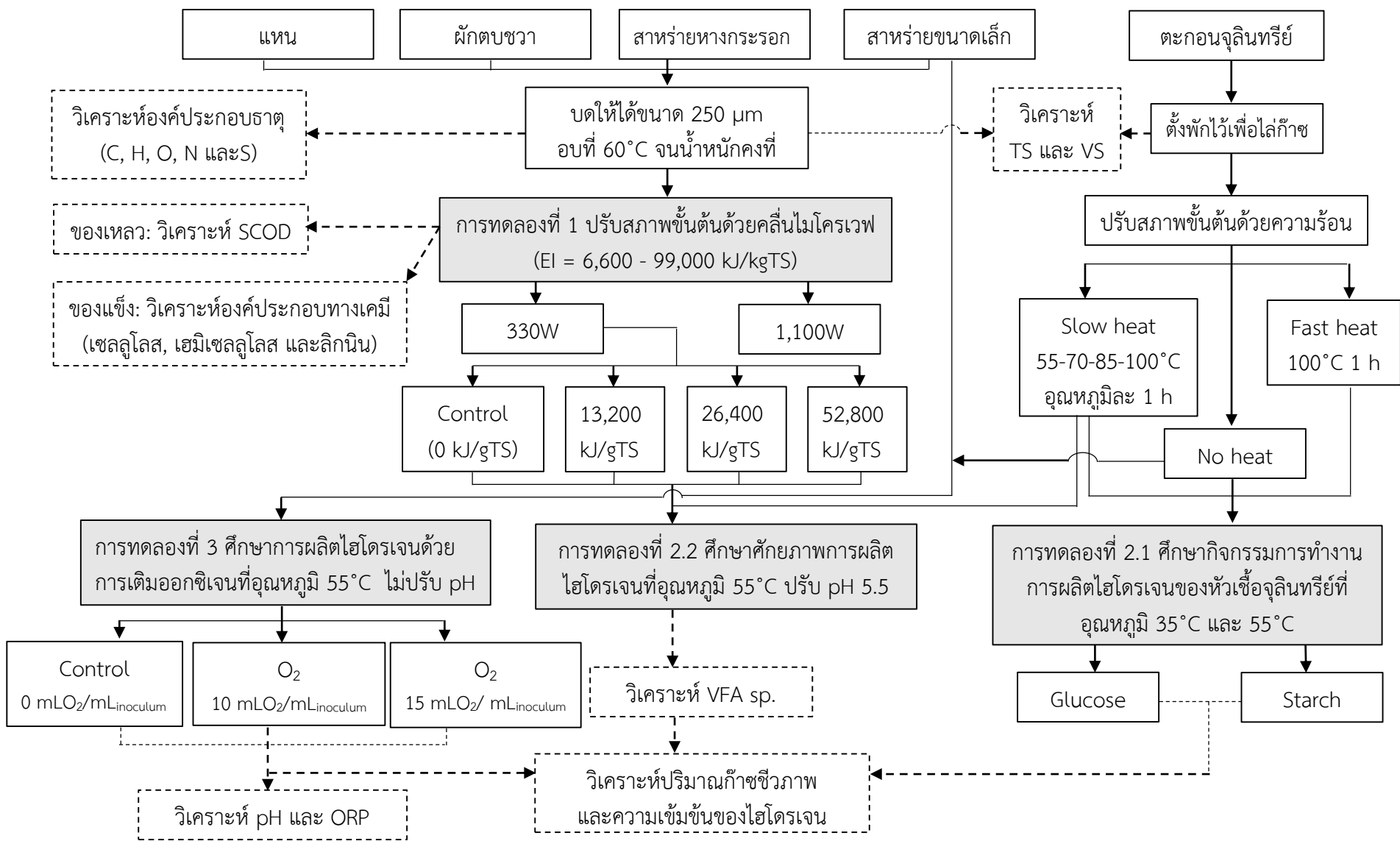
3.2.2 วัสดุหมัก (Substrates)

วัสดุหมักในการทดลองมี 4 ชนิด คือ แหน (Duckweed), ผักตบชวา (Water hyacinth), สาหร่ายหางกระรอก (Hydrilla) และสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) สายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ที่ผ่านกระบวนการ freeze dried โดยทำการเก็บแหนจากแหล่งน้ำในนิคมอุตสาหกรรมภาคใต้ และผักตบชวาจากฟาร์มสุกรในจังหวัดสงขลา ในขณะที่สาหร่ายหางกระรอกเก็บจากแหล่งน้ำในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับนำผักตบชวา และสาหร่ายหางกระรอก ต้องลดขนาดโดยนำเข้าเครื่องตัดให้มีขนาดใกล้เคียงกับแหนประมาณ 3 mm ดังรูปที่ 3-2 ก่อนนำไปผึ่งแดดให้แห้ง จากนั้นเอาวัสดุหมักทั้ง 4 ชนิดไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดแล้วนำไปผ่านตะแกรงร่อน (sieve) ขนาด $250 \mu\text{m}$ และอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C จนน้ำหนักคงที่ จึงเก็บในถุงซิปลาสติกที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการวิเคราะห์ และใช้ตลอดการทดลอง การวิเคราะห์ของวัสดุหมักตามพารามิเตอร์ Total

solid (TS), Volatile solid (VS) ตามวิธีการ (APHA et al., 2005) และองค์ประกอบธาตุ Carbon (C), Hydrogen (H), Nitrogen (N), Sulfur (S) และ Oxygen (O) ด้วย (CHNS-O Analyzer) เพื่อใช้สำหรับการประเมินซีโอดีทางทฤษฎี (Theoretical COD) ซึ่งเป็นวิธีประเมินด้วยสมการปริมาณสัมพันธ์ (stoichiometric equation) ที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของวัสดุหมักอย่างสมบูรณ์ โดยที่ nitrogen (N) ยังคงอยู่ในรูปของแอมโมเนีย (NH₃) ด้วยสมการที่ (3-1) (Prajapati et al., 2014)

$$\text{COD}_{\text{th}} + \frac{1000}{4} \left(\frac{4a+b-2c}{12a+b+16c} \right) M \quad (3-1)$$

โดยที่	COD _{th}	คือ ซีโอดีทางทฤษฎี
	<i>a</i>	คือ ธาตุ Carbon
	<i>b</i>	คือ ธาตุ Hydrogen
	<i>c</i>	คือ ธาตุ Oxygen
	<i>M</i>	คือ น้ำหนักโมเลกุลของ oxygen (32 g/mol)



รูปที่ 3-1 ภาพรวมขั้นตอนวิธีการดำเนินงานวิจัย



ก) แหน



ข) ผักตบชวา



ค) สาหร่ายหางกระรอก



ง) สาหร่ายขนาดเล็ก

รูปที่ 3-2 วัสดุหมักแห้งหลังจากลดให้ได้ขนาดประมาณ 3 mm

3.3 การทดลองที่ 1 ศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นของวัสดุหมัก (แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก) ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment) ที่ระดับการให้พลังงาน (Energy intensity) และระยะเวลาต่างๆ

การทดลองใช้เตาไมโครเวฟ Panasonic แบบ inverter รุ่น NN-ST557M ความถี่ 2,450 MHz ทำการปรับสภาพขั้นต้นวัสดุหมัก 4 ชนิด (แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก) ด้วยกำลัง 2 ระดับ ได้แก่ 330 W และ 1,100 W ที่ระดับการใช้พลังงาน 6,600 - 99,000 kJ/kgTS เป็นระยะเวลา 0.3 - 15 นาที ดังแสดงในตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 เงื่อนไขระยะเวลาการปรับสภาพขั้นต้นของวัสดุหมัก ได้แก่ แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็กด้วยคลื่นไมโครเวฟ

Energy intensity (kJ/kgTS)	Microwave time (min)	
	330W	1,100W
6,600	1	0.3
13,200	2	0.6
26,400	4	1.2
33,000	5	1.5
39,600	6	1.8
52,800	8	2.4
66,000	10	3
99,000	15	4.5

สำหรับการคำนวณ Energy intensity (EI) จากการปรับสภาพขั้นต้นด้วยสมการที่ (3-2) (Passos et al., 2013a)

$$EI = \frac{P \times t}{TS} \quad (3-2)$$

โดยที่
 EI = Energy intensity (kJ/kgTS)
 P = Power (W),
 t = Time (s)
 TS = Total solid (g)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับปรับสภาพขั้นต้นทำได้โดยชั่งวัสดุหมัก 3 กรัม ในปิកเกอร์ 600 mL ผสมน้ำในสัดส่วน 1:10 (ของแข็งต่อน้ำ w/v) จึงปิดปากปิกเกอร์ด้วยพลาสติก wrap วางปิกเกอร์ไว้ตรงกลางจานหมุนในเตาไมโครเวฟเพื่อให้ตัวอย่างวัสดุหมักได้รับคลื่นไมโครเวฟอย่างทั่วถึง (รูปที่ 3-2) เมื่อการปรับสภาพขั้นต้นเสร็จสิ้น ให้ปรับปริมาตรคั้นด้วยน้ำกลั่น แล้วแยกส่วนของแข็งกับของเหลว โดยที่ส่วนของแข็งนำไปล้างน้ำกลั่นผ่านตะแกรง sieve ขนาด 75 μm เพื่อกำจัด by-products แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C จนน้ำหนักคงที่เพื่อรักษาคุณสมบัติของเซลล์พืชก่อนนำตัวอย่างวิเคราะห์คุณสมบัติเส้นใย Lignocellulose ได้แก่ cellulose, hemicellulose และ lignin ในขณะที่ของเหลวนำไปกรองผ่านตัวกรองเมมเบรนขนาด 0.45 μm ก่อนใช้วิเคราะห์ Soluble Chemical Oxygen Demand (SCOD)

หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 330 W คัดเลือกวัสดุหมักที่มีค่า η_s ต่ำที่สุด 2 ชนิด มาปรับสภาพขั้นต้นด้วยกำลัง 1,100 W เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ระดับการให้พลังงานเท่ากัน และคำนวณ Solubilization yield (η_s) ของวัสดุหมักหลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยสมการที่ (3-3) (Saritpongteeraka et al., 2014)

$$\eta_s (\%) = \frac{S_s}{\text{COD}_{th}} \times 100 \quad (3-3)$$

โดยที่ η_s = Solubilizations yield (%)
 S_s = SCOD หลังปรับสภาพขั้นต้น (g)
 COD_{th} = ซีไอดีทางทฤษฎีของวัสดุหมัก (g)



รูปที่ 3-3 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟในห้องปฏิบัติการ

3.4 การทดลองที่ 2 การศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจน (Specific hydrogen production potential; SHP) และศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมัก (Biochemical hydrogen potential; BHP)

3.4.1 ศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน (Heat shock) แบบ fast และ slow heat

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ จากระบบผลิตก๊าซชีวภาพไร้อากาศของโรงงานน้ำยางข้นที่ผ่านการ degassing มาให้ความร้อน (Heat shock) โดยอบตะกอนจุลินทรีย์เนื้อขึ้นใน hot air oven แบบให้ความร้อนรวดเร็ว (Fast heat, FH) โดยใช้อุณหภูมิ

คงที่ 100°C เป็นเวลา 1 ชม. และให้ความร้อนแบบช้า (Slow heat , SH) เป็นการอบแบบเพิ่มอุณหภูมิ 4 ครั้ง เป็นเวลาครั้งละ 1 ชม. โดยเริ่มต้นที่ 55 - 70 - 85 และ 100°C เมื่อปรับเสร็จสิ้นการให้ความร้อนแก่หัวเชื้อจุลินทรีย์แล้วทำการวิเคราะห์ TS และ VS ก่อนใช้ในการทดลอง

การทดลอง SHP แบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลองจากหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อน ได้แก่ FH และ SH เริ่มต้นเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ลงในขวดเซรัม 120 mL ที่มีปริมาตรใช้งาน 60 mL ในความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 5 gTS/L โดยที่แต่ละชุดการทดลองใช้ Substrates ได้แก่ กลูโคส และแป้ง ความเข้มข้น 15 gTS/L เติม nutrient solution (ตารางที่ 3-2) และสารละลาย NaHCO₃ 50 g/L ที่สัดส่วน 1% และ 10% (v/v) ตามลำดับ ปรับปริมาตรใช้งานด้วยน้ำกลั่น และปรับ pH 5.5 ด้วย 3 M HCl ทำการ flush ไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจนเสร็จแล้วปิดขวดด้วยจุกยาง ฝาครอบอะลูมิเนียม และต่อเข้ากับชุดอุปกรณ์วัดก๊าซชีวภาพ บ่มเขย่าขวดหมักด้วยเครื่อง shaking incubator ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C ความเร็วรอบ 150 rpm ดังรูปที่ 3-4

ตารางที่ 3-2 องค์ประกอบ และปริมาณของสารละลายสารอาหาร (nutrient solution) ในการทดลอง SHP

สารอาหาร	ความเข้มข้น
NH ₄ Cl	1.4 g/L
K ₂ HPO ₄	1.25 g/L
MgSO ₄ •OH	0.5 g/L
CaCl ₂ •2H ₂ O	0.05g/L
Yeast extract	0.5 g/L
trace element solution	5 mL
Trace element solution (5 mL/L ประกอบด้วย)	
H ₃ BO ₃	50 mg/L
ZnCl ₂	50 mg/L
CuCl ₂ •2H ₂ O	38 mg/L
MnCl ₂ •4H ₂ O	500 mg/L
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ •4H ₂ O	50 mg/L
AlCl ₃ •6H ₂ O	90 mg/L
CoCl ₂ •6H ₂ O	2,000 mg/L

ที่มา: (Raposo et al., 2006)



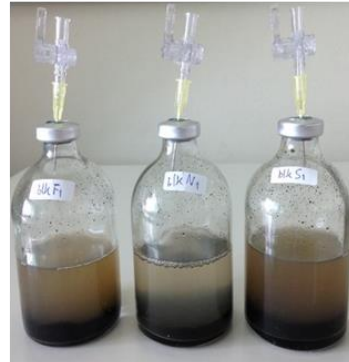
ก) การปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน



ข) ปรับ pH ด้วยกรด HCl



ค) ใส่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน



ง) ขวดหมักผลิตไฮโดรเจน



จ) เครื่อง shaking incubator

รูปที่ 3-4 ขั้นตอนการทดลองศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) ในห้องปฏิบัติการ

สำหรับชุดควบคุม (control) และ ชุดเบลงค์ (blank) ดำเนินการทดลองเหมือนชุดทดลองหัวเชื้อจุลินทรีย์ FH และ SH แต่ ชุด control จะใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat, NH) และ blank เติมหักเชื้อจุลินทรีย์แต่ไม่เติมกลูโคส และแบ่ง สำหรับก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจะวัดปริมาณทุกวัน และนำตัวอย่างก๊าซไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของไฮโดรเจนในก๊าซชีวภาพทุก 12, 24, 36, 48 ชั่วโมงหลังจากนั้นวิเคราะห์ทุก ซึ่งแต่ละชุดการทดลอง ทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ

การคำนวณหากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังการปรับสภาพ ขึ้นต้นด้วยความร้อน แบบ FH, SH และ NH ทำนายผลการทดลองด้วยสมการ modified Gompertz (3-4) โดยใช้ least square method ด้วย solver function ในโปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Office Excel® 2013

$$H(t) = P \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_m \times e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (3-4)$$

โดยที่

- H(t) = ปริมาณไฮโดรเจนสะสม (mL)
- t = ระยะเวลา (h)
- P = ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (mL)
- e = ค่าคงที่ 2.718
- R_m = อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด (mL/h)
- λ = ระยะเวลา lag phase (hr)

3.4.2 การศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจาก แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก หลังการปรับสภาพขึ้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W

การศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน (BHP) ซึ่งจะเลือกใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์หลังการปรับสภาพขึ้นต้นด้วยความร้อน FH หรือ SH ที่มีความเหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนที่สุด จากการทดลองที่ข้อที่ 3.4.1 เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 5 gTS/L หมักร่วมกับวัสดุต่างๆ 4 ชนิด ที่ผ่านการปรับสภาพขึ้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ได้แก่ แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็กที่ปริมาณ TS เท่ากับ 15 g/L ซึ่งคัดเลือกเงื่อนไขจากการทดลองที่ 3.2 เฉพาะระดับการให้พลังงานที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง η_s ของวัสดุหมัก 3 ระดับ คือ สูง, กลาง และต่ำ โดยดำเนินการทดลอง BHP เช่นเดียวกับการทดลองข้อที่ 3.4.1 บ่มเขย่าด้วย shaking incubator ที่อุณหภูมิ 55°C ความเร็วรอบ 150 rpm สำหรับ blank ดำเนินการทดลองแบบเดียวกันแต่ไม่เติมวัสดุหมัก และในระหว่างการทดลองจะเก็บตัวอย่างในขวดหมัก เพื่อวิเคราะห์ individual volatile fatty acid (VFAs) โดยเริ่มเก็บตัวอย่างของเหลวหลังจากการหมักผ่านไปทุก ๆ 24 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 72 จึงเริ่มเก็บตัวอย่างทุก 48 ชั่วโมง จนสิ้นสุดการทดลองที่ 168 ชั่วโมง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ และองค์ประกอบก๊าซชีวภาพ การคำนวณเพื่อประเมินศักยภาพให้ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองข้อที่ 3.4.1

3.5 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเติมออกซิเจน (Micro oxygenation) ต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน

การทดลองเป็นการศึกษาผลของการเติมออกซิเจน ต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน จากวัสดุหมัก โดยเลือกใช้วัสดุหมักที่มีผลการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดจากการทดลองข้อที่ 3.4.2 กำหนด TS เริ่มต้น 15g/L เติมลงในขวดเซรัม 300 mL ปริมาตรใช้งาน 120 mL ซึ่งมีตะกอนจุลินทรีย์จากระบบผลิตก๊าซชีวภาพของโรงงานน้ำยางชั้นที่ผ่านการทำ degassing เท่ากับ 5 gTS/L เติม nutrient solution และ สารละลาย NaHCO_3 50 g/L ที่สัดส่วน 1% และ 10% (v/v) ตามลำดับ ปรับปริมาตรใช้งานด้วยน้ำกลั่นจนถึง 120 mL และนำขวดหมักไปใส่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดขวดด้วยจุกยางฝาครอบอะลูมิเนียม ทำการเติมออกซิเจนเข้าไปในขวดเซรัมที่ความเข้มข้น (O_2 dose) 3 ระดับ ได้แก่ 0, 10 และ 15 $\text{mLO}_2/\text{mL}_{\text{inoculum}}$ หรือเทียบเท่ากับ 0, 193.4, 290.1 $\text{mLO}_2/\text{gVS}_{\text{inoculum}}$ คำนวณดังสมการที่ 3-5 โดยการเติมออกซิเจนลงไปใต้ของเหลวเพื่อแทนที่อากาศที่ไหลออกไป จากนั้นนำขวดหมักบ่มเขย่าด้วย shaking incubator ที่อุณหภูมิ 55°C ความเร็วรอบ 150 rpm

$$\text{O}_2 \text{ dose} = \frac{\text{mLO}_2}{\text{mL}_{\text{inoculum}}} \times \frac{1 \text{ L}}{51.6 \text{ gVS}_{\text{inoculum}}} \times \frac{1,000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \quad (3-5)$$

โดยที่ ค่า VS ของหัวเชื้อจุลินทรีย์ เท่ากับ 51.6 g/L (ตารางที่ 4-1)

ชุดควบคุม (control) ให้ทำการทดลองเหมือนชุดทดลองเติมออกซิเจน แต่ใช้วัสดุหมักที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และ blank ดำเนินการเช่นเดียวกัน แต่จะไม่เติมวัสดุหมัก สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ และองค์ประกอบก๊าซชีวภาพ การคำนวณเพื่อประเมินศักยภาพ ให้ทำทดลองเช่นเดียวกับการทดลองข้อที่ 3.4.1 นอกจากนี้จะทำการติดตามตรวจสอบค่า pH และ Oxidation Reduction Potential (ORP) โดยใช้เครื่องมือวัด ORP ดังรูปที่ 3-5



รูปที่ 3-5 เครื่อง Oxidation Reduction Potential

3.6 วิธีวิเคราะห์

ค่า pH วัดด้วยเครื่อง METTLER TOLEDO pH meter, ORP วัดด้วยเครื่อง ORP meter รุ่น mV 600 ORP digital controller, TS และ VS วิเคราะห์ตาม Standard Methods (APHA et al., 2005) SCOD วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ของ Merk รุ่น Spectroquant® Pharo 100, ปริมาณ cellulose, hemicellulose และ lignin วิเคราะห์ตามวิธี (Van Soest et al., 1991) และองค์ประกอบธาตุ (CHNS-O) วิเคราะห์ตามเทคนิค Dynamic flash combustion ด้วยเครื่อง CHNS-O Analyzer, CE Instruments Flash EA2000 Series, Thermo quest, Italy สำหรับ Individual volatile fatty acid จะใช้ของเหลวจากขวดหมักไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm เวลา 3 นาที แล้วกรองด้วยไนรอนเมมเบรน 0.22 μm ก่อนวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ Agilent capillary 19091N-133HP- INNOWax polyethylene glycol โดยมี helium เป็นก๊าซตัวพา และองค์ประกอบก๊าซชีวภาพ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography (GC 7820A Agilent Technologies) คอลัมน์ thermal conductivity detector (TCD) โดยมี Argon เป็นก๊าซตัวพา และ ใช้ก๊าซผสมระหว่างไฮโดรเจน, ไนโตรเจน, มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นก๊าซมาตรฐานในการวิเคราะห์ความเข้มข้นขององค์ประกอบก๊าซชีวภาพ

3.7 วิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดจะคำนวณจากผลการทดลองที่มีความเสถียร และใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 23.0.0.0 วิเคราะห์ One-way ANOVA

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผล

4.1 คุณลักษณะของวัสดุหมัก (Characteristics of substrates)

การวิเคราะห์ลักษณะของวัสดุหมัก ตามพารามิเตอร์ดังตารางที่ 3-1 ได้แก่ แหน (Duckweed), ผักตบชวา (Water hyacinth), สาหร่ายหางกระรอก (Hydrilla) และสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) สายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* และหัวเชื้อจุลินทรีย์ (Inoculum) พบว่า ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4-1 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุหมักที่นำมาใช้ทำการทดลอง มีปริมาณของแข็งทั้งหมด และของแข็งระเหยง่ายสูงแสดงถึงความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์เป็นก๊าซชีวภาพได้สูง ซึ่งวัสดุหมักที่เป็นพืชน้ำมีโครงสร้างภายในที่แตกต่างกับสาหร่ายขนาดเล็ก กล่าวคือ สาหร่ายขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่เป็นโปรตีนสูง ผงเซลล์ไม่มีองค์ประกอบของลิกนิน (Sambusiti et al., 2015) แตกต่างจากพืชน้ำซึ่งถือว่าเป็นกลุ่มพืชลิกโนเซลลูโลส เช่น แหน ผักตบชวา และสาหร่ายหางกระรอกที่มีโครงสร้างประกอบด้วยหลายเซลล์ที่ซับซ้อน และผนังเซลล์ที่แข็งแรงประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ส่งผลต่อความสามารถในการย่อยสลายที่แตกต่างกันเพื่อผลิตเป็นก๊าซชีวภาพ

การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ C, H, O, N และ S ของวัสดุหมัก จึงเป็นวิธีหนึ่งสำหรับการประเมินถึงความเป็นไปได้ของสารอินทรีย์ในวัสดุหมักที่จะนำมาผลิตเป็นก๊าซชีวภาพ สำหรับธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ของพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายขนาดเล็กพบว่าสาหร่ายขนาดเล็กมีองค์ประกอบธาตุคาร์บอน และไนโตรเจนที่สูงกว่าเนื่องจากเป็นมีองค์ประกอบเป็นเซลล์โปรตีน การใช้องค์ประกอบธาตุของวัสดุหมักแต่ละชนิดมาคำนวณหาปริมาณ COD ทางทฤษฎี ดังสมการ 3-1 โดยที่สูตร preliminary และ empirical คำนวณจากองค์ประกอบธาตุของวัสดุหมักแต่ละชนิดดังตารางที่ 4-2 พบว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณ COD_{th} สูงสุดเท่ากับ $2,004.5 \text{ mg O}_2/\text{gVS}$ มากกว่า COD_{th} ของพืชน้ำทั้ง 3 ชนิด เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณคาร์บอนสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำ แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ COD_{th} ที่คำนวณได้นั้นต่ำกว่ากว่ารายงานของ Prajapati et al. (2014) ปริมาณ COD_{th} เท่ากับ $2298.6 \text{ mg O}_2/\text{gVS}$

จากการวิเคราะห์ปริมาณ COD ทางทฤษฎี เป็นการประยุกต์ใช้ข้อมูลองค์ประกอบพื้นฐานจากวัสดุหมักเพื่อประเมินถึงศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กในรูปแบบของแข็ง แต่ถึงอย่างไรพืชน้ำแต่ละชนิด และสาหร่ายขนาดเล็กย่อมมีความแตกต่างกันของโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ที่ซึ่ง COD ทางทฤษฎี ประเมินได้จากเฉพาะองค์ประกอบธาตุนั้น การที่จะบอกได้ว่าพืชน้ำแต่ละชนิด และสาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนที่เหมาะสมหรือไม่ ยังคงต้องนำไปทำการทดลองศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนด้วยเทคนิค BHP assay ในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4-1 ลักษณะของวัสดุหมัก และหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

Parameter	หัวเชื้อ จุลินทรีย์*	แทน	ผักตบชวา	สาหร่าย หางกระรอก	สาหร่าย ขนาดเล็ก
TS (g/kg)	63.4 ±0.4	987.7 ±1.3	980.9 ±0.9	976.6 ±0.1	980.4 ±0.6
VS (g/kgTS)	51.6 ±0.3	821.3 ±1.2	780.3 ±1.1	809.3 ±0.2	771.9 ±0.1
C (% wt.)	-	38.4 ± 0.1	36.2 ±0.1	38.4 ±0.1	48.7 ±0.1
H (% wt.)	-	5.4 ±0.0	5.0 ±0.1	5.5 ±0.1	7.1 ±0.0
N (% wt.)	-	3.5 ±0.1	2.4 ±0.0	2.2 ±0.0	10.8 ±0.0
S (% wt.)	-	0.7 ±0.0	0.4 ±0.0	0.4 ±0.0	0.7 ±0.0
O (% wt.)	-	35.5 ±0.1	34.7 ±0.2	42.5 ±0.3	24.7 ±0.3
C/N ratio	-	11.1	15.3	17.4	4.5
VS/TS	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Crude protein	-	33.3% ^b	17.2% ^b	18.6% ^d	59.8%
Crude fat	-	5.0% ^E	4.9% ^C	0.4% ^d	7.1%
Carbohydrate	-	51.2% ^a	26.9% ^C	38.4% ^d	23.1%

* หน่วย g/L (อบแห้งที่ 60°C ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบและทดลอง)

^a Zhao et al. (2014a)

^b Zhao et al. (2014b)

^c Abdel-Shafy et al. (2015)

^d Hu et al. (2015)

^E Appenroth et al. (2017)

ตารางที่ 4-2 กาประเมิน Empirical formula และซีโอดีทางทฤษฎี (COD_{th})

Substrates	Preliminary formula	Empirical formula	COD _{th} (mg O ₂ /gVS)
แทน	C _{3.201} H _{5.307} N _{0.248} O _{2.217}	C ₁₃ H ₂₁ NO ₉	1,381.7
ผักตบชวา	C _{3.017} H _{4.980} N _{0.169} O _{2.168}	C ₁₈ H ₂₉ NO ₁₃	1,340.4
สาหร่ายหางกระรอก	C _{3.194} H _{5.426} N _{0.157} O _{2.658}	C ₂₀ H ₃₅ NO ₁₇	1,194.7
สาหร่ายขนาดเล็ก	C _{4.057} H _{6.990} N _{0.767} O _{1.543}	C ₅ H ₉ NO ₂	2,004.5

4.2 ผลการทดลองที่ 1 (แห่น, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก) ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment) ที่ระดับการให้พลังงาน (Energy intensity) และระยะเวลาต่างๆ

การใช้คลื่นไมโครเวฟในการปรับสภาพขั้นต้นเพื่อศึกษาผลการทำลายโครงสร้างพืชและผนังเซลล์ของวัสดุหมักกลุ่มที่มีโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสที่มีโครงสร้างแข็งแรง ซับซ้อน แสดงให้เห็นถึงผลการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟนั้นสามารถทำลายผนังเซลล์ crystalline และลดระดับความแข็งแรงของเซลลูโลสลงได้ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเคมี และเพิ่มการปลดปล่อยองค์ประกอบภายในโครงสร้างวัสดุหมัก ดังรูปที่ 4-1 ที่มีความสัมพันธ์ระหว่างค่าการใช้พลังงานกับการทำลายโครงสร้างของพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กให้เป็น soluble organic ที่ปลดปล่อยออกมาจากโครงสร้างเดิมในรูปของแข็ง องค์ประกอบที่หลุดออกมาอาจจะเป็น โปรตีน ไขมัน หรือน้ำตาลเป็นต้น ซึ่งจากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ พบว่า solubilization yield ที่ระดับ EI เท่ากับ 0 kJ/kgTS เป็นการชะของสารอินทรีย์ที่ผิวของพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กหลุดออกมาละลายในน้ำ ซึ่งแทนมีปริมาณสารอินทรีย์ที่ละลายในน้ำมากกว่าวัสดุหมักชนิดอื่น และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W พบว่า solubilization yield เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ EI เท่ากับ 13,200 kJ/gTS ของแห่น ผักตบชวา สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก เท่ากับ 17%, 8%, 20% และ 5% ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของ solubilization yield แสดงถึงโมเลกุลของน้ำในพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กถูกคลื่นไมโครเวฟก่อให้เกิดความร้อน และการสั่นอย่างรวดเร็ว สามารถทำลายโครงสร้างภายในเซลล์ และมีผลต่อการทำลายผนังเซลล์ได้ (Zhao et al., 2017)

สำหรับการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ solubilization yield ที่กำลัง 330W ในช่วงระดับ EI เท่ากับ 6,600 – 99,00 kJ/kgTS พบว่าค่า solubilization yield ที่ระดับ EI เท่ากับ 13,200 และ 52,800 kJ/kgTS ของ แห่น ผักตบชวา และสาหร่ายขนาดเล็ก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแห่น ผักตบชวา และสาหร่ายหางกระรอกที่เป็นโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสถูกทำลายหรือลดระดับความแข็งแรงลง เปลี่ยนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลกลูโคส เฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาล และลิกนินเป็นสารประกอบฟิวเรอ (fufural) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ ส่วนสาหร่ายขนาดเล็กมีโครงสร้างหลักเป็นโปรตีน และไขมัน ถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน และกรดไขมัน องค์ประกอบภายในเซลล์มีการปลดปล่อยเพิ่มขึ้น ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถเข้าถึงองค์ประกอบภายในของวัสดุหมักช่วยเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพ ก่อให้เกิดผลดีในการผลิตก๊าซชีวภาพ แต่เมื่อเพิ่มระดับการใช้พลังงานในการปรับสภาพมากขึ้นเกินกว่า 33,000 kJ/kgTS แนวโน้มของ solubilization yield กลับลดลงทุกวัสดุหมักไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ (Passos et al., 2013b) ที่แสดงถึง solubilization มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับพลังงานที่มากขึ้นจากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ สาเหตุการลดลงเนื่องมาจากการสูญเสียน้ำที่ระเหยไประหว่างการปรับสภาพมากขึ้นตามระยะเวลาที่นานเกินไปจนเกิดความร้อนสะสมทำให้ soluble organic ถูกทำลายหรือถูกเปลี่ยนรูปเป็นสารอินทรีย์ (Lee et al., 2014) ในขณะที่ระดับ EI มากกว่า 52,800 kJ/kgTS ค่า solubilization yield เริ่มมีแนวโน้ม

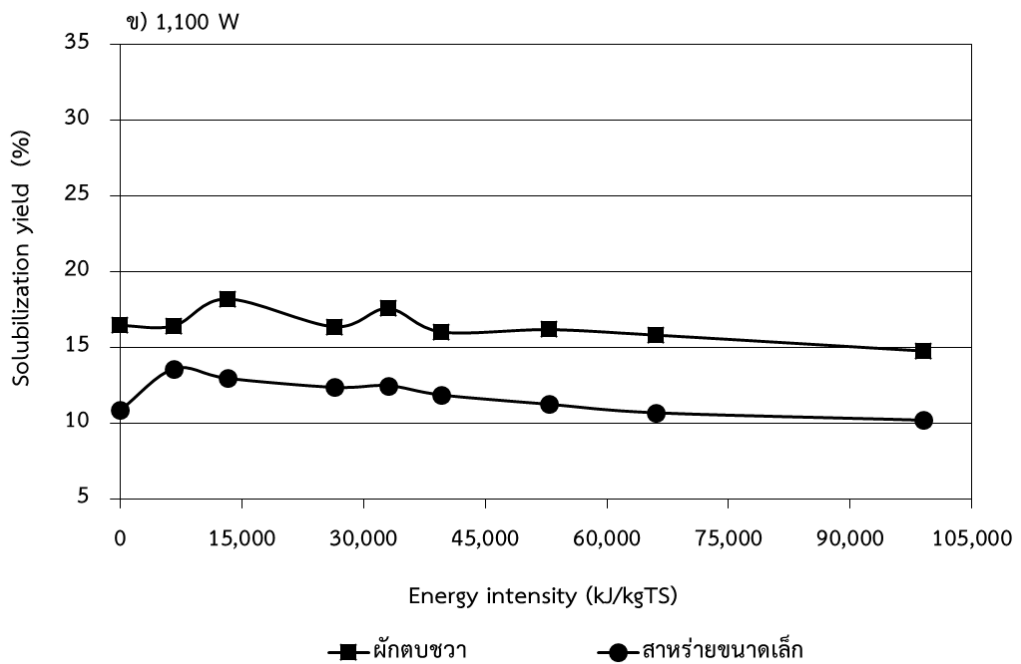
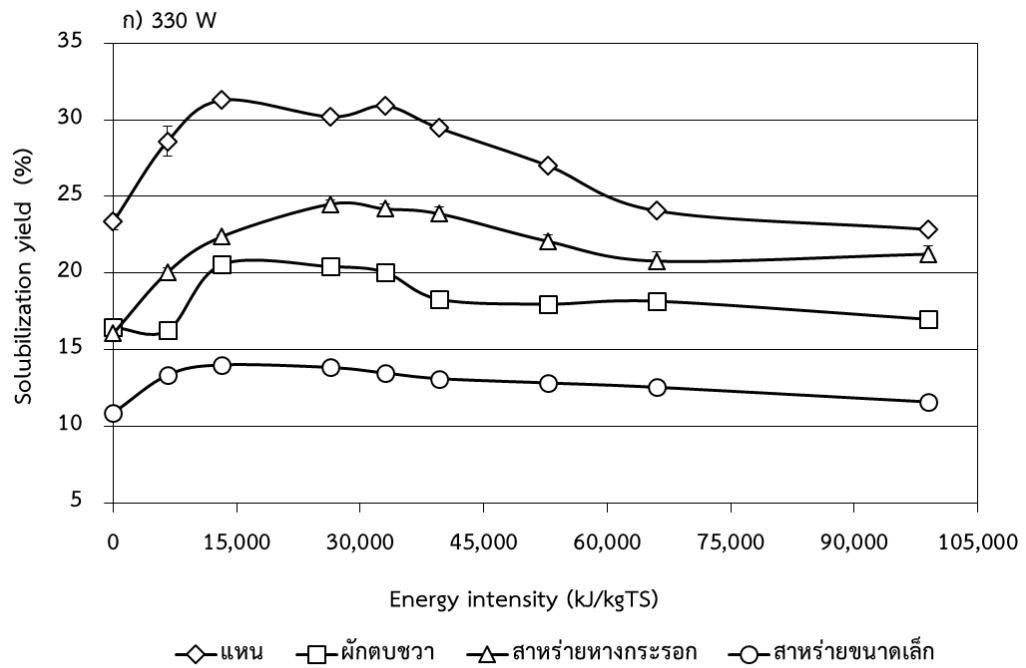
คงที่ จึงคัดเลือกผักตบชวา และสาหร่ายขนาดเล็ก ที่มี solubilization yield ต่ำที่สุดมาปรับสภาพที่ กำลัง 1,100W ด้วยระยะเวลาที่สั้นลงเพื่อเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพด้วยกำลัง 330 W พบว่า solubilization yield ที่กำลัง 1,100 W มีประสิทธิภาพการปรับสภาพของผักตบชวา และสาหร่าย ขนาดเล็กเพิ่มขึ้น เท่ากับ 4% และ 3% ตามลำดับที่ระดับพลังงานเท่ากัน คือ 13,200 kJ/kgTS ซึ่งมี ประสิทธิภาพต่ำกว่าที่ กำลัง 330W และมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง solubilization yield ตามระดับ การการใช้พลังงานเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับที่ กำลัง 330W ซึ่งให้เห็นถึงการปรับสภาพด้วยกำลังสูงที่ระดับ พลังงานเท่ากันไม่ส่งผลที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นการทดลองจึงเลือกใช้การทดสอบที่ กำลัง 330W อย่างเดียว

จากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ กำลัง 330W ของวัสดุหมักทุกชนิดได้ คัดเลือกสภาวะที่มี solubilization yield ดีที่สุด, ปานกลาง และต่ำ เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง องค์ประกอบเส้นใย ได้แก่ เซลลูโลส, ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ของพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กที่คง เหลืออยู่ในรูปของแข็ง ดังตารางที่ 4-3 โดยผลการทดลองแสดงถึงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับ การปรับไม่ปรับสภาพขั้นต้น (0 kJ/gTS) ผลที่ได้แสดง ว่าการปรับสภาพด้วยวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายโครงสร้าง lignocellulose ได้ โดยเฉพาะจะทำลายเฮมิเซลลูโลส และลิกนินมีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลง แต่เซลลูโลสที่เพิ่มขึ้นจะอยู่ ในช่วงค่า EI หนึ่งๆ เท่านั้น ในขณะที่สาหร่ายขนาดเล็กนั้นจากผลการวิเคราะห์ไม่พบปริมาณเฮมิ เซลลูโลส และลิกนิน เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ผนังเซลล์ ชั้นนอกเป็นเพคติน และผนังชั้นในเป็นเซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบที่ผนังเซลล์น้อยมาก ส่วนใหญ่เป็นเพคติน และมีองค์ประกอบของสารคล้ายเฮมิเซลลูโลส แต่จะไม่มีลิกนิน (Sambusiti et al., 2015)

การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ EI เท่ากับ 13,200 kJ/gTS พบว่าปริมาณ เซลลูโลสของแห้งเพิ่มขึ้น 7% และปริมาณเฮมิเซลลูโลสลดลง 2% และลิกนินลดลง 8% บ่งชี้ถึงคลื่น ไมโครเวฟสามารถเข้าไปทำลายโครงสร้างที่แข็งแรงของ crystalline ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับแห้งที่ไม่ ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น สำหรับปริมาณลิกนินที่เพิ่มขึ้นของสาหร่ายหางกระรอก สอดคล้องจาก รายงานของ Soontornchaiboon and Pawongrat (2012) ศึกษาการปรับสภาพด้วยคลื่น ไมโครเวฟพบว่าปริมาณลิกนินเพิ่มขึ้นเนื่องจากเซลลูโลสมีปริมาณลดลงจากการถูกทำลายด้วยความ ร้อนที่เกิดขึ้นหลังการปรับสภาพที่เวลานานเกินไป แต่ในสาหร่ายหางกระรอกกลับพบว่าลิกนินเพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาการปรับสภาพซึ่งไม่ได้เป็นผลมาจากการลดลงของเซลลูโลส อาจเนื่องจาก องค์ประกอบที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนิน หรือ ลิกนินเทียม (pseudo-lignin) ที่เกิดจากการ เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลลูโลส เป็นน้ำตาลเพนโทส (pentose) และเฮมิเซลลูโลสเป็นน้ำตาล เฮกโซส (hexose) แล้วเกิดการจัดเรียงโครงสร้างใหม่กลายเป็นโครงสร้างของลิกนินเทียม (Vivekanand et al., 2013)

ซึ่งเมื่อประเมินประสิทธิภาพการทำลายโครงสร้าง lignocellulose พิจารณา โครงสร้างวัสดุหมักที่เป็นส่วนของแข็งจาก holocellulose (เซลลูโลส+เฮมิเซลลูโลส) พบว่า หลังการ ปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ ผักตบชวามีปริมาณ holocellulose สูงสุด เท่ากับ 80.6%

ในขณะที่แทน เท่ากับ 47.7% และสาหร่ายหางกระรอก มีปริมาณ holocellulose เท่ากับ 40.2% ซึ่งการวิเคราะห์องค์ประกอบเส้นใยจะวิเคราะห์ในรูปแบบของแข็งที่เป็น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน ซึ่งพืชน้ำยังคงมีองค์ประกอบของโครงสร้างที่เป็นสารอินทรีย์อื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต ดังตารางที่ 4-1 เมื่อผ่านการปรับสภาพขั้นต้นแล้วเกิดการละลายไปอยู่ในรูปของเหลว ทำให้ค่าที่ได้การวิเคราะห์รวมของพืชน้ำไม่ครบ 100% และบางส่วนอาจถูกทำลายด้วยความร้อน สะสมจากคลื่นไมโครเวฟได้ จะเห็นได้ว่าทุกสภาวะการทดลองการใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถทำลาย โครงสร้าง ligocellulose ได้ ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาของวัสดุหมักแต่ละชนิด และ สอดคล้องกับ solubilization yield ที่เป็นผลการปรับสภาพขั้นต้นในส่วนของเหลว ซึ่งพบว่า ผักตบชวา มี solubilization yield ต่ำ เนื่องจากโครงสร้างหลักของผักตบชวาเป็นเซลลูโลส และเฮมิ เซลลูโลสที่ยังคงอยู่ในรูปของแข็ง และการปลดปล่อยองค์ประกอบที่สามารถอยู่ในรูปสารละลายต่ำ ตรงข้ามกับแทนที่โครงสร้างถูกทำลายอยู่ในรูปของสารละลายมากกว่าส่วนของแข็ง



รูปที่ 4-1 Solubilization yield ของวัสดุหมักหลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ
 ก) 330 W ข) 1,100 W

ตารางที่ 4-3 การวิเคราะห์เส้นใยวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลัง 330 W

Time (min)	EI (kJ/kgTS)	Lignin (%)	Cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Holocellulose (%)
แทน	0	23.4	16.0	24.0	40.0
2	13,200	15.4	23.1	22.0	45.1
4	26,400	11.7	24.5	23.2	47.7
8	52,800	24.4	12.3	20.7	33.0
ผักตบชวา	0	7.3	43.4	31.8	75.2
2	13,200	5.0	42.4	32.9	75.3
4	26,400	8.6	41.5	31.5	73.0
8	52,800	6.2	46.6	34.0	80.6
สาหร่ายหางกระรอก	0	9.4	27.3	19.8	47.1
2	13,200	10.7	30.7	14.1	44.8
4	26,400	14.6	30.8	13.2	44.0
8	52,800	16.1	28.2	12.0	40.2

4.3 ผลการทดลองที่ 2 การศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจน (Specific hydrogen production potential; SHP) และศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมัก (Biochemical hydrogen potential; BHP)

4.3.1 ผลการศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน (Heat shock) แบบ fast และ slow heat

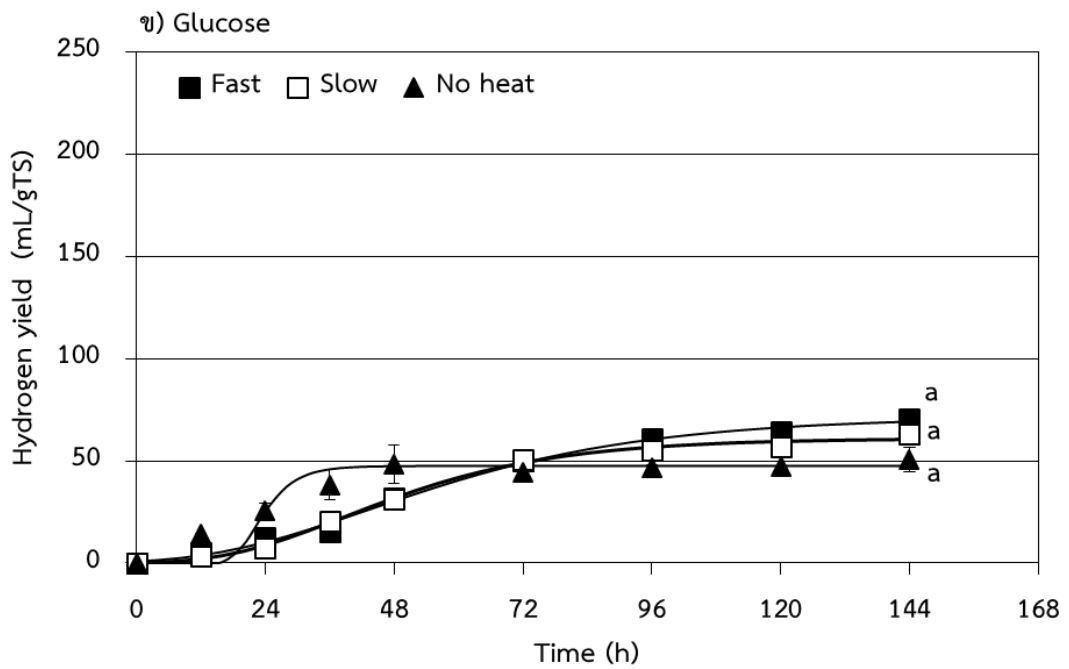
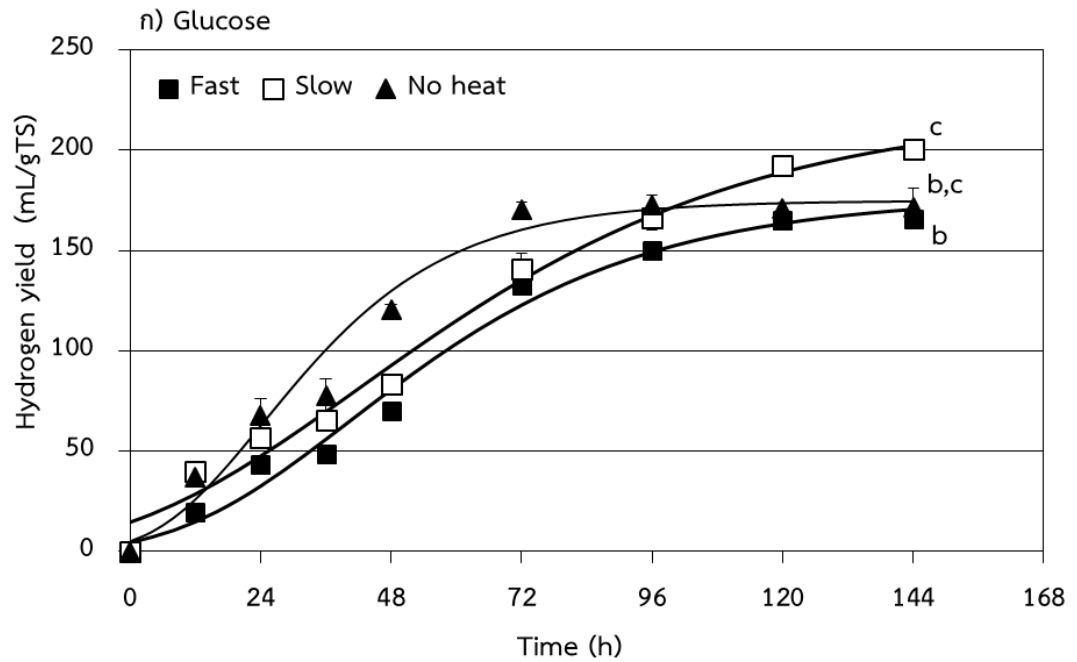
การปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยการลดหรือยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มใช้ไฮโดรเจนส่งผลให้สามารถผลิตไฮโดรเจนได้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น (Bundhoo et al., 2015) การปรับสภาพด้วยความร้อน หรือ heat shock เป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้กันอย่างมากในการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม mixed microflora เพื่อให้มีจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนกลุ่มสร้างสปอร์คงอยู่ในหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการศึกษาไฮโดรเจน และยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มใช้ไฮโดรเจนที่ทำให้ไฮโดรเจนลดลง จากผลการทดลองศึกษาความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังปรับสภาพด้วยความร้อน 2 แบบ ใช้กลูโคส และแป้ง เป็นสารตั้งต้น ทำการหมักที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C โดยกำหนดค่า pH เริ่มต้น 5.5 พบว่า จากผลการทดลองที่ 168 h ปริมาณไฮโดรเจนสะสมจากการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนแบบ fast และ slow สามารถเพิ่มประสิทธิภาพผลิตไฮโดรเจนได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่ปรับสภาพขั้นต้น (No heat) ดังรูปที่ 4-2 และ 4-3 จากผลการทดลองหมักกลูโคสที่ 35°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบ fast heat ไม่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับ no heat แต่ slow heat ประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น 20% ในขณะที่การหมัก

กลูโคสที่ 55°C fast และ slow heat สามารถเพิ่มประสิทธิภาพไฮโดรเจนได้สูงกว่า 35°C เท่ากับ 40 และ 26% เมื่อเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพด้วยความร้อนกับงานวิจัยอื่นพบว่ามีการเพิ่มขึ้นน้อยกว่ารายงานของ Yin et al. (2014) หมักกลูโคสด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับสภาพด้วยความร้อนที่ 100°C เป็นเวลา 15 นาที สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนได้ 99.8% และรายงานของ Liu et al. (2009) หมักกลูโคสด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับสภาพด้วยความร้อนที่ 100°C เป็นเวลา 30 นาที สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนได้ 105% โดยที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ แบบ fast และ slow ที่ 35°C จากการหมักกลูโคสมีปริมาณ hydrogen yield สูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 55°C มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 4-2 เนื่องจากการย่อยสลายกลูโคสไม่ต้องพึ่งพาปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จุลินทรีย์หลังผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนสามารถทำงานได้ในสภาวะอุณหภูมิ 35°C ซึ่งเหมาะสมมากกว่าที่ 55°C

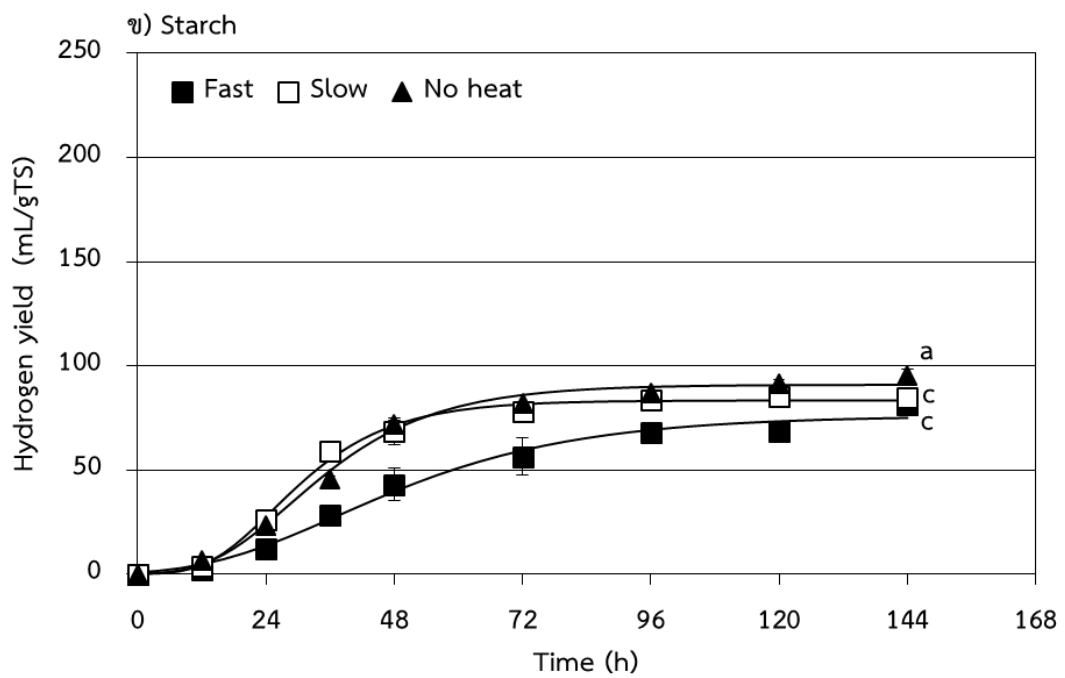
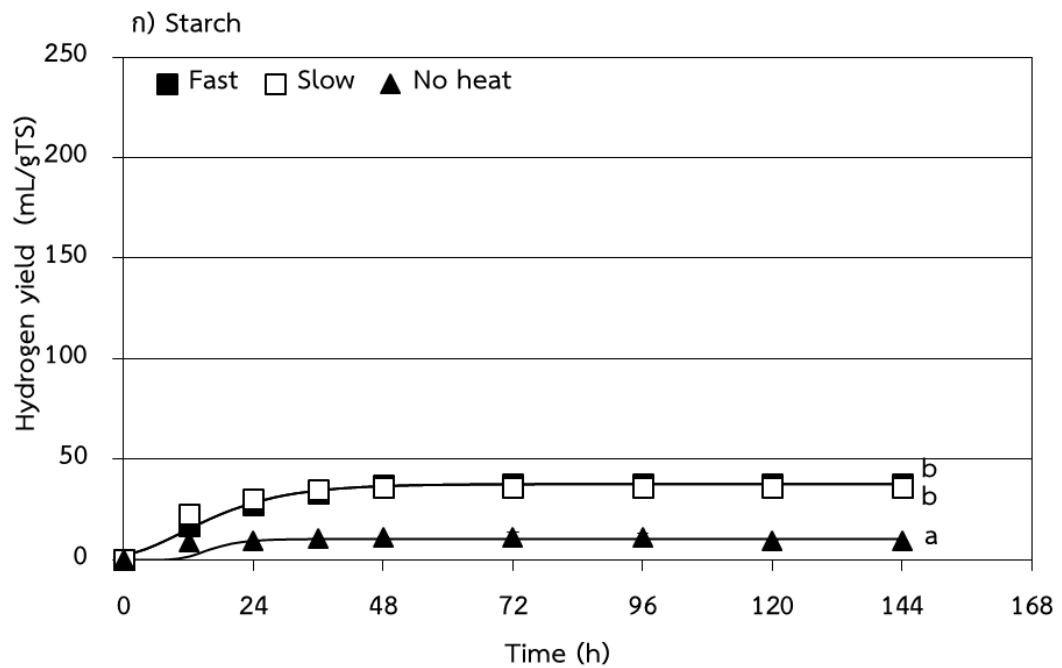
ผลการทดลอง hydrogen yield จากแบ่งที่อุณหภูมิ 35°C พบว่าประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อ fast และ slow heat เพิ่มขึ้น 283 และ 266% เมื่อเทียบกับ no heat เนื่องจากการหมักแบ่งที่อุณหภูมิ 35°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ no heat ไม่สามารถส่งเสริมการผลิตไฮโดรเจนได้เนื่องจากอุณหภูมิของการหมักไม่สามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ผลิตมีเทนได้ ปริมาณไฮโดรเจนจึงเกิดขึ้นน้อย สอดคล้องกับรายงานของ O-Thong et al. (2009) ที่พบว่าการใช้เพียงอุณหภูมิ 60°C pH 5.5 มีการเกิดมีเทนขึ้นทำให้ปริมาณไฮโดรเจนต่ำ เปรียบเทียบกับการหมักแบ่งที่อุณหภูมิ 55°C การปรับสภาพขั้นต้นแบบ fast และ slow heat ถึงแม้จะมีปริมาณ hydrogen yield ใกล้เคียงกับ no heat เนื่องจากอุณหภูมิการหมักที่สูง ส่งผลยับยั้งการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทนได้ แต่ยังคงมีมีเทนเกิดขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง ดังตารางภาคผนวก ก-11 แต่อย่างไรก็ตามการหมักแบ่งที่อุณหภูมิ 55°C ทำให้ผลการผลิต hydrogen yield สูงกว่า 35°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เพราะแบ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่โครงสร้างแข็งแรง การย่อยสลายในช่วงอุณหภูมิ 35°C จึงเกิดปฏิกิริยาได้น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 55°C ถึงแม้การหมักที่อุณหภูมิสูงจะมีข้อได้เปรียบในด้านอัตราการย่อยสลายที่สูงกว่าส่งผลให้สารอินทรีย์ถูกเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนมากกว่าที่ 35°C และหากมีปริมาณความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงมาก (organic loading) ทำให้เกิดความร้อนเพิ่มขึ้นจากการย่อยสลายก่อให้เกิดการส่งเสริมการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น แต่ถึงอย่างไรก็ตามการย่อยสลายในช่วงอุณหภูมิ Thermophilic ยังคงมีข้อด้อยในเรื่องความมีเสถียรภาพ (Yenigün & Demirel, 2013) การผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ fast และ slow เมื่อพิจารณาถึงภาพรวมความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมพบว่า slow เป็นวิธีที่ทำให้จุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถรับรู้ถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมที่ถูกปรับสภาพด้วยความร้อน ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถปรับตัวด้วยการสร้างสปอร์เพื่อป้องกันตัวเองจากสภาวะอุณหภูมิสูง แตกต่างจากแบบ fast ที่ให้ความร้อนแก่จุลินทรีย์ทันทีที่ 100°C จุลินทรีย์ไม่สามารถปรับตัวได้ทันทีในสภาวะอุณหภูมิสูงจึงไม่อาจสร้างสปอร์เพื่อป้องกันและอาจถูกทำลายด้วยความร้อนได้ (Cheong & Hansen, 2008)

จากการปรับสภาพขั้นต้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน เพื่อศึกษาความสามารถในการทำงานของจุลินทรีย์เพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยใช้กลูโคสเป็นตัวแทนของกระบวนการขึ้น

acidogenesis ใน anaerobic digestion การปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ แบบ slow จุลินทรีย์ยังคงสามารถทำงานได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิ 35°C ในขณะที่อุณหภูมิ 55°C ก็ยังคงมีความเหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากแป้งเช่นกัน ซึ่งแป้งเป็นสารอินทรีย์ที่ต้องการกระบวนการย่อยสลายและเป็นตัวแทนของกระบวนการขั้น hydrolysis ที่มีความใกล้เคียงกับวัสดุหมักที่จะใช้ในการศึกษาการทดลองในขั้นถัดไป จึงได้คัดเลือกสภาวะการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบ slow ทำการหมักที่อุณหภูมิ 55°C เพื่อเป็นสภาวะเงื่อนไขที่จะใช้ทำการทดลองถัดไป สำหรับการย่อยสลายในช่วงอุณหภูมิ 55°C ถึงแม้มีอัตราการย่อยสลายดีอันเนื่องมาจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่เร็วแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการผลิตที่สูงซึ่งได้เปรียบกว่า 35°C (Mao et al., 2015)



รูปที่ 4-2 Hydrogen yield ของจากการหมักกลูโคสด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast, Slow และ No heat
 ก) 35°C ข) 55°C โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ



รูปที่ 4-3 Hydrogen yield ของจากการหมักแป้งด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast, Slow และ No heat
 ก) 35°C ข) 55°C โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ

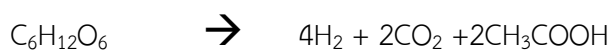
4.3.2 การศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจาก แหน ผักตบชวา สำหรับทางกระรอก และสำหรับขนาดเล็ก หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W

การผลิตไฮโดรเจนจากพีชน้ำ ได้แก่ แหน ผักตบชวา สำหรับทางกระรอก ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นเป็นระยะเวลา 168 h ได้ประสิทธิภาพผลไฮโดรเจนเท่ากับ 5.6, 2.4 และ 15.8 mL/gTS จากผลการทดลองได้ประสิทธิภาพผลไฮโดรเจนต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ O-Thong et al. (2011) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากแป้งมันสำปะหลังด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์จากบ่อน้ำพุร้อนได้ประสิทธิภาพผลไฮโดรเจน เท่ากับ 124.9 mL H₂/g starch ในขณะที่สำหรับขนาดเล็ก เท่ากับ 15.3 mL/gTS เมื่อเปรียบเทียบกับผลไฮโดรเจนจากสำหรับขนาดเล็กกับงานวิจัยอื่นพบว่าผลการทดลองที่ได้สูงกว่ารายงานของ Sun et al. (2011) ผลิตไฮโดรเจนจากสำหรับขนาดเล็กแบบไร้อากาศได้ประสิทธิภาพผลไฮโดรเจน เท่ากับ 7.13 mL/gVS แต่ต่ำกว่ารายงานของ Yun et al. (2012) ผลิตไฮโดรเจนจากสำหรับขนาดเล็กได้ประสิทธิภาพผลไฮโดรเจน เท่ากับ 31.2 mL/gTS และ

เมื่อทำการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ค่า EI แตกต่างกันของวัสดุหมัก 4 ชนิด สามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนของผักตบชวา สำหรับทางกระรอก และสำหรับขนาดเล็กเปรียบเทียบกับที่ไม่ปรับสภาพขั้นต้น เท่ากับ 26.7, 24.5 และ 69.6% แสดงถึงคลื่นไมโครเวฟมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายส่งผลให้การผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น ในขณะที่แหนไม่เห็นความแตกต่างจากการปรับสภาพขั้นต้น เมื่อพิจารณาถึงสำหรับขนาดเล็กที่มีศักยภาพในการผลิตไฮโดรเจนสูงที่สุด เท่ากับ 26.0 mL/gTS จากการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ระดับ EI เท่ากับ 13,200 kJ/kgTS ส่วนสำหรับทางกระรอกได้ผลการผลิตไฮโดรเจนรองลงมา เท่ากับ 1.17 mL/gTS ที่ระดับ EI เท่ากับ 26,400 kJ/kgTS ดังตารางที่ 4-4 สำหรับสำหรับขนาดเล็กนั้นเมื่อปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟถึงแม้จะมี solubilization yield ต่ำที่สุด แต่กลับสามารถผลิตไฮโดรเจนได้สูงที่สุด เนื่องจากลักษณะของโครงสร้างที่เป็นโปรตีน และไม่มีลิกนินที่เป็นข้อจำกัดในการย่อยสลายแบบไร้อากาศ ส่งผลให้โครงสร้างของสำหรับขนาดเล็กสามารถเกิดการย่อยสลายเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนได้มาก และสอดคล้องกับผลการประเมิน COD_{th} ที่พบว่าสำหรับขนาดเล็กมีปริมาณ COD_{th} มากกว่าพีชน้ำทั้ง 3 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับ แหน ที่มี solubilization yield สูง แต่การนำมาหมักผลิตไฮโดรเจนกลับพบว่าปริมาณไฮโดรเจนต่ำ อาจเพราะโครงสร้างของแหนยังคงมีลิกนินทำให้ยากต่อกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ถึงแม้จะมีปริมาณเซลล์ulos ที่เกิดขึ้นหลังการปรับสภาพขั้นต้นคลื่นไมโครเวฟแต่โครงสร้างที่อยู่ในรูปของแข็งไม่สามารถย่อยสลายได้ทั้งหมดจึงยังคงเหลืออยู่ซึ่งไม่สามารถถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนได้ แต่สำหรับองค์ประกอบที่อยู่ในรูปของเหลวที่มาก ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายและผลิตเป็นไฮโดรเจนได้ต่ำ เนื่องจากถูกเปลี่ยนไปผลิตเป็นกรดอินทรีย์มากแทนการเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจน ดังรูปที่ 4-5 เมื่อเทียบกับสำหรับขนาดเล็กแล้วถึงแม้จะได้รับผลจากคลื่นไมโครเวฟน้อย จุลินทรีย์ก็ยังคงสามารถย่อยสลายได้ดีจากโครงสร้างที่ไม่มีลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส เมื่อพิจารณาจากการผลิตไฮโดรเจนของวัสดุหมักทุกชนิด จากผลของการใช้พลังงานในการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟจากแหน, ผักตบชวา, สำหรับขนาดเล็กชี้ให้เห็นถึงการผลิตไฮโดรเจนไม่ได้เพิ่มขึ้นตามค่าการใช้พลังงานที่มากขึ้น ดังรูปที่ 4-4 เมื่อระดับ

ตั้งแต่ 26,400 kJ/gTS พบว่าปริมาณไฮโดรเจนนั้นลดลง แสดงถึงความเหมาะสมของการปรับสภาพ ขึ้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ จะได้ผลดีในช่วงค่า EI หนึ่งๆเท่านั้น

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายสะสมตลอดการทดลอง 168 h การผลิตไฮโดรเจนแบบไร้อากาศจะเกิดกรดอะซิติก และกรดบิวทริก ดังสมการที่ (2) และ (3) จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดอะซิติกเป็นกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นมากกว่ากรดบิวทริก ดังรูปที่ 4-5 จากผลการผลิตไฮโดรเจนพบว่า ผักตบชวามีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด รองลงมาได้แก่ แหน สำหรับยทางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณกรดอะซิติกน้อยที่สุด เนื่องจากผักตบชวามีโครงสร้างที่ประกอบด้วยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสมาก เมื่อเกิดย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาล hexose กลุ่มจุลินทรีย์ homoacetogenes สามารถเปลี่ยนน้ำตาล hexose ไปเป็นกรดอะซิติก และเฮมิเซลลูโลสยังสามารถถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้เช่นกัน (Hawkes et al., 2007; Kim et al., 2006) ดังสมการ

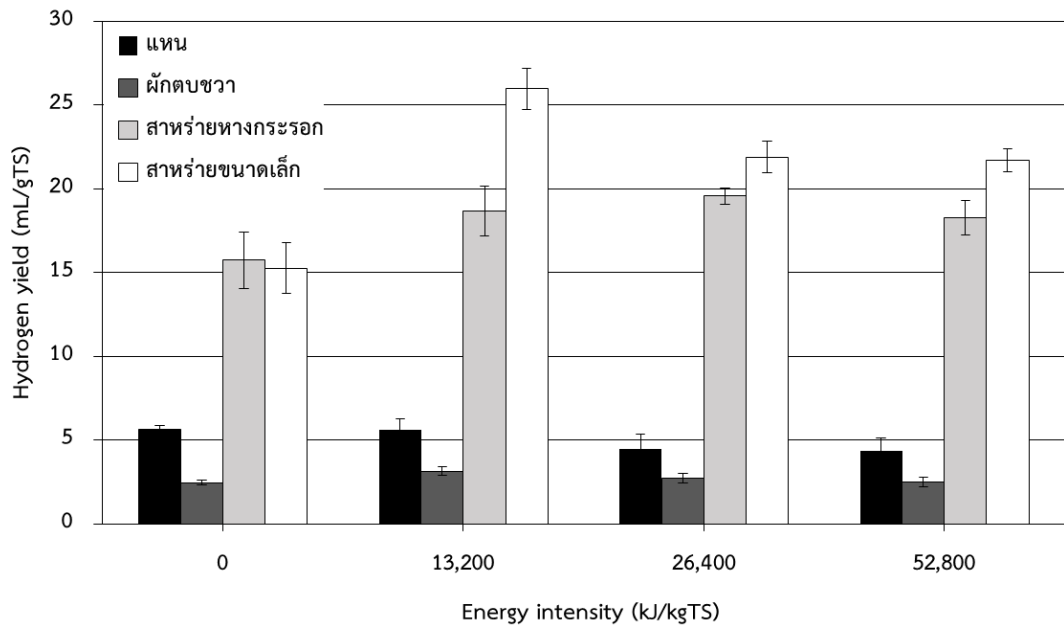


ตรงข้ามกับสาหร่ายขนาดเล็กที่ไม่มีเฮมิเซลลูโลส จึงถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้น้อยกว่าส่งผลให้ได้ประสิทธิภาพดีกว่าผักตบชวา และแหน นอกจากนี้ homoacetogenes ยังส่งผลให้เกิดการผลิตไฮโดรเจนได้น้อยโดยการเปลี่ยน H_2 และ CO_2 เพื่อผลิตเป็นกรดอะซิติก ดังสมการ

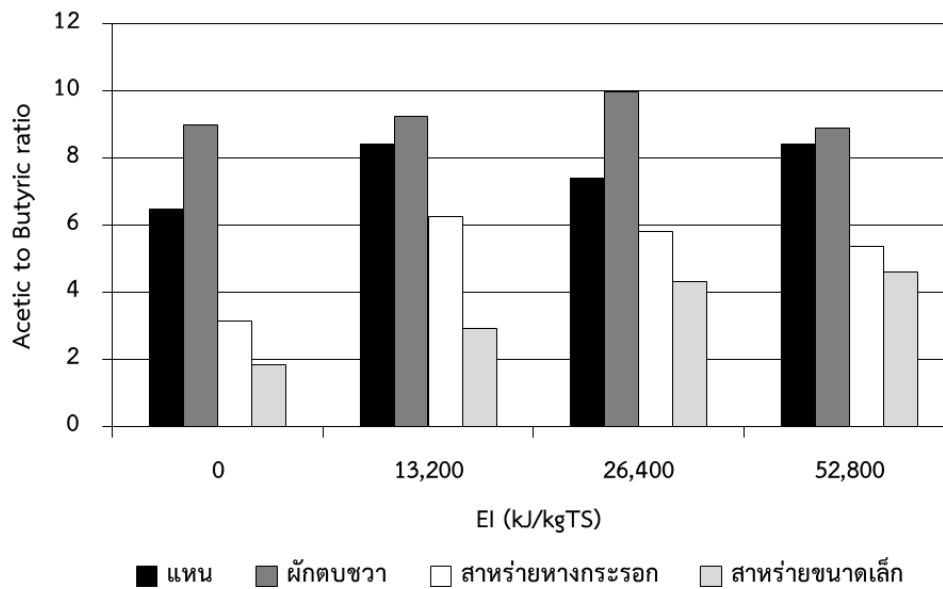


กระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่มีกรดอะซิติกสะสมปริมาณมากไม่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพผลไฮโดรเจนที่สูงได้เสมอไป (Guo et al., 2014) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pendyala et al. (2012) และ Oh et al. (2003) พบว่าการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนไม่สามารถยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ homoacetogenes ที่อยู่ในสถานะสร้างสปอร์ได้อย่างสมบูรณ์ จึงทำให้ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นถูกกลุ่มจุลินทรีย์ homoacetogenes เปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติก

จากผลการทดลองศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจากพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็ก ได้นำข้อมูลไปวิเคราะห์ด้วยสมการ Gompertz ดังสมการ 3-4 เพื่อประเมินค่าจากการทดลอง และค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากสมการ ดังตาราง 4-4 พบว่าข้อมูลจากการทดลองมีความใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วยสมการที่มีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.87 - 0.99 ซึ่งสามารถยอมรับผลการทำนายของสมการที่มีค่าใกล้เคียงผลจากการทดลอง



รูปที่ 4-4 ปริมาณไฮโดรเจนสะสมชั่วโมงที่ 168 ของวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI ต่างๆ



รูปที่ 4-5 สัดส่วน Acetic ต่อ Butyric สะสมชั่วโมงที่ 168 จากการผลิต H₂ ของวัสดุหมักหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI ต่างๆ

ตารางที่ 4-4 ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน, อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด และระยะเวลา Lag phase จากการผลิต H₂ ของวัสดุหมักด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่ระยะเวลา 168 h

Microwave time (min)	EI (kJ/kgTS)	H (mL)	R _m (mL/h)	λ (h)	R ²	H ₂ yield (mL/gTS)
ແຫນ						
0	0	5.7	0.0	0	0.93	5.6 ^a
2	13,200	4.6	0.1	1.0	0.98	5.6 ^a
4	26,400	4.0	0.0	0	0.87	4.5 ^a
8	52,800	3.9	0.0	0	0.9	4.4 ^a
ຝັກຕບຊາວາ						
0	0	1.7	1.0	1.0	0.71	2.4 ^a
2	13,200	1.9	1.0	1.0	0.49	3.1 ^b
4	26,400	2.2	0.5	1.4	0.94	2.7 ^{a,b}
8	52,800	1.7	1.0	1.0	0.63	2.5 ^a
ສາຮ່າຍຫາງກະຮອກ						
0	0	11.0	0.8	11.2	0.90	15.8 ^a
2	13,200	15.7	0.4	0	0.93	18.7 ^{a,b}
4	26,400	17.1	0.3	2.0	0.97	19.6 ^b
8	52,800	15.4	0.4	2.4	0.99	18.3 ^{a,b}
ສາຮ່າຍຂາດເລີກ						
0	0	13.1	0.2	5.7	0.97	15.3 ^a
2	13,200	22.7	0.4	12	0.99	26.0 ^b
4	26,400	20.3	0.2	4.7	0.99	21.9 ^b
8	52,800	19.1	0.2	0.1	0.99	21.7 ^b

ສາວາກທດລອງ ຕົ້ ອຸນຫຼຸມີ 55°C, pH 5.5

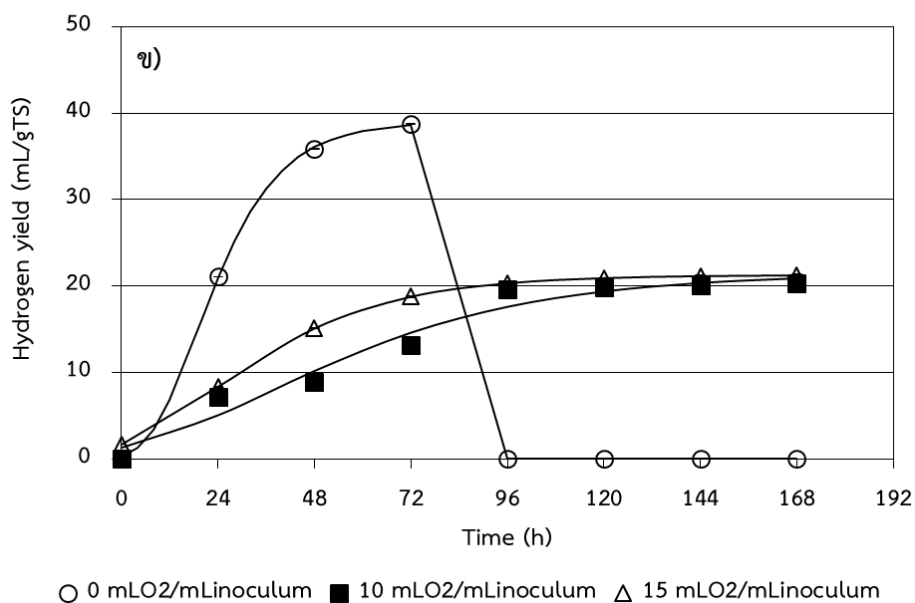
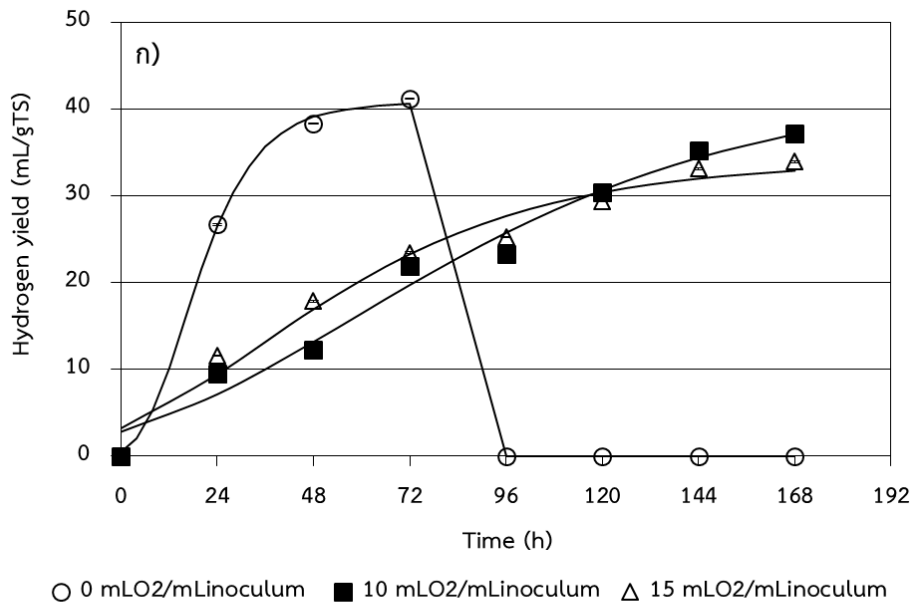
4.4 ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการเติมออกซิเจน (Micro oxygenation) ต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน

การผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ทำการหมักที่อุณหภูมิ 55°C ด้วยการเติมออกซิเจน 0, 10 และ 15 mL_{O₂}/mL_{inoculum} การทดลองเป็นระยะเวลา 168 h ดังรูป 4-6 พบว่าชุดการทดลอง 10, 15 mL_{O₂}/mL_{inoculum} สามารถดำเนินการผลิตไฮโดรเจนจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่เติมออกซิเจน (0 mL_{O₂}/mL_{inoculum}) สามารถดำเนินการผลิตไฮโดรเจนได้เพียง 72 h หลังจากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็นกระบวนการผลิตมีเทนแทนแสดงให้เห็นถึงการเติมออกซิเจนในปริมาณเล็กน้อยสามารถยับยั้งการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทนได้ เมื่อเปรียบเทียบผลไฮโดรเจนจากชุดการทดลองเติมออกซิเจน 10 และ 15 mL_{O₂}/mL_{inoculum} ได้ประสิทธิผลไฮโดรเจน เท่ากับ 2.3 และ 2.0 mL_{O₂}/mL_{inoculum} เมื่อเปรียบเทียบ hydrogen yield ด้วยวิธีการเติมออกซิเจน และการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อน การเติมออกซิเจนเกิดการผลิตไฮโดรเจนดีกว่าการปรับสภาพขั้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Zhu and Béland (2006), O-Thong et al. (2009) ที่พบว่าได้ประสิทธิผลไฮโดรเจนจากการปรับสภาพด้วยความร้อนต่ำกว่าการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีอื่น เนื่องจากเกิดผลยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนที่ไม่มีสปอร์ทำให้กระบวนการผลิตไฮโดรเจนหลักเกิดความไม่เสถียร

การทดลองไม่เติมออกซิเจน เมื่อสามารถดำเนินการทดลองจนถึง 72 h พบว่าการผลิตไฮโดรเจนมีปริมาณมากกว่าการเติมออกซิเจน เนื่องจากเงื่อนไขการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ ประกอบกับการหมักที่อุณหภูมิ 55°C ซึ่งเป็นปัจจัยที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน จึงไม่รบกวนการหมักสาหร่ายขนาดเล็กที่ยังคงดำเนินปฏิกิริยาหลักเป็นขั้น hydrolysis และ acidogenesis จึงเกิดไฮโดรเจนได้ดี หลังจาก 72 h กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทนสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมได้จึงสามารถใช้ก๊าซไฮโดรเจนเพื่อดำเนินการหมักเปลี่ยนเป็นการผลิตก๊าซมีเทนแทน

ชุดการทดลองเติมออกซิเจน 10 และ 15 mL_{O₂}/mL_{inoculum} พบว่า การเติมออกซิเจนเข้าไปโดยตรงนั้นทำให้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มาจากแหล่งผลิตในสภาวะไร้อากาศต้องเจอกับสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง ประกอบกับออกซิเจนสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย ทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ต้องปรับตัวให้ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง จนอาจทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ถูกทำลาย แต่กลุ่มที่สามารถสปอร์ยังคงทนอยู่ในสภาวะรุนแรงได้ จึงส่งผลให้การทำงานของจุลินทรีย์ในการผลิตไฮโดรเจนช่วงเริ่มต้นเกิดความไม่เสถียร จึงเห็นผลของการเติมออกซิเจนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนได้ไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจาก lag phase พบว่า การเติมออกซิเจนสามารถทำให้ lag phase สั้นลง ดังตารางที่ 4-5 และการเติมออกซิเจนก็สามารถยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ methanogens สังเกตได้จากการทดลองที่สามารถดำเนินการผลิตไฮโดรเจนจนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ 168 h ซึ่งการเติมออกซิเจนนั้นทำให้ปฏิกิริยา hydrolytic และ acidogenic ไม่ได้รับ

ผลกระทบในเชิงบวกหรือทางลบ แต่ในขณะที่ปฏิกิริยา methanogenic ได้รับผลกระทบทำให้ไม่สามารถเกิดมีเทน (Pedizzi et al., 2016)



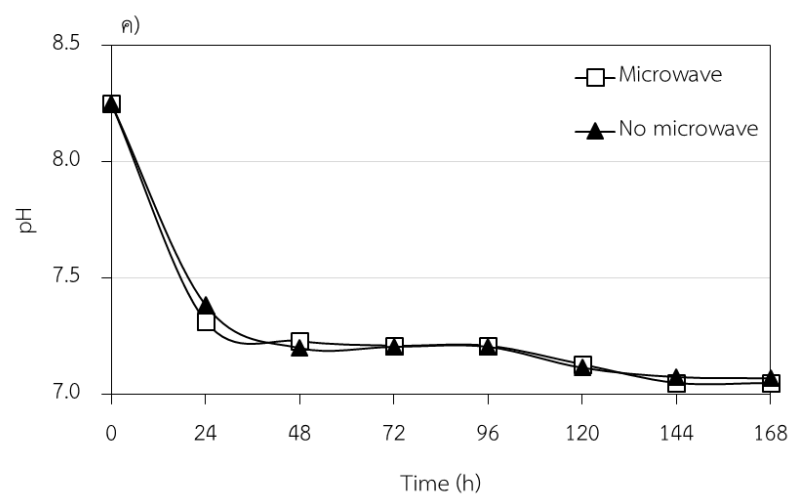
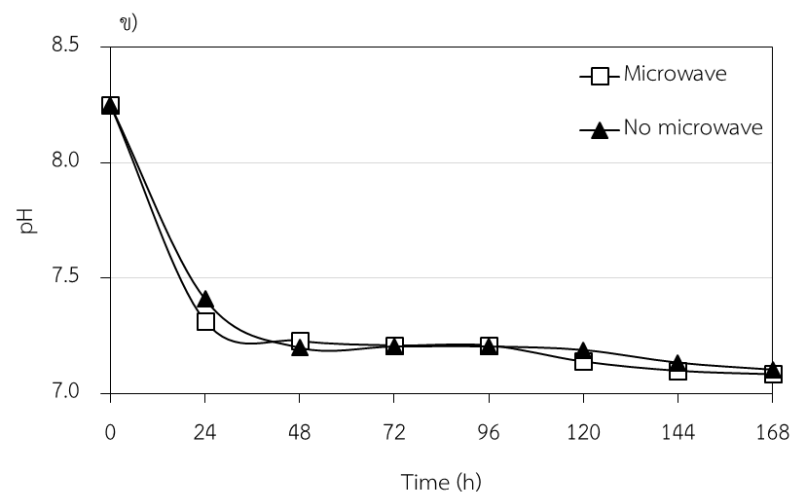
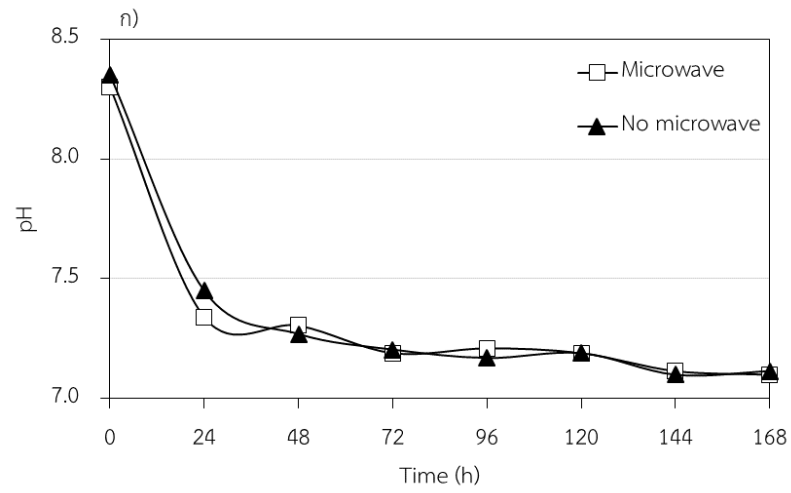
รูปที่ 4-6 ประสิทธิภาพไฮโดรเจนของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O₂/mLinoculum ก) ปรับสภาพขึ้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W ข) ไม่ผ่านการปรับสภาพขึ้นต้น โดยสัญลักษณ์ คือ ค่าจากการทดลอง และเส้นทึบ คือ ค่าทำนายจากสมการ

ตารางที่ 4-5 ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน, อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด และระยะเวลา Lag phase จากการผลิต H_2 ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมออกซิเจน ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

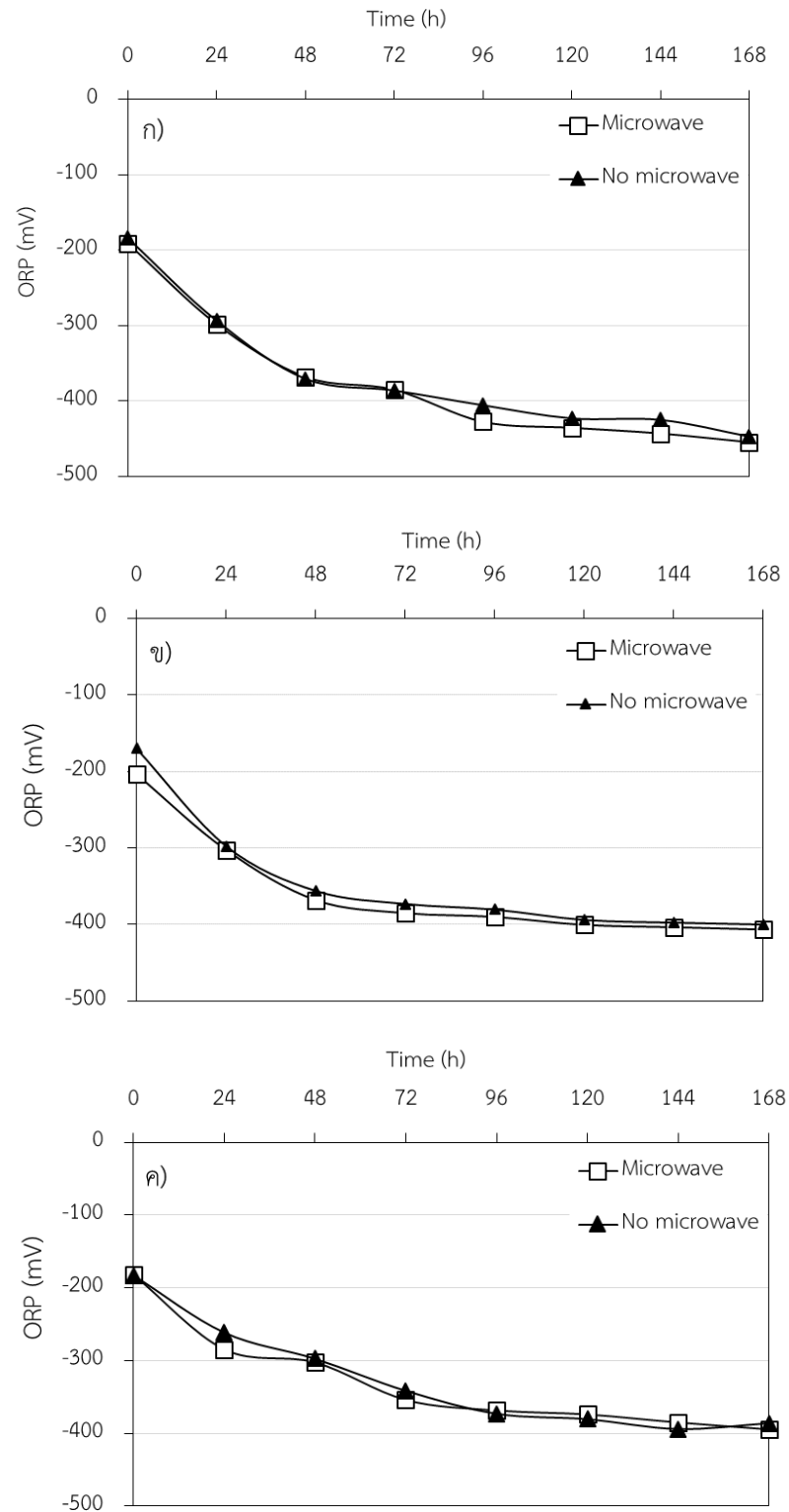
Parameter	O_2 dose ($mLO_2/mL_{inoculum}$)					
	0		10		15	
	Microwave	Raw	Microwave	Raw	Microwave	Raw
H (mL)	36.6	35.1	20.6	12.08	21.6	15.0
R_m (mL/h)	1.3	1.1	0.3	0.2	0.4	0.5
λ (h)	5.0	6.8	3.1	8.0	2.1	7.0
R^2	0.99	0.99	0.94	0.98	0.90	0.99

สภาวะการทดลอง คือ อุณหภูมิ $55^\circ C$, ไม่ปรับ pH,

ค่า pH เริ่มต้นจากการผลิตไฮโดรเจนด้วยวิธี micro oxygenation เท่ากับ 8.2 ทำการทดลองหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมออกซิเจนในปริมาณ 0, 10 และ 15 $mLO_2/mL_{inoculum}$ พบว่า เมื่อดำเนินการทดลองไปเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ค่า pH ลดลงทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 4-7 เนื่องจากโครงสร้างสาหร่ายขนาดเล็กถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วจากผลของการเติมออกซิเจน ส่งผลให้จุลินทรีย์กลุ่มไฮโดรไลซิส และกลุ่มสร้างกรดทำงานได้รวดเร็ว ก่อให้เกิดการสะสมของกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นจึงมีความเป็นกรดมากขึ้น ค่า pH จึงลดต่ำลง หลังจากนั้นค่า pH เปลี่ยนแปลงโดยลดลงเล็กน้อยจนกระทั่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองค่า pH อยู่ที่ประมาณ 7.1 ซึ่งไม่แตกต่างกันของแต่ละชุดการทดลอง ในขณะที่ค่า ORP จากการทดลองที่เติมออกซิเจน 0, 10 และ 15 $mLO_2/mL_{inoculum}$ ตอนเริ่มต้นมีค่าอยู่ในช่วง -180 ถึง -200 mV ดังรูปที่ 4-8 เมื่อดำเนินการหมักพบว่าชุดการทดลองเติมออกซิเจน 0 และ 10 $mLO_2/mL_{inoculum}$ มีค่า ORP ที่เป็นลบมากขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับเติมออกซิเจน 15 $mLO_2/mL_{inoculum}$ ที่ค่า ORP จะเป็นลบค่อนข้างช้า เนื่องจากในสภาวะไร้อากาศปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบรีดักชันซึ่งค่า ORP จะมีค่าเป็นลบ เป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถบ่งชี้ว่าปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ดำเนินอย่างต่อเนื่อง หลังจาก 72 ชั่วโมง ค่า ORP ของชุดเติมออกซิเจน 10 และ $mLO_2/mL_{inoculum}$ จะเริ่มคงที่ในช่วง -350 ถึง -400 mV จนสิ้นสุดการทดลอง แต่ชุดไม่เติมออกซิเจนค่า ORP ยังคงเป็นลบเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดเติมออกซิเจนอย่างต่อเนื่องแบบช้าๆจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองที่ค่า ORP ประมาณ -450 mV



รูปที่ 4-7 ค่า pH จากการผลิต H_2 ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ ก) 0 ข) 10 และ ค) 15 $mLO_2/mL_{inoculum}$



รูปที่ 4-8 ค่า ORP จากการผลิต H_2 ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ ก) 0 ข) 10 และ ค) 15 $mLO_2/mL_{inoculum}$

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

5.1.1 ศึกษาการปรับสภาพขั้นต้นของวัสดุหมัก (ແໜ, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก) ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment) ที่ระดับการให้พลังงาน (Energy intensity) และระยะเวลาต่างๆ

ผลการทดลองพบว่า ในทุกๆ การทำปฏิกิริยาด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ให้พลังงาน EI ต่างๆ คลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายโครงสร้าง Lignocellulose ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ละลายอยู่ในรูปของเหลว SCOD และการปรับสภาพขั้นต้นແໜ, ผักตบชวา และสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าที่ระดับการใช้พลังงานเท่ากับ 13,200 kJ/gTS มีประสิทธิผลการย่อยสลายดีที่สุด ในขณะที่สาหร่ายหางกระรอก เท่ากับ 26,400 kJ/gTS แต่เมื่อเพิ่มระดับการใช้พลังงานมากขึ้นประสิทธิผลการย่อยสลายกลับลดลงและคงที่ เนื่องจากคลื่นไมโครเวฟสามารถทำลายโครงสร้างพืชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กได้เพียงแค่ช่วงค่า EI ช่วงหนึ่งเท่านั้น

5.1.2 ศึกษากิจกรรมการทำงานการผลิตไฮโดรเจนของหัวเชื้อจุลินทรีย์หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อน (Heat shock) แบบ fast และ slow heat

จากการทดลองพบว่า การปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนโดยให้ความร้อนปานกลางก่อนแล้วค่อยเพิ่มความร้อนสูง (slow heat) สามารถส่งเสริมให้หัวเชื้อจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนได้ดีกว่าการใช้ความร้อนสูงทันที (fast heat) ซึ่งทั้ง slow และ fast heat ต่างก็สามารถผลิตไฮโดรเจนได้โดยไม่มี มีเทนเกิดขึ้น สำหรับการปรับสภาพหัวเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อนแบบ slow heat ที่อุณหภูมิ 35°C มีความเหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากกลูโคส และที่อุณหภูมิ 55°C เหมาะสมกับการผลิตไฮโดรเจนจากแป้ง

5.1.3 ศึกษาศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจาก แหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็กหลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330W และการเติมออกซิเจนปริมาณเล็กน้อย (Micro oxygenation) ต่อศักยภาพการผลิตไฮโดรเจน

ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายขนาดเล็กมีศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 26.0 mL/gTS ที่ระดับการใช้พลังงานเท่ากับ 13,200 kJ/gTS และการเติมออกซิเจนแบบ micro oxygenation ให้ผลกระทบเชิงบวกต่อประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพไฮโดรเจนมากขึ้น 47% และ 28% เมื่อเติมออกซิเจนที่ความเข้มข้นเท่ากับ 10 และ 15 mL O_2 /mL $_{inoculum}$ เปรียบเทียบกับวิธีการผลิตไฮโดรเจนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบ slow heat ร่วมกรด เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักแบบ micro oxygenation ค่า pH และ ORP จะลดลงเนื่องจากกระบวนการหมักเกิดปฏิกิริยาแบบไร้อากาศ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 วัสดุหมักพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราส่วน C/N ค่อนข้างต่ำก่อให้เกิดความไม่เสถียรในการผลิตก๊าซชีวภาพแบบไร้อากาศ จึงควรเพิ่มอัตราส่วน C/N ด้วยวิธีการหมักร่วม (Co-digestion) สำหรับการปรับสภาพขั้นต้นพีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นของแข็งด้วยคลื่นไมโครเวฟเพียงอย่างเดียวได้ประสิทธิผลค่อนข้างต่ำ เนื่องจากโครงสร้างของพีชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็กถูกทำลายได้น้อย จึงควรเพิ่มวิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับกรด หรือต่าง เพื่อให้โครงสร้างของพีชน้ำและสาหร่ายขนาดเล็กถูกทำลายได้มากขึ้นเพิ่มการปลดปล่อยองค์ประกอบภายในเซลล์ส่งผลให้ผลิตไฮโดรเจนได้ดียิ่งขึ้น รวมถึงการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการถูกทำลายของเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส และองค์ประกอบของผลพลอยได้ (by-product) ที่อาจเกิดขึ้นหลังการปรับสภาพขั้นต้นซึ่งอาจเกิดเป็นสารยับยั้งได้

5.2.2 การเลือกใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์จากโรงงานน้ำอย่างชันเพียงแหล่งเดียว อาจได้กลุ่มเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนจากวัสดุหมักที่เป็นของแข็ง เช่น พีชน้ำ และสาหร่ายขนาดเล็กได้น้อย จึงควรเพิ่มการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งอื่น หรือใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมหลายแหล่ง มาทดลองเปรียบเทียบกันเพื่อประโยชน์ในการผลิตไฮโดรเจนให้มีประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้น

5.2.3 การศึกษาผลการเติมออกซิเจนในการผลิตไฮโดรเจน ควรศึกษาเปรียบเทียบระหว่างมีและไม่มีควบคุม pH เพื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลการทดลองผลิตไฮโดรเจนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์แบบ slow heat ที่มีการควบคุม pH ทำให้ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจนได้ดียิ่งขึ้น

อ้างอิง

- กรมโยธาธิการและผังเมือง. 2559. สถานการณ์ผักตบชวาในปัจจุบัน. (ออนไลน์). แหล่งที่มา http://subsites.dpt.go.th/ptw/images/pdf/download_process.pdf. (15/9/2559)
- เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. แพลงก์ตอนพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- วิลาส รัตนานุกูล. 2014. แหน (Duckweed). (ออนไลน์). แหล่งที่มา <http://biology.ipst.ac.th/?p=880>. (19/3/58)
- Abdel-Shafy, H., R. Farid, M., M. Shams El-Din, A. 2015. Water-Hyacinth From Nile River: Chemical Contents, Nutrient Elements and Heavy Metals.
- Appenroth, K.-J., Sree, K.S., Böhm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M., Jahreis, G. 2017. Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry*, 217, 266-273.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J. 2009. Defining the Biomethane Potential (BMP) of Solid Organic Wastes and Energy Crops: A Proposed Protocol for Batch Assays.
- APHA, AWWA, WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of water and Wastewater. American Public Health Association, Washinton, D.C.
- Batista, A.P., Moura, P., Marques, P.A.S.S., Ortigueira, J., Alves, L., Gouveia, L. 2014. *Scenedesmus obliquus* as feedstock for biohydrogen production by *Enterobacter aerogenes* and *Clostridium butyricum*. *Fuel*, 117, Part A, 537-543.
- Baghchehsaraee, B., Nakhla, G., Karamanev, D., Margaritis, A., Reid, G. 2008. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(15), 4064-4073.
- Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, K.U., Sukumaran, R.K., Pandey, A. 2012. Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse. *Renewable Energy*, 37(1), 109-116.
- Bundhoo, M.A.Z., Mohee, R., Hassan, M.A. 2015. Effects of pre-treatment technologies on dark fermentative biohydrogen production: A review. *Journal of Environmental Management*, 157, 20-48.

- Chang, H.N., Kim, M.J., Kang, J., Jeong, C.M. 2010. Biomass-derived Volatile Fatty Acid Platform for Fuels and Chemicals. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15, 1-10.
- Chang, S., Li, J.-Z., Liu, F. 2011. Evaluation of different pretreatment methods for preparing hydrogen-producing seed inocula from waste activated sludge. *Renewable Energy*, 36(5), 1517-1522.
- Cheng, J.J., Stomp, A.-M. 2009. Growing duckweed to recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 37(1), 17–26.
- Cheong, D.-Y., Hansen, C.L. 2008. Effect of feeding strategy on the stability of anaerobic sequencing batch reactor responses to organic loading conditions. *Bioresource Technology*, 99(11), 5058-5068.
- Chong, M.-L., Sabaratnam, V., Shirai, Y., Hassan, M.A. 2009. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(8), 3277-3287.
- Chu, F.-F., Chu, P.-N., Cai, P.-J., Li, W.-W., Lam, P.K.S., Zeng, R.J. 2013. Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technology*, 134, 341-346.
- Deublein, D., Steinhauser, A. 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources. An Introduction*, 443.
- Devlin, D.C., Esteves, S.R.R., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J. 2011. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 102(5), 4076-4082.
- De Vrieze, J., Raport, L., Willems, B., Verbrugge, S., Volcke, E., Meers, E., Angenent, L.T., Boon, N. 2015. Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates. *Microbial Biotechnology*, 8(5), 776-786.
- Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S., Longlong, M. 2010. Evaluation of pretreatment methods on harvesting hydrogen producing seeds from anaerobic digested organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(15), 8234-8240.
- Elbeshbishy, E., Hafez, H., Nakhla, G. 2010. Enhancement of biohydrogen producing using ultrasonication. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(12), 6184-6193.
- Gerde, J.A., Montalbo-Lomboy, M., Yao, L., Grewell, D., Wang, T. 2012. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresource Technology*, 125, 175-181.

- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P.N.L., Esposito, G. 2015. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. *Applied Energy*, 144, 73-95.
- Guo, X.M., Trably, E., Latrille, E., Carrère, H., Steyer, J.-P. 2010. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10660-10673.
- Goering, H., and Van Soest, P. J. (1970). *Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Application)*. Agricultural Handbook, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture.
- Hallenbeck, P.C., Ghosh, D. 2009. Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward? *Trends in Biotechnology*, 27(5), 287-297.
- Hu, Z., Chen, Z., Li, G., Chen, X., Hu, M., Laghari, M., Wang, X., Guo, D. 2015. Characteristics and kinetic studies of *Hydrilla verticillata* pyrolysis via thermogravimetric analysis. *Bioresource Technology*, 194, 364-372.
- Jones, R.J., Massanet-Nicolau, J., Mulder, M.J.J., Premier, G., Dinsdale, R., Guwy, A. 2017. Increased biohydrogen yields, volatile fatty acid production and substrate utilisation rates via the electro dialysis of a continually fed sucrose fermenter. *Bioresource Technology*, 229(Supplement C), 46-52.
- Kanabkaew, T. and Puetpaiboon, U. (2004). Aquatic plants for domestic wastewater treatment: Lotus (*Nelumbo nucifera*) and *Hydrilla* (*Hydrilla verticillata*) systems. *Songklanakarin. J. Sci. and Tech.* 26(5): 749-756.
- Khan, M.A., Ngo, H.H., Guo, W.S., Liu, Y., Nghiem, L.D., Hai, F.I., Deng, L.J., Wang, J., Wu, Y. 2016. Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, **219**, 738-748.
- Lawal, A., Dzivama, A.U., Wasinda, M.K. 2016. Effect of inoculum to substrate ratio on biogas production of sheep paunch manure.
- Lee, K., Chantrasakdakul, P., Kim, D., Kong, M., Park, K.Y. 2014. Ultrasound pretreatment of filamentous algal biomass for enhanced biogas production. *Waste Management*, 34(6), 1035-1040.
- Li, D., Jiao, C., He, W., Yan, Z., Yuan, Y., Li, Z., Guo, Y., Liu, X. 2016. Comparison of micro-aerobic and anaerobic fermentative hydrogen production from corn straw. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(12), 5456-5464.

- Li, Y., Feng, L., Zhang, R., He, Y., Liu, X., Xiao, X., Ma, X., Chen, C., Liu, G. 2013. Influence of Inoculum Source and Pre-incubation on Bio-Methane Potential of Chicken Manure and Corn Stover.
- Liu, I.C., Whang, L.-M., Ren, W.-J., Lin, P.-Y. 2011. The effect of pH on the production of biohydrogen by clostridia: Thermodynamic and metabolic considerations. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(1), 439-449.
- Lo, Y.-C., Chen, C.-Y., Lee, C.-M., Chang, J.-S. 2010. Sequential dark-photo fermentation and autotrophic microalgal growth for high-yield and CO₂-free biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(20), 10944-10953.
- Marsolek, M.D., Kendall, E., Thompson, P.L., Shuman, T.R. 2014. Thermal pretreatment of algae for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 151(0), 373-377.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., Ren, G. 2015. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540-555.
- Mohammadi, P., Ibrahim, S., Mohamad Annuar, M.S., Law, S. 2011. Effects of different pretreatment methods on anaerobic mixed microflora for hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent. *Journal of Cleaner Production*, 19(14), 1654-1658.
- Mussnug, J.H., Klassen, V., Schlüter, A., Kruse, O. 2010. Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 150(1), 51-56.
- Nallathambi Gunaseelan, V. 1997. Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review. *Biomass and Bioenergy*, 13(1-2), 83-114.
- O-Thong, S., Hniman, A., Prasertsan, P., Imai, T. 2011. Biohydrogen production from cassava starch processing wastewater by thermophilic mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(5), 3409-3416.
- O-Thong, S., Prasertsan, P., Birkeland, N.-K. 2009. Evaluation of methods for preparing hydrogen-producing seed inocula under thermophilic condition by process performance and microbial community analysis. *Bioresource Technology*, 100(2), 909-918.
- Park, K.Y., Kweon, J., Chantrasakdakul, P., Lee, K., Cha, H.Y. 2013. Anaerobic digestion of microalgal biomass with ultrasonic disintegration. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85(0), 598-602.

- Passos, F., Solé, M., García, J., Ferrer, I. 2013. Biogas production from microalgae grown in wastewater: Effect of microwave pretreatment. *Applied Energy*, 108(Supplement C), 168-175.
- Passos, F., Hernández-Mariné, M., García, J., Ferrer, I. 2014. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. *Water Research*, 49, 351-359.
- Pedizzi, C., Rigueiro, L., Rodriguez-Verde, I., Lema, J.M., Carballa, M. 2016. Effect of oxygen on the microbial activities of thermophilic anaerobic biomass. *Bioresource Technology*, 211, 765-768.
- Prajapati, S.K., Malik, A., Vijay, V.K. 2014. Comparative evaluation of biomass production and bioenergy generation potential of *Chlorella* spp. through anaerobic digestion. *Applied Energy*, 114(0), 790-797.
- Rodhe, H. 1990. A comparison of the contribution of various gases to the greenhouse effect. *Science*. 248:1217-1219.
- Ren, N., Cao, G., Wang, A., Lee, D.-J., Guo, W., Zhu, Y. 2008. Dark fermentation of xylose and glucose mix using isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(21), 6124-6132.
- Plangklang, P., Reungsang, A., Pattra, S. 2012. Enhanced bio-hydrogen production from sugarcane juice by immobilized *Clostridium butyricum* on sugarcane bagasse. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(20), 15525-15532.
- Raposo, F., Banks, C.J., Siegert, I., Heaven, S., Borja, R. 2006. Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41(6), 1444-1450.
- Sambusiti, C., Bellucci, M., Zabaniotou, A., Beneduce, L., Monlau, F. 2015. Algae as promising feedstocks for fermentative biohydrogen production according to a biorefinery approach: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 20-36.
- Santos, M.d.O.d., Martins, M.A., Coimbra, J.S.d.R., Gates, R.S., Corrêdo, L.d.P. 2013. Rheological behavior of *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. cultures in different biomass concentrations. *Engenharia Agrícola*, 33, 1063-1071.
- Saritpongteeraka, K., Boonsawang, P., Sung, S., Chaiprapat, S. 2014. Co-fermentation of oil palm lignocellulosic residue with pig manure in anaerobic leach bed reactor for fatty acid production. *Energy Conversion and Management*, 84, 354-362.

- Sawatdeenarunat, C., Sung, S., Khanal, S.K. 2017. Enhanced volatile fatty acids production during anaerobic digestion of lignocellulosic biomass via micro-oxygenation. *Bioresource Technology*, 237, 139-145.
- Singh, L., Wahid, Z.A. 2015. Methods for enhancing bio-hydrogen production from biological process: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, 70-80.
- Soontornchaiboon, W., Pawongrat, R. 2012. Microwave-assisted alkali pretreatment of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) and its enzymatic hydrolysis for reducing sugar production. *Sakon nakhon graduate studies*, 10(45), 173-148.
- Taherdanak, M., Zilouei, H. 2014. Improving biogas production from wheat plant using alkaline pretreatment. *Fuel*, 115(0), 714-719.
- Tripathi, B.D., Upadhy, A.R. 2003. Dairy effluent polishing by aquatic macrophytes. *Water, Air, and Soil Pollution*, 143(1-4), 377-385.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, And Nonstarch Polysaccharides In Relation To Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- Vivekanand, V., Olsen, E.F., Eijsink, V.G.H., Horn, S.J. 2013. Effect of different steam explosion conditions on methane potential and enzymatic saccharification of birch. *Bioresource Technology*, 127, 343-349.
- Wang, J., Wan, W. 2008. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(12), 2934-2941.
- Wheatley, A.D. 1997. Applications of Anaerobic Digestion for the Treatment of Industrial Wastewaters in Europe. *Water and Environment Journal*, 11(1), 39-46.
- Won, S.G., Baldwin, S.A., Lau, A.K., Rezadehbashi, M. 2013. Optimal operational conditions for biohydrogen production from sugar refinery wastewater in an ASBR. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(32), 13895-13906.
- Xia, A., Cheng, J., Ding, L., Lin, R., Song, W., Zhou, J., Cen, K. 2014. Enhancement of energy production efficiency from mixed biomass of *Chlorella pyrenoidosa* and cassava starch through combined hydrogen fermentation and methanogenesis. *Applied Energy*, 120, 23-30.
- Yin, Y., Hu, J., Wang, J. 2014. Enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge by different pretreatment methods. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(25), 13550-13556.

- Yeniğün, O., Demirel, B. 2013. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*, 48(5–6), 901-911.
- Zhang, C., Li, J., Liu, C., Liu, X., Wang, J., Li, S., Fan, G., Zhang, L. 2013. Alkaline pretreatment for enhancement of biogas production from banana stem and swine manure by anaerobic codigestion. *Bioresource Technology*, 149(0), 353-358.
- Zhao, Z., Shi, H., Liu, Y., Zhao, H., Su, H., Wang, M., Zhao, Y. 2014a. The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. *Bioresource Technology*, 167(0), 383-389.
- Zhao, Y., Fang, Y., Jin, Y., Huang, J., Bao, S., Fu, T., He, Z., Wang, F., Zhao, H. 2014b. Potential of duckweed in the conversion of wastewater nutrients to valuable biomass: A pilot-scale comparison with water hyacinth. *Bioresource Technology*, 163(0), 82-91.
- Zhao, B.-H., Chen, J., Yu, H.-Q., Hu, Z.-H., Yue, Z.-B., Li, J. 2017. Optimization of microwave pretreatment of lignocellulosic waste for enhancing methane production: Hyacinth as an example. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 11(6), 17.
- Zhu, H., Béland, M. 2006. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(14), 1980-1988.
- Zverlov, V.V., Hieg, W., Kock, D.E., Kellermann, J., Kollmeier, T., Schwarz, W.H. 2010. Hydrolytic bacteria in mesophilic and thermophilic degradation of plant biomass. *Engineering in Life Sciences*, 10(6), 528–536.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบจากการทดลอง

ตารางภาคผนวก ก-1 ค่า SCOD ของแหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก
หลังการปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W และ 1,100 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

EI (kJ/kgTS)	samples	แหน ^a	ผักตบชวา ^a	สาหร่ายหาง กระรอก ^a	สาหร่าย ขนาดเล็ก ^a	ผักตบชวา ^b	สาหร่าย ขนาดเล็ก ^b
0	1	11,075.7	7,385.8	6,313.1	7,177.9	7,385.8	7,245.4
	2	10,667.7	7,443.5	6,481.1	7,265.9	7,443.5	7,256.5
	3	10,523.7	7,231.9	6,385.1	7,341.9	7,231.9	7,261.0
	Average	10,755.7	7,353.7	6,393.1	7,261.9	7,353.7	7,254.3
	SD	233.8	89.3	68.8	67.0	89.3	6.6
6,600	1	12,552.8	7,314.6	7,985.1	8,937.9	7,353.2	8,993.2
	2	13,488.8	7,206.9	8,113.1	8,921.9	7,317.2	9,021.3
	3	13,488.8	7,272.3	7,857.1	8,877.9	7,353.2	9,241.2
	Average	13,176.8	7,264.6	7,985.1	8,912.5	7,341.2	9,085.2
	SD	441.2	44.3	104.5	25.4	17.0	110.9
13,200	1	14,370.8	9,265.2	8,985.1	9,341.9	8,133.2	8,721.7
	2	14,442.8	9,167.1	8,849.1	9,397.9	8,141.2	8,592.2
	3	14,424.8	9,126.7	8,905.1	9,329.9	8,137.2	8,693.4
	Average	14,412.8	9,186.3	8,913.1	9,356.5	8,137.2	8,669.1
	SD	30.6	58.1	55.8	29.6	3.3	55.6
26,400	1	13,704.8	9,115.2	9,830.4	9,354.4	7,285.2	8,432.0
	2	14,076.8	9,144.0	9,606.4	9,074.4	7,261.2	8,210.1
	3	13,962.8	9,121.0	9,838.4	9,306.4	7,405.2	8,165.4
	Average	13,914.8	9,126.7	9,758.4	9,245.1	7,997.2	8,269.2
	SD	155.6	12.5	107.5	122.3	63.0	116.6
33,000	1	14,112.8	8,966.5	9,798.4	9,206.4	7,817.2	8,465.4
	2	14,352.8	8,985.8	9,478.4	8,746.4	7,897.2	8,359.0
	3	14,262.8	8,924.2	9,622.4	9,054.4	7,857.2	8,214.7
	Average	14,242.8	8,958.8	9,633.1	9,002.4	7,857.2	8,346.4
	SD	99.0	25.7	130.9	191.4	32.7	102.8

ตารางภาคผนวก ก-1 ค่า SCOD ของแหน, ผักตบชวา, สาหร่ายหางกระรอก และสาหร่ายขนาดเล็ก
หลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W และ 1,100 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS (ต่อ)

EI (kJ/kgTS)	samples	แหน ^a	ผักตบชวา ^a	สาหร่ายหาง กระรอก ^a	สาหร่าย ขนาดเล็ก ^a	ผักตบชวา ^b	สาหร่าย ขนาดเล็ก ^b
39,600	1	13,578.8	8,157.5	97,66.4	9,058.4	7,205.2	7,927.9
	2	13,596.8	8,180.6	93,50.4	8,418.4	7,109.2	7,992.2
	3	13,536.8	8,169.0	94,06.4	8,802.4	7,173.2	7,878.1
	Average	13,570.8	8,169.0	95,07.7	8,759.7	7,162.5	7,932.7
	SD	25.1	9.4	184.3	263.0	39.9	46.7
52,800	1	12,516.8	7,978.7	9,006.4	8,703.5	7,221.2	7,489.3
	2	12,396.8	8,082.5	8,598.4	8,387.5	7,253.2	7,534.2
	3	12,408.8	8,030.6	8,766.4	8,617.5	7,225.2	7,551.2
	Average	12,440.8	8,030.6	8,790.4	8,569.5	7,233.2	7,524.9
	SD	54.0	42.4	167.4	133.4	14.2	26.1
66,000	1	11,239.7	8,097.3	8,206.4	8,348.5	7,081.2	7,191.6
	2	11,050.4	8,124.2	8,038.4	8,356.5	7,061.2	6,972.0
	3	10,962.4	8,124.2	8,582.4	8,432.5	7,073.2	7,272.4
	Average	11,084.2	8,115.3	8,394.4	8,379.2	7,071.9	7,145.3
	SD	115.7	12.7	188.0	37.9	8.2	126.9
99,000	1	10,578.4	7,570.4	8,262.4	7,901.9	6,589.2	6,762.8
	2	10,514.4	7,689.6	8,350.4	7,673.9	6,617.2	6,861.8
	3	10,482.4	7,501.2	8,758.4	7,649.9	6,601.2	6,836.9
	Average	10,525.1	7,587.1	8,306.4	7,741.9	6,602.5	6,820.5
	SD	39.9	77.8	44.0	113.6	11.5	42.1

a = ปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W, b = ปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 1,100W

ตารางภาคผนวก ก-4 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 35°C ในการผลิต H₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat)

Time (h)	Control				
	No heat				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	Blank 1	Blank 2	Blank 3		
0	0	0	0	0	0
12	34	35	35	0	2.9
24	5.5	5.5	7	0	2.9
36	0	0	1.5	0	2.9
48	1	1	1.2	0	2.9
72	1.8	2	1	9.1	3.1
96	2.2	2	1	6.9	3.1
120	2.5	1	1	0.6	10
144	2	1	0.5	0.6	10

ตารางภาคผนวก ก-5 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 55°C ในการผลิต H₂ ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat)

Time (h)	Control				
	No heat				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	Blank 1	Blank 2	Blank 3		
0	0	0	0	0	0
12	50	49	50	0.6	0
24	10	10	7.5	3.4	0
36	0	0	2.5	3.4	0
48	2.8	3.6	1	3.4	2.9
72	3.4	4.8	0	9.0	2.6
96	0.2	0.6	0.2	5.7	2.6
120	0	0	0	0	0
144	0	0	0	0	0

ตารางภาคผนวก ก-6 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 35°C

Time (h)	Glucose							
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	Fast 1	Fast 2	Fast 3		Slow 1	Slow 2	Slow 3	
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	88	108	113	12.4	119	154	130.5	21.4
24	32.5	36	37	34.8	28.5	28.5	49	32.2
36	10	19	19	34.5	19.5	18.5	19	36.7
48	22	37.5	31	46.7	50	38.5	18	47.1
72	41.5	113	105	56.9	115	101	85	59.0
96	15.5	45.5	57.5	47.7	38.5	64	74.5	48.7
120	4.5	30.5	26.5	50.6	33	46.5	62	50.4
144	0.6	11	8.4	44.7	30	10.5	23	50.9

ตารางภาคผนวก ก-7 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C

Time (h)	Glucose							
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	Fast 1	Fast 2	Fast 3		Slow 1	Slow 2	Slow 3	
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	66.5	64.0	61	6.6	70.5	0	60	4.9
24	19.5	19.0	15.0	16.1	19.5	1.5	13	10.6
36	15.0	19.0	9.5	21.5	10	25.5	1.5	29.1
48	16.5	20.5	23.5	40.3	20	27.0	0	35.4
72	36.0	35.0	47.0	43.3	47.5	31.5	0	47.1
96	25.5	2.5	30.5	42.9	10.5	18.0	4	44.3
120	9.5	0	7	42.7	2	9.0	15	43.9
144	10.0	0	1	49.9	0	10.5	9.5	50.8

ตารางภาคผนวก ก-8 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 35°C

Time (h)	Starch							
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	Fast 1	Fast 2	Fast 3		Slow 1	Slow 2	Slow 3	
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	77	78.5	77	13.4	70.5	79	78	18.3
24	19.5	20.5	20.5	25.0	17	19	20.5	24.7
36	9.5	12.5	19	29.4	9	9.5	13	28.7
48	6.5	7.5	12	31.7	6	5.5	5.5	27.8
72	0	0	6.5	31.7	0	0	0	0
96	0	0	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0	0	0
144	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางภาคผนวก ก-9 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Fast และ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C

Time (h)	Starch							
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	Fast 1	Fast 2	Fast 3		Slow 1	Slow 2	Slow 3	
0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	59	59	59	4.1	52.5	64.5	41.5	4.6
24	18	8	27	16.5	49.5	22.5	59	24.0
36	49	25.5	7.5	34.3	67.5	62	84.5	38.1
48	43.5	27	9.5	43.9	24.5	29.5	41	36.1
72	23	17.5	43	44.1	48.5	9.5	17.5	39.4
96	10	7.5	33	48.1	26	1.5	4	39.7
120	3.5	2.5	26.1	39.4	4.5	0	0	41.6
144	1.8	0	20	52.6	2	0	0	39.8

ตารางภาคผนวก ก-10 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ และ CH₄ จากการหมัก Glucose ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat) ที่อุณหภูมิ 35 และ 55°C

Time (h)	Glucose									
	35°C					55°C				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	No heat 1	No heat 2	No heat 3			No heat 1	No heat 2	No heat 3		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	95.5	126.5	127	25.3	2.6	86	79.5	86	10.5	2.1
24	53	86	71	38.2	2.6	67.5	44	23	22.5	2.1
36	23	22	27	42.5	2.6	59.5	36	3.5	42.9	1.5
48	70	42.2	44	57.6	1.2	69	61.5	4.5	56.6	1.3
72	84	91	89.5	59.7	0.9	22	47	0.5	49.2	2.1
96	15.5	20	22	50.8	1.4	6	29	8.6	47.1	2.1
120	2.5	14	16	40.6	2.8	1.4	14	8	42.4	2.2
144	2.5	14	16	40.6	2.8	1.2	13	8	42.4	2.8

ตารางภาคผนวก ก-11 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ และ CH₄ จากการหมัก Starch ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ไม่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้น (No heat) ที่อุณหภูมิ 35 และ 55°C

Time (h)	Starch									
	35°C					55°C				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	No heat 1	No heat 2	No heat 3			No heat 1	No heat 2	No heat 3		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	62	63	65	7.6	4.9	78.5	74	59	9.7	1.6
24	25.5	20.5	26	6.4	14.7	38.5	33	51	20.3	1.5
36	5.5	10	10	7.9	18.7	32.5	31.5	36	39.4	1.5
48	5	11	2	7.8	22.3	30.5	34.5	35.5	53.1	1.2
72	5	10.5	3.5	7.3	24.9	22.5	21	20	53.4	1.2
96	3.2	5	3.4	6.8	23.2	18	28	10.5	55.4	0.8
120	3	1	2	3.2	23.2	12	15	8	54.8	0.8
144	3	1	2	3.2	20.2	10	14	7.5	54.8	0.8

ตารางภาคผนวก ก-12 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ ของชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 55°C ในการผลิต H₂ จากวัสดุหมัก 4 ชนิด ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat

Control				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	Blank 1	Blank 2	Blank 3	
0	0	0	0	0
12	44.5	44.5	44	0
24	8	8	6	0
36	0.8	2.2	1.4	1
48	0.4	0.6	1.2	1
72	0	1.0	1.0	2.6
96	0	1.8	1.2	2.9
120	0	0.6	0.4	2.9
144	0	0	0	0
168	0	0	0	0

ตารางภาคผนวก ก-13 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักแห้งด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	แทน 1	แทน 2	แทน 3	
0	0	0	0	0
12	41.5	42	49.5	1
24	9.6	8.4	8.4	0.4
36	3.2	3.8	2.2	0.1
48	1.4	2	2	0.1
72	1.8	3.4	2.4	0.1
96	1	1	3	0.1
120	0	0.6	1.6	0
144	0.2	1.1	0	0
168	0.2	1.1	0	0

ตารางภาคผนวก ก-13 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักแหนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS (ต่อ)

13,200 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	แหน 1	แหน 2	แหน 3	
0	0	0	0	0
12	33.5	49	49.5	3.2
24	9.2	12.2	9.8	5.1
36	4.0	5.4	4.8	7.2
48	2.0	2.6	2.0	7.6
72	0	0	2.8	7.6
96	1.2	0	2.2	7.6
120	0	0.6	3.2	7.6
144	0	2	0.9	7.6
168	0	2	0.9	7.6
26,400 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	50	50.5	50.0	4.6
24	8.6	9.2	9	4.6
36	3.0	1	3.4	4.9
48	2.2	1.6	1.2	5.3
72	4	4.8	1.4	5.9
96	1	0	1.2	5.9
120	1.2	2.4	2	7.9
144	1.7	1.3	0	7.9
168	1.7	1.3	0	7.9
52,800 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	49.5	49.0	49.5	2.6
24	9.4	9	10.4	4
36	2.8	5	5.4	5.1
48	1.4	4.4	4.4	5.1
72	0.8	2.6	1.8	5.1
96	1.6	2.2	1.6	5.1
120	1	0	0	5.2
144	0	0.8	0.	5.2
168	0	0.8	0	5.2

ตารางภาคผนวก ก-14 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักผักตบชวาด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	ผักตบชวา 1	ผักตบชวา 2	ผักตบชวา 3	
0	0	0	0	0
12	44	45.5	44.5	2.2
24	8.8	8.6	7.8	3
36	1.4	2	2.0	3
48	0.4	0.4	1.6	3
72	2.0	1.4	1.8	3
96	2.4	2.4	2.4	3.4
120	0.2	0.6	0.4	3.4
144	0	0	0	3.4
168	0	0	0	3.4
13,200 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	47	46	48	2.2
24	9	8.8	9	3.2
36	1.8	0	1.6	3.2
48	2	0.6	2.4	3.2
72	3	0.4	2.4	3.2
96	2	0	2.4	4.6
120	1.8	0	1.2	5
144	0	1.0	0	5
168	0	1.0	0	5

ตารางภาคผนวก ก-14 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักผักตบชวาด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS (ต่อ)

26,400 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	ผักตบชวา 1	ผักตบชวา 2	ผักตบชวา 3	
0	0	0	0	0
12	46	40.5	44	1.7
24	10.4	7	10.8	3.7
36	2.2	1.4	2.6	3.7
48	0.2	1.2	0	3.7
72	0	0.6	1.2	3.7
96	0	0	2.0	3.7
120	0	0	0.4	3.7
144	0	0	0.8	3.7
168	0	0	0.8	3.7
52,800 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	42	45.5	48	1.9
24	8.6	8.4	9	3.4
36	2.2	2	0.6	3.4
48	0	0	1.2	3.4
72	0	1.8	3.4	3.4
96	2.2	2	1.8	3.4
120	1.2	0	1.4	3.4
144	0.7	0	0.5	3.4
168	0.7	0	0.5	3.4

ตารางภาคผนวก ก-15 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักสำหรับรายทางกระรอกด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	สำหรับรายทางกระรอก 1	สำหรับรายทางกระรอก 2	สำหรับรายทางกระรอก 3	
0	0	0	0	0
12	41.5	38.0	52.0	3
24	22.0	4.0	1.0	12.8
36	2	1.4	0.3	12.8
48	0.2	0.8	0.4	12.8
72	1.2	0	0	12.8
96	4.4	0	1.2	12.8
120	8.4	1.2	2.3	13
144	8.2	0.2	0	13
168	4.2	0	0	13
13,200 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	63.5	59.5	64.0	9.1
24	26.5	22	3	17.8
36	7.6	12.5	5	18
48	3.2	9.2	2.2	18.9
72	6.6	2.6	5.2	21.6
96	1.6	1.2	2.2	21.6
120	0.6	0	0	0
144	0	0	0	0
168	0	0	0	0

ตารางภาคผนวก ก-15 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักสำหรับสายทางกระรอกด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS (ต่อ)

26,400 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	สายทางกระรอก 1	สายทางกระรอก 2	สายทางกระรอก 3	
0	0	0	0	0
12	69.5	58.5	52.5	7.9
24	24.5	19	18.5	15.7
36	12.8	6.6	20.8	18.3
48	6.4	2.6	12.4	20.2
72	4.6	4.8	6.0	22.5
96	2.4	0	1.6	22.5
120	1.6	0	0	22.5
144	0	0	0	0
168	0	0	0	0
52,800 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	52	53	73	7.6
24	15	19.5	16	14.3
36	9.6	22.4	5.8	17.2
48	7.2	10.0	6.6	20.3
72	2.6	2	5	20.7
96	0	0	4	20.7
120	0	0	0	0
144	0	0	0	0
168	0	0	0	0

ตารางภาคผนวก ก-16 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	สาหร่ายขนาดเล็ก 1	สาหร่ายขนาดเล็ก 2	สาหร่ายขนาดเล็ก 3	
0	0	0	0	0
12	39.5	41.5	50.5	0.5
24	20.2	20.2	10.2	8.5
36	10.8	8.6	6.2	11.8
48	7.2	6.6	5.8	12.4
72	6.0	5.2	4.2	15.3
96	5.8	5.0	3.6	16.9
120	3.8	2.6	2.4	17.8
144	2.2	0	1.7	17.8
168	2.2	0	1.7	17.8
13,200 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	48.0	53	45	3.1
24	18.0	18.2	18.4	7.6
36	5.0	11.8	12	13.4
48	4.8	12.6	11.6	20.5
72	5	12.4	14.4	26.4
96	6	7.2	8	26.3
120	3.4	5.2	0	26.4
144	2.7	2.8	0	27.7
168	2.7	2.8	0	27.7

ตารางภาคผนวก ก-16 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS (ต่อ)

26,400 kJ/kgTS				
Time (h)	Biogas (mL)			H ₂ (%)
	สาหร่ายขนาดเล็ก 1	สาหร่ายขนาดเล็ก 2	สาหร่ายขนาดเล็ก 3	
0	0	0	0	0
12	52	53.5	60.5	3.3
24	16.4	16.4	12.4	7.3
36	8.6	7.6	7.8	9.4
48	7.2	1.2	6.4	15.6
72	8.2	9.2	6.4	18.7
96	7.2	5.6	4.2	21.7
120	6	3.8	1.8	25.6
144	3.5	0	0	27.2
168	3.5	0	0	27.2
52,800 kJ/kgTS				
0	0	0	0	0
12	61	55	54.5	5.9
24	15.4	14.8	15.6	7.8
36	8.2	8	7.6	13.7
48	5.2	6.8	3.4	17.6
72	6.8	8.4	3	22.3
96	4.2	7.2	0	22.3
120	0	4.8	0	22.3
144	0	3.2	0	28
168	0	3.2	0	28

ตารางภาคผนวก ก-17 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ และ CH₄ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กที่ความเข้มข้น O₂ เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O₂/mL_{inoculum}

O ₂ dose 0 mL O ₂ /mL _{inoculum}										
Time (h)	Microwave pretreatment					No pretreatment				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	sample 1	sample 2	sample 3			sample 1	sample 2	sample 3		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	40	39.0	0	11.6	1.4	36	39	0	9.5	1.3
48	30.5	33.5	0	14.7	1.4	26.5	30	0	14.1	1.3
72	20	21	0	14.7	1.7	10.0	16	0	14.4	1.8
96	15	17	0	0	12.4	0	0	0	0	0
120	11	12	0	0	14.2	0	0	0	0	0
144	10	10	0	0	14.2	9.5	7.4	0	0	11
168	10	10	0	0	14.2	9.5	7.4	0	0	11

ตารางภาคผนวก ก-17 ปริมาณก๊าซชีวภาพและสัดส่วน H₂ และ CH₄ จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กที่ความเข้มข้น O₂ เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O₂/mL_{inoculum} (ต่อ)

O ₂ dose 10 mL O ₂ /mL _{inoculum}										
Time (h)	Microwave pretreatment					No pretreatment				
	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)	Biogas (mL)			H ₂ (%)	CH ₄ (%)
	sample 1	sample 2	sample 3			sample 1	sample 2	sample 3		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	43	53.5	55	4.5	0.9	0	28.0	28.5	3.8	0.5
48	19.5	21.5	35	5.8	1.1	2.5	12.0	17	4.5	0.7
72	19.5	23	27	8.2	1.5	10.5	10.5	11.5	6.5	0.8
96	46.5	46	46.2	8.2	1.8	15.0	7.5	7.5	9.4	0.9
120	9.5	15.8	11.5	13.7	1.8	1.2	0.5	6.2	9.4	1.2
144	9.5	15.8	11.5	13.6	1.8	1.2	0.5	6.2	9.4	1.2
168	9.5	15.8	11.5	13.8	1.8	1.2	0.5	6.2	9.4	1.2
O ₂ dose 15 mL O ₂ /mL _{inoculum}										
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	51.5	59.5	0	6.2	0.7	39.5	33.5	0	0	0
48	31.5	33.5	0	8.2	0.6	23.0	28.5	0	7.4	0.6
72	18.5	25	0	10.1	0.6	16.0	12	0	7.4	0.8
96	17.2	20.2	0	10.1	2.3	20.4	16	0	8.5	0.7
120	14.8	16.8	0	11.4	2.3	10.5	14.4	0	8.6	1.1

144	7.0	6.1	0	13.0	2.3	3.5	5	0	8.6	1.1
168	7.0	6.1	0	13.0	2.3	3.5	5	0	8.6	1.1

ตารางภาคผนวก ก-18 ปริมาณ CH₄ สะสม (Cumulative CH₄ production) จากการหมักสำหรับรายขนาดเล็กระดับความเข้มข้น O₂ เท่ากับ 0, 10 และ 15 mL O₂/mL_{inoculum}

Time (h)	O ₂ dose 0 mL O ₂ /mL _{inoculum}					
	CH ₄ production (mL)					
	Microwave pretreatment			No pretreatment		
	sample 1	sample 2	sample 3	sample 1	sample 2	sample 3
0	0	0	0	0	0	0
24	2.4	2.34	0	2.2	2.2	0
48	2.8	2.7	0	2.4	2.5	0
72	3.6	3.5	0	3.5	3.6	0
96	23.4	23.2	0	19	17.2	0
120	27.9	27.5	0	19	18.1	0
144	29.1	28.7	0	19.9	19.8	0
168	30.2	29.8	0	20.7	20.45	0
O ₂ dose 10 mL O ₂ /mL _{inoculum}						
0	0	0	0	0	0	0
24	1.5	1.5	1.5	0.8	0.8	0.8
48	2.1	2.1	2.2	1.2	1.3	1.3
72	2.9	3.1	3.2	1.4	1.5	1.5
96	4.2	4.2	4.4	1.8	1.8	1.8
120	4.3	4.5	4.6	2.2	2.2	2.3

144	4.4	4.7	4.8	2.3	2.2	2.4
168	4.6	4.9	4.9	2.3	2.4	2.4
O ₂ dose 15 mL O ₂ /mL _{inoculum}						
0	0	0	0	0	0	0
24	1.2	1.2	0	0	0	0
48	1.2	1.2	0	1.1	1.1	0
72	1.2	1.2	0	1.5	1.6	0
96	4.5	4.6	0	1.4	1.5	0
120	4.7	4.8	0	2.3	2.3	0
144	4.8	4.9	0	2.3	2.3	0
168	5	5.1	0	2.4	2.4	0

ตารางภาคผนวก ก-19 ค่า Specific VFA จากการผลิต H₂ ของแหนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS						
Time (h)	Samples	Acetic acid	Propionic Acid	Iso-Butyric Acid	Butyric Acid	Iso- Valeric Acid
24	1	115.4	59.7	69.5	33.1	81.3
	2	175.4	63.5	73.3	49.3	90.8
48	1	221.3	69.4	79.2	61.0	103.2
	2	169.5	63.6	75.2	47.0	92.4
72	1	241.8	71.9	82.3	63.6	109.0
	2	180.7	65.0	75.2	51.8	94.3
120	1	261.7	86.0	82.5	60.0	110.8
	2	243.6	65.5	75.2	50.9	94.1
168	1	291.4	91.4	78.6	53.8	105.2
	2	284.4	71.8	75.5	51.9	96.7
13,200 kJ/kgTS						
24	1	199.1	58.3	72.3	47.8	83.0
	2	227.6	59.7	73.8	42.7	84.3
48	1	303.8	66.3	82.8	67.2	97.3
	2	334.3	66.0	80.8	57.9	94.4
72	1	347.3	70.3	84.8	69.9	100.8
	2	363.6	68.9	82.3	60.4	98.0

120	1	386.4	77.0	84.3	68.2	103.0
	2	406.3	74.4	82.3	58.2	100.3
168	1	410.3	79.8	82.6	64.3	102.7
	2	422.8	75.6	79.4	53.4	98.8
26,400 kJ/kgTS						
24	1	213.3	59.7	75.6	51.9	87.1
	2	244.0	61.8	78.1	47.2	89.7
48	1	321.0	66.8	81.1	61.8	94.5
	2	258.1	63.9	79.2	61.5	93.4
72	1	356.3	69.5	83.1	67.0	68.6
	2	280.3	68.4	79.7	62.6	94.9
120	1	392.3	76.8	82.8	64.3	100.7
	2	376.7	82.3	82.9	64.3	99.7
168	1	278.0	67.6	74.3	47.6	89.3
	2	361.4	84.0	78.8	55.0	93.8
52,800 kJ/kgTS						
24	1	165.8	60.9	76.3	41.8	89.0
	2	234.9	61.5	77.0	42.8	90.0
48	1	261.8	60.9	78.1	47.0	91.9
	2	265.1	62.5	80.7	50.0	95.1
72	1	274.5	62.4	78.8	49.4	93.5
	2	275.2	64.4	81.2	52.2	96.4

120	1	312.0	66.7	78.9	49.4	96.0
	2	328.7	72.9	80.8	53.2	99.1
168	1	287.1	67.7	74.3	41.7	89.9
	2	324.7	74.8	75.7	44.6	93.3

ตารางภาคผนวก ก-20 ค่า Specific VFA จากการผลิต H₂ ของผักตบชวาด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS						
Time (h)	Samples	Acetic acid	Propionic Acid	Iso-Butyric Acid	Butyric Acid	Iso- Valeric Acid
24	1	135.5	59.8	74.4	41.1	83.4
	2	154.7	58.9	73.9	38.3	84.5
48	1	184.8	67.3	80.4	51.4	92.6
	2	218.8	66.4	81.3	50.7	94.5
72	1	205.3	70.2	80.7	51.8	93.2
	2	233.1	69.3	81.3	49.7	93.4
120	1	251.6	83.0	81.7	54.0	95.9
	2	245.0	80.3	82.3	48.5	95.4
168	1	249.5	69.6	72.4	37.8	82.2
	2	247.4	79.3	79.5	43.2	92.1

13,200 kJ/kgTS						
24	1	139.6	0.0	71.1	33.3	79.4
	2	155.3	58.3	71.9	35.6	80.9
48	1	200.3	68.4	77.4	42.6	88.1
	2	219.9	70.9	78.9	45.8	90.3
72	1	203.1	73.3	77.8	43.3	89.3
	2	226.5	74.2	78.8	45.2	90.2
120	1	225.2	81.6	79.3	44.3	93.0
	2	258.5	79.8	80.8	48.1	94.2
168	1	222.3	75.9	75.0	38.5	87.0
	2	343.7	87.4	84.2	51.2	99.0
26,400 kJ/kgTS						
24	1	142.1	57.0	70.7	35.0	78.7
	2	137.7	57.0	70.2	32.7	78.9
48	1	215.0	64.5	77.9	45.8	88.6
	2	202.4	75.9	77.4	42.9	88.6
72	1	222.9	67.0	77.9	45.0	88.7
	2	226.1	79.4	78.5	44.2	90.0
120	1	259.6	72.9	80.0	47.6	93.4
	2	262.4	86.9	80.4	46.8	94.8
168	1	290.4	72.8	77.8	42.2	90.1
	2	270.7	83.0	77.1	40.4	90.2

52,800 kJ/kgTS						
24	1	133.0	56.7	70.2	34.3	78.7
	2	159.5	59.3	73.1	36.9	81.6
48	1	183.7	63.0	76.3	43.9	87.9
	2	204.4	73.9	77.6	43.0	88.8
72	1	226.8	67.4	80.1	49.8	93.8
	2	251.5	79.0	80.5	47.0	93.5
120	1	232.4	71.1	79.8	48.1	94.0
	2	294.6	84.5	82.4	48.2	97.5
168	1	237.5	72.7	75.7	45.0	87.9
	2	289.4	79.7	77.9	41.8	90.0

ตารางภาคผนวก ก-21 ค่า Specific VFA จากการผลิต H₂ ของสาหร่ายทางกระบอกด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS						
Time (h)	Samples	Acetic acid	Propionic Acid	Iso-Butyric Acid	Butyric Acid	Iso- Valeric Acid
24	1	0	0	65.1	97.3	73.2
	2	93.9	0.0	67.3	109.9	74.9
48	1	106.5	72.8	73.5	158.9	84.5
	2	207.6	75.7	73.2	158.5	82.8
72	1	94.0	69.9	72.2	140.9	82.3

	2	195.6	74.7	73.6	146.6	85.4
120	1	168.6	65.1	72.9	109.8	87.4
	2	185.0	70.6	73.1	119.4	87.4
168	1	267.8	72.3	73.9	120.0	88.9
	2	244.7	72.4	73.3	118.2	88.7
13,200 kJ/kgTS						
24	1	175.6	0	0	43.0	71.2
	2	173.5	0	67.0	119.7	75.6
48	1	360.6	62.9	72.4	165.9	82.5
	2	489.3	62.5	69.6	93.2	81.2
72	1	390.4	67.2	71.1	151.0	82.4
	2	605.1	62.1	72.0	109.8	84.6
120	1	305.2	69.5	69.6	100.9	75.3
	2	388.0	58.4	65.6	75.7	77.4
168	1	484.8	71.8	68.2	136.7	83.0
	2	449.4	63.0	66.4	82.3	78.8
26,400 kJ/kgTS						
24	1	169.0	0	65.8	44.8	71.9
	2	229.0	0	68.2	114.3	77.3
48	1	422.8	61.6	71.3	73.2	78.0
	2	388.0	61.3	74.9	168.9	85.2
72	1	335.3	60.1	69.0	62.3	75.5

	2	551.1	66.3	77.3	199.0	88.8
120	1	345.2	65.5	68.2	59.1	76.6
	2	419.0	67.3	70.5	141.8	80.2
168	1	366.5	72.9	69.9	58.6	80.1
	2	500.8	68.3	73.3	160.1	84.9
52,800 kJ/kgTS						
24	1	153.4	0	65.9	86.9	72.8
	2	185.3	0	70.1	84.1	77.7
48	1	32.9	58.3	72.4	145.6	80.4
	2	374.2	70.1	71.6	100.8	81.2
72	1	450.3	66.1	75.4	183.0	85.3
	2	489.2	77.2	72.8	114.0	86.4
120	1	393.9	63.2	70.3	136.4	78.9
	2	397.0	69.3	68.7	83.8	81.3
168	1	431.6	69.3	72.2	148.8	83.8
	2	440.0	78.3	72.6	89.8	89.2

ตารางภาคผนวก ก-22 ค่า Specific VFA จากการผลิต H₂ ของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

0 kJ/kgTS						
Time (h)	Samples	Acetic acid	Propionic Acid	Iso-Butyric Acid	Butyric Acid	Iso- Valeric Acid
24	1	113.1	82.4	71.0	193.9	87.2
	2	51.2	126.0	68.7	197.2	81.1
48	1	108.7	89.3	71.4	196.1	90.2
	2	91.3	119.9	72.6	181.6	85.1
72	1	246.8	96.2	83.8	281.6	111.
	2	190.9	157.34	76.4	245.2	97.9
120	1	295.8	94.8	91.3	289.5	127.7
	2	306.6	156.8	86.3	246.2	120.2
168	1	200.6	111.3	85.2	178.7	97.3
	2	267.5	127.8	79.1	194.8	107.9
13,200 kJ/kgTS						
24	1	190.4	141.6	78.0	161.5	96.8
	2	231.6	82.3	78.0	153.7	96.2
48	1	324.7	156.4	89.6	191.8	122.4
	2	354.2	127.5	89.7	164.6	118.1
72	1	421.5	17.6	104.7	237.6	146.1
	2	521.3	152.3	104.9	200.0	146.4

120	1	506.5	191.6	123.3	270.3	182.7
	2	594.2	152.0	112.9	198.6	168.8
168	1	398.7	157.3	104.4	222.4	146.9
	2	488.3	142.9	115.4	222.8	168.2
26,400 kJ/kgTS						
24	1	117.0	74.9	72.9	182.5	87.6
	2	147.6	85.3	73.3	185.0	88.1
48	1	221.2	73.9	80.9	187.9	15.7
	2	246.5	88.9	81.32	192.3	106.6
72	1	355.6	83.8	93.8	230.2	129.3
	2	391.1	98.9	97.6	240.4	136.8
120	1	522.1	110.2	103.8	194.6	152.6
	2	529.3	98.4	101.1	202.7	148.7
168	1	567.3	132.2	112.7	200.6	172.5
	2	620.9	116.4	113.6	202.2	175.0
52,800 kJ/kgTS						
24	1	176.2	76.3	73.3	141.9	89.5
	2	185.3	78.8	75.9	153.8	96.6
48	1	305.6	64.3	83.4	149.7	109.6
	2	242.3	117.0	77.2	148.0	100.3
72	1	437.7	133.1	93.9	164.0	129.4
	2	352.9	133.9	85.4	165.8	117.3

120	1	566.2	137.9	99.5	150.4	146.3
	2	431.4	139.3	91.2	149.5	130.9
168	1	707.8	149.7	133.0	172.2	189.6
	2	443.5	138.4	95.3	144.3	141.5

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ข-1 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของແຫນหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

ແຫນ330W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
Duncan ^a	EI99,000	3	22.867						
	EI0	3	23.333	23.333					
	EI66,000	3		24.067					
	EI52,800	3			27.000				
	EI6,600	3				28.633			
	EI39,600	3					29.467		
	EI26,400	3					30.233	30.233	
	EI33,000	3						30.933	30.933
	EI13,200	3							31.300
	Sig.		.254	.080	1.000	1.000	.069	.094	.366
Scheffe ^a	EI99,000	3	22.867						
	EI0	3	23.333						
	EI66,000	3	24.067						
	EI52,800	3		27.000					
	EI6,600	3		28.633	28.633				
	EI39,600	3			29.467	29.467			
	EI26,400	3			30.233	30.233	30.233		
	EI33,000	3				30.933	30.933		
	EI13,200	3					31.300		
	Sig.		.379	.087	.099	.162	.531		

ตารางที่ ข-2 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของผักตบชวาหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

ผักตบชวา330W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	
Duncan ^a	EI6,600	3	16.267					
	EI0	3	16.467					
	EI99,000	3		16.967				
	EI52,800	3			18.000			
	EI66,000	3			18.167	18.167		
	EI39,600	3				18.300		
	EI33,000	3					20.067	
	EI26,400	3						20.433
	EI13,200	3						20.533
	Sig.		.095	1.000	.159	.255	1.000	.389
Scheffe ^a	EI6,600	3	16.267					
	EI0	3	16.467	16.467				
	EI99,000	3		16.967				
	EI52,800	3			18.000			
	EI66,000	3			18.167			
	EI39,600	3			18.300			
	EI33,000	3				20.067		
	EI26,400	3				20.433		
	EI13,200	3				20.533		
	Sig.		.912	.056	.554	.088		

ตารางที่ ข-3 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายหางกระรอกหลังปรับสภาพ
ขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

สาหร่ายหางกระรอก330W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a EI0	3	16.067				
EI6,600	3		20.067			
EI66,000	3		20.800	20.800		
EI99,000	3			21.233		
EI52,800	3				22.067	
EI13,200	3				22.400	
EI39,600	3					23.867
EI33,000	3					24.200
EI26,400	3					24.500
Sig.		1.000	.075	.278	.401	.138
Scheffe ^a EI0	3	16.067				
EI6,600	3		20.067			
EI66,000	3		20.800	20.800		
EI99,000	3		21.233	21.233		
EI52,800	3			22.067		
EI13,200	3			22.400	22.400	
EI39,600	3				23.867	23.867
EI33,000	3					24.200
EI26,400	3					24.500
Sig.		1.000	.388	.087	.145	.941

ตารางที่ ข-4 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายขนาดเล็กหลังปรับสภาพ
ขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 330 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

สาหร่ายขนาดเล็ก 330 W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Duncan ^a EI0	3	10.867						
EI99,000	3		11.567					
EI66,000	3			12.533				
EI52,800	3			12.833	12.833			
EI39,600	3				13.133	13.133		
EI6,600	3					13.367		
EI33,000	3					13.500	13.500	
EI26,400	3						13.833	13.833
EI13,200	3							14.033
Sig.		1.000	1.000	.153	.153	.100	.115	.333
Scheffe ^a EI0	3	10.867						
EI99,000	3		11.567					
EI66,000	3			12.533				
EI52,800	3			12.833	12.833			
EI39,600	3			13.133	13.133	13.133		
EI6,600	3			13.367	13.367	13.367		
EI33,000	3			13.500	13.500	13.500		
EI26,400	3					13.833	13.833	
EI13,200	3					14.033	14.033	
Sig.		.221	.085	.273	.051			

ตารางที่ ข-5 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของผักตบชวาหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 1,100 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

ผักตบชวา1100W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
Duncan ^a	EI99,000	3	14.767						
	EI66,000	3		15.800					
	EI39,600	3			16.033				
	EI52,800	3			16.200	16.200			
	EI26,400	3				16.400	16.400		
	EI6,600	3					16.467		
	EI0	3					16.467		
	EI33,000	3						17.600	
	EI13,200	3							18.200
	Sig.		1.000	1.000	.098	.051	.518	1.000	1.000
Scheffe ^a	EI99,000	3	14.767						
	EI66,000	3		15.800					
	EI39,600	3		16.033	16.033				
	EI52,800	3		16.200	16.200	16.200			
	EI26,400	3			16.400	16.400			
	EI6,600	3				16.467			
	EI0	3				16.467			
	EI33,000	3					17.600		
	EI13,200	3						18.200	
	Sig.		1.000	.080	.135	.487	1.000	1.000	

ตารางที่ ข-6 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Solubilization yield ของสาหร่ายขนาดเล็กหลังปรับสภาพขั้นต้นด้วยคลื่นไมโครเวฟ 1,100 W ที่ EI 0 - 99,000 kJ/kgTS

สาหร่ายขนาดเล็ก1100W

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	
Duncan ^a	EI99,000	3	10.200						
	EI66,000	3		10.700					
	EI0	3		10.867					
	EI52,800	3			11.267				
	EI39,600	3				11.900			
	EI26,400	3					12.367		
	EI33,000	3					12.500		
	EI13,200	3						13.000	
	EI6,600	3							13.600
	Sig.		1.000	.208	1.000	1.000	.310	1.000	1.000
Scheffe ^a	EI99,000	3	10.200						
	EI66,000	3	10.700	10.700					
	EI0	3		10.867					
	EI52,800	3		11.267					
	EI39,600	3			11.900				
	EI26,400	3			12.367	12.367			
	EI33,000	3				12.500	12.500		
	EI13,200	3					13.000		
	EI6,600	3						13.600	
	Sig.		.120	.054	.174	.996	.120	1.000	

ตารางที่ ข-7 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมัก Glucose ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ Fast และ Slow

		Glucose			
parameter	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	Slow heat 55	3	54.567		
	No heat 55	3	55.733		
	Fast heat 55	3	64.933		
	Fast heat 35	3		139.967	
	No heat 35	3		166.467	
	Slow heat 35	3		199.167	
	Sig.		.574	.146	.080
	Scheffe ^a	Slow heat 55	3	54.567	
No heat 55		3	55.733		
Fast heat 55		3	64.933		
Fast heat 35		3		139.967	
No heat 35		3		166.467	
Slow heat 35		3		199.167	
Sig.			.995	.099	

ตารางที่ ข-8 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมัก Glucose ที่อุณหภูมิ 35°C และ 55°C ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพขั้นต้นด้วยความร้อนแบบ Fast และ Slow

		Starch			
parameter	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	No heat 35	3	8.240		
	Slow heat 35	3		36.033	
	Fast heat 35	3		37.800	
	Fast heat 55	3			72.767
	Slow heat 55	3			75.800
	No heat 55	3			88.467
	Sig.		1.000	.820	.072
	Scheffe ^a	No heat 35	3	8.240	
Slow heat 35		3	36.033		
Fast heat 35		3	37.800		
Fast heat 55		3		72.767	
Slow heat 55		3		75.800	
No heat 55		3		88.467	
Sig.			.053	.536	

ตารางที่ ข-9 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักแหนด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

แหน

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Duncan ^a EI 26.400 kJ/gTS	3	4.3300	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	4.3867	
EI 13,200 kJ/kgTS	3	5.5533	
EI 0 kJ/kgTS	3	5.6100	
Sig.		.061	
Scheffe ^a EI 26.400 kJ/gTS	3	4.3300	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	4.3867	
EI 13,200 kJ/kgTS	3	5.5533	
EI 0 kJ/kgTS	3	5.6100	
Sig.		.224	

ตารางที่ ข-10 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักผักตบชวาด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

ผักตบชวา

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a EI 0 kJ/kgTS	3	2.4433	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	2.5000	
EI 26.400 kJ/gTS	3	2.7233	2.7233
EI 13,200 kJ/kgTS	3		3.1667
Sig.		.261	.081
Scheffe ^a EI 0 kJ/kgTS	3	2.4433	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	2.5000	
EI 26.400 kJ/gTS	3	2.7233	
EI 13,200 kJ/kgTS	3	3.1667	
Sig.		.068	

ตารางที่ ข-11 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักสาหร่ายหางกระรอกที่ด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

สำหรับหางกระรอก

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a EI 0 kJ/kgTS	3	15.7800	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	18.2267	18.2267
EI 13,200 kJ/kgTS	3	18.7233	18.7233
EI 26.400 kJ/gTS	3		19.5567
Sig.		.074	.380
Scheffe ^a EI 0 kJ/kgTS	3	15.7800	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	18.2267	
EI 13,200 kJ/kgTS	3	18.7233	
EI 26.400 kJ/gTS	3	19.5567	
Sig.		.131	

ตารางที่ ข-12 ผลการจัดกลุ่มค่าเฉลี่ย Hydrogen yield จากการหมักสาหร่ายขนาดเล็กด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ Slow heat ที่อุณหภูมิ 55°C ที่ระดับ EI เท่ากับ 0, 13,200; 26,400 และ 52,800 kJ/kgTS

สำหรับขนาดเล็ก

Parameter	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a EI 0 kJ/kgTS	3	15.2267	
EI 52,800 kJ/kgTS	3		21.6700
EI 26.400 kJ/gTS	3		21.9467
EI 13,200 kJ/kgTS	3		25.9500
Sig.		1.000	.059
Scheffe ^a EI 0 kJ/kgTS	3	15.2267	
EI 52,800 kJ/kgTS	3	21.6700	21.6700
EI 26.400 kJ/gTS	3		21.9467
EI 13,200 kJ/kgTS	3		25.9500
Sig.		.053	.233

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายคณศ จรัสชากร
 รหัสประจำตัวนักศึกษา 5610920032
 วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2556

ทุนการศึกษา

- โครงการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อเป็นพลังงานทางเลือกใหม่
- ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

คณศ จรัสชากร และ สุเมธ ไชยประพัทธ์. 2559. การใช้อัลตราโซนิกเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนจากสาหร่ายขนาดเล็ก. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 40 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. 20 – 21 ตุลาคม 2559. หน้า 178 – 185.