



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการส่งเสริมประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน
ทางชีวภาพจากน้ำเสียอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร
โดยการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์

โดยผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ วงศ์ทะเนตร

มิถุนายน 2556

สัญญาเลขที่ MRG5480095

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการส่งเสริมประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน
ทางชีวภาพจากน้ำเสียอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร
โดยการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรรุวรรณ วงศ์ทะเนตร
คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อภาษาไทย

รหัสโครงการ : MRG5480095

ชื่อโครงการ : การส่งเสริมประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสีย
อุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารโดยการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์

ชื่อนักวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จารุวรรณ วงศ์ทะนตรี
คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : jaruwan.won@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 15 มิถุนายน พ.ศ.2554 ถึง 14 มิถุนายน พ.ศ.2556

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์คือ 1) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร (น้ำผลไม้ กะทิ แป้ง และเส้นหมี่) ด้วยการทดลองแบบกึ่งเท ภายใต้สภาวะที่ไร้แสง 2) เพื่อศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสีย (ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ 4.5-7.0; สภาพอุณหภูมิแบบเมโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิก) 3) เพื่อศึกษาชนิดและรูปร่างของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสีย และ 4) เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ในระบบที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพได้สูงสุดจากน้ำเสีย ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุด (183.51 ml H₂/l wastewater) สามารถผลิตได้จากน้ำเสียโรงงานเส้นหมี่ ปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1°C) และวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขบับน้ำรูปทรงลูกบอลในสัดส่วนปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 5% (V/V) ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสีย และเมื่อดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเสียโรงงานเส้นหมี่ในกระบวนการหมักชีวภาพแบบกึ่งเท โดยควบคุมให้อยู่ภายใต้ปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมข้างต้น ผลการทดลองพบเพิ่มเติมว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเกิดขึ้นในการทดลองที่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขบับน้ำรูปทรงลูกบอลในปริมาตร 1,256.50 ml H₂/ l wastewater (5% V/V PE Ball) ซึ่งมีปริมาตรสูงถึง 2 เท่าของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมเมื่อเทียบกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมของตัวควบคุม (676.53 ml H₂/l wastewater) ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ดังกล่าวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) พบจุลินทรีย์มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนกลมเรียวยาว (Rod shape) และเกาะอยู่กันเป็นกลุ่มบนวัสดุตัวกลางรูปทรงลูกบอล นอกจากนี้ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงจนเป็น 4.0 ค่าร้อยละของการกำจัดซีโอดีคือ 43.75 และตรวจพบการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายส่วนใหญ่เป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) และกรดบิวทริก (Butyric acid) ตามลำดับ

คำหลัก : น้ำเสียอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร; การทดลองแบบกึ่งเท; การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม;
วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขบับน้ำรูปทรงลูกบอล; ลักษณะทางสัณฐานของจุลินทรีย์

Abstract

Project Code : MRG5480095

Project Title : Efficiency enhancement of biological hydrogen production from agro-food industrial wastewater by using synthetic media

**Investigator : Assistant Professor Dr.Jaruwan Wongthanate
Faculty of Environment and Resource Studies, Mahidol University**

E-mail Address : jaruwan.won@mahidol.ac.th

Project Period : 15 June 2011 – 14 June 2013

The objectives of this research were to 1) study the feasibility of biological hydrogen production from agro-food industrial wastewater (fruit juice, coconut milk, starch and noodle) by using a batch test in dark condition 2) study the optimum of environmental conditions (initial pH 4.5–7.0; mesophilic temperature and thermophilic temperature) 3) study the type and shape of synthetic media for efficiency enhancement of biological hydrogen production from wastewater and 4) study the morphology of biofilm on synthetic media in system for the highest biological hydrogen production from wastewater. The results of study revealed that the highest cumulative hydrogen production (183.51 ml H₂/l wastewater) could be observed from noodle wastewater. The optimal environmental factors on biological hydrogen production were an initial pH at 6.5 and thermophilic temperature at (55 ± 1°C). Also, synthetic hydrophilic media of ball shape in the ratio of volume of synthetic media to wastewater at 5% (V/V) could be enhanced the efficiency of biological hydrogen production from wastewater. When the batch test of noodle wastewater was conducted in fermentative process under the further data of optimal environmental factors, the extra results showed that the highest biological hydrogen production applied by synthetic hydrophilic media of ball shape was about 1,256.50 ml H₂/l wastewater (5% V/V PE Ball). It was a two-fold increase of cumulative hydrogen production in a control group (676.53 ml H₂/l wastewater). In addition, morphology of microorganism on the synthetic media (Biofilm) was observed by a scanning electron microscope. It found that microorganism were the rod shape and gathered into group on the synthetic hydrophilic media of ball shape. Furthermore, the trend of pH profile was decreased until 4.0 and the percentage of COD removal was 43.75 as well as production of volatile fatty acid was detected in the majority of acetic acid and butyric acid, respectively.

Keywords: Agro-food industrial wastewater; batch test; cumulative hydrogen production; synthetic hydrophilic media of ball shape; morphology of microorganism.

เอกสารสรุปโครงการ (Executive summary)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพ และศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 – 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °ซ) และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียดังกล่าว รวมทั้งติดตามตรวจสอบผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักทางชีวภาพของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acids, VFAs) โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารที่ตั้งอยู่ในเขตปริมณฑล 5 แห่ง (โรงงานผลิตน้ำผลไม้จำนวน 2 แห่ง โรงงานแปรรูปมะพร้าว โรงงานขนมที่ทำจากแป้ง และโรงงานเส้นหมี่) และกากตะกอนของเสียจากถังหมักไร้อากาศของระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศ ด้วยวิธีการเก็บแบบจ้วง (Grab sampling) ซึ่งนำไปใช้เป็นหัวข้อจูลินทรีย์ของระบบ และดำเนินการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีที่เกี่ยวข้องของน้ำเสียและกากตะกอนของเสีย (pH, BOD, COD, TKN TS, TSS, VS และ VSS) ก่อนใช้ในการทดลอง โดยดำเนินการทดลองในขวดแก้วขนาดปริมาตร 250 มล. ภายใต้กระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนและไม่มีแสงในอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและการสั่นสะเทือน (Water bath shaker) ด้วยความเร็วที่ 120 รอบต่อนาที

ผลการทดลองพบว่า น้ำเสียจากกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารของทุกโรงงานสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ยกเว้นน้ำเสียจากโรงงานน้ำผลไม้ 2 โดยมีภาพรวมของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) อยู่ในช่วง 68.62-183.51 ml H₂/l wastewater และมีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) 3.18 – 14.08 mg/l กรดอะซิติก (Acetic acid) 1.05-11.92 mg/l และกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) 0.13 -5.76 mg/l ในระบบ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า น้ำเสียโรงงานเส้นหมี่มีศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุด และเมื่อนำน้ำเสียของโรงงานเส้นหมี่มาศึกษาหาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 - 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิกต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนพบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5 ส่งเสริมให้สภาพอุณหภูมิทั้งสองแบบสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุดประมาณ 307.97 ml H₂/l wastewater (สภาพมีโซฟิลิก) และ 552.29 ml H₂/l wastewater (สภาพเทอร์โมฟิลิก) ซึ่งส่งเสริมให้ปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงขึ้น 2-3 เท่าเมื่อควบคุมกระบวนการหมักให้อยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิที่สูงขึ้น นอกจากนี้ค่าร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีภาพรวมแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยจาก 31.25 – 46.88 เป็น 40.63 – 56.25 ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมที่เพิ่มสูงขึ้นด้วย ดังนั้นอาจกล่าวสรุปจากการทดลองเบื้องต้นได้ว่า ปัจจัยสภาพแวดล้อมทั้งค่าพีเอชและอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญและมีอิทธิพลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน อย่างไรก็ตามเพื่อส่งเสริมให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพสูงขึ้นจากน้ำเสียของโรงงานเส้นหมี่ จึงศึกษาทดลองเพิ่มเติมในเรื่องของการใช้วัสดุตัวกลาง

สังเคราะห์รูปทรงวงแหวนกลวงทั้งชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media; HP media) และชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media; HB media) โดยใช้ในการทดลองวิจัยด้วยสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water; V/V) ที่ 0%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6% และควบคุมให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมซึ่งได้จากผลการทดลองข้างต้น คือ ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °C) พบว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเกิดขึ้นในการทดลองที่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์รูปทรงวงแหวนกลวงทั้งชนิดที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในสัดส่วน 5% (V/V) เหมือนกัน แต่การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเกิดขึ้นในการทดลองที่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (748.71 ml H₂/l wastewater (5% V/V HP media)) ซึ่งมีปริมาตรสูงถึง 3 เท่าของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมเมื่อเทียบกับการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (224.31 ml H₂/l wastewater (5% V/V HB media)) และเมื่อศึกษาเพิ่มเติมถึงรูปทรงของการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำทั้ง 3 แบบ คือ รูปทรงลูกบอล รูปทรงวงแหวนกลวง และรูปทรงวงล้อ ในสัดส่วน 5% (V/V) ของระบบทดลอง เพื่อส่งเสริมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยควบคุมให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5 และอุณหภูมิ 55 ± 1 °C) พบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงจากวันแรกและค่าพีเอชวันสุดท้ายของการทดลองอยู่ที่ 4.0 ส่วนค่าร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมอยู่ในช่วง 34.38 – 43.75 และการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายส่วนใหญ่ในระบบเป็นจำพวกกรดอะซิติก (Acetic acid) 10.05-45.50 mg/l และกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 8.70 – 35.50 mg/l ตามลำดับ ส่วนกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) พบในปริมาณต่ำประมาณ 0.13 -1.50 mg/l ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้พบว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเกิดขึ้นในการทดลองที่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำรูปทรงลูกบอลในปริมาตร 1,256.50 ml H₂/l wastewater (5% V/V PE Ball) ซึ่งมีปริมาตรสูงถึง 2 เท่าของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมเมื่อเทียบกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมของตัวควบคุม (676.53 ml H₂/l wastewater) นอกจากนี้ เมื่อการทดลองสิ้นสุดลงได้นำวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำทั้ง 3 รูปทรงไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ดังกล่าวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) พบจุลินทรีย์ที่มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนกลมเรียวยาว (Rod shape) (Basile et al., 2010; Singh et al., 2013) โดยมีลักษณะการตรึงเกาะของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันคือ จุลินทรีย์มีการตรึงเกาะบนผิววัสดุตัวกลางในลักษณะเป็นกลุ่มบนวัสดุตัวกลางรูปทรงลูกบอลและรูปทรงวงล้อ แต่พบการตรึงเกาะของจุลินทรีย์บนผิวของวัสดุตัวกลางรูปทรงวงแหวนกลวงในลักษณะเป็นโครงข่าย

จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า การส่งเสริมประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารโดยการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ จำเป็นต้องเลือกใช้น้ำเสียที่มีคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีที่ศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ และเลือกใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่มีขนาด รูปร่าง และชนิดที่เหมาะสม รวมทั้งควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมของระบบให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมด้วย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
เอกสารสรุปโครงการ	iii
สารบัญเรื่อง	v
สารบัญตาราง	viii
สารบัญรูป	ix
 เนื้อหางานวิจัย	 1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ทบทวนวรรณกรรมและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
 ระเบียบวิธีวิจัย	 16
1. ศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิต อุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร	16
2. ศึกษาสภาวะแวดล้อมที่มีเหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 - 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °ซ) ต่อ การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	19
3. ศึกษาสภาวะแวดล้อมที่มีเหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5-7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) ต่อ การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	20
4. การศึกษาชนิดของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในการส่งเสริม ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม	20

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
5. การศึกษารูปทรงที่ต่างกันของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำต่อ ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์	21
6. การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปลผล	22
ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล	23
1. คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารและกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศ	23
2. ผลการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร	25
3. ผลการศึกษาสภาวะแวดล้อมที่มีเหมาะสมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) 4.5-7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °ซ) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	27
4. ผลการศึกษาสภาวะแวดล้อมที่มีเหมาะสมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) 4.5-7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	29
5. ผลการศึกษานิตของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) และวัสดุตัวกลางที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media) รูปทรงวงแหวนกลวงในการส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยใช้ในสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่แตกต่างกัน	32
6. ผลการศึกษารูปทรงที่ต่างกันของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำต่อ ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์	37
ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ	42

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	44
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	
ภาคผนวก ข	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพ	11
ตารางที่ 2 คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียอุตสาหกรรมประเภทอาหารและกากตะกอนของเสีย	24
ตารางที่ 3 ข้อมูลภาพรวมของค่าพีเอชที่ลดลงในระหว่างการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	29
ตารางที่ 4 ข้อมูลภาพรวมของค่าพีเอชที่ลดลงในระหว่างการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม	31
ตารางที่ 5 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (รูปทรงวงแหวนกลวง)	32
ตารางที่ 6 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ	38

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แผนภูมิแสดงเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน	6
รูปที่ 2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ	7
รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียสภาวะไร้อากาศ	10
รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงกลไกการเกิดไฮโดรเจนโดยวิธีการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง	13
รูปที่ 5 การเก็บรวบรวมน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารและกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศ	17
รูปที่ 6 กระบวนการหมักทางชีวภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร	18
รูปที่ 7 การตรวจวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักทางชีวภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร	19
รูปที่ 8 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมของกากตะกอนของเสียที่เลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทดลอง	24
รูปที่ 9 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร	26
รูปที่ 10 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นหมี่ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.5 -7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีไซฟิสิก ($35 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	28
รูปที่ 11 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นหมี่ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.5 -7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิสิก ($55 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	31

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 12 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (รูปทรงแบบวงแหวนกลวง) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)	34
รูปที่ 13 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดไม่ชอบน้ำ (รูปทรงแบบวงแหวนกลวง) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)	36
รูปที่ 14 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำทั้ง 3 รูปทรง (5% V/V) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)	39
รูปที่ 15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ รูปทรงลูกบอลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (ก) รูปร่างและขนาดของลูกบอล และ (ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของลูกบอลที่กำลังขยาย 5,000 เท่า ของสเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร	40
รูปที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ รูปวงล้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (ก) รูปร่างและขนาดของวงล้อ และ (ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของวงล้อที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ของสเกลบาร์ 1 ไมโครเมตร	41
รูปที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ รูปวงแหวนกลวงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (ก) รูปร่างและขนาดของวงแหวนกลวง และ (ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของวงแหวนกลวงที่กำลังขยาย 5,000 เท่า ของสเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร	41

เนื้อหางานวิจัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันผลกระทบจากการใช้เชื้อเพลิงที่ได้จากฟอสซิล เช่น น้ำมันและถ่านหิน เพิ่มทวีความรุนแรงขึ้น เกิดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก เช่น ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซเรือนกระจกอื่นๆ สู่ชั้นบรรยากาศ ทำให้โลกไม่สามารถรักษาสสมดุล สิ่งก็ตามมาคือการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) และสภาวะโลกร้อน (Global warming) ประกอบกับการให้ความสำคัญเรื่องความมั่นคงทางด้านพลังงาน ดังนั้นการแก้ไขปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมและแหล่งพลังงานฟอสซิลที่ใกล้จะหมดลงนี้ (Das and Veziroğlu, 2001) จำเป็นต้องพัฒนาค้นหาเทคโนโลยีในการผลิตพลังงานจากแหล่งใหม่ๆ ที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Environmentally friendly energy production) เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนหรือพลังงานทางเลือกอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน ซึ่งประเทศไทยถือว่าเป็นประเทศเกษตรกรรมและมีการพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันทางเศรษฐกิจในลักษณะของภาคอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร (สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, 2553) ดังนั้นหากสามารถนำของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตของภาคอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร เช่น น้ำเสียมาประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการพัฒนาผลิตพลังงานสะอาดด้วยเทคโนโลยีอย่างง่ายและไม่ซับซ้อน เช่น การผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากของเสีย และนำมาพัฒนาเป็นพลังงานเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ในอนาคตได้ จึงถือว่าเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากการนำของเสียอินทรีย์ที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตของอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร เช่น น้ำเสียจากโรงงานแปรรูปอาหารต่างๆ (โรงงานแปรรูปมันสำปะหลัง กะทิ และน้ำผลไม้ ฯลฯ) โดยเปลี่ยนแปลงให้เกิดการใช้ประโยชน์ในรูปแบบอื่นและเพิ่มมูลค่าแทนการปล่อยทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม เช่น การนำมาผลิตก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อเพลิง หรือนำมาประยุกต์ใช้เป็นเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ถือว่าเป็นพลังงานสะอาดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Maddy et al., 2003) ช่วยลดการปล่อยไฮโดรคาร์บอนสู่สิ่งแวดล้อมแทนการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas) ของก๊าซมีเทน (CH_4) โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation process) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic digestion process) และเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก

ดังนั้นเพื่อให้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนและไม่มีแสงสามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องอาศัยความรู้ความเข้าใจในเรื่องศักยภาพของชนิดสารอาหารตั้งต้นที่นำเข้าสู่ระบบ ปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพและการประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางสนับสนุนให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพในปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้น

รวมทั้งกลไกในเบื้องต้นของการเกิดปฏิกิริยาในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากจุลินทรีย์ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การพัฒนาออกแบบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารในระบบต่อเนื่อง (Continuous system) อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพ
2. เพื่อศึกษาสภาวะแวดล้อมที่มีเหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) และอุณหภูมิ (Temperature)
3. เพื่อศึกษาชนิดของวัสดุตัวกลางที่ส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพ
4. เพื่อติดตามตรวจสอบผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักทางชีวภาพ (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acids, VFAs) ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพจากผลผลิตที่เกิดขึ้น
5. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัญญาณของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะวัสดุตัวกลางในระบบที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพ

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ โดยการนำน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารและกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสีย เข้าสู่กระบวนการหมักแบบไร้อากาศและไม่มีแสงโดยอาศัยจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ โดยมีขอบเขตการศึกษาวิจัยครอบคลุมดังนี้คือ

1. ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารที่ตั้งอยู่ในเขตปริมณฑล 5 แห่ง (โรงงานผลิตน้ำผลไม้จำนวน 2 แห่ง โรงงานแปรรูปมะพร้าว โรงงานขนมที่ทำจากแป้ง และโรงงานเส้นหมี่) และกากตะกอนของเสียจากถังหมักไร้อากาศของระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศเทศบาลนครนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี
2. ควบคุมสภาวะแวดล้อมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 – 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °C) และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) ในการทดลองวิจัย

3. ส่งเสริมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารโดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (Synthetic media) ที่มีรูปทรงเป็นวงแหวนกลวง 2 ชนิดคือ วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) และวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media) ในสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water) ที่ 0-6%
4. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ในระบบที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงจากน้ำเสียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)
5. ติดตามตรวจสอบผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักทางชีวภาพของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acids, VFAs) ได้แก่ กรดแอซีติก (Acetic acid) กรดบิวทีริก (Butyric acid) และกรดโพรพีนิก (Propionic acid) จากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารที่มีศักยภาพ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (Expected results)

1. ทราบถึงแนวโน้มของความเป็นไปได้และศักยภาพการนำของเสียอินทรีย์จากภาคอุตสาหกรรมเกษตรมาประยุกต์ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนซึ่งเป็นพลังงานสะอาดต่อระบบนิเวศวิทยา
2. ข้อมูลปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการหมักทางชีวภาพต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระบบ
3. ศักยภาพการนำวัสดุตัวกลางมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักทางชีวภาพของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน
4. ข้อมูลพื้นฐานสนับสนุนการออกแบบเบื้องต้นของระบบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนแบบต่อเนื่อง (Continuous system) เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้อย่างต่อเนื่อง และมีประสิทธิภาพอย่างยั่งยืน

ทบทวนวรรณกรรมและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

ปัญหาของแหล่งพลังงานและการพัฒนาพลังงานที่สะอาด

ปัจจุบันเชื้อเพลิงที่ใช้ในโลกประมาณ 80% มาจากซากดึกดำบรรพ์ แหล่งเชื้อเพลิงเหล่านี้กำลังจะหมดไป ประสพปัญหาขาดแคลนพลังงาน น้ำมัน ก๊าซธรรมชาติ และถ่านหิน เป็นพลังงานหลักที่ใช้กันอยู่ทั่วไป ซึ่งมีอยู่อย่างจำกัด แต่การนำเอาพลังงานซากดึกดำบรรพ์มาใช้ประโยชน์ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น มลพิษอากาศที่เกิดจากก๊าซเรือนกระจกต่างๆ ได้แก่ CO_x , SO_x , C_xH_x ส่งผลให้เกิดภาวะโลกร้อน เพื่อแก้ไขปัญหาของแหล่งพลังงานเชื้อเพลิงที่ใกล้จะหมดไป จึงจำเป็นต้องหาพลังงานแหล่งใหม่ที่เป็นแหล่งพลังงานทดแทน (Renewable source) และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Das and Veziroğlu, 2001)

พลังงานที่สะอาดจึงเป็นพลังงานทางเลือกใหม่ที่คำนึงถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสามารถหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้ เช่น พลังงานลม พลังงานคลื่น พลังงานแสงอาทิตย์ และพลังงานนิวเคลียร์ มาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานทดแทน (Department of Energy, 2006) แต่พลังงานเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดโดยเฉพาะการนำพลังงานเหล่านี้มาใช้ในประเทศไทย พลังงานไฮโดรเจนจึงถือว่าเป็นพลังงานทางเลือกประเภทหนึ่ง ซึ่งเป็นพลังงานสะอาดและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งยังสามารถหาแหล่งวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ในประเทศไทย ดังนั้นพลังงานไฮโดรเจนจึงเป็นแหล่งพลังงานที่น่าสนใจอย่างยิ่งในอนาคต

การใช้พลังงานไฮโดรเจนในอนาคตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซที่เบา ทำให้มีความปลอดภัยสูงเมื่อเทียบกับก๊าซหุงต้มที่ใช้ในปัจจุบัน หรือก๊าซธรรมชาติที่บีบอัดแล้ว นอกจากนี้ก๊าซไฮโดรเจนสามารถนำไปใช้ได้โดยตรงในการเผาไหม้ และสามารถนำไปใช้กับเซลล์เชื้อเพลิงได้โดยตรง ทำให้ได้กระแสไฟฟ้าซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ต่อไปได้อีกทั้งยังไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

พลังงานไฮโดรเจน

ธาตุไฮโดรเจนถูกค้นพบเป็นครั้งแรกโดย เฮนรี คาเวนดิช (Henry Cavendish) นักเคมีชาวอังกฤษเมื่อ พ.ศ. 2319 โดยความบังเอิญ เพราะคาเวนดิชทดลองเอาผงเหล็กซึ่งสมัยโบราณจัดว่าเป็นธาตุดินใส่ลงไปในสารละลายที่เป็นกรดซึ่งเป็นธาตุน้ำ แล้วเกิดปฏิกิริยาได้ก๊าซซึ่งเป็นธาตุลมออกมา อันนี้เป็นธาตุที่จุดไฟติดได้ในบรรยากาศปกติ เมื่อก๊าซที่เกิดจากผงเหล็กทำปฏิกิริยากับสารละลายที่เป็นกรดถูกเผาไหม้ให้ความร้อนแล้ว สิ่งที่ได้ตามมาเป็นของเหลวและเมื่อทำการพิสูจน์ธาตุดังกล่าวพบว่าคือน้ำบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามบุคคลที่ตั้งชื่อก๊าซดังกล่าวว่า “ไฮโดรเจน” ไม่ใช่คาเวนดิช แต่เป็นนักเคมีชาวฝรั่งเศสคือ อังตวน ลอรองต์ ลาวัวซิเยร์ (Antoine Laurent Lavoisier) ซึ่งทำการทดลองแบบเดียวกับที่คาเวนดิชเมื่อปี พ.ศ. 2328 โดยเรียก “อากาศซึ่งทำให้สิ่งมีชีวิตดำรงอยู่ได้” ว่า “ออกซิเจน” และเรียก “อากาศซึ่งติดไฟได้” ว่า “ไฮโดรเจน” โดยใช้คุณสมบัติการติดไฟของก๊าซดังกล่าวแล้วได้ธาตุ “น้ำ” คือน้ำบริสุทธิ์ออกมาจากการเผาไหม้ โดยตั้งชื่อตามภาษากรีกของสิ่งที่ค้นพบใหม่ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีว่า “Hydrogen” ส่วนคำว่า ไฮโดร (Hydro) ในภาษากรีกแปลว่า น้ำ และคำต่อท้ายคือ “gene” แปลว่า เกิดจากหรือถูกสร้างขึ้นโดย ส่วนคำในภาษาอังกฤษเรียกว่า ไฮโดรเจน (Hydrogen) เป็นธาตุที่สามารถสร้างน้ำขึ้นมาได้ มีสัญลักษณ์คือ H มีน้ำหนักอะตอม 1.00794 g/mol จุดหลอมเหลวติดลบ 259.14 °C จุดเดือด ติดลบ 252.87 °C และความหนาแน่น 0.08988 g/l เป็นก๊าซที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มรส ละลายน้ำได้น้อยมาก นอกจากนี้ยังเป็นธาตุที่มีอะตอมขนาดเล็กที่สุด เคลื่อนที่ได้เร็วเฉลี่ย 7 ไมล์ต่อนาที่ ณ อุณหภูมิห้อง และเป็นตัวพาพลังงาน (Energy carrier) เช่นเดียวกับไฟฟ้าซึ่งเป็นพลังงานทุติยภูมิที่ต้องถูกผลิตขึ้น นอกจากนี้ไฮโดรเจนยังเป็นธาตุที่มีมากที่สุดในจักรวาล ซึ่งโลกมีธาตุไฮโดรเจนปะปนอยู่ในชั้นบรรยากาศประมาณ 3% ธาตุไฮโดรเจนมักไม่อยู่อย่างอิสระแต่จะอยู่ร่วมกับธาตุอื่นเกิดเป็นสารประกอบต่าง ๆ เช่น น้ำและสารอินทรีย์ (สารประกอบไฮโดรคาร์บอน) (Kruse et al., 2002)

ปัจจุบันมีการผลิตไฮโดรเจนประมาณ 400,000 ล้านลูกบาศก์เมตรทั่วโลก หรือประมาณ 10% เมื่อเทียบกับการผลิตน้ำมันโลกในปี พ.ศ. 2542 ไฮโดรเจนส่วนใหญ่ถูกใช้เป็นวัตถุดิบทางเคมี เพื่อการผลิตสินค้าประเภทปุ๋ยแอมโมเนีย การใช้ในการเพิ่มไฮโดรเจน (Hydrogen) ในน้ำมันสำหรับการบริโภค เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปลา น้ำมันถั่วลิสง และน้ำมันข้าวโพด เป็นต้น และการทำความเย็นให้เครื่องกำเนิดไฟฟ้าและมอเตอร์ต่าง ๆ การผลิตไฮโดรเจนสามารถทำได้โดยการแยกสารประกอบต่างๆ ที่มีไฮโดรเจน เช่น น้ำ ชีวมวล ก๊าซธรรมชาติ และเชื้อเพลิงฟอสซิล (รูปที่ 1)

กระบวนการผลิตพลังงานไฮโดรเจน

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากเชื้อเพลิงซากดึกดำบรรพ์

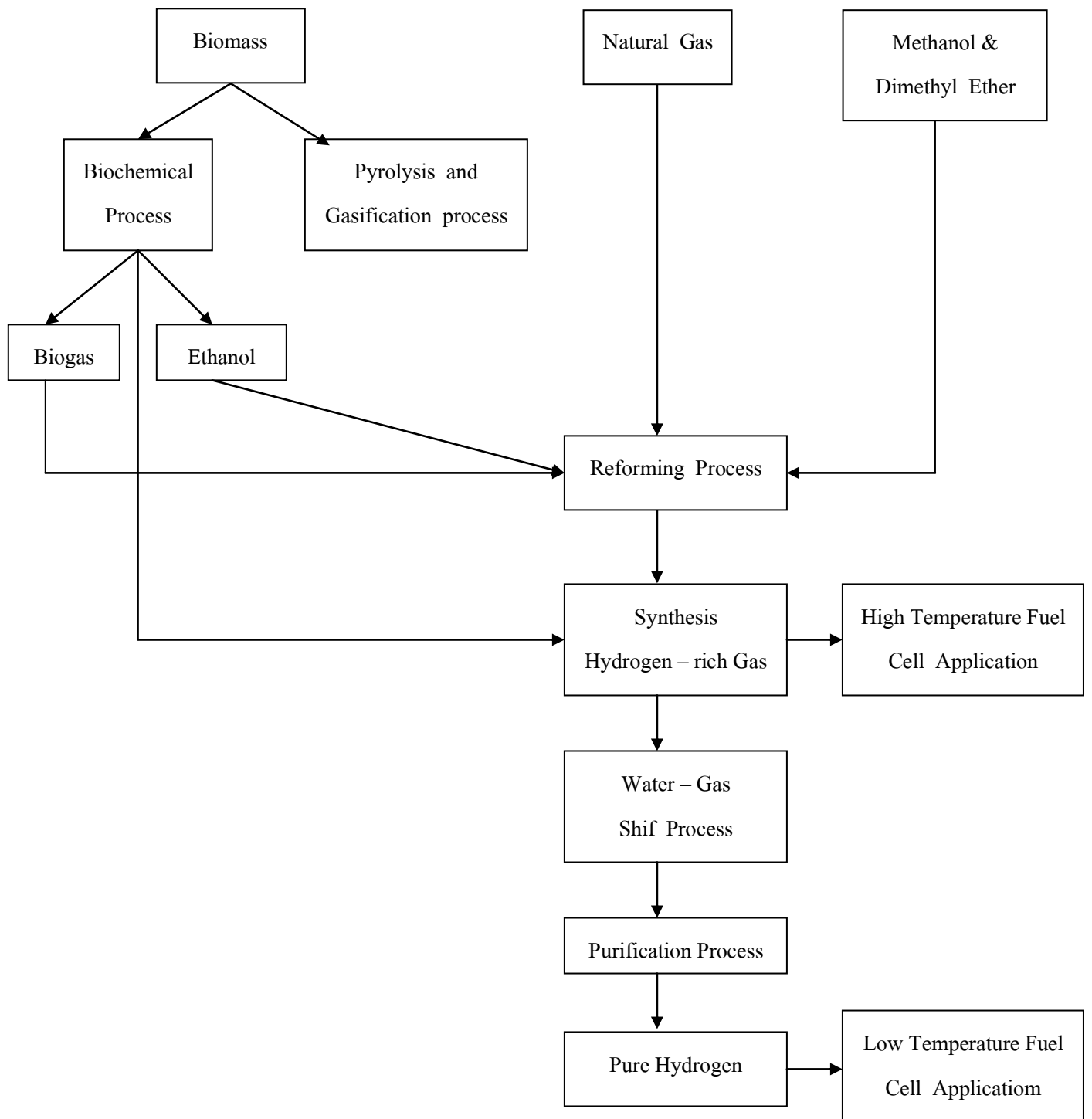
ก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเคมี โดยอุตสาหกรรมปิโตรเลียมผลิตก๊าซธรรมชาติที่จัดเป็นพลังงานซากดึกดำบรรพ์โดยวิธีการทำปฏิกิริยาระหว่างสารไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) กับน้ำในรูปไอน้ำโดยอาศัยพลังงานความร้อน (Steam reforming) ส่วนผลผลิตสุดท้ายที่ได้คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน (Hawkes et al., 2002) การผลิตด้วยวิธีนี้ก่อให้เกิดมลพิษที่ตกค้างของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากกระบวนการในปริมาณสูง และยังต้องใช้พลังงานความร้อนสูงมากกว่า 210°C นอกจากนี้แหล่งพลังงานที่นำมาใช้ยังเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไปด้วย

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีอิเล็กโทรไลซิส (Electrolysis)

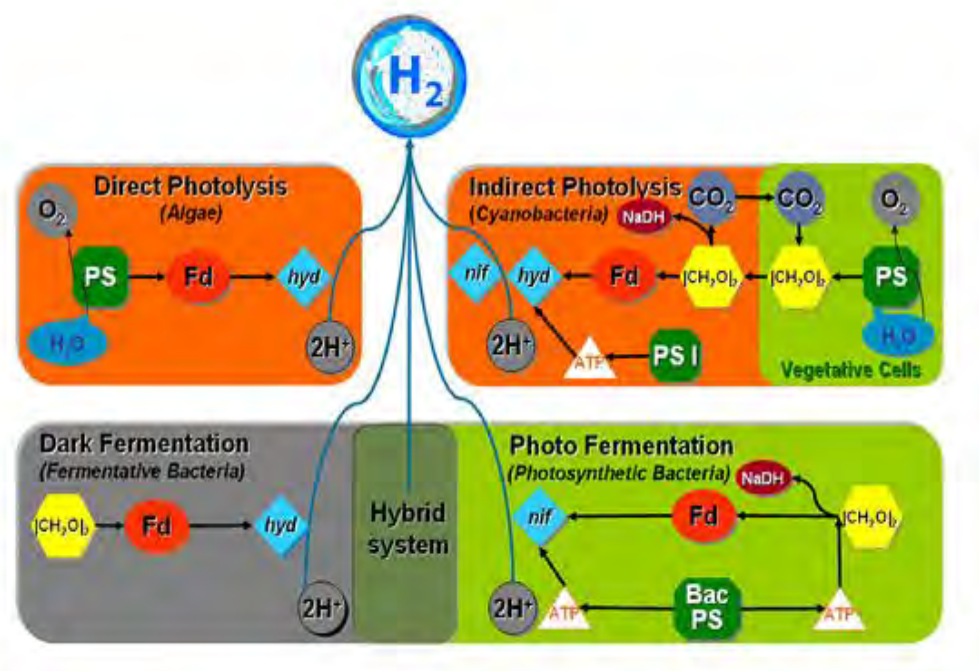
วิธีการนี้จะแยกก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซออกซิเจนออกจากน้ำโดยใช้กระแสไฟฟ้า ซึ่งมีขั้วอิเล็กโทรด (Electrode) 2 ขั้วคือ ขั้วบวก (Positive electrode) และขั้วลบ (Negative electrode) ทำการจุ่มขั้วอิเล็กโทรดในน้ำที่ใส่ตัวทำให้น้ำเป็นกลางโดยเติมสารจำพวกอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte) เช่น โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ลงไป ซึ่งไฮโดรเจนอ็อกซิเจนและออกซิเจนอ็อกซิเจนจะแยกตัวออกจากกัน โดยไฮโดรเจนอ็อกซิเจนจะไปเกาะที่ขั้วลบ ส่วนออกซิเจนอ็อกซิเจนจะไปเกาะที่ขั้วบวก (Hawkes et al., 2002) นอกจากนี้ในการทำอิเล็กโทรไลซิสที่สมบูรณ์ต้องใช้กระแสไฟฟ้าประมาณ 90 กิโลวัตต์และสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 28 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งการผลิตก๊าซไฮโดรเจนวิธีนี้จะให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่สูง แต่ต้องใช้กระแสไฟฟ้าสูงด้วยซึ่งต้องนำมาจากแหล่งพลังงานต่างๆ ทำให้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีอิเล็กโทรไลซิสจึงยังไม่ถือว่าเป็นวิธีที่คุ้มค่า

กระบวนการผลิตไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ถือเป็นการผลิตที่มีราคาถูกและยังสามารถหาแหล่งวัตถุดิบได้ง่าย กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์สามารถผลิตได้ 4 กลุ่มคือ (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 แผนภูมิแสดงเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไฮโดรเจน
(Department of Energy, 2006)



รูปที่ 2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ

(Kotary and Das, 2008)

การใช้แสงทางตรงในการผลิตไฮโดรเจน (Direct biophotolysis)

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกระบวนการนี้พบได้ในสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เช่น สาหร่ายสีเขียวและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยอาศัยสภาวะที่มีแสงและเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) ซึ่งจะผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเปลี่ยนจากพลังงานแสงไปเป็นพลังงานทางเคมี การผลิตก๊าซไฮโดรเจนเริ่มจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ซึ่งมี 2 ระบบ คือ photosystem I (PSI) และ photosystem II (PSII) โดย PSII จะดูดพลังงานแสงทำให้ได้อิเล็กตรอนและส่งไปยังตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายคือ เฟอริดอกซิน (ferredoxin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบ หลังจากนั้นเฟอริดอกซินจะย้ายอิเล็กตรอนไปยังเอนไซม์ไฮโดรจีเนสโดยอาศัยพลังงานจาก PSI ที่ดูดพลังงานแสงไว้ ส่วน PSII จะทำการแยกน้ำได้ 2 โปรตอนและก๊าซออกซิเจน ลำดับต่อมาเอนไซม์ไฮโดรจีเนสจะผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากโปรตอนและอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ในปริมาณต่ำ (Benemann, 1997)

การใช้แสงทางอ้อมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Indirect biophotolysis)

กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีนี้เป็นการเจริญเติบโตโดยอาศัยแสงของ Cyanobacteria โดยทำการเลี้ยงเพื่อขยาย Cyanobacteria แล้วนำไปหมักในสภาพไร้แสง Cyanobacteria จะสร้างกลูโคสซึ่งจะอยู่ในรูปไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) บริเวณผนังของเซลล์ แล้วทำการหมักเปลี่ยน

กลูโคสให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนโดยเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) (Levin et al., 2004) จากการศึกษาของ Markov และคณะ (1997) พบว่า *Cyanobacterium anabaena variabilis* สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 12.5 ml H₂/น้ำหนักของเซลล์แห้งใน 1 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 45-55 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ และ 170-180 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ แต่กระบวนการนี้ยังอยู่ในขั้นทดลองและการพัฒนาที่สำคัญต้องใช้เทคโนโลยีในการผลิตเซลล์ให้ต้นทุนมีราคาสูง

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยการหมักในสภาวะมีแสง (Photo-fermentation)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ได้รับพลังงานจากแสงในการเจริญเติบโตด้วยการเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานทางเคมีซึ่งเก็บไว้ในรูป Adenosine Triphosphate (ATP) โดยกระบวนการโฟโตฟอสโฟรีเลชัน (Photophosphorylation) ต่อมาเซลล์จะนำเอา ATP ที่เกิดขึ้นไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ต่อไป โดยแบคทีเรียกลุ่มที่เป็นออโตโทรป (Autotroph) จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญแบบโฟโตออโตโทรป (Photoautotroph) และกลุ่มที่เป็นเฮเทอโรโทรป (Heterotroph) จะใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญแบบโฟโตเฮเทอโรโทรป (Photoheterotroph) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะนำคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในเซลล์แล้วเปลี่ยนไปตามวัฏจักรเควิน (Calvin cycle) ส่วนภายใต้การเจริญแบบโฟโตเฮเทอโรโทรป (Photoheterotroph) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์บางชนิดในวิถี (pathway) ที่มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสารประกอบอินทรีย์นั้น ๆ (Levin et al., 2004)

จากการศึกษาของ Segers และ Verstraete (1983) รายงานว่า *Rhodospseudomonas capsulate*, *Rhodospirillum rubrum* และ *Rhodomicrobium vannielii* สามารถใช้กรดแลคติก (Lactic acid) กรดอะซิติก (Acetic acid) และกรดบิวทิริก (Butyric acid) ในการสร้างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยอัตราการผลิต 100-926 ml H₂/l/day และเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนจะมีการผลิตได้สูงถึง 760 ml H₂/l/day

กระบวนการผลิตพลังงานไฮโดรเจนโดยวิธีการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง (Dark-fermentation)

กระบวนการหมักในสภาวะไม่ใช้แสงมีปฏิกิริยาหลัก ๆ เกิดขึ้น 2 ขั้นตอน (Two phase anaerobic process: TPAP) คือ กระบวนการผลิตกรด (Acidogenesis) และกระบวนการผลิตมีเทน (Methanogenesis) ซึ่งพบว่ากระบวนการทั้งสองนี้สามารถผลิตได้ทั้งก๊าซมีเทนและก๊าซไฮโดรเจน โดยมีกระบวนการย่อยของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสารอินทรีย์ (รูปที่ 3) ดังนี้คือ

กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ไฮโดรไลซิสเป็นกระบวนการเปลี่ยนสารโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน น้ำตาล และไขมัน ให้อยู่ในรูปของสารโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดอะมิโน กลูโคส กรดไขมัน ซึ่งขั้นตอนนี้เกิดภายนอกเซลล์โดยเอนไซม์ของแบคทีเรีย

กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนแรกจะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรดนำไปใช้เพื่อผลิตกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid: VFA) จำพวกกรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid)

และกรดบิวทริก (Butyric acid) ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและมีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว

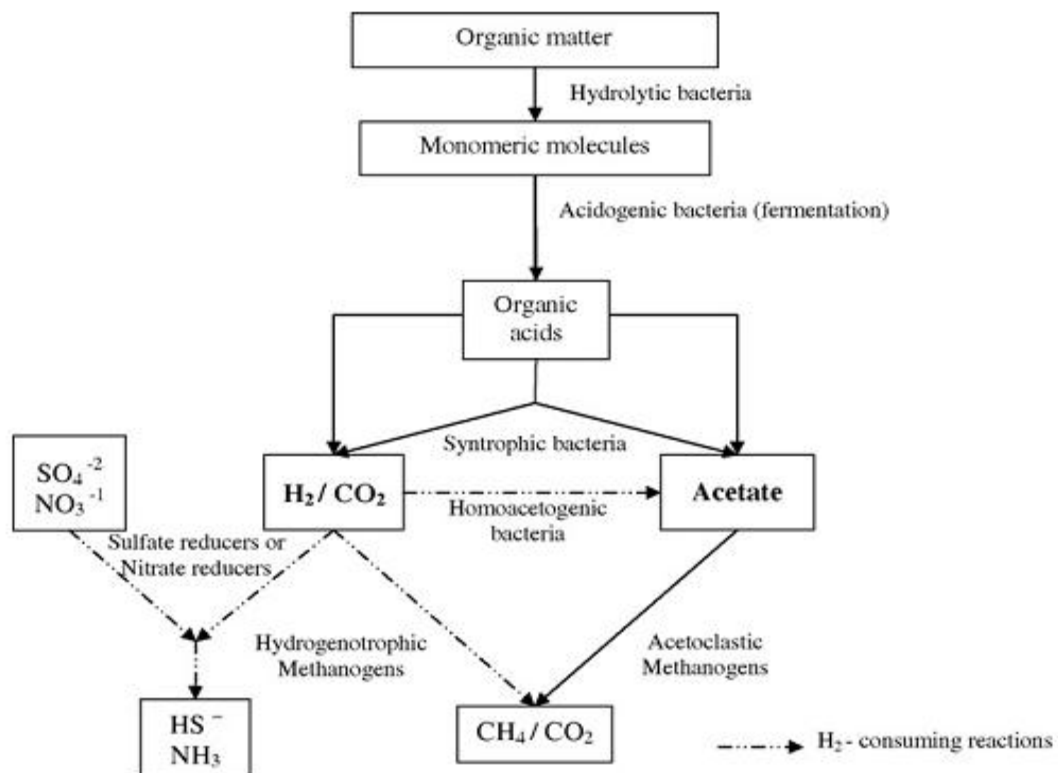
กระบวนการสร้างไฮโดรเจนและกรดอะซิติก (Acetogenesis)

กรดไขมันที่ระเหยง่ายจากกระบวนการสร้างกรดจะถูกแบคทีเรียเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) กรดฟอร์มิก (Formic acid) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) การเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกนั้นถูกดำเนินการโดยกลุ่มจุลินทรีย์โฮโมอะซิโตจีนิค (Homoacetogenic bacteria) ทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน สำหรับแบคทีเรียซินโทรฟิก (Syntrophic bacteria) นั้นจะเปลี่ยนกรดไขมันที่ระเหยง่ายเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) และก๊าซไฮโดรเจน (Müller, 2003)

กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

กรดอะซิติก (Acetic acid) ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จะถูกแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenesis bacteria) ใช้สร้างก๊าซมีเทน แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทนมีทั้งกลุ่มอะซิโตคลาสติกและกลุ่มไฮโดรจีโนโทรฟิก (Acetoclastic/hydrogenotrophic methanogen) จะได้ทั้งก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Garcia, 2000) หากมีแหล่งของไนเตรตและซัลเฟตสามารถเกิดแอมโมเนียและก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ โดยกลุ่มแบคทีเรียไนเตรตรีดิวซิงและซัลเฟตรีดิวซิง (Nitrate-reducing bacteria & Sulfate-reducing bacteria) ส่วนขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยการหมักในสภาวะไร้อากาศ ผลที่เกิดจากกระบวนการคือ ก๊าซชีวภาพซึ่งมีองค์ประกอบของก๊าซมีเทน

การหมักโดยจุลินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้แสงเป็นการหมักที่มีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 1)



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียสภาวะไร้อากาศ
(Valdez-Vazquez and Poggi-Varaldo, 2009)

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพ

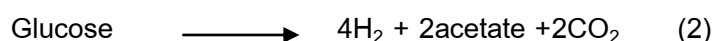
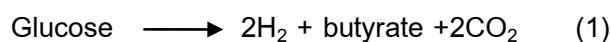
Process	Advantages	Representative Organism	Maximum report rate (mmol H ₂ /l/hr)	References
Direct biophotolysis	Can produce H ₂ from directly from water and sunlight Solar conversion energy increased by tenfold as compared to trees, crops	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	0.07	Levin <i>et.al.</i> , 2004 Mahyudin <i>et.al.</i> , 1997
Indirect biophotolysis	Can produce H ₂ from water Has the ability to fix N ₂ from atmosphere	<i>Anabaena variabilis</i>	0.36	Tanisho <i>et.al.</i> , 1998 Kataoka <i>et.al.</i> , 1997
Photo fermentation	A wide spectral light energy can be used by these bacteria Can use different waste materials like distillery effluents, waste, etc.	<i>Rhodobacter spheroides</i>	0.16	Mizuno <i>et.al.</i> , 2000
Dark fermentation	It can produce H ₂ all day long without light A variety of carbon sources can be used as substrates It produces valuable metabolites such as butyric, lactic and acetic acid as by products It is anaerobic process, so there is no O ₂ limitation problem	<i>Enterobacter cloacae</i> DM 11 <i>Clostridium ap. Strain NO. 2</i>	75.6 64.5	Hussy <i>et.al.</i> , 2003 Lay <i>et.al.</i> , 2000
Two-stage fermentation (dark + photo)	Stoichiometric yield of 12 mol H ₂ per mol hexose represents the ultimate target for biohydrogen	<i>Enterobacter cloacae</i> DM 11 + <i>Rhodobacter sphaeroides</i> OU 001 Mixed microbial flora + <i>Rhodobacter sphaeroides</i> OU 001	51.2 47.92	Lin and Chang, 1999 Kumar and Das, 2000

(ที่มา: Kotay and Das, 2008)

กลไกการเกิดก๊าซไฮโดรเจนในกระบวนการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง

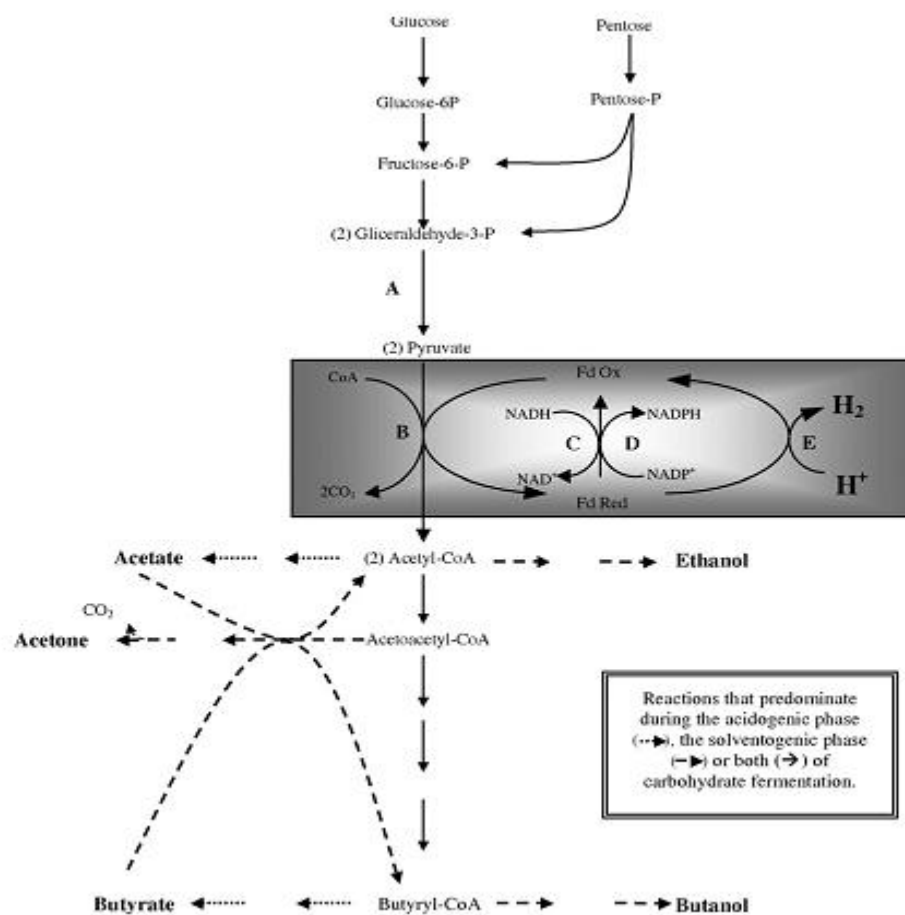
การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะเริ่มต้นที่กระบวนการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง จากสารโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส กรดไขมัน กรดอะมิโน จะเข้าสู่วิถีของ Embden-Meyerhof หรือวิถีไกลโคไลซิส จากกลูโคสเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate โดยปฏิกิริยาฟอสฟอรีเลชัน (Phosphorylation) จนกระทั่งเปลี่ยนไปเป็นกรดไพรูวิก (Pyruvic acid) จากนั้นจะถูกดึงเอาหมู่คาร์บอกซิลออก (Decarboxylation) โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ (Alcohol dehydrogenase) และมีเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และมี NADH (Nicotinamide adenine dinucleotide) เป็น โค-เอนไซม์ (Co-enzyme) โดยสาร NADH จะถูก Ferredoxin ขนถ่ายทอดอิเล็กตรอนไปสู่เอนไซม์ไฮโดรจีเนสที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายทำให้เกิดผลิตก๊าซไฮโดรเจน (รูปที่ 4)

สำหรับการเกิดก๊าซไฮโดรเจนถ้าผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) จะได้ก๊าซไฮโดรเจนถึง 4 โมเลกุล (สมการที่ 2) แต่ถ้าเป็นกรดบิวทริก (Butyric acid) จะเกิดก๊าซไฮโดรเจนเพียง 2 โมเลกุล (สมการที่ 1) ดังนั้นผลผลิตสุดท้ายที่ได้กรดอะซิติกจะสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มากที่สุด (Hawkes et al., 2002)



ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพลังไฮโดรเจนโดยการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากของเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบ ขึ้นกับปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมต่างๆ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกระบวนการ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิ (Temperature) ผลผลิตที่สังเคราะห์ได้จากกระบวนการหมักในขั้นกลาง (Intermediate products) ประเภทของสารอาหารตั้งต้นที่ใช้ในกระบวนการหมัก (Types of substrate) และความเข้มข้นของสารอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile solid concentration) เป็นต้น แต่จะกล่าวสรุปเพียงบางปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ดังนี้คือ



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงกลไกการเกิดไฮโดรเจนโดยวิธีการหมักในสภาวะไม่ใช้แสง
(Jones and Woods, 1986)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาของ Davila-Vazquez และคณะ (2008) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่มีค่าต่ำมาก มีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) ในระบบ ทำให้ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้จากการศึกษาที่ผ่านมารายงานว่า ค่า pH เริ่มต้น (initial pH) ที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 5.0-6.5 และการเปลี่ยนค่า pH ให้สูงขึ้นหรือลดลงจากค่าที่เหมาะสม จะทำให้ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนลดลงประมาณ 20% (Fang et al., 2006 ; Mu Y, 2006 ; Gadhamshetty, 2009) ส่วนค่า pH ประมาณ 4.5 ถือว่าเป็นสภาพที่เหมาะสมในกรณีของ thermophilic culture (Shin et. al., 2004) นอกจากนี้การศึกษาของ Van Ginkel และคณะ (2001) ยังรายงานว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) ที่ 5.5 เป็นค่าที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Gottwald and Gottschalk (1985) ที่มีการใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพิ่มเติมว่า ค่า pH เริ่มต้นในกระบวนการหมักยังมีอิทธิพลต่อระยะเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์ (Lag phase) ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วย โดยพบว่าค่า pH 4.0-4.5 มีผลทำให้ระยะเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์สูงกว่าปกติ (Liu and Shen, 2004; Khanal et. al., 2004) และจะลดลงเมื่อค่า pH อยู่ที่ประมาณ 9.0 (Zhang et. al., 2003)

อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการย่อยสลายอินทรีย์ อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจน การผลิตก๊าซไฮโดรเจน กระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Mu et al., 2006) เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันในแต่ละช่วงอุณหภูมิขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของระบบ ทำให้ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมมีความแตกต่างกันไป การศึกษาวิจัยภายใต้ช่วงอุณหภูมิของ Mesophilic range (30 -37 °C) และการศึกษาวิจัยบางกรณีมีการควบคุมให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิของ Thermophilic range (50-60 °C) (Nielsen et. al., 2001; Ueno et. al., 1996; Palazzi et. al., 2000; Yu et. al., 2002) รวมถึงช่วงอุณหภูมิทั่วไปของบรรยากาศ (Lin and Change, 2004) สามารถสรุปได้ว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและการย่อยสลายของสารอาหารตั้งต้นสามารถเกิดได้เพิ่มขึ้น เมื่อมีการเพิ่มระดับของอุณหภูมิและอยู่ในช่วงอุณหภูมิของ Thermophilic range (50-60 °C) ส่วนการศึกษาของ Wang และ Wan (2008) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 40°C ทำให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 275.1 ml H₂/g glucose

ค่าความเข้มข้นของเหล็ก

กระบวนการผลิตไฮโดรเจนเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (Hydrogenase) โดยเอนไซม์ไฮโดรจีเนสมีเหล็กเป็นองค์ประกอบ จึงทำให้ค่าความเข้มข้นของเหล็กมีส่วนสำคัญในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จากผลการศึกษาของ Zhang และ Shen (2006) พบว่า ค่าความเข้มข้นของเหล็ก 200 มิลลิกรัมต่อลิตรของเหล็กซัลเฟต (FeSO₄) สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ปริมาณสูงสุดมาก 371.7 ml H₂ ที่อุณหภูมิ 35°C

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ก๊าซไฮโดรเจนสามารถผลิตขึ้นได้จากหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งวิธีการผลิตด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนจากของเสียอินทรีย์เป็นหนึ่งในเทคโนโลยีที่ประหยัดและมีความยั่งยืน (Benemann, 1996) โดยมีการศึกษาวิจัยที่ผ่านมามีรายงานว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจาก น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบด้วยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศและไม่มีแสง (Fermentative process and dark condition) ซึ่งเป็นการทดลองแบบกึ่งเทหรือครั้งคราว (Batch test) ในสภาพที่มีค่าพีเอช (pH) 6 และอยู่ภายใต้สภาพอุณหภูมิของบรรยากาศทั่วไปที่ประมาณ 24-25 °C พบว่า ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์แอปเปิ้ล (COD 9 g/L) และมันสำปะหลัง (COD 21 g/L) มีการผลิตอยู่ที่ประมาณ 0.7-0.9 L-H₂/L-wastewater และ 2.1-2.8 L-H₂/L-wastewater รวมถึงน้ำเสียจากกระบวนการผลิตลูกกวาด (COD 0.6-20 g/L) มีปริมาณการผลิตถึง 0.1-2.0 L-H₂/L-wastewater แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียชุมชนเกิดขึ้นในปริมาณที่น้อยมากเพียง 0.01 L-H₂/L-wastewater (Van Ginkel et al., 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอาหารจำพวก ธัญพืช (COD 8.92 g/L) ซึ่งมีปริมาณถึง 0.21 L-H₂/L-wastewater (Oh and Logan, 2005) ส่วนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตไวน์จากข้าว (COD 34 g/L) ด้วยถังปฏิกรณ์แบบไหลขึ้น (Upflow reactor) ในสภาพที่มีค่าพีเอช (pH) 5.5 และอุณหภูมิ 55 °C มีค่าผลผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen yield) อยู่ในช่วงประมาณ 1.37-2.14 mol/mol-hexose (Yu et al., 2002) นอกจากนี้การผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียที่มีแป้งเจือปน (9.2-36.6 g/L) ด้วยระบบการทดลองแบบกึ่งเท (Batch test) ในสภาพที่มีค่าพีเอช (pH) 6.0 และอุณหภูมิ 55 °C มีค่าผลผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen yield) เกิดขึ้นประมาณ 92 ml/ g starch added (Zhang et al., 2003)

อย่างไรก็ตามการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์เป็นส่วนประกอบยังขึ้นกับปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนดังกล่าวด้วย เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งต้น (Initial pH) อุณหภูมิ (Temperature) ผลผลิตที่สังเคราะห์ได้จากกระบวนการหมักในขั้นกลาง (Intermediate products) และชนิดของสารอาหารตั้งต้นที่ใช้ในกระบวนการหมัก (Type of substrates) เป็นต้น (Fang et al., 2005; Wu et al., 2006) จากงานศึกษาวิจัยในบางปัจจัยที่สำคัญมีการรายงานไว้ว่าค่า pH เริ่มต้น (Initial pH) ที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนควรอยู่ในช่วง 5-6 (Fang and Liu, 2002; Khanal et al., 2004; Chen et al., 2001) และค่า pH ประมาณ 4.5 ถือว่าเป็นสภาพที่เหมาะสมในกรณีกระบวนการหมักของ Thermophilic culture (Shin et al., 2004) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาเพิ่มเติมอีกว่าค่า pH เริ่มต้นในกระบวนการหมักยังมีอิทธิพลต่อระยะเวลาปรับตัวของจุลินทรีย์ (Lag phase) ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนอีกด้วยโดยพบว่า ค่า pH 4.0-4.5 มีผลทำให้ระยะเวลาการปรับตัวของจุลินทรีย์ยาวนานกว่าปกติ (Liu and Shen, 2004; Khanal et al., 2004) และใช้เวลาลดลงเมื่อค่า pH อยู่ที่ประมาณ 9.0 (Zhang et al., 2003) ส่วนปัจจัยสภาพแวดล้อมของอุณหภูมิก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยกระบวนการหมักเช่นกัน (Fang et

al., 2002; Ueno et al., 2001) เช่น การศึกษาวิจัยภายใต้ช่วงอุณหภูมิของ Mesophilic range (30-37 °C) และการศึกษาวิจัยบางกรณีที่ควบคุมให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิของ Thermophilic range (50-60 °C) (Ueno et al., 1996; Palazzi et al., 2000; Nielsen et al., 2001; Yu et al., 2002) รวมถึงช่วงอุณหภูมิทั่วไปของบรรยากาศ (20-25 °C) (Lin and Chang, 2004) ซึ่งสรุปไว้ว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและการย่อยสลายของสารอาหารตั้งต้นสามารถเกิดได้สูงเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับของอุณหภูมิ และสามารถเกิดขึ้นได้ดีในช่วงอุณหภูมิของ Thermophilic range (50-60 °C)

นอกจากนี้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพด้วยกระบวนการหมักยังสามารถประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ขึ้นเพื่อตรึงจุลินทรีย์ (Immobilization cell) (Kumar and Das, 2001) โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen-producing bacteria) เพื่อสนับสนุนประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีทั้งการประยุกต์ใช้ในการทดลองแบบกึ่งเท (Batch reactor) และในถึงปฏิริยาชีวภาพแบบกรองทรายไหล (Fluidized bed bioreactor) โดยใช้วัสดุตัวกลางที่สังเคราะห์จากการผสมกันระหว่างอะคริลิก ลาเท็กซ์ (Acrylic latex) และซิลิโคน (Silicon) เพื่อตรึงจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในถึงปฏิริยาชีวภาพแบบกรองทรายไหล ทำให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนอย่างต่อเนื่องและมีอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen production rate) 0.93 ml/h/L และผลผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen yield) 2.67 mol H₂/mol sucrose (Wu et al., 2002, 2006)

ดังนั้นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากของเสียอินทรีย์ด้วยกระบวนการหมัก จำเป็นต้องควบคุมระบบให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และการตรึงจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนไว้บนวัสดุตัวกลางในระบบ พร้อมทั้งการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen-producing bacteria) เพื่อสนับสนุนประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพได้ในปริมาณสูงและมีการผลิตอย่างต่อเนื่อง

ระเบียบวิธีวิจัย (Methodology)

1. ศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร

1.1) เก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารจำนวน 5 แห่ง ที่ตั้งอยู่ในเขตปริมณฑล (โรงงานน้ำผลไม้ 2 แห่ง โรงงานแปรรูปมะพร้าว โรงงานขนมที่ทำจากแป้ง และโรงงานเส้นไหม) ในปริมาณ 10 ลิตรต่อแห่ง และเก็บตัวอย่างภาคตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศในปริมาณ 5 ลิตร ด้วยวิธีการเก็บตัวอย่างแบบจ้วง (Grab sampling) ดังแสดงในรูปที่ 5

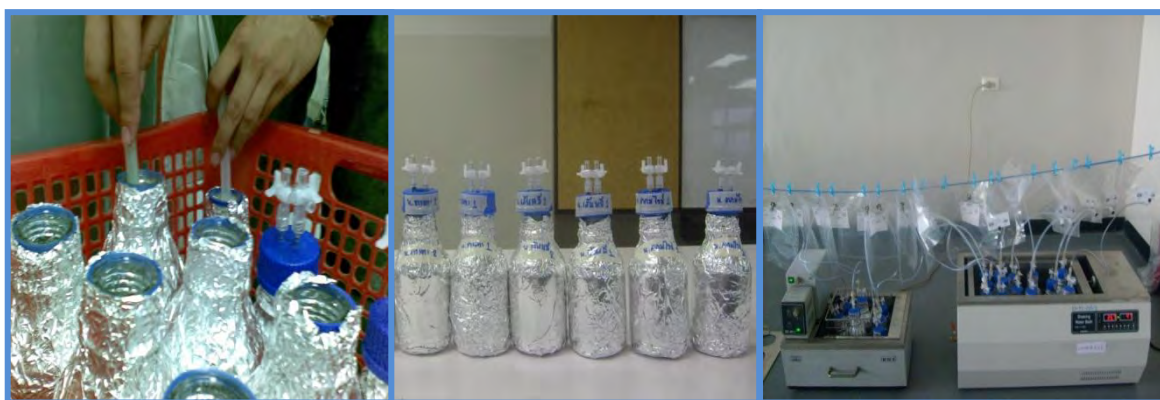
1.2) ตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีที่เกี่ยวข้องของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารจำนวน 5 แห่ง และภาคตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศข้างต้น โดยดำเนินการวิเคราะห์พารามิเตอร์ดังนี้คือ pH, COD, BOD, TKN, TS, TSS, VS และ VSS (APHA, 2005)

1.3) เตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยนำกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียข้างต้นไปผ่านกระบวนการความร้อน (Heat-treated process) ที่อุณหภูมิ 100 °ซ ประมาณ 15 นาที เพื่อยับยั้งแบคทีเรียพวกที่บริโภคไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic bacteria) และกำจัดการสร้างสปอร์ของแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Spore-forming anaerobic bacteria) (Lee et al., 1999) และทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากกากตะกอนของเสีย เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen producing bacteria) โดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 ก./ล. ในสารละลายสต็อกอาหาร (Nutrient stock solution) (การเตรียม 1 ลิตร: 0.5 g NH_4Cl , 0.25 g KH_2PO_4 , 0.25 g K_2HPO_4 , 300 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 25 mg FeCl_3 , 16 mg NiSO_4 , 25 mg CaCl_2 , 11.5 mg ZnCl_2 , 10.5 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 5 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และ 15 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Oh et al., 2003) ในขวดแก้วขนาดปริมาณ 250 มล. ภายใต้กระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนและไม่มีแสง และดำเนินการติดตามตรวจวัดปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนทุกวัน



รูปที่ 5 การเก็บรวบรวมน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภอาหารและกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศ

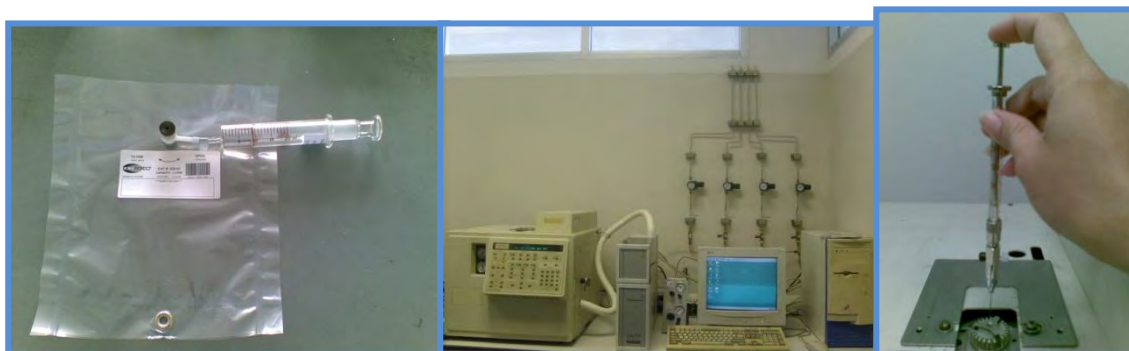
1.4) นำน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารจำนวน 5 โรงงาน ในปริมาณ 180 มล.ต่อโรงงาน และหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่เตรียมจากกากตะกอนของเสียข้างต้นในปริมาณ 20 มล. ใส่ในขวดแก้วทดลองขนาด 250 มล. และทำการปรับสภาพของขวดแก้วทดลองให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนและไร้แสง โดยการพ่นไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ประมาณ 1 นาที และทำการปิดขวดแก้วทดลองด้วยจุกยางพร้อมปิดครอบด้วยฝาเกลียวอีกครั้ง แล้วจึงทำการห่อขวดแก้วทดลองด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) เพื่อป้องกันแสง พร้อมทั้งทำการติดตั้ง ถุงเก็บแก๊ส (Air bag) เข้ากับขวดแก้วทดลองเพื่อบรรจุปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักในระหว่างการทดลองวิจัยและนำขวดแก้วทดลองทั้งหมดวางลงในอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ และการสั่นสะเทือน (Water bath shaker) ที่อัตราเร็ว 120 รอบต่อนาที (rpm) และอุณหภูมิห้อง ซึ่งดำเนินการทดลองแบบกึ่งเทหรือครั้งคราว (Batch experiment) และทำการทดลองแบบซ้ำสองครั้ง (Duplication test) ในชุดการทดลองของน้ำเสียแต่ละโรงงาน ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 กระบวนการหมักทางชีวภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร

1.5) ติดตามตรวจวัดปริมาณก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นจากน้ำเสียแต่ละชนิดจากกระบวนการหมักชีวภาพทุกวันด้วยกระบอกฉีดยาที่ทำด้วยแก้ว (Wet glass syringe) ขนาดปริมาตรต่างๆ (Owen et. al., 1979) และเครื่อง Gas Chromatography-Thermal ionization detector (GC-TCD) (Varian Star 3400) เพื่อใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจน รวมทั้งติดตามตรวจสอบผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Flame conductivity detector (GC-FID) (Thermo Finnigan Model TRACE GC, America) และการตรวจวัดค่าพีเอช (pH) จากน้ำตัวอย่างทุกๆ 2 วัน จนกระทั่งไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบการทดลอง หลังจากนั้นจะตรวจวัดค่าซีโอดี (COD) จากน้ำตัวอย่างของขวดทดลองที่สิ้นสุดการทดลองด้วย ดังแสดงในรูปที่ 7

1.6) คัดเลือกผลการทดลองของน้ำเสียของกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารชนิดที่มีศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด



รูปที่ 7 การตรวจวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักทางชีวภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร

2. ศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 - 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °ซ) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นหมี่

2.1) นำน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารชนิดที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดจากน้ำเสียทั้งหมด 5 โรงงาน (โรงงานเส้นหมี่) ในปริมาณ 180 มล. และหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่เตรียมจากกากตะกอนของเสียข้างต้นในปริมาณ 20 มล. ใส่ในขวดแก้วทดลองขนาด 250 มล. และปรับสภาพค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) ที่ 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 ด้วยสารละลาย 1 M HCl หรือ 1 M KOH

2.2) ดำเนินการปรับสภาพของขวดแก้วทดลองให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนและไร้แสง โดยการพ่นไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ประมาณ 1 นาที และทำการปิดขวดแก้วทดลองด้วยจุกยางพร้อมปิดครอบด้วยฝาเกลียวอีกครั้ง เพื่อป้องกันแก๊สรั่ว แล้วจึงทำการห่อขวดแก้วทดลองด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) เพื่อป้องกันแสง พร้อมนี้ทำการติดตั้งถุงเก็บแก๊ส (Air bag) เข้ากับขวดแก้วทดลองเพื่อบรรจุปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักในระหว่างการทดลองวิจัย และนำขวดแก้วทดลองทั้งหมดวางลงในอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและการสั่นสะเทือน (Water bath shaker) ที่อัตราเร็ว 120 ± 1 รอบต่อนาที (rpm) และอุณหภูมิที่ 35 ± 1 °ซ ซึ่งดำเนินการทดลองแบบกึ่งเทหรือครั้งคราว (Batch experiment) และทำการทดลองแบบซ้ำสองครั้ง (Duplication test) ในชุดการทดลองของน้ำเสียแต่ละโรงงาน

2.3) ติดตามตรวจวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการหมักทางชีวภาพ รวมทั้งการติดตามตรวจสอบกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ค่าพีเอช (pH) และค่าซีโอดี (COD) จากน้ำตัวอย่างในขวดทดลองของกระบวนการหมักทางชีวภาพ (ดำเนินการเหมือนขั้นตอนข้อที่ 1.5))

2.4) คัดเลือกผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °C) ที่ส่งเสริมให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดจากน้ำเสียของโรงงานชนิดที่มีศักยภาพสูงสุด เพื่อใช้เป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองวิจัย ในขั้นตอนอื่นๆ ต่อไป

3. ศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 4.5-7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม

3.1) ดำเนินการทดลองวิจัยเหมือนขั้นตอนข้อที่ 2 ทุกประการ ยกเว้นเรื่องของอุณหภูมิที่ต้องควบคุมให้อยู่ภายใต้สภาพเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C)

3.2) ติดตามตรวจวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการหมักทางชีวภาพ รวมทั้งการติดตามตรวจสอบกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acids) ค่าพีเอช (pH) และค่าซีโอดี (COD) จากน้ำตัวอย่างในขวดทดลองของกระบวนการหมักทางชีวภาพ (ดำเนินการเหมือนขั้นตอนข้อที่ 1.5))

3.3) คัดเลือกผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) ที่ส่งเสริมให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดจากน้ำเสียของโรงงานชนิดที่มีศักยภาพสูงสุด เพื่อใช้เป็นปัจจัยควบคุมในการทดลองวิจัย ในขั้นตอนอื่นๆ ต่อไป

4. การศึกษาชนิดของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำในการส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C)

4.1) เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารชนิดที่มีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดจากน้ำเสียทั้งหมด ได้แก่ น้ำเสียจากโรงงานเส้นไหม (ผลการทดลองจากข้อที่ 1) และทำการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีโดยดำเนินการวิเคราะห์พารามิเตอร์ดังนี้คือ pH, COD, TKN, TS และ TSS (APHA, 2005) และนำน้ำเสียจากโรงงานเส้นไหมในปริมาณ 180 มล. เติมห้วเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่เตรียมจากกากตะกอนของเสียข้างต้นในปริมาณ 20 มล. ใส่ในขวดแก้วทดลองขนาด 250 มล.

4.2) ปรับสภาพค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) ที่เหมาะสมต่อการทดลองคือ 6.5 (ผลการทดลองจากข้อที่ 2 และข้อที่ 3) ด้วยสารละลาย 1 M HCl หรือ 1 M KOH

4.3) ศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (Synthetic media) ทั้ง 2 ชนิดซึ่งมีรูปทรงเป็นวงแหวนกลวง และเติมวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) หรือวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media) ในสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste waster) ที่ 0% (ตัวควบคุม), 2%, 3%, 4%, 5% และ 6% (Zhao et al., 2012)

4.4) ดำเนินการปรับสภาพของขวดแก้วทดลองให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนและไร้แสงโดยการพ่นไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2) ประมาณ 1 นาที และทำการปิดขวดแก้วทดลองด้วยจุกยางพร้อมปิดครอบด้วยฝาเกลียวอีกครั้ง เพื่อป้องกันแก๊สรั่ว แล้วจึงทำการห่อขวดแก้วทดลองด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) เพื่อป้องกันแสง พร้อมนี้ทำการติดตั้งถุงเก็บแก๊ส (Air bag) เข้ากับขวดแก้วทดลองเพื่อบรรจุปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักในระหว่างการทดลองวิจัย และนำขวดแก้วทดลองทั้งหมดวางลงในอ่างน้ำที่สามารถควบคุมอุณหภูมิและการสั่นสะเทือน (Water bath shaker) ที่อัตราเร็ว 120 ± 1 รอบต่อนาที (rpm) และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลอง 55 ± 1 °ซ (ผลการทดลองข้อที่ 3) ซึ่งดำเนินการทดลองแบบกึ่งเทหรือครั้งคราว (Batch experiment) และทำการทดลองแบบซ้ำสองครั้ง (Duplication test) ในชุดการทดลองของน้ำเสีย

4.5) ติดตามตรวจวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการหมักทางชีวภาพ รวมทั้งการติดตามตรวจสอบกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ค่าพีเอช (pH) และค่าซีโอดี (COD) จากน้ำตัวอย่างในขวดทดลองของกระบวนการหมักทางชีวภาพ (ดำเนินการเหมือนขั้นตอนข้อที่ 1.5))

4.6) วิเคราะห์ข้อมูลจากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากการใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์แต่ละชนิดในการส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพสะสมสูงสุดจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของค่ากรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) และสภาพอุณหภูมิ

5. การศึกษารูปทรงที่ต่างกัน (รูปทรงลูกบอล รูปวงแหวนกลวง และรูปวงล้อ) ของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) พร้อมทั้งศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์

5.1) ดำเนินการทดลองวิจัยเหมือนขั้นตอนข้อที่ 4 ทุกประการ แต่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ 3 รูปทรง (รูปทรงลูกบอล รูปวงแหวนกลวง และรูปวงล้อ) ในสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste waster) ที่ 5% ของการทดลองวิจัย (ผลการทดลองข้อที่ 4)

5.2) เมื่อการทดลองในหัวข้อที่ 5.1) ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบแล้ว ดำเนินการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ขบมน้ำในระบบทั้ง 3 (รูปทรงลูกบอล รูปวงแหวนกลวง และรูปวงล้อ) ที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้จากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารด้วยกระบวนการหมักทางชีวภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) JEOL รุ่น JSM-35CF ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยการตรึงวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ไบโอฟิล์ม (Biofilms) ด้วย 2.5% Glutaraldehy ประมาณ 1-2 ชั่วโมง ในตู้เย็น จากนั้นทำการล้างด้วย 0.1 M PBS (pH 7.2-7.4) ที่อุณหภูมิ 4°C จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หลังจากนั้นตรึงวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ไบโอฟิล์ม (Biofilms) ด้วย 1% osmium tetroxide ใน 0.1 M PBS (pH 7.2-7.4) ที่อุณหภูมิ 4°C ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วจึงทำการล้างอีกครั้งด้วย 0.1 M PBS (pH 7.2-7.4) อุณหภูมิ 4°C จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที และทำให้แห้งด้วย (Dehydrate) ด้วย Ethyl Alcohol 70%, 80%, 90%, 95% จำนวน 2 ครั้ง และ 100% 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที ตามลำดับ แล้วจึงนำไปทำแห้ง ณ จุดวิกฤต ด้วยเครื่อง Critical point drying และติดตัวตัวอย่างที่จะนำไปส่องด้วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดบน SEM stub พร้อมเคลือบด้วยทอง

6. การวิเคราะห์ข้อมูลและการแปลผล

นำข้อมูลการติดตามตรวจวัดปริมาตรการผลิตก๊าซชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) และปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) ตามช่วงเวลาที่ได้กำหนดไว้จากผลการทดลอง แปลผลโดยการคำนวณจากสมการประยุกต์ของ Gompertz ดังแสดงไว้ในสมการที่ 1 และ 2 (Van Ginkel et al., 2005) และนำข้อมูลของค่าปริมาณผลผลิตที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acids) ค่าพีเอช (pH) และค่าซีโอดี (COD) ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย (X)

$$H(t) = H_{max} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m}{H_{max}} * e(\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

โดย	$H(t)$	=	จำนวนก๊าซชีวภาพที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลา (t) (มล.)
	H_{max}	=	จำนวนก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้ทั้งหมดในระบบ (มล.)
	R	=	อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ (มล./ชม)
	λ	=	ระยะเตรียมการหรือพักตัว (lag phase) (ชม)
	t	=	ระยะเวลา (ชม)
	e	=	ค่าคงที่ 2.71828

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_H(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (2)$$

โดย	$V_{H,i}$	=	ปริมาตรของก๊าซไฮโดรเจนสะสม ณ ปัจจุบันที่วัด (i)
	$V_{H,i-1}$	=	ปริมาตรของก๊าซไฮโดรเจนสะสมครั้งที่วัดผ่านมา (i-1)
	$V_{G,i}$	=	ปริมาตรของก๊าซชีวภาพทั้งหมด ณ เวลาปัจจุบัน (i)
	$V_{G,i-1}$	=	ปริมาตรของก๊าซชีวภาพทั้งหมดที่วัดผ่านมา (i-1)
	$C_{H,i}$	=	ค่าสัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนในช่องว่างเหนือสารตัวอย่างภายในขวดทดลอง (Headspace) ณ ปัจจุบันที่วัดโดยเครื่อง GC
	$C_{H,i-1}$	=	ค่าสัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนในช่องว่างเหนือสารตัวอย่างภายในขวดทดลอง (Headspace) ครั้งที่วัดผ่านมาโดยเครื่อง GC
	V_H	=	ปริมาตรทั้งหมดของช่องว่างเหนือสารตัวอย่างภายในขวดทดลอง (Headspace)

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผล (Results and Discussion)

1. คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงาน

อุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารและกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศ

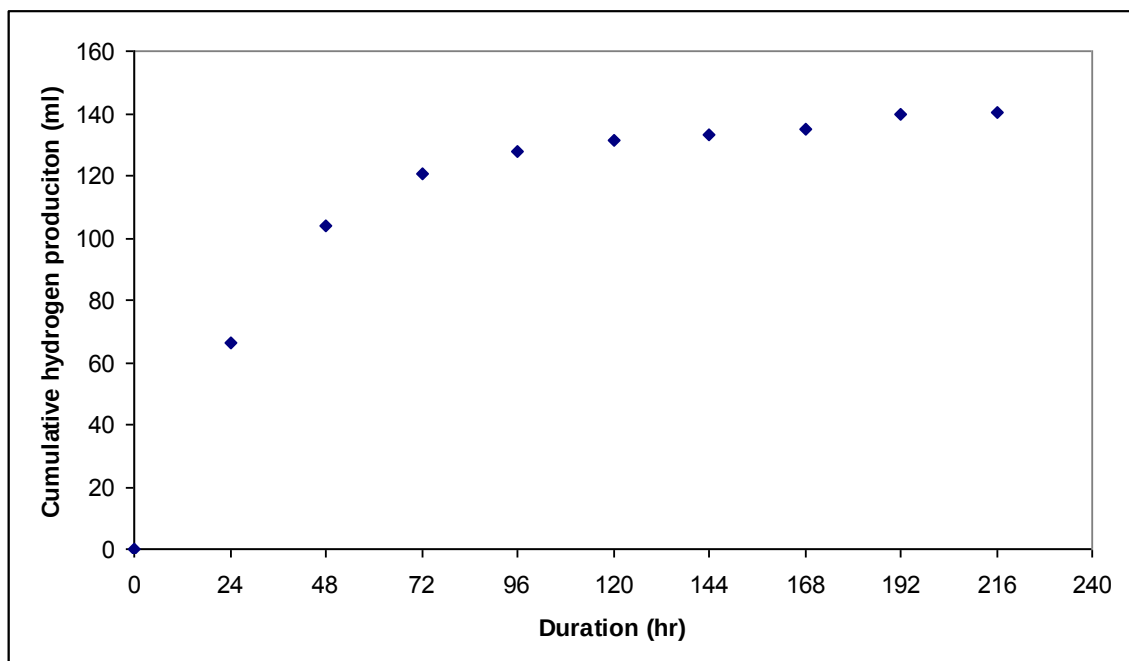
ผลการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารจำนวน 5 แห่ง (โรงงานน้ำผลไม้ 2 แห่ง โรงงานแปรรูปมะพร้าว โรงงานขนมที่ทำจากแป้ง และโรงงานเส้นหมี่) และกากตะกอนของเสียจากระบบบำบัดของเสียแบบไร้อากาศซึ่งดำเนินการวิเคราะห์พารามิเตอร์ดังนี้คือ pH, COD, TKN, TS, TSS, VS และ VSS โดยมีผลวิเคราะห์ และสรุปเป็นภาพรวมดังแสดงในตารางที่ 2

ส่วนกากตะกอนของเสียที่นำมาเลี้ยงเชื้อด้วยกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 ก./ล. ในสารละลายสต็อกอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen producing bacteria) ในขวดแก้วทดลองขนาด 250 มล. ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ในขวดแก้วทดลองเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง ซึ่งมีแนวโน้มของปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนต่อวันได้สูงในช่วง 2 วันแรกของการทดลอง และปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) สูงสุดประมาณ 140 มิลลิลิตรของก๊าซไฮโดรเจน (ml H₂) เมื่อการทดลองผ่านไป 10 วัน ดังแสดงในรูปที่ 8

ตารางที่ 2 คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียอุตสาหกรรมประเภทอาหารและกากตะกอนของเสีย

พารามิเตอร์ (หน่วย)	โรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร					กาก ตะกอน ของเสีย
	โรงงาน น้ำผลไม้ 1	โรงงาน น้ำผลไม้ 2	โรงงาน แปรรูป มะพร้าว	โรงงาน ขนมทำ จากแป้ง	โรงงาน เส้นหมี่	
pH	7.17	5.08	5.52	5.50	5.30	8.23
COD (mg/l)	6,250	4,125	8,275	20,000	4,296	24,300
BOD (mg/l)	2,260	2,270	3,200	3,353	1,096	NA
TKN (mg/l)	52.30	70.40	82.7	13.78	68.04	597
TS (mg/l)	526	7.43	672	6,525	545.60	257,860
TSS (mg/l)	375	0.20	434	4,963.20	303.80	212,750
VS (mg/l)	NA	NA	NA	NA	NA	25,370
VSS (mg/l)	NA	NA	NA	NA	NA	14,327

หมายเหตุ NA = Not analyzed



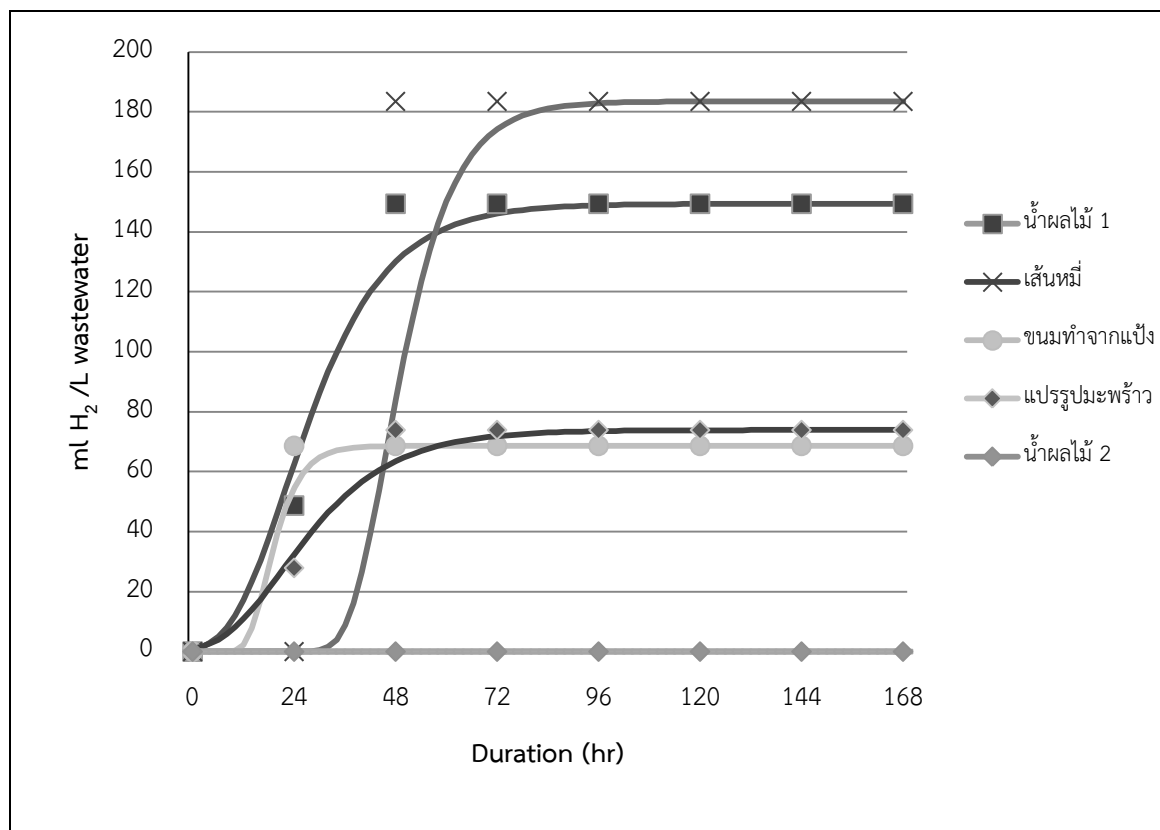
รูปที่ 8 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมของกากตะกอนของเสียที่เลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทดลอง

2. ผลการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรม

เกษตรประเภทอาหาร

จากผลการทดลองของกระบวนการหมักทางชีวภาพในขวดทดลองแบบกึ่งเทวิจัย (Batch test) ภายใต้สภาพไร้อากาศและไม่มีแสงของน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมประเภทอาหารทั้ง 5 โรงงาน (โรงงานน้ำผลไม้ 2 แห่ง โรงงานเส้นไหม โรงงานขนมที่ทำจากแป้ง และโรงงานแปรรูปมะพร้าว) เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์พบว่า ในภาพรวมน้ำเสียของทุกโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ ซึ่งมีค่าการผลิตก๊าซชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) อยู่ในช่วงประมาณ 335 – 1,100 ml biogas/l wastewater และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภาพรวมพบเพิ่มเติมว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 0 – 16.0 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 19.92 – 69.70 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 14.30 – 80.08 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) ไม่พบการผลิตในกระบวนการหมักครั้งนี้

ส่วนผลการทดลองในส่วนของปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมประเภทอาหารทั้ง 5 โรงงานพบว่า น้ำเสียของทุกโรงงานสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ยกเว้นน้ำเสียจากโรงงานน้ำผลไม้ 2 และจุดเริ่มต้นของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในช่วงต้นของกระบวนการหมักของน้ำเสียแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกันตั้งแต่ 8 – 36 ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเนื่องจากเป็นช่วงที่จุลินทรีย์หัวเชื้อต้องใช้เวลาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมนั้นๆ (Lag phase) (Zang Tong et al., 2003) นอกจากนี้ยังพบว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen production) จากน้ำเสียแต่ละชนิด (ยกเว้นน้ำเสียจากโรงงานน้ำผลไม้ 2) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกของการทดลองและมีค่าสูงสุดในช่วงแรกและค่อย ๆ ลดลงจนไม่เกิดการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบการทดลอง ซึ่งการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) จากน้ำเสียแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันโดยเรียงลำดับจากปริมาตรการผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดไปต่ำสุดได้ดังนี้คือ 1) น้ำเสียจากโรงงานเส้นไหมมีการผลิตสูงสุด 183.51 ml H_2 /l wastewater 2) น้ำเสียจากโรงงานน้ำผลไม้ 1 มีการผลิตในประมาณ 149.36 ml H_2 /l wastewater 3) น้ำเสียจากโรงงานแปรรูปมะพร้าวมีการผลิตในปริมาตร 73.90 ml H_2 /l wastewater และ 4) น้ำเสียจากโรงงานขนมทำจากแป้งมีการผลิตในปริมาตร 68.62 ml H_2 /l wastewater ส่วนน้ำเสียจากโรงงานน้ำผลไม้ 2 ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้เลย (รูปที่ 9) ทั้งนี้อาจเนื่องจากคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกันของน้ำเสีย เป็นผลให้ปริมาตรของก๊าซที่ผลิตขึ้นแตกต่างกันไปด้วย ซึ่งผลการทดลองข้างต้นมีความเหมือนกับผลการทดลองที่เคยรายงานไว้ว่า น้ำเสียของแอปเปิ้ล น้ำเสียของมันสำปะหลัง น้ำเสียจากขบวนการผลิตลูกกวาด A และ B สามารถเปลี่ยนเป็นก๊าซไฮโดรเจนได้ในปริมาณ 0.7–0.9 l H_2 /l wastewater, 2.1–2.8 l H_2 /l wastewater, 0.1 l H_2 /l wastewater และ 0.4–2.0 l H_2 /l wastewater ตามลำดับ (Van Ginkel et al., 2001)



รูปที่ 9 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหาร

อย่างไรก็ตามเมื่อติดตามตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมัก น้ำเสียแต่ละชนิดจนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชของกระบวนการหมักมีแนวโน้มลดค่าลงจากค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ในช่วง 4 วันแรกของการทดลองและค่าพีเอชค่อนข้างคงที่ ซึ่งในขณะเดียวกันพบว่าแนวโน้มการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมเริ่มคงที่เช่นกัน โดยมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3.5-6.0 ทั้งนี้อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียและเปลี่ยนรูปเป็นกรดอินทรีย์ (Organic acids) ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และสารอื่นๆ (Khanal et al., 2004) ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่าร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบค่อนข้างต่ำ ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 7.42 – 37.29 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 3.18 – 14.08 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 1.05-11.92 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 0.13 -5.76 mg/l ในระบบ

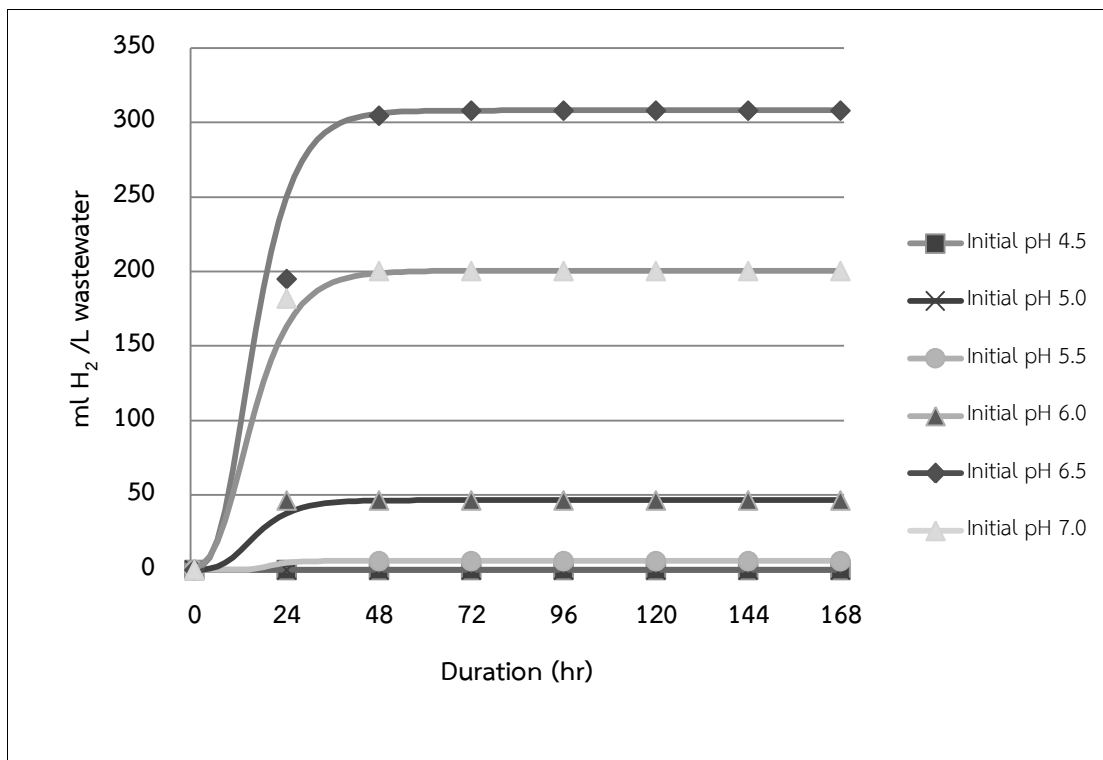
จากผลการทดลองข้างต้น สามารถสรุปได้ว่าน้ำเสียของโรงงานเส้นไหมมีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุด ดังนั้นจึงใช้น้ำเสียประเภทดังกล่าวเป็นตัวแทนของน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารทั้งหมดที่นำมาใช้ในการทดลอง โดยนำมาใช้เป็นสารอาหารตั้งต้นสำหรับการทดลองศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อกระบวนการหมักเพื่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

3. ผลการศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) 4.5-7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °C) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม

จากผลการทดลองของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมที่ควบคุมค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 โดยใช้กระบวนการหมักในขวดทดลองแบบกึ่งเท (batch test) ในสภาพไร้อากาศและไม่มีแสง ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °C) เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์พบว่า ระยะปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเมื่อเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียในช่วงประมาณ 4 - 14 ชั่วโมง ขึ้นกับค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน (Fang et al., 2005) โดยพบแนวโน้มของสภาพที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้ค่อนข้างสูง ซึ่งมีค่าพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 6.0 - 7.0 และมีค่าระยะปรับตัวค่อนข้างสั้นประมาณ 4 - 6 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำเสียของโรงงานเส้นไหมสามารถผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ได้ทุกสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้น และมีปริมาตรการผลิตก๊าซชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) ในภาพรวมอยู่ในช่วงประมาณ 433.75 - 1,176.25 ml biogas/l wastewater ซึ่งปริมาตรการผลิตก๊าซชีวภาพสะสมมีค่าค่อนข้างสูงในสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่อยู่ในช่วง 6.0 - 7.0 เช่นกัน

โดยเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภาพรวมพบว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 0 - 13.86 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 37.47 - 49.06 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 46.49 - 55.85 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) ไม่พบการผลิตในกระบวนการหมักครั้งนี้

นอกจากนี้ผลการทดลองในส่วนของปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหมที่ควบคุมค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5 - 7.0 พบว่า ไม่มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระบบภายใต้สภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 4.5 และ 5.0 ส่วนค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 มีภาพรวมของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในปริมาตรที่ค่อนข้างสูงในช่วงแรกและค่อยๆ คงที่จนไม่เกิดการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบ โดยในสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 - 6.5 พบว่า แนวโน้มของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) มีค่าสูงขึ้นตามลำดับดังนี้คือ 5.92 ml H_2 /l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5) 46.63 ml H_2 /l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.0) และมีค่าสูงสุดประมาณ 307.97 ml H_2 /l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5) ซึ่งปริมาตรการก๊าซไฮโดรเจนสะสมลดปริมาณลงเมื่อค่าพีเอชเริ่มต้นเพิ่มสูงขึ้นที่ 7.0 (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม
ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.5 -7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีไซฟิสิก (35 ± 1 °ซ)

ผลการติดตามตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5 - 7.0 จนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงในช่วง 3 วันแรกและคงที่หลังจากนั้นซึ่งมีค่าพีเอชที่ 3.5 ในทุกการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3 ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า ร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (เทียบกับผลการทดลองข้อที่ 2)) ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 31.25 - 46.88 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 7.50 - 27.08 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 5.05-31.95 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 0.13 -2.66 mg/l ในระบบ

จากผลการทดลองข้างต้น สามารถสรุปได้ว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกันมีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมที่ได้จากกระบวนการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ซึ่งค่าพีเอชเริ่มต้นที่ส่งเสริมให้ระบบ

สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุดภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °ซ) คือ ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5

ตารางที่ 3 ข้อมูลภาพรวมของค่าพีเอชที่ลดลงในระหว่างการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม

ค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH)	ระยะเวลาการหมัก (ชม)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
4.5	4.5	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
5.0	5.0	5.0	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
5.5	5.5	5.5	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
6.0	6.0	5.5	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
6.5	6.5	5.5	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
7.0	7.0	5.5	4.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5

4. ผลการศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) 4.5 - 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม

จากผลการทดลองของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมที่ควบคุมค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 โดยใช้กระบวนการหมักในขวดทดลองแบบกึ่งเท (batch test) ในสภาพไร้อากาศและไม่มีแสง ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) เป็นเวลาประมาณ 8 วันพบว่า ระยะปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเมื่อเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียในช่วงประมาณ 14 - 44 ชั่วโมง ขึ้นกับค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกัน (Fang et al., 2005) โดยพบแนวโน้มของสภาพที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้ค่อนข้างสูง มีค่าพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.5-7.0 นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำเสียของโรงงานเส้นไหมสามารถผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ได้ทุกสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้น และมีปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) ในภาพรวมอยู่ในช่วงประมาณ 805.50 – 2,203.75 ml biogas/l wastewater ซึ่งปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพสะสมมีค่าค่อนข้างสูงในสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5 และ 7.0 โดยเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภาพรวมพบว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 0 – 26.42 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 28.46 – 40.70 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 44.60 – 71.54 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) ไม่พบการผลิตในกระบวนการหมักครั้งนี้

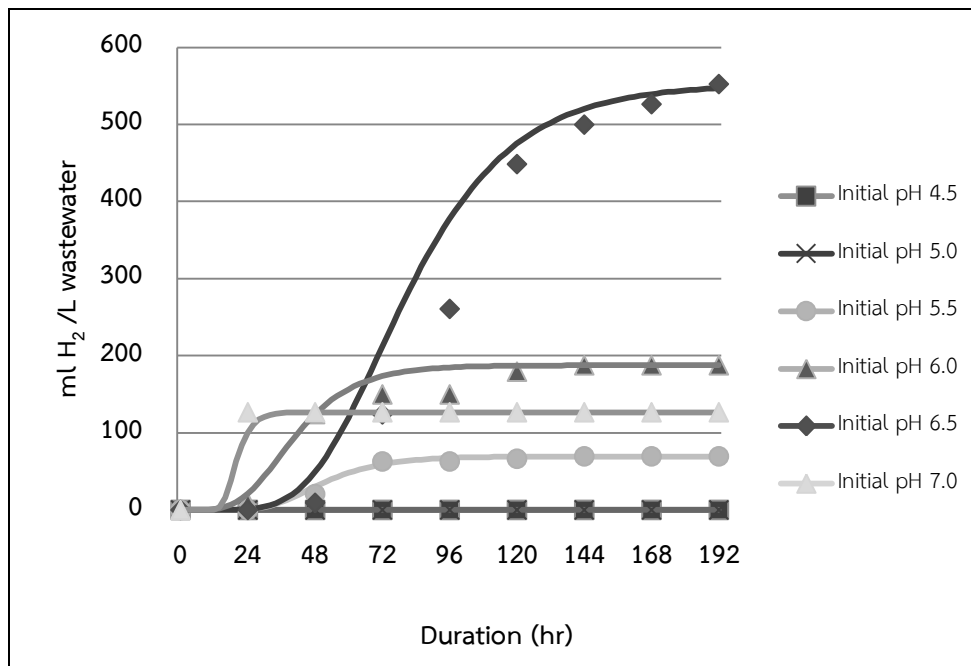
นอกจากนี้ผลการทดลองในส่วนของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหมที่ควบคุมค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5 - 7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิกพบว่า ไม่มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระบบภายใต้สภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 4.5 และ

5.0 ซึ่งค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5, 6.0 และ 6.5 มีภาพรวมของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในปริมาตรที่ค่อนข้างสูงในช่วงวันแรกและค่อยๆ คงที่จนไม่เกิดการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบ ส่วนค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 7.0 มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนค่อนข้างสูงเฉพาะวันแรกและค่อยๆ คงที่ โดยในสภาพของค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 - 6.5 พบว่า แนวโน้มของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) มีค่าสูงขึ้นตามลำดับดังนี้คือ 69.50 ml H₂/l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5) 187.59 ml H₂/l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.0) และมีค่าสูงสุดประมาณ 552.29 ml H₂/l wastewater (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5) ซึ่งปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมลดลงเมื่อค่าพีเอชเริ่มต้นเพิ่มสูงขึ้นที่ 7.0 มีเพียงประมาณ 126.66 ml H₂/l wastewater (รูปที่ 11)

ผลการติดตามตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ตั้งแต่ 4.5 - 7.0 จนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงในช่วง 2 วันแรกและคงที่หลังจากนั้น ยกเว้นในสภาพค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช ดังแสดงในตารางที่ 4 ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า ร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 40.63 – 56.25 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 6.50 – 32.20 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 8.05-38.75 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 0.13 -2.56 mg/l ในระบบ

จากผลการทดลองข้างต้น สามารถสรุปได้ว่าค่าพีเอชเริ่มต้นที่แตกต่างกันและสภาพของอุณหภูมิที่ควบคุมในระบบ มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมที่ได้จากกระบวนการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ซึ่งภายใต้สภาพแวดล้อมดังกล่าวส่งเสริมให้ระบบสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุดที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลผลการทดลองวิจัยทั้งหมดข้างต้น สามารถสรุปในภาพรวมได้ว่า น้ำเสียโรงงานเส้นไหมมีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) สูงสุด และเมื่อนำมาศึกษาต่อถึงปัจจัยสภาพแวดล้อมของค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ที่แตกต่างกันภายใต้อุณหภูมิควบคุมทั้งในสภาพมีโซฟิลิก (Mesophilic condition) (35 ± 1 °C) และเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) พบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5 ส่งเสริมให้กระบวนการหมักภายใต้อุณหภูมิควบคุมทั้งสองมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุด ซึ่งภายใต้อุณหภูมิควบคุมของสภาพเทอร์โมฟิลิก ส่งเสริมให้การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงขึ้น 2-3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการหมักที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ในสภาพมีโซฟิลิก ทั้งนี้อาจเกิดจากอัตราการย่อยสลายของสารอาหารที่สูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Fabiano and Perego, 2002) และ/หรืออาจเกิดจากการเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในกระบวนการหมักของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Wang and Wan,

2008) ดังนั้นอาจกล่าวสรุปได้ว่า ปัจจัยของสภาพแวดล้อมทั้งค่าพีเอชเริ่มต้นและอุณหภูมิถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Wang and Wan, 2009)



รูปที่ 11 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหมที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.5 -7.0 ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)

ตารางที่ 4 ข้อมูลภาพรวมของค่าพีเอชที่ลดลงในระหว่างการหมักของน้ำเสียโรงงานเส้นไหม

ค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH)	ระยะเวลาการหมัก (ชม)								
	0	24	48	72	96	120	144	168	192
4.5	4.5	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
5.0	5.0	4.5	4.5	4.5	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
6.0	6.0	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
6.5	6.5	6.0	6.0	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
7.0	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

5. ผลการศึกษาชนิดของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) และวัสดุตัวกลางที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media) รูปทรงวงแหวนกลวงในการส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยใช้ในสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่แตกต่างกัน

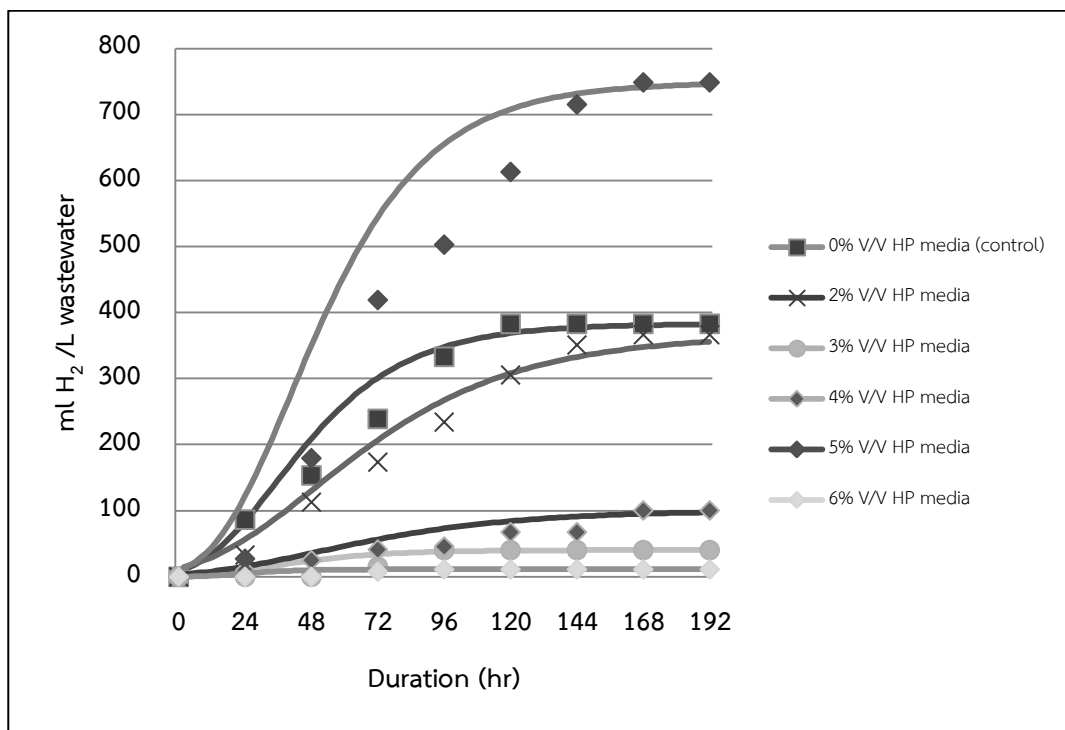
ผลการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากโรงงานเส้นไหม พบว่ามีค่าผลการวิเคราะห์ดังนี้คือ pH 5.5 BOD 998 mg/l, COD 4025 mg/l, TKN 65.50 mg/l, TS 530.60 mg/l และ TSS 295.70 mg/l ส่วนคุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ชอบน้ำและไม่ชอบซึ่งมีรูปทรงแบบวงแหวนกลวง สามารถสรุปเป็นภาพรวมดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (รูปทรงวงแหวนกลวง)

ชนิดของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์	คุณสมบัติทางกายภาพ					
	ชนิดของวัสดุ	เส้นผ่านศูนย์กลางนอก (ภายใน) (mm)	ความสูง (mm)	ปริมาตร (cm ³)	พื้นที่ผิวจำเพาะ (cm ²)	พื้นที่ผิวทั้งหมด (m ² /m ³)
Hydrophilic media	Acrylic type	20 (16)	10	1.13	13.56	432
						
Hydrophobic media	PVC type	20 (16)	10	1.13	13.56	432
						

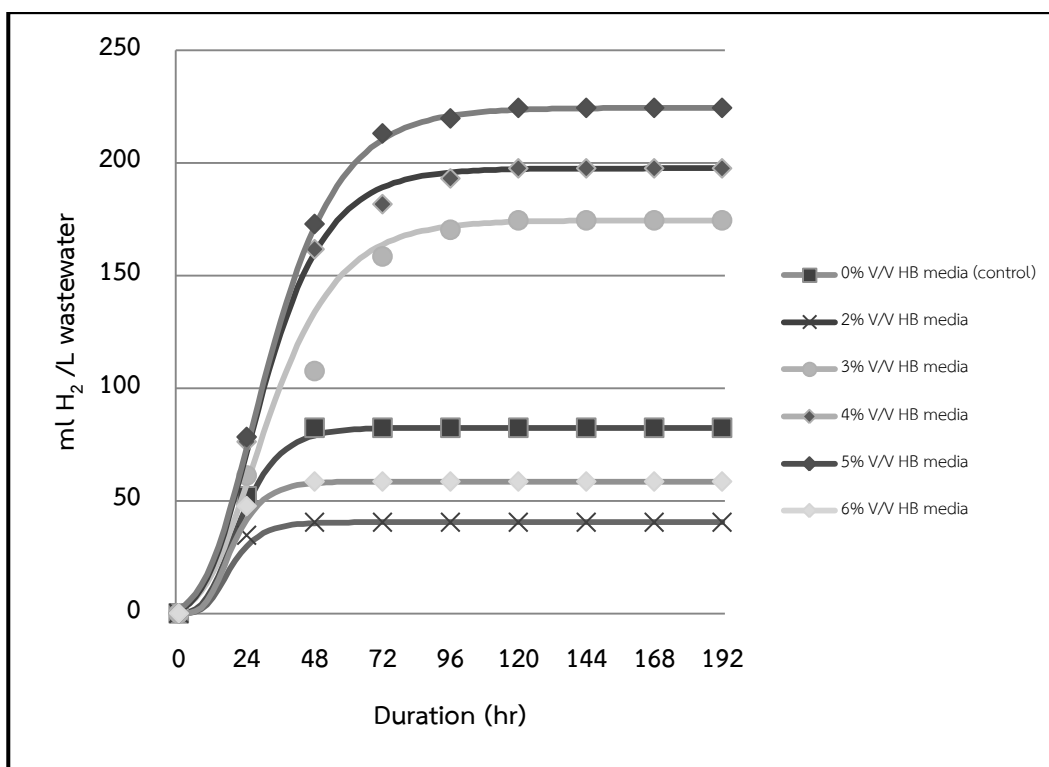
จากผลการทดลองของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมที่ควบคุม ค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ที่ 6.5 โดยใช้กระบวนการหมักในขวดทดลองแบบกึ่งเท (batch test) ในสภาพไร้อากาศและไม่มีแสง ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C) ในการทดลองที่ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดชอบน้ำ (Hydrophilic media; HP media) เป็นเวลาประมาณ 8 วันพบว่า มีระยะปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเมื่อเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียในช่วงประมาณ 8 - 12 ชั่วโมง ขึ้นกับสัดส่วนร้อยละของปริมาตรวัสดุตัวกลางสังเคราะห์และปริมาตรของน้ำเสีย และมีปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) ในภาพรวมอยู่ในช่วงประมาณ 552.50 – 2,405.50 ml biogas/l wastewater และเมื่อดำเนินการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภาพรวมพบว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 0.90 – 40.14 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 17.18 – 32.20 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 47.42 – 68.82 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) ไม่พบการผลิตในกระบวนการหมักครั้งนี้ ส่วนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) มีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water; V/V) จาก 2%, 3% และ 4% (V/V) เมื่อเทียบกับ 0% (V/V) (ตัวควบคุม) และมีค่าสูงสุดเมื่อใช้สัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 5% (V/V) และลดค่าต่ำลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 6% (V/V) ตามลำดับดังนี้คือ 366.55 ml H_2 /l wastewater (2% V/V HP media) 40.41 ml H_2 /l wastewater (3% V/V HP media) และ 100.46 ml H_2 /l wastewater (4% V/V HP media) ซึ่งมีค่าสูงสุดประมาณ 748.71 ml H_2 /l wastewater (5% V/V HP media) และปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมกลับลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 6% V/V HP media ซึ่งมีค่าประมาณ 11.18 ml H_2 /l wastewater (รูปที่ 12) นอกจากนี้ผลการติดตามตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5) จนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงในช่วง 3 วันแรกและคงที่หลังจากนั้น โดยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง พบว่ามีค่าพีเอชลดลงคงที่อยู่ที่ 4.5 ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า ร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 40.50 – 59.40 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 2.50 – 5.20 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 16.05 - 45.75 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 1.13 - 2.56 mg/l ในระบบ

อย่างไรก็ตามเมื่อดำเนินการทดลองผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหมที่ควบคุมค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ที่ 6.5 โดยใช้กระบวนการหมักในขวดทดลองแบบกึ่งเท (batch test) ในสภาพไร้อากาศและไม่มีแสง ภายใต้สภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ) โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic media; HB media) เป็นเวลาประมาณ 8 วันพบว่า มีระยะปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเมื่อเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียประมาณ 8 ชั่วโมง ในทุกๆ สัดส่วนร้อยละของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water; V/V) และมีปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) ในภาพรวมอยู่ในช่วงประมาณ 517.50 – 1,105.50 ml biogas/l wastewater และเมื่อดำเนินการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในภาพรวมพบว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 3.33 – 17.81 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 13.43 – 35.31 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 57.08 – 68.76 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) ไม่พบการผลิตในกระบวนการหมักครั้งนี้



รูปที่ 12 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหมโดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (รูปทรงแบบวงแหวนกลวง) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)

ส่วนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water; V/V) จาก 2%, 3% และ 4% (V/V) และมีค่าสูงสุดเมื่อใช้สัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 5% (V/V) และกลับมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 6% (V/V) ตามลำดับดังนี้คือ 40.43 ml H₂/ l wastewater (2% V/V HB media) 174.41 ml H₂/l wastewater (3% V/V HB media) และ 197.48 ml H₂/l wastewater (4% V/V HB media) โดยมีค่าสูงสุดประมาณ 224.31 ml H₂/l wastewater (5% V/V HB media) และปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมกลับลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสียที่ 6% (V/V HB media) ซึ่งมีค่าประมาณ 58.51 ml H₂/l wastewater (รูปที่ 13) นอกจากนี้ผลการติดตามตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5) จนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงในช่วง 2 วันแรกและคงที่โดยหลังจากนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง พบว่ามีค่าพีเอชลดลงคงที่อยู่ที่ 5.0 ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า ร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 27.42 – 39.29 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 2.50 – 5.20 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 5.05 - 25.75 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 1.15 - 2.70 mg/l ในระบบ



รูปที่ 13 กราฟแสดงปริมาณการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดไม่ชอบน้ำ (รูปทรงแบบวงแหวนกลวง) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)

จากผลการทดลองข้างต้น สามารถกล่าวสรุปได้ว่าการควบคุมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอช เริ่มต้นที่ 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °ซ)) รวมทั้ง การใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) ในสัดส่วนของปริมาณของ วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste waster; V/V) ที่ 5% ส่งเสริม ให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ทั้งนี้อาจเกิดจากกลุ่มของ แบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเกาะบนผิวของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (Biofilm) ที่ใช้ในการทดลองวิจัย สนับสนุนให้มีแหล่งจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพของระบบเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยอื่นๆ (Wu et al., 2005; Wu and Chang, 2007; Bai et al., 2009)

6. ผลการศึกษารูปทรงที่ต่างกันของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ขอบน้ำต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์

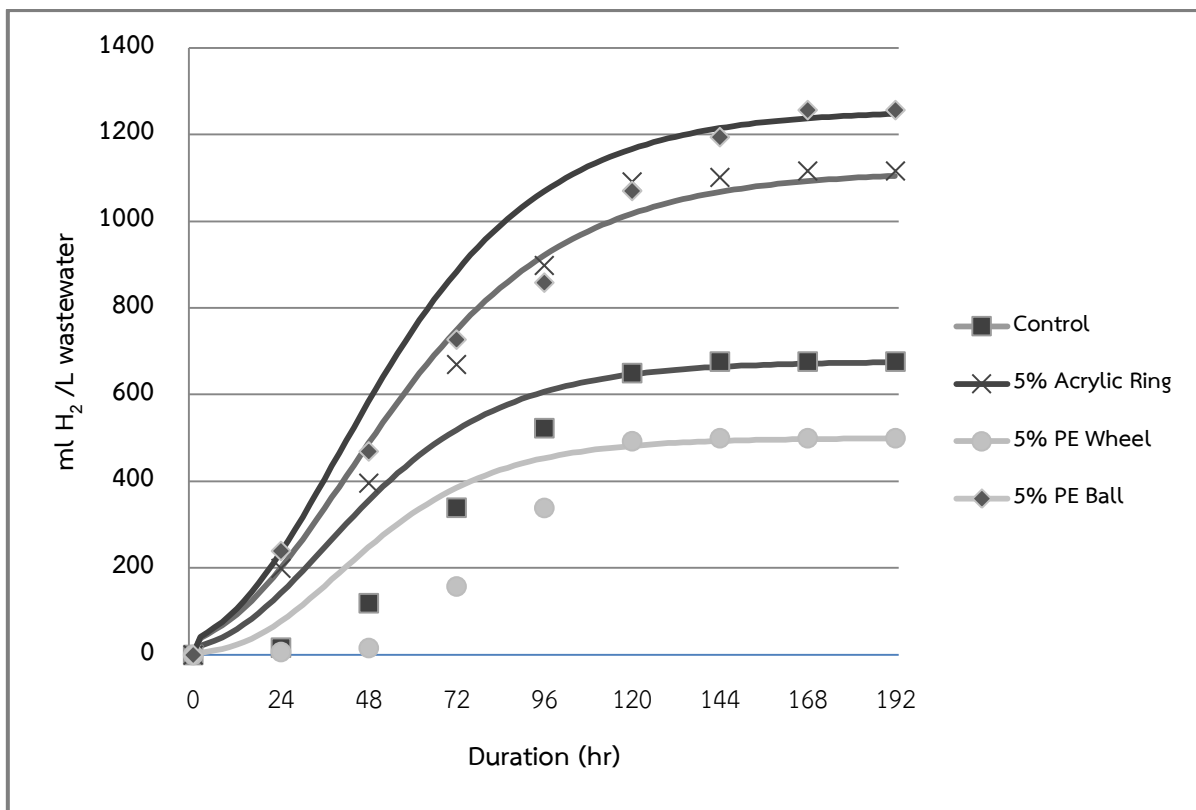
ผลการตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่ขอบน้ำในรูปทรงที่ต่างกัน (รูปทรงลูกบอล รูปทรงวงแหวนกลวง และรูปทรงวงล้อ) สามารถสรุปเป็นภาพรวมดังแสดงในตารางที่ 6 และผลการทดลองของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอชเริ่มต้น (Initial pH) ที่ 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C)) โดยใช้กระบวนการหมักในขวดทดลองแบบกึ่งเท (batch test) ในสภาพไร้อากาศและไม่มีแสง โดยการทดลองนี้ได้ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดขอบน้ำ (Hydrophilic media; HP media) ทั้ง 3 รูปทรงตามที่กล่าวมาข้างต้นในสัดส่วนของปริมาตรวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำและปริมาตรของน้ำเสียที่ 5% เป็นเวลาประมาณ 8 วันพบว่า มีระยะปรับตัว (Lag phase) ของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเมื่อเริ่มผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสีย ในช่วงประมาณ 8 - 14 ชั่วโมง ขึ้นกับรูปทรงของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำ และมีปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพสะสม (Cumulative biogas production) ในภาพรวมอยู่ในช่วงประมาณ 802.50 – 2,500.50 ml biogas/l wastewater และเมื่อดำเนินการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภาพรวมพบว่า มีสัดส่วนร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ประมาณ 17.96 – 36.62 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละประมาณ 5.99 – 12.21 และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ร้อยละประมาณ 35.88 – 52.38 ส่วนก๊าซมีเทน (CH_4) พบว่ามีการผลิตขึ้นในระบบปริมาตรต่ำร้อยละประมาณ 5.07 – 10.60 และการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) สูงสุดพบในระบบที่มีการประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำรูปทรงลูกบอลซึ่งสามารถผลิตได้ในปริมาตร 1,256.50 ml H_2 /l wastewater (5% V/V PE Ball) และการประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำรูปทรงวงแหวนกลวงสามารถผลิตได้ในปริมาตร 1,116.15 ml H_2 /l wastewater (5% V/V Acrylic Ring) ส่วนการประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำรูปทรงวงล้อมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้ในปริมาตรต่ำ 499.90 ml H_2 /l wastewater (5% V/V PE Wheel) ซึ่งมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมต่ำกว่าตัวควบคุม (676.53 ml H_2 /l wastewater) ของการทดลองครั้งนี้ (รูปที่ 14)

นอกจากนี้ผลการติดตามตรวจตรวจสอบข้อมูลค่าพีเอช (pH) ของวันเริ่มต้นกระบวนการหมักน้ำเสียโรงงานเส้นไหมภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ 6.5) จนถึงวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพ (Biogas production) ในระบบทดลองพบว่า ค่าพีเอชในภาพรวมมีแนวโน้มลดลงจากวันแรกและค่าพีเอชวันสุดท้ายของการทดลองอยู่ที่ 4.0 ส่วนค่าซีโอดี (COD) ในวันเริ่มต้นการทดลองและวันสิ้นสุดการทดลองซึ่งเป็นวันที่ไม่มีการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า ร้อยละของการกำจัดซีโอดี (% COD removal) ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม ซึ่งมีภาพรวมข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 34.38 – 43.75 และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการ

หมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมพบว่า มีการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจำพวกกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 8.70 – 35.50 mg/l และกรดอะซิติก (Acetic acid) 10.05-45.50 mg/l ตามลำดับ แต่พบการผลิตค่อนข้างต่ำของ กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) ประมาณ 0.13 -1.50 mg/l ในระบบ

ตารางที่ 6 คุณสมบัติเบื้องต้นของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ

รูปทรงของวัสดุตัวกลาง สังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (Shape of hydrophilic media)	คุณสมบัติทางกายภาพ					
	ชนิด ของวัสดุ	เส้นผ่าน ศูนย์กลาง ภายนอก (ภายใน) (mm)	ความสูง (mm)	ปริมาตร (cm ³)	พื้นที่ผิว จำเพาะ (cm ²)	พื้นที่ผิว ทั้งหมด (m ² /m ³)
รูปทรงวงแหวนกลวง 	Acrylic type	20 (16)	10	1.13	13.56	432
รูปทรงลูกบอล 	PE type	20	20	1.00	100	250
รูปวงล้อ 	PE type	11	7	0.20	34.65	850



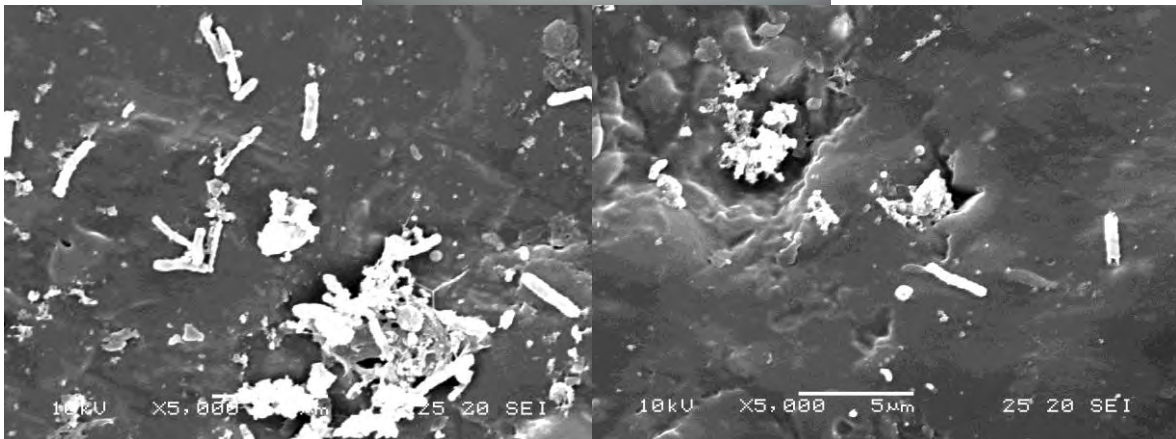
รูปที่ 14 กราฟแสดงปริมาตรการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำเสียของโรงงานเส้นไหม โดยใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบทั้ง 3 รูปทรง (5% V/V) ภายใต้ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °ซ)

สำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำทั้งรูปทรงลูกบอล รูปทรงวงแหวนกลวง และรูปทรงวงล้อ พบจุลินทรีย์ที่มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนกลมเรียวยาว (Rod shape) (Basile et al., 2010; Singh et al., 2013) โดยมีลักษณะการตรึงเกาะของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันคือ จุลินทรีย์มีการตรึงเกาะบนผิววัสดุตัวกลางในลักษณะเป็นกลุ่มบนวัสดุตัวกลางรูปทรงลูกบอลและรูปทรงวงล้อ แต่พบการตรึงของจุลินทรีย์แบบเป็นกลุ่มค่อนข้างน้อยบนวัสดุตัวกลางของรูปทรงวงล้อ (รูปที่ 15-16) ในขณะที่พบการตรึงเกาะของจุลินทรีย์บนผิวของวัสดุตัวกลางรูปทรงวงแหวนกลวงในลักษณะเป็นแบบโครงข่าย (รูปที่ 17) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวัสดุตัวกลางรูปทรงวงแหวนกลวงมีคุณสมบัติทางกายภาพของผิวภายนอกค่อนข้างเรียบเมื่อเทียบกับวัสดุตัวกลางสังเคราะห์รูปทรงลูกบอลและวงล้อ และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำทั้ง 3 รูปทรงพบว่า การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเกิดขึ้นในรูปทรงลูกบอล ทั้งนี้อาจเกิดจากคุณสมบัติทางกายภาพของพื้นที่ผิวจำเพาะของลูกบอลมีค่าสูง ทำให้

แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen producing bacteria) ในระบบสามารถตรึงเกาะบนผิวของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ได้เพิ่มมากขึ้น (Zhang et al., 2008a)



(ก)

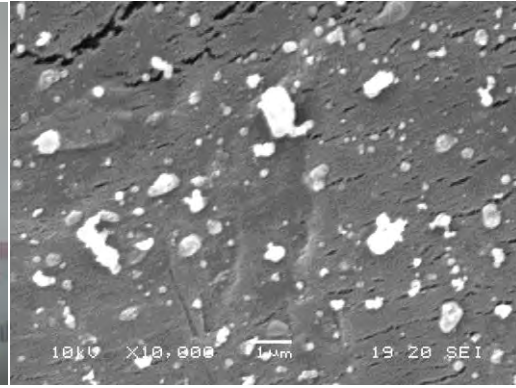


(ข)

รูปที่ 15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ขอบน้ำรูปทรงลูกบอลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (ก) รูปร่างและขนาดของลูกบอล และ (ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของลูกบอลที่กำลังขยาย 5,000 เท่า ของสเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร



(ก)

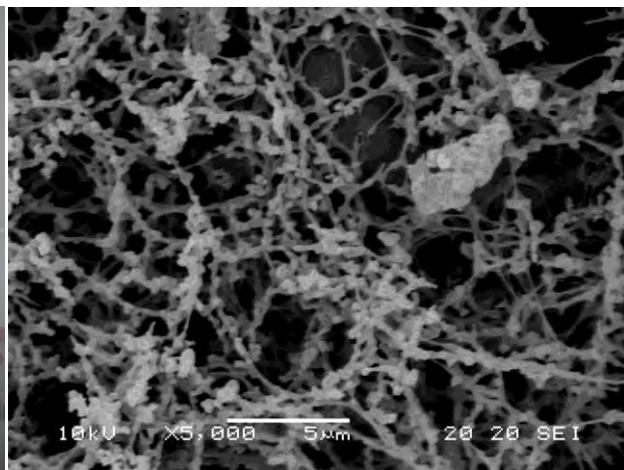


(ข)

รูปที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ
รูปวงล้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (ก) รูปร่างและขนาดของวงล้อ และ
(ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของวงล้อที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ของสเกลบาร์ 1 ไมโครเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ
รูปแหวนกลวงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด:
(ก) รูปร่างและขนาดของวงแหวนกลวง และ (ข) การตรึงของจุลินทรีย์บนผิวของวงแหวนกลวงที่
กำลังขยาย 5,000 เท่า ของสเกลบาร์ 5 ไมโครเมตร

จากผลการทดลองข้างต้น สามารถกล่าวสรุปได้ว่าการควบคุมสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (ค่าพีเอช เริ่มต้นที่ 6.5 และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic condition) (55 ± 1 °C)) รวมทั้ง การใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ (Hydrophilic media) รูปทรงลูกบอล (PE Ball) ในสัดส่วน ของปริมาตรของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ต่อน้ำเสีย (Volume of media/Volume of waste water; V/V) ที่ 5% ส่งเสริมให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดจากน้ำเสียโรงงานเส้นไหม ทั้งนี้อาจเกิด จากกลุ่มของแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนสามารถตรึงเกาะบนผิวภายนอกของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ (Biofilm) ที่ใช้ในการทดลองวิจัย สนับสนุนให้มีแหล่งจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ทางชีวภาพในระบบเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยอื่นๆ (Wu et al., 2005; Wu and Chang, 2007; Bai et al., 2009)

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

ข้อสรุปของผลการทดลอง

1. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสม (Cumulative hydrogen production) จากน้ำเสียของกระบวนการผลิตอุตสาหกรรมเกษตรประเภทอาหารจำนวน 5 โรงงานเกิดขึ้นแตกต่างกัน โดยเรียงลำดับจาก ปริมาณการผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดไปต่ำสุดได้ดังนี้คือ 1) น้ำเสียโรงงานเส้นไหมมีการผลิตสูงสุด 183.51 ml H₂/l wastewater 2) น้ำเสียโรงงานน้ำผลไม้ 1 มีการผลิตในประมาณ 149.36 ml H₂/l wastewater 3) น้ำเสียโรงงานแปรรูปมะพร้าวมีการผลิตในปริมาณ 73.90 ml H₂/l wastewater และ 4) น้ำเสียโรงงานขนมทำจากแป้งมีการผลิตในปริมาณ 68.62 ml H₂/l wastewater ส่วนน้ำเสียโรงงาน น้ำผลไม้ 2 ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้เลย

2. ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น (Initial pH) และสภาพอุณหภูมิแบบเทอร์โมฟิลิก (55 ± 1 °C) (Thermophilic condition) เป็นสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมจาก น้ำเสียโรงงานเส้นไหม (552.29 ml H₂/l wastewater) และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก ก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมของระบบ พบ การผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายส่วนใหญ่จำพวกกรดอะซิติก (Acetic acid) 8.05-38.75 mg/l และกรด บิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 6.50 – 32.20 mg/l ตามลำดับ ส่วนกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) พบในปริมาณต่ำประมาณ 0.13 -2.56 mg/l

3. การประยุกต์ใช้วัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำในสัดส่วนของปริมาตรวัสดุตัวกลาง สังเคราะห์ต่อปริมาตรของน้ำเสียโรงงานเส้นไหมที่ 5% (V/V) ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ส่งเสริมให้เกิดการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมแตกต่างกันขึ้นกับรูปทรงของวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ โดยเรียงลำดับจากสูงสุดไปต่ำสุดได้ดังนี้คือ 1) 1,256.50 ml H₂/ l wastewater (5% V/V PE Ball) 2) 1,116.15 ml H₂/ l wastewater (5% V/V Acrylic Ring) และ 3) 499.90 ml H₂/ l wastewater (5% V/V PE Wheel) ซึ่งมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมต่ำกว่าตัวควบคุม (676.53 ml H₂/l wastewater) และค่าผลผลิตที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน (Intermediate products) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs) ในภาพรวมของระบบ พบการผลิตกรดอินทรีย์ระเหยง่ายส่วนใหญ่

จำพวกกรดอะซิติก (Acetic acid) 10.05-45.50 mg/l และกรดบิวทริก (Butyric acid) ประมาณ 8.70 – 35.50 mg/l ตามลำดับ ส่วนกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) พบในปริมาณต่ำประมาณ 0.13 -1.50 mg/l

4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ตรึงเกาะบนวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ชนิดที่ชอบน้ำ ทั้ง 3 รูปทรงมีรูปร่างเป็นท่อน (Rod shape) โดยจุลินทรีย์ตรึงเกาะบนผิววัสดุตัวกลางรูปทรงลูกบอล และรูปทรงวงล้อในลักษณะเป็นแบบกลุ่ม และจุลินทรีย์ตรึงเกาะบนผิวของวัสดุตัวกลางรูปทรงวงแหวน กลางในลักษณะเป็นแบบโครงข่าย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการส่งเสริมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพเพิ่มเติม เช่น ความเข้มข้นของโลหะที่ปนเปื้อนมากับของน้ำเสีย อัตราการป้อนสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในการเข้าระบบ ระยะเวลาเก็บกัก เป็นต้น เพื่อช่วยสนับสนุนการออกแบบระบบการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพแบบต่อเนื่อง (Continuous system)
2. ควรศึกษาวัสดุตัวกลางสังเคราะห์ที่มีชีวประจุหรือวัสดุตัวกลางจากธรรมชาติ (เช่น ไยปอ ไยป่าน และไยบวบ) ในการประยุกต์ใช้เพื่อส่งเสริมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสีย
3. ควรศึกษาเพิ่มเติมถึงอณูชีววิทยา (Molecular biology) ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดในระบบ เพื่อให้ทราบถึง % Similarity ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุดจากน้ำเสีย

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554), สำนักนายกรัฐมนตรี, กรุงเทพมหานคร, 2550.
- American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington D.C. 2005.
- Bai MD, Chao YC, Lin YH, Lu WC, Lee HT. Immobilized biofilm used as seeding source in batch biohydrogen fermentation. *Renewable Energy*. 2009; 34: 1969 -1972.
- Basile MA, Dipasquale L, Gambacorta A, Vella MF, Calarco A, Cerruti P, Malinconico M, d' Ayala GG. The effect of the surface charge of hydrogel supports on thermophilic biohydrogen production. *Bioresource Technology*. 2010; 101: 4386-4394.
- Das D, Veziroglu TN. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *Int. J. Hydrogen Energy*. 2001; 26: 13-28.
- Benemann JR. Feasibility analysis of photobiological hydrogen production. *Int J Hydrogen Energy*. 1997; 22: 979 – 987.
- Department of Energy. Hydrogen Production. 2006. (online). Available URL: <http://www.hydrogen.energy.gov/production.html>. (March, 2013)
- Fabiano B, Perego, P. Thermodynamics study and optimization of hydrogen by *Enterobacter aerogenes*. *Int J Hydrogen Energy*. 2002; 27: 149 – 156.
- Fang HHP, Liu H, Zhang T. Phototropic hydrogen production from acetate and butyrate in wastewater. *Int J Hydrogen Energy*. 2005; 30: 785 – 793.
- Gadhamshetty V, Johnson DC, Nirmalakhandan N, Smith GB, Deng S. Feasibility of biohydrogen production at low temperatures in unbuffered reactors. *Int J Hydrogen Energy*. 2009; 34 (3): 1233–1243.
- Gacia JL, Patel BKC, Ollivier B. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic archaea. *Anaerobe*. 2000; 6: 205-26.
- Gottwald M, Gottschalk G. The internal pH of *Clostridium acetobutylicum* and its effect on the shift from the acid to solvent formation. *Arch Microbiol*. 1985; 143(1): 42–46.
- Hawkes FR, Dinsdale R, Hawkes DL, Hussy I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. *Int J Hydrogen Energy*. 2002 (27): 1339-1347.
- Jones DT, Woods DR. Acetone–butanol fermentation revisited. *Microbiol Rev*. 1986; 50(4): 484–524.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Khanal KS, Chen WH, Li L, Sung S. Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *Int. J. Hydrogen Energy*. 2004; 29: 1123-1131.
- Kotay SK, Das D. Biohydrogen as a renewable energy resource—Prospects and potentials. *Int J Hydrogen Energy*. 2008; 33: 258 – 263.
- Kruse B, Grinna S, and Buch C. [online] 2002 [cited 2013 Mar. 2]. Hydrogen. Available from [http:// www.bellona.no/data/f/0/26/97/0_9811_1/Hydrogen_6](http://www.bellona.no/data/f/0/26/97/0_9811_1/Hydrogen_6) - 2002.
- Lee YJ, Miyahara T, Noike T. Effect of pH on the microbial hydrogen fermentation. In: *Proceedings of the 6th IAWQ Asian-Pacific Conference, Taipei, 1999*. 215-220.
- Levin DB, Pitt L, Love M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int J Hydrogen Energy*. 2004; 29: 173 –185.
- Liu G, Shen J. Effects of culture medium and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *J Biosci Bioeng* 2004; 98: 251-256.
- Maddy J, Cheeryman S, Hawkes FR, Hawkes DL, Dinsdale RM, Guwy AJ, Premier GC, Cole S. Hydrogen 2003. Report No. 1, ERDF part-funded project entitled “A sustainable energy supply for Wales: towards the hydrogen economy”. University of Glamorgan, Wales, UK.
- Mu Y, Wang G, Yu HQ. Response surface methodological analysis on biohydrogen production by enriched anaerobic cultures. *Enzyme Microbiol Technol*. 2006; 38(7): 905–913.
- Müller V. Energy conservation in acetogenic bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69(11): 6345-6353.
- Nielsen AT, Amandusson H, Bjorklund R, Dannerun H, Ejlerstsson J, Ekedahl LG, Lundstrom I, Sevansson BH. Hydrogen production from organic waste. *Int J Hydrogen Energy*. 2001; 26: 547-550.
- Owen WF, Stuckey DC, Healy JB, Young LY, Mccarty PL. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Res*. 1979; 13: 485 – 492.
- Palazzi E, Fabiano B, Perego P. Process development of continuous hydrogen production by *Enterobacter aerogenes* in a packed column reactor. *Bioprocess Engineering*. 2000; 22: 205-213.
- Singh L, Siddiqui MF, Ahmad A, Rahim MHA, Sakinah M, Wahid ZA. Application of polyethylene glycol immobilized *Clostridium* sp. LS2 for continuous hydrogen production from palm oil mill effluent in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biochemical Engineering Journal*. 2013; 70: 158-165.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Segers L, Verstraete W. Conversion of organic acids to H₂ by *Rhodospirillaceae* grown with glutamate or dinitrogen as nitrogen source. *J Biotechnol Bioeng.* 1983; 25: 2843-2853.
- Shin HS, Youn JH, Kim SH. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *Int J Hydrogen Energy.* 2004; 29: 1355-1363.
- Ueno Y, Otsuka S, Morimoto M. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemstat culture. *J Ferment Bioeng.* 1996; 2; 194-197.
- Van Ginkel SW, Sung S, Lay JJ. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. *Environ Sci Technol.* 2001; 35: 4726 – 4730.
- Van Ginkel SW, Oh SE, Logan BE. Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *Int J Hydrogen Energy.* 2005; 30: 1535 – 1542.
- Valdez-Vazquez I, Poggi-Varaldo HM. Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2009; 13 (5). 1000-1013.
- Wang JL, Wan W. Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. *Int J Hydrogen Energy.* 2008; 33: 5392-5397.
- Wang JL, Wan W. Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. *Int J Hydrogen Energy.* 2009; 34: 799-811.
- Wu KJ and Chang JS. Batch and continuous fermentative production of hydrogen with anaerobic sludge entrapped in a composite polymeric matrix. *Process Biochemistry.* 2007; 42: 279-284.
- Wu YS, Lin CN, Chang JS, Chang JS. Biohydrogen production with anaerobic sludge immobilized by ethylene-vinyl acetate copolymer. *Int J Hydrogen Energy.* 2005; 30: 1375-1381.
- Yu HQ, Zhu ZH, Hu WR, Zhang HS. Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic culture. *Int J Hydrogen Energy.* 2002; 27: 1359-1365.
- Zhang T, Liu H, Fang HHP. Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic conditions. *J Envi Manage.* 2003; 69: 149 – 156.
- Zhang ZP, Show KY, Tay JH, Liang DT, Lee DJ. Enhanced continuous biohydrogen production by immobilized anaerobic microflora. *Energy Fuel.* 2008a; 22: 87-92.
- Zhao L, Cao GI, Wang Aj, Guo Wq, Liu Bf, Ren Hy, Ren Nq, Ma F. Enhanced bio-hydrogen production by immobilized *Clostridium* sp. T2 on a new biological carrier. *Int J Hydrogen Energy.* 2012; 37: 162-166.

ภาคผนวก



Effects of initial pH and temperature on biohydrogen production from agro-industrial wastewater using anaerobic mixed cultures

Jaruwan Wongthanate,^{1,*} Chongrak Polprasert²

¹Faculty of Environment and Resource Studies, Mahidol University, 999 Phutthamonthon 4 Road, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand

²Sirindhorn International Institute of Technology, Thammasat University, P.O. Box 22, Pathumthani 12121, Thailand

*e-mail: jaruwan.won@mahidol.ac.th

Abstract: This study attempted to determine the effects of initial pH and temperature by using agro-industrial wastewater of starch and rice noodle industry as an organic substrate on fermentative hydrogen production. The batch experiments were controlled in environmental conditions of an initial pH; 4.5-7.0 and temperatures; mesophilic condition ($35\pm 1^\circ\text{C}$) and thermophilic condition ($55\pm 1^\circ\text{C}$). The results revealed that the maximum cumulative hydrogen productions were observed about 552.29 ml H_2 /l wastewater and 307.97 ml H_2 /l wastewater under thermophilic and mesophilic conditions, respectively. They were achieved in the same initial pH at 6.5, which was an optimal condition. Moreover, the maximum cumulative hydrogen production was almost a two-fold increase when temperature increased in thermophilic condition. The percentages of COD removal efficiency slightly increased from 31.25-46.88 (mesophilic condition) to 40.63-56.25 (thermophilic condition).

Introduction: Hydrogen is now considered as one of the alternatives to fossil fuels. It is not chemically bound to carbon and therefore, burning does not contribute to greenhouse gases or acid rain. Fermentative hydrogen production (biohydrogen production) is a microbial-based anaerobic process, which emits less carbon dioxide (CO_2) than conventional thermochemical hydrogen production processes do.¹ Biohydrogen production by dark fermentation of wastes can both reduce waste disposal problem and decrease raw material cost.² The major advantages of dark fermentation process are high hydrogen production capacities, operation without light sources and no oxygen limitation problems. Additionally, alternative uses of wastewater are encouraged to reduce environmental pollution.³ Biohydrogen production has been reported from other wastewater sources including rice winery wastewater, starch wastewater and food-processing wastewater.^{2,4} Agro-industrial wastewater is one source of carbohydrate-rich waste. Nevertheless, biohydrogen production is greatly influenced by environmental factors such as pH, temperature, oxidation-reduction potential, organic loading rate, influent substrate concentration, F/M ratio and phosphate levels as well as seed microorganisms. An effective hydrogen production can be achieved by conducting a fermentation process at the optimum environmental conditions. Moreover, biohydrogen production from wastewater is influenced to many factors, especially pH and temperature.⁵ The key to understand the biohydrogen production properties lies in an appreciation of the environmental conditions and how these properties respond to the environmental changes that influence hydrogen metabolism.⁶ In order to increase the efficiency of biohydrogen production, these factors should be more studied. Therefore, the objectives of this study were to determine the effects of initial pH and temperature on biohydrogen production from agro-industrial wastewater by anaerobic mixed culture and to investigate the COD removal occurred in fermentation process.

Methodology: Agro-industrial wastewater was collected from a starch and rice noodle industry and was applied as substrate in experiment. Seed sludge was obtained from the anaerobic digestion excrement treatment plant of Bureau of Environment and Health, Nonthaburi Municipality, Thailand. Sludge was sieved with a screen opening 2.00 mm. The characteristics of agro-industrial wastewater and seed sludge were analyzed by Standard Method⁷ (Table 1).

Table 1. Characteristics of agro-industrial wastewater and seed sludge

Parameter	Value	
	Agro-industrial wastewater	Seed sludge
pH	5.30	8.23
COD (mg/l)	4,296	24,300
BOD (mg/l)	1,096	NA
Total Kjeldal nitrogen (mg/l)	68.04	597
Total solid (mg/l)	545.60	257,860
Total suspended solid (mg/l)	303.80	212,750
Volatile solid (mg/l)	NA	25,370
Volatile suspended solid (mg/l)	NA	14,327

NA = Not analyzed

Prior to use the seed sludge into experiment, it was heated at 90°C for 15 min to inactive the hydrogen consuming bacteria.⁸ The experiments were set up by using serum bottles in batch test with duplication and were controlled in dark condition. Each batch reactor was conducted by using 250 ml serum bottle with a working volume of 200 ml. It consisted of agro-industrial wastewater and hydrogen-producing seed. The variations of initial pH at 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 and 7.0 were adjusted by 1M KOH and 1M HCl. All batch reactors were purged with nitrogen gas in order to create an anaerobic condition and then were clogged with silicone rubber stopper and screw cap to avoid gas leakage from the bottle. Moreover, they were connected with gas sampling bag. Then, batch reactors were placed in a water bath shaker with 120 ± 1 rpm at mesophilic ($35 \pm 1^\circ\text{C}$) and thermophilic ($55 \pm 1^\circ\text{C}$) conditions for biohydrogen production (Figure 1).



Figure 1. Fermentation process of agro-industrial wastewater for biohydrogen production

Hydrogen production contented in biogas volume that was collected from sampling bag of experiment. The total biogas volume was measured by the plunger displacement method with the sized glass syringes 50 and 100 ml. The component of biogas was analyzed using a gastight syringe (500 μ l injection volume), which was injected to gas chromatography (GC, Varian Star 3400, USA) equipped with a thermal conductivity detector (TCD) and stainless-steel column packed (Alltech Molesieve 5A 80/100 10'x 1/8") with argon gas as carrier gas for hydrogen. The temperatures of injector, detector, and column were kept at 80 °C, 90 °C and 50 °C, respectively. Hydrogen gas production was calculated from headspace measurements of gas composition and total volume of biogas produced at each time interval by using a following equation (Eq. 1).

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i-1}) + V_H(C_{H,i} + C_{H,i-1} + C_{H,i-1}) \quad (\text{Eq.1})$$

where $V_{H,i}$ and $V_{H,i-1}$ are cumulative hydrogen gas volumes at the current (i) and previous (i-1) time intervals, $V_{G,i}$ and $V_{G,i-1}$ are the total gas volumes in the current and previous time interval, $C_{H,i}$ and $C_{H,i-1}$ are the fraction of hydrogen gas in the headspace of the bottle measured using gas chromatography in the current and previous intervals, and V_H is total volume of headspace in the reactor.

A modified Gompertz equation (Eq. 2)¹¹ was used to calculate cumulative hydrogen data depict.

$$H = P \exp\{-\exp\{\frac{R_m * e}{P}(\lambda - t) + 1\}\} \quad (\text{Eq.2})$$

where H (ml) is the cumulative hydrogen production, P (ml) is the hydrogen production, R_m (ml/h) is the maximum hydrogen production rate, λ (h) is the lag phase time and $e = 2.71828$.

Moreover, liquid sample of bioreactor was monitored for pH value that was daily monitored by pH paper. COD analysis was also detected after no biogas production in experiment.¹¹

Results, Discussion and Conclusion: In all experiments for approximately one week, the results revealed that biogas production mainly contained hydrogen and carbon dioxide, including the small portion of residual nitrogen from the initial purging. Moreover, biogas was free of methane, indicating the lack of methanogenic activities in the sludge (Zhang et al., 2003). Eq.2 correlates hydrogen production data well with $R^2 > 0.995$ in all series. The tendencies of cumulative hydrogen production from agro-industrial wastewater at initial pH from 4.5 to 7.0 under mesophilic and thermophilic conditions are shown in Figure 2 and 3, respectively. Figure 2 illustrates the initial pH has an influence on biohydrogen production. Lag phase times of hydrogen-producing bacteria in process were observed at 4-14 h which occurred from the different initial pH values.¹² Moreover, the graphs depicted that hydrogen production was not investigated at initial pH of 4.5 and 5.0. The cumulative hydrogen production increased with increasing initial pH in the range of 5.5 to 6.5 and decreasing at initial pH 7.0, which hydrogen was highly produced in the beginning and then was slightly

stable in an overview. The results were also revealed that cumulative hydrogen production at initial pH 5.5 was about 5.92 ml H₂/l wastewater and was higher at initial pH 6.0 about 46.63 ml H₂/l wastewater as well as the maximum cumulative hydrogen production was achieved at initial pH 6.5 about 307.97 ml H₂/l wastewater. At initial pH 7.0, cumulative hydrogen production was about 200.46 ml H₂/l wastewater. Therefore, cumulative hydrogen production of agro-industrial wastewater under mesophilic condition at different initial pH was in the order: initial pH 6.5>initial pH 7.0>initial pH 6.0>initial pH 5.5>initial pH 4.5 & 5.0. The observation in this study is in agreement with the finding that the maximum hydrogen yield from starch wastewater was 186 ml/g starch at the optimal pH 6.5.¹³ Besides, a result contrary to other researches, they found that the maximum specific hydrogen production potential of food-processing wastewater (166.8 ml H₂/g COD) and the maximum hydrogen production rate of cheese whey (28.3 ml H₂/hr) were also observed at the optimal initial pH 6.^{1,3} It might be related to the organic substrates which have different characteristics. The final pH value of all experiments after no biogas production in process was decreased in three days of the beginning process and then was stable at pH 3.5. Furthermore, the percentages of COD removal efficiency were approximately 31.25 – 46.88.

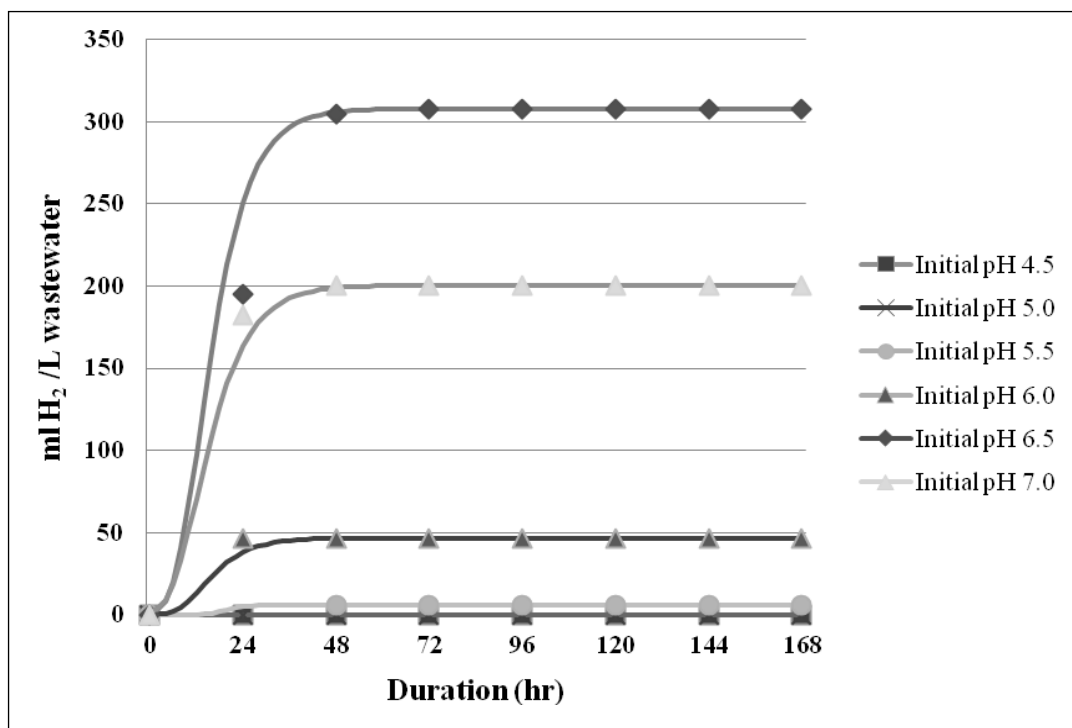


Figure 2. Cumulative hydrogen production from agro-industrial wastewater at different initial pHs under mesophilic condition

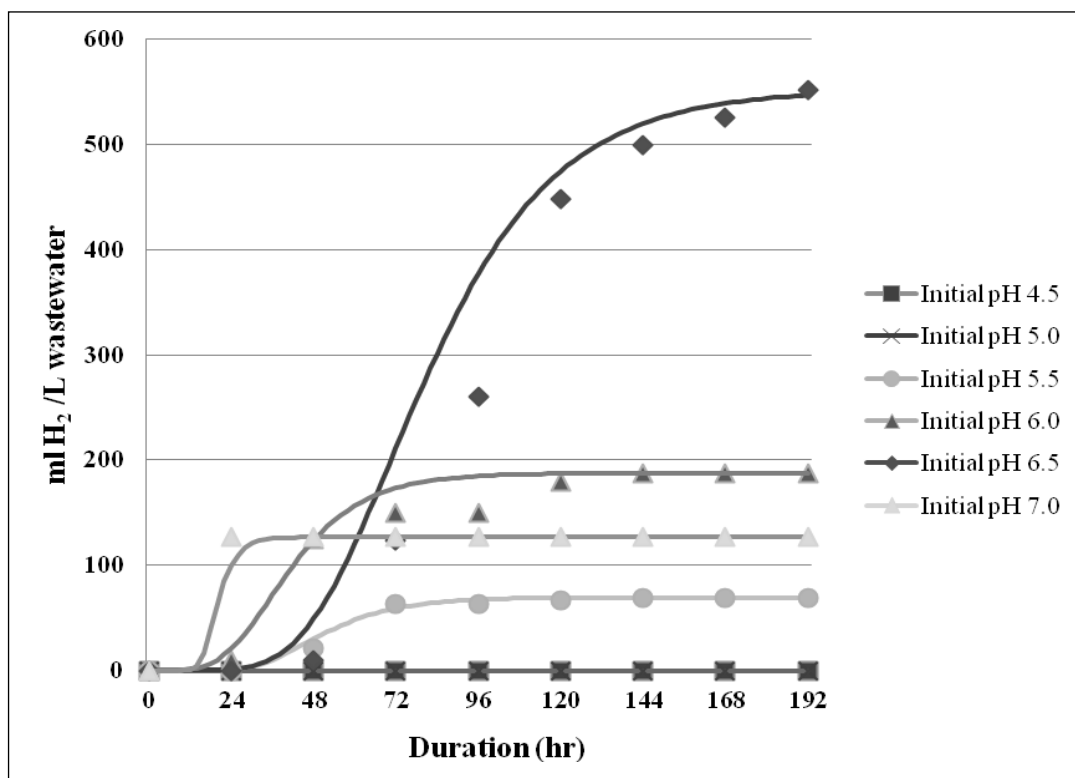


Figure 3. Cumulative hydrogen production from agro-industrial wastewater at different initial pHs under thermophilic condition

At thermophilic condition, the cumulative hydrogen production at different initial pH of 4.5 to 7.0 is shown in the tendency (Figure 3). The hydrogen production was not detected at initial pH of 4.5 and 5.0. The lag phase times of fermentation process were about 14-44 h that were higher than its process under mesophilic condition. This result is contrary to previous research that working at higher temperature reduced the length of the lag phase.¹⁴ At initial pH in the ranges of 5.5-6.5, the cumulative hydrogen productions of agro-industrial wastewater were increased when initial pH increased. Moreover, they were about 69.50 and 187.59 ml H₂/l wastewater at initial pH of 5.5 and 6.0, respectively. The maximum cumulative hydrogen production was found about 552.29 ml H₂/l wastewater at initial pH 6.5. After that, the cumulative hydrogen production was a three-fold decrease (126.66 ml H₂/l wastewater) when initial pH increased at 7.0. This result is differed from observation of maximum hydrogen yield of 92 ml H₂/g starch added at initial pH 6.0.² However, the maximum cumulative hydrogen productions were almost higher than production under mesophilic condition. It might be occurred from degradation rate of organic substrates when increased the temperature in process.¹⁵ The final pH values of all experiments after no biogas production in process were decreased in two days of the beginning process and then was stable at pH 4.0-6.0, excluding the fermentation process at initial pH 5.5 that was unchanged. The percentages of COD removal efficiency were approximately 40.63-56.25.

In this study, the experimental results indicated that the maximum cumulative hydrogen production was obtained at initial pH 6.5 in both of temperature controls. Moreover, the maximum cumulative hydrogen production under thermophilic condition was a two-fold increase when compared to its production under mesophilic condition. Therefore, it could be concluded that environmental factors of initial pH and temperature affected on the biohydrogen production from agro-industrial wastewater. However, the system factors identified should be helpful for design of biohydrogen production from agro-industrial wastewater in the further study of a continuous fermentation process.

References:

1. Ferchichi M, Crabbe E, Gil GH, Hintz W, Almadidy A. J. Biotechnol 2005;120:402-409.
2. Zhang T, Liu H, Fang HHP. J. Environ. Manage 2003;69:149-156.
3. Lin YH, Juan ML, Hsien HJ. Biodegradation 2011;22:551-563.
4. Yu H, Zhu Z, Hu W, Zhang H. Int. J. Hydrogen Energy 2002;27:1359-1365.
5. Reungsang A, Sangyoka S, Chaiprasert P, Imai T. Pak. J. Biol. Sci 2007;10(20):3571-3577.
6. Lee YJ, Miyahara T, Noike T. Asian Waterqual'99, IAWQ Asia-Pacific Regional Conference 1999. vol. 1, p. 215-220.
7. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 21st edition; APHA, AWWA-WPCF.2005.
8. Kim SH, Han SK, Shin HS. Int. J. Hydrogen Production 2004;29:1607-1616.
9. Selembo PA, Merrill MD, Logan BE. J. Power Sources 2009;190:271-278.
10. Logan BE, Oh SE, Van Ginkel SW. Environ Sci Technol 2002;36:2530-2535.
11. Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM, Van't K. Appl Environ Microbiol 1990;56:1875-1881.
12. Fang HHP, Liu H, Zhang T. Int. J. Hydrogen Energy 2005;30:785-793.
13. Wei J, Liu ZT, Zhang X. J. Hydrogen Energy 2010;35:2949-2952.
14. Infantes D, Campo AGD, Villaseñor J, Fernández FJ. J. Hydrogen Energy 2011;36:15595-15601.
15. Fabiano B, Perego, P. Int J Hydrogen Energy 2002;27:149 – 156.

Acknowledgements: This research was supported the grant by Thailand Research Fund, Office of the Higher Education Commission and Mahidol University, Thailand. (Contract No. MRG5480095) (MU-IRB 2011/115.2009)

Keywords: bio-hydrogen production, agro-industrial wastewater, initial pH, temperature

Biological Hydrogen Production from Agro-Food Industrial Wastewater Using Anaerobic Mixed Cultures

Jaruwan Wongthanate^a, Chongrak Polprasert^b

^a Faculty of Environment and Resource Studies, Mahidol University (Salaya campus), Nakhonpathom, Thailand

^b Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Thammasat University (Rangsit campus), Pathumthani, Thailand

Abstract

The feasibility of biological hydrogen production from agro-food industrial wastewater (fruit juice, coconut milk, snack from starch and noodle) by using a batch test in dark condition was studied in this research. Moreover, the optimum of initial pH 4.5–7.0 and temperature controls; mesophilic condition (35 ± 1 °C) and thermophilic condition (50 ± 1 °C) were investigated. The results showed that the highest cumulative hydrogen production was observed about 183.51 ml H₂/l wastewater from noodle wastewater. Therefore, noodle wastewater was used as substrate to investigate the optimal environmental conditions. The highest cumulative hydrogen production from noodle wastewater was found approximately 552.29 ml H₂/l wastewater at initial pH of 6.5 and thermophilic condition. This research could be concluded that the characteristics of wastewater, initial pH and temperature had affected on biological hydrogen production.

Keywords: biological hydrogen production; agro-food industrial wastewater; initial pH; temperature

1. Introduction

Nowadays, global energy requirements highly depend on fossil fuels such as oil, coal and natural gas, which eventually lead to foreseeable depletion of limited fossil fuels. It is necessary to seek an alternative energy resource for source of succession of fuel energy. Hydrogen (H₂) is a clean fuel with no carbon dioxide (CO₂) emissions and can be sustainably produced. Therefore, H₂ is considered as an important key to a sustainable world power supply and is currently being seen as the useful fuel of the future, with the ability to replace fossil fuels (Maddy et al., 2003).

Biological hydrogen production is one of the alternative energy that could be intensively fewer energy and environmental friendly. Extensively, bio-hydrogen production process can be classified as biophotolysis of water, anaerobic microorganism, photodecomposition of organic compounds by photosynthetic microorganism, and fermentative hydrogen production from organic compounds (Boopathy and Domiels, 1991). The biological generation of H₂ from anaerobic fermentation of organics substrates promises to be an economical and sustainable technology for H₂ production if conversion efficiencies can be increased (Benemann, 1996). The fermentation evolution is more advantageous than photochemical evolution for mass production of H₂ by microorganisms, where different wastewater could be used as substrates (Van Ginkel et al., 2005). Utilization of wastewater as substrate for H₂ production with simultaneous wastewater treatment and sludge waste prior to discharge to the environment is an attractive and is effective method of clean energy from renewable resources in a

sustainable method. H₂ can be produced by hydrogen -producing bacteria through biological hydrogen production process at ambient temperature and pressure. However, hydrogen yield can be enhanced by biological hydrogen production under the optimal environmental conditions. The initial pH and temperature are an important factor that influences the activity of hydrogen -producing bacteria to produces H₂. Although, the several studies demonstrated the effect of initial pH and temperature on fermentative hydrogen production but there exists different value in terms of the optimal initial pH and temperature (Wang and Wan, 2008).

Therefore, the objectives of this study were to study the feasibility of bio-hydrogen production from agro-food industrial wastewater by anaerobic fermentation process, and to investigate the optimum of initial pH ranged 4.5–7.0 and temperature controls; mesophilic condition (35 ± 1 °C) and thermophilic condition (50 ± 1 °C) which affect on biological hydrogen production.

2. Materials and Methods

2.1. Substrates

Wastewater was collected from five agro-food industrial factories by water sampler (grab sampling method). Agro-food industrial wastewater was used as substrate for fermentative hydrogen production. There were following;

Fruit juice processing wastewater was obtained from juice industries, Nakhonpathom

province, Thailand. Food processing wastewater was namely starch and rice noodle industry, Nakhonpathom province, Thailand and snack industry, Samutsakhon province, Thailand.

The characteristics of wastewater; pH, Total Solid (TS), Total Suspended Solid (TSS), Volatile Solid (VS), Volatile Suspended Solid (VSS), Chemical Oxygen Demand (COD), Biochemical Oxygen Demand (BOD), Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) were analyzed (APHA, 2005). The physical and chemical characteristics of agro-food industrial wastewater were shown in Table 1.

2.2. Seed sludge

Anaerobic sludge was taken from the Bio-fertilizer plant, Nonthaburi province, Thailand. Seed sludge was screened with sieve opening 2.00 mm to eliminate large particulate materials. Seed sludge was heated at 90°C for 10 min to inhibit hydrogen-consuming bacteria and facilitating the growth of spore-forming bacteria (Hawhes et al., 2002).

2.3. Experimental procedures

The nutrient solution for bacterial growth contained 10 g C₆H₁₂O₆ (D-Glucose), 5,240 mg NH₄HCO₃, 6,720 mg NaHCO₃, 125 mg K₂HPO₄, 100 mg MgCl₂·H₂O, 25 mg FeSO₄·7H₂O, 15 mg MnSO₄·6H₂O, 4.37 mg CuSO₄·5H₂O, 0.125 mg CoCl₂·5H₂O in 1000 ml distilled water modified from Lin and Chang (2004). In all batches, a series in 250 ml of lab bottle (working volume 200 ml) was added with 20 ml seed sludge and 250 ml wastewater. The mixed liquor in the experiments was firstly purged with nitrogen gas for 1 min to ensure anaerobic condition prior to each run and clogged with silicone rubber stoppers and three ways were used to avoid gas leakage from the bottle as well as connected with airbag.

The experiment was conducted to compare the biological hydrogen production by non-control pH at room temperature which applied from agro-food industrial wastewater as substrate. After that, selected substrate enriched the highest biological hydrogen production was examined the effects of initial pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, and 7.0 and then it was examined the optimum of environmental condition for biological hydrogen production under mesophilic temperature (35±2 °C). Thereafter, obtained optimum initial pH was employed into anaerobic dark-fermentation experiment under thermophilic temperature (50±2 °C) for biological hydrogen production. Each batch experiment was conducted in triplicate and the obtained result was taken for calculation.

2.4. Analytical methods

The volume of biogas production was daily measured by a plunger displacement method of glass-tight syringes (Owen W et al., 1979). The components of biogas production were daily analyzed by a gas chromatography (Varian STAR 3400, America) which equipped with a thermal conductivity detector (TCD). A stainless-steel column was packed (Alltech Molesieve 5A 80/100 10'x 1/8"). Argon was used as the carrier gas for hydrogen (H₂), nitrogen (N₂) and methane (CH₄) analysis and helium was applied as the carrier gas for carbon dioxide (CO₂) analysis (Selembo et al., 2009). The temperatures of injector, detector and column were kept at 80 °C, 90 °C and 50 °C respectively.

Hydrogen gas production was calculated from headspace measurements of gas composition and total volume of biogas produced at each time interval by using a following equation (Eq. 1) (Van Ginkel et al., 2005).

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i} (V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_H (C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (\text{Eq.1})$$

where $V_{H,i}$ and $V_{H,i-1}$ are cumulative hydrogen gas volumes at the current (i) and previous (i-1) time intervals, $V_{G,i}$ and $V_{G,i-1}$ are the total gas volumes in the current and previous time interval, $C_{H,i}$ and $C_{H,i-1}$ are the fraction of hydrogen gas in the headspace of the bottle measured using gas chromatography in the current and previous intervals, and V_H is total volume of headspace in the reactor.

A modified Gompertz equation (Eq. 2) was used to calculate cumulative hydrogen data depict (Van Ginkel et al., 2005).

$$H = \frac{P}{e} \exp\{-\exp\{\frac{R_m}{P}(\lambda - t) + 1\}\} \quad (\text{Eq.2})$$

where H (ml) is the cumulative hydrogen production, P (ml) is the hydrogen production, R_m (ml/h) is the maximum hydrogen production rate, λ (h) is the lag phase time and $e = 2.71828$.

Moreover, liquid sample of bioreactor was monitored for pH value that was daily monitored by pH paper. COD analysis was also detected after no biogas production in experiment.¹¹

Table 1 Characteristics of agro-food industrial wastewater and seed sludge

Parameter	Value	
	Agro-food industrial wastewater	Seed sludge
pH	5.30-7.17	8.23
COD (mg/l)	4,125-20,000	24,300
BOD (mg/l)	1,096-3,353	NA
Total Kjeldal nitrogen (mg/l)	14-83	597
Total solid (mg/l)	546-6,525	257,860
Total suspended solid (mg/l)	304-4,963	212,750
Volatile solid (mg/l)	NA	25,370
Volatile suspended solid (mg/l)	NA	14,327

NA = Not analyzed

3. Results and Discussion

3.1. Feasibility of biological hydrogen production from agro-food industrial wastewater.

In this study, total biogas productions were detected after one week, there were three gases of H₂, CO₂, and N₂ which were the major component of biogas production. The characteristics of wastewater might have affected on biological hydrogen production, especially noodle. It might be due to their characteristics of COD, BOD and VSS which were higher than other kinds of wastewater. Moreover, it has already been proved to be feasible for H₂ production, as organic matter content (COD) and total biomass were higher than other kinds of wastewater. On the other hand, fruit juice wastewater (II) has negatively affected on H₂ production since it contained some chemicals which were a kind of more reduce products, thereby consuming a large amount of free electrons could be used to form H₂ (Chatsiriwatana, 2009). During the batch operation, biogas production of all kinds of wastewater; except fruit juice wastewater showed that no CH₄ production was found in the system and pH profile was decreased in the range of 4.0 to 6.0. Within this pH range, bacterial growth could not produce CH₄ because microorganisms digest organic matters and then organic acids were converted into the majority of volatile fatty acids, H₂ and CO₂. Then, H₂ production was going to the constant stage (Kasamechonchung, 2006). In addition, percentages of COD removal were quite low in the rage of 7.42 – 37.29 after experiments were finished.

Furthermore, the results of cumulative hydrogen production from agro-food industrial wastewater showed that biological hydrogen production could be generated within 48 h (except fruit juice wastewater (II)). The highest was approximately 183.51 ml H₂/l wastewater from noodle wastewater, 149.36 ml H₂/l wastewater from fruit juice wastewater (I), 73.90 ml H₂/l wastewater from coconut milk wastewater and 68.62 ml H₂/l wastewater from snack wastewater as well as no hydrogen production from fruit juice wastewater (II) as showed in Figure 1. Regarding the previous result, it could imply that H₂ production depended on the different organics components of wastewater (Pornamnuay, 2008). Among all kinds of wastewater, noodle wastewater could be applied for biological hydrogen production since it was continuous production and optimum of physical and chemical characteristics on biological hydrogen production. Therefore, noodle wastewater was the representative substrate for biological hydrogen production in next experiment. The result was similar to Akutsu et al., which reported that the best substrate for biological hydrogen production was starch (20.5–174.4 ml H₂/g-COD) because it contained the carbohydrate consisting of a large number of glucose which it used for fermentation process to produce bio-hydrogen. Also, it was similar to Van Ginkel et al. (2005) which reported that the overall H₂ conversions were 0.7–0.9 l H₂/l wastewater for the apple wastewater, 0.1 l H₂/l wastewater for confectioner-A, 0.4–2.0 l H₂/l wastewater for confectioner B, and 2.1–2.8 l H₂/l wastewater for the potato wastewater. Moreover, Zhu et al. (1999) studied H₂ production from the wastewater of tofu factory was examined by using anoxygenic phototrophic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* immobilized in agar gels. The H₂ production lasted up to 50 h. The yield of H₂ was 1.9 ml H₂/ml wastewater or 0.24 ml H₂/mg carbohydrate contained in the wastewater.

3.2. Effect of initial pH and temperature on biological hydrogen production of agro-food industrial wastewater

According to the result, tendencies of cumulative hydrogen production from noodle wastewater under the initial pH from 4.5 to 7.0 and anaerobic dark-fermentation at temperature controls; mesophilic and thermophilic conditions are shown in Figure 2 and 3, respectively. Figure 2 illustrates the initial pH has an influence on biohydrogen production. Lag phase times of hydrogen-producing bacteria in process were observed at 14–44 h which occurred from the different initial pH values and conditions. Lag phases of biological hydrogen productions in thermophilic condition (14–44 h) were longer than its mesophilic condition (4–14 h). It was the time between the introduction of a microorganism into a culture medium and microorganism begin to increase exponential; cell number remains relatively constant prior to rapid growth (Hagedorn and Hagedorn, 2000). Moreover, the graphs depicted that hydrogen production was not investigated at initial pH of 4.5 and 5.0. The cumulative hydrogen production increased with increasing initial pH in the range of 5.5 to 6.5 and decreasing at initial pH 7.0, which hydrogen was highly produced in the beginning and then was slightly stable in an overview. The lag phase was greatly affected on the initial pH. The result of study was similar to Zhang et al. (2003) which reported that it varied from 21 h at pH 8.0 and up to 72 h at pH 5.0. While Fang et al. (2005) showed that the lag times were 74 h at initial pH 5.0 and 41 h at initial pH 6.0, respectively, they were much longer than 19–28 h for initial pH in the range of 7.0 to 10.0. However, temperature is also an important factor which has affected on the cumulative hydrogen production (Niyamapa, 2008).

The results were also revealed that cumulative hydrogen production at initial pH 5.5 was about 5.92 ml H₂/l wastewater and was higher at initial pH 6.0 about 46.63 ml H₂/l wastewater as well as the maximum cumulative hydrogen production was achieved at initial pH 6.5 about 307.97 ml H₂/l wastewater. At initial pH 7.0, cumulative hydrogen production was about 200.46 ml H₂/l wastewater. Therefore, cumulative hydrogen production of noodle wastewater under mesophilic condition at different initial pH was in the order: initial pH 6.5 > initial pH 7.0 > initial pH 6.0 > initial pH 5.5 > initial pH 4.5 & 5.0. Results of study were consistent with Wei et al. (2010) studied that the biological hydrogen produced from starch in wastewater by anaerobic fermentation and reported that the optimal pH 6.5 and starch concentration 5 g/l at 37 °C were produce a maximum H₂ yield of 186 ml H₂/g starch. In addition, the final pH value of all experiments after no biogas production in process was decreased in three days of the beginning process and then was stable at pH 4.0.

Furthermore, the percentages of COD removal efficiency were approximately 31.25 – 46.88.

At thermophilic condition, the cumulative hydrogen production at different initial pH of 4.5 to 7.0 is shown in the tendency (Figure 3). The hydrogen production was not detected at initial pH of 4.5 and 5.0. The lag phase times of fermentation process were about 14–44 h that were higher than its process under mesophilic condition. This result is contrary to previous research that working at higher temperature reduced the length of the lag phase. At initial pH in the ranges of 5.5–6.5, the cumulative hydrogen productions of noodle wastewater were increased when initial pH increased. Moreover, they were about 69.50 and 187.59 ml H₂/l wastewater at initial pH of 5.5 and 6.0, respectively. The maximum cumulative hydrogen production was found about 552.29 ml H₂/l wastewater at initial pH 6.5. After that, the cumulative hydrogen production was a three-fold decrease (126.66 ml H₂/l wastewater) when initial pH increased at 7.0. This result is differed from observation of maximum hydrogen yield of 92 ml H₂/g starch added at initial pH 6.0. However, the maximum cumulative hydrogen productions were almost higher than production under mesophilic condition. It might be occurred from degradation rate of organic substrates when increased the temperature in process. The final pH values after no biogas production in process were decreased in two days of the beginning process and then they were stable at pH 4.0–6.0, excluding the fermentation process at initial pH 5.5 that was unchanged. The percentages of COD removal efficiency were approximately 40.63–56.25.

4. Conclusion

In this study, noodle wastewater from agro-food industry could be produced the maximum cumulative hydrogen production via anaerobic dark fermentation. The maximum cumulative hydrogen production was obtained at initial pH 6.5 in both of temperature controls. Moreover, the maximum cumulative hydrogen production of noodle wastewater under thermophilic condition was a two-fold increase when compared to its production under mesophilic condition. It also concluded that characteristics of wastewater, initial pH and temperature condition induced the system to produce the biological hydrogen production.

5. Acknowledgements

This research was supported the grant by Thailand Research Fund, Office of the Higher Education Commission and Mahidol University, Thailand. (Contract No. MRG5480095) (MU-IRB 2011/115.2009) Furthermore, the author would also like to thank the laboratory of Faculty of Environment and Resource Studies, Mahidol University for assistance.

6. References

- APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington DC, USA. 2005.
- Akutsu, Y., Lee, D.Y., Li, Y.Y. and Noike, T. Hydrogen production potentials and fermentative characteristics of various substrates with different heat-pretreated natural microflora, *Int J Hydrogen Energy*, 2009, 34, 5365-5372.
- Benemann JR. Hydrogen biotechnology: progress and prospects. *Nature Biotechnol* 1996; 14: 1101-1103.
- Boopathy R, Domiels L. Effect of pH on anaerobic mild steel corrosion by methanogenic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57: 2140-2148.
- Chatsiriwatana S. Biohydrogen production from cassava wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor. The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, Bangkok 2009; p. 55.
- Fabiano B, Perego, P. Thermodynamics study and optimization of hydrogen by *Enterobacter aerogenes*. *Int J Hydrogen Energy*. 2002; 27: 149 – 156.
- Fang HHP, Liu H, Zhang T. Phototropic hydrogen production from acetate and butyrate in wastewater. *Int J Hydrogen Energy* 2005; 30: 785-793.
- Hagedorn AS, Hagedorn C. An agricultural and environmental biotechnology annotated dictionary, January 12, 2011, URL: <http://filebox.vt.edu/cals/cses/chagedor/glossary.html>.
- Hawkes FR, Dinsdale R, Hawkes DL, Hussy I. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. *Int J Hydrogen Energy* 2002; 27: 1339-1347.
- Infantes D, Gonzales Del Campo A, Villaseñor J, Fernández FJ (2011) Influence of pH, temperature and volatile fatty acids on hydrogen production by acidogenic fermentation. *Int J Hydrogen Energy* 36:15595-15601.
- Kasamechonchung P. Biological hydrogen and methane production using two – stage UASB system. Chulalongkorn University, Bangkok 2006; p. 54.
- Lin CY, Chang RC. Fermentative hydrogen production at ambient temperature. *Int J Hydrogen Energy* 2004; 29: 715-720.
- Maddy J, Cherryman S, Hawkes FR, Hawkes DL, Dinsdale RM, Guwy AJ, Premie GC, Cole S. Hydrogen 2003. Report Number 1, ERDF part-funded project entitled “A sustainable energy supply for Wales: towards the hydrogen economy”. University of Glamorgan, Pontypridd, Mid Glamorgan, Wales, UK 2003.
- Niyamapa T. Biohydrogen production from glucose-containing wastewater in anaerobic sequencing batch reactors: effect of operating conditions. The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, Bangkok 2008; p. 14-15.
- Owen WF, Stuckey DC, Healy JB, Young LY, Mccarty P.L. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Res* 1979; 13: 485-492.
- Pornamnuay P. Biohydrogen production from different types of wastewater. Chulalongkorn University, Bangkok 2008; p. 99.
- Selemba PA, Merrill MD, Logan BE. The use of stainless steel and nickel alloys as low-cost cathodes in microbial electrolysis cells. *J Power Sources* 2009; 190: 271-278.
- Van Ginkel SW, Oh SE, Logan BE. Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *Int J Hydrogen Energy* 2005; 30: 1535-1542.
- Wang J, Wan W. Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. *Int J Hydrogen Energy* 2008; 33: 5392-5397.
- Wei J, Liu ZT, Zhang X. Biohydrogen production from starch wastewater and application in fuel cell. *Int J Hydrogen Energy* 2010; 35: 2949-2952.
- Zhang T, Liu H, Fang HHP. Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic conditions. *J Envi Manage* 2003; 69: 149-156.
- Zhu H, Suzuki T, Tsygankov AA, Asada Y, Miyake J. Hydrogen production from tofu wastewater by *Rhodobacter sphaeroides* immobilized in agar gels. *Int J Hydrogen Energy* 1999; 24: 305-310.

Correspondence to

Dr. Jaruwan Wonghthanate
Faculty of Environment and Resource Studies,
Mahidol University (Salaya campus),
Nakhonpathom 73170, Thailand
Tel: +662-4415000
E-mail: jaruwan.won@mahidol.ac.th

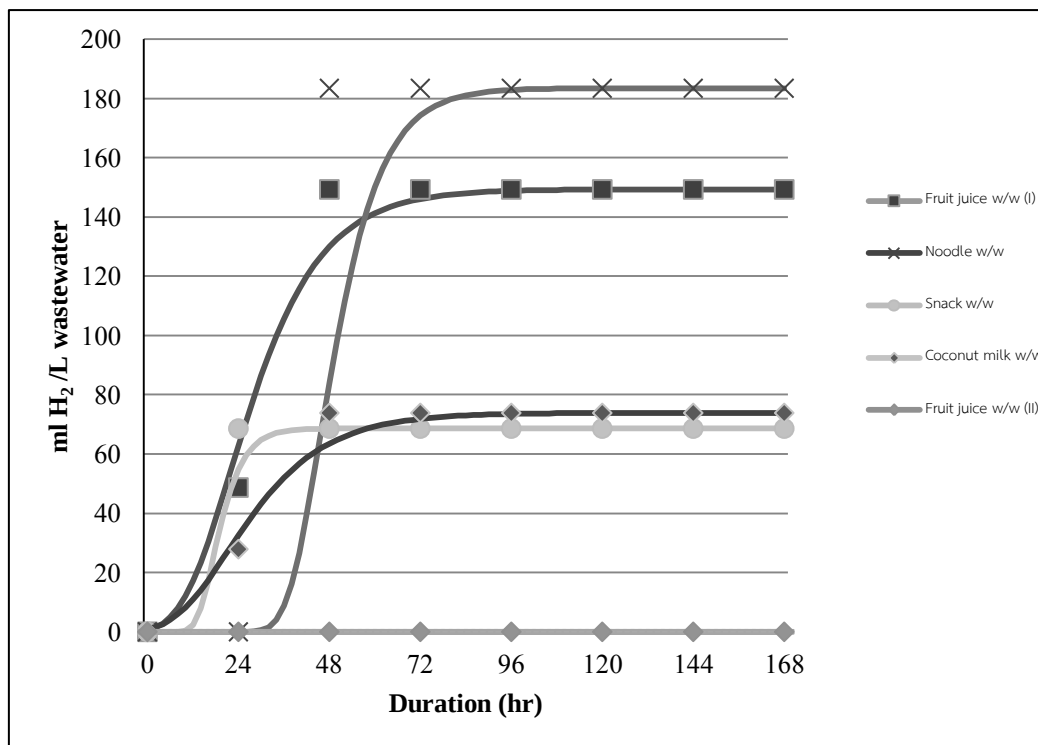


Figure 1 Cumulative hydrogen production from agro-food industrial wastewater

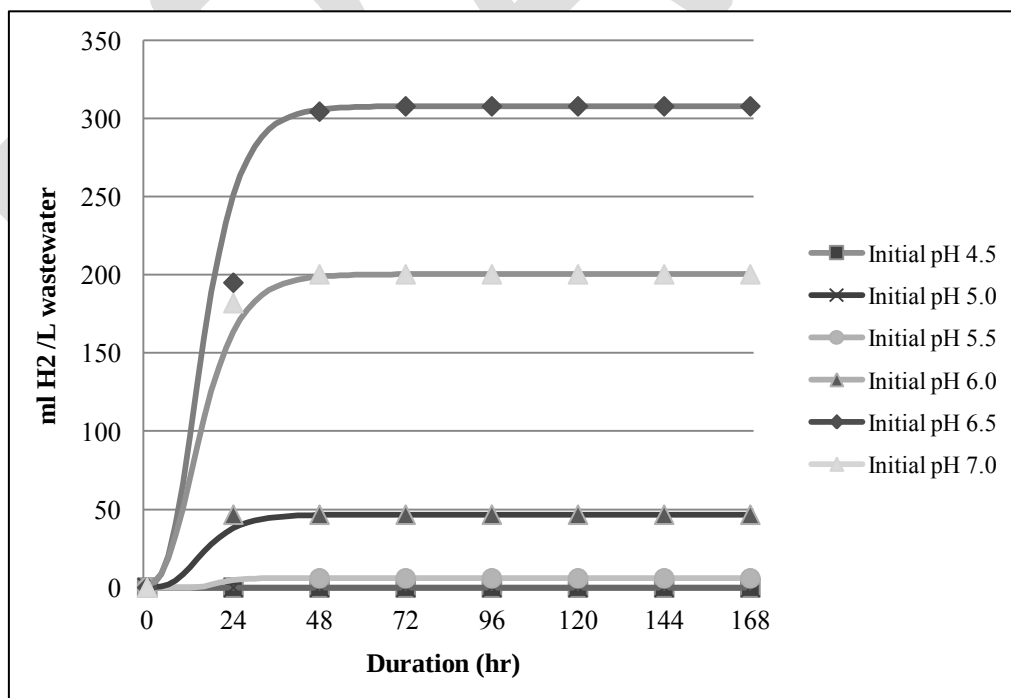


Figure 2 Effect of different initial pH on cumulative hydrogen production from noodle wastewater under mesophilic condition

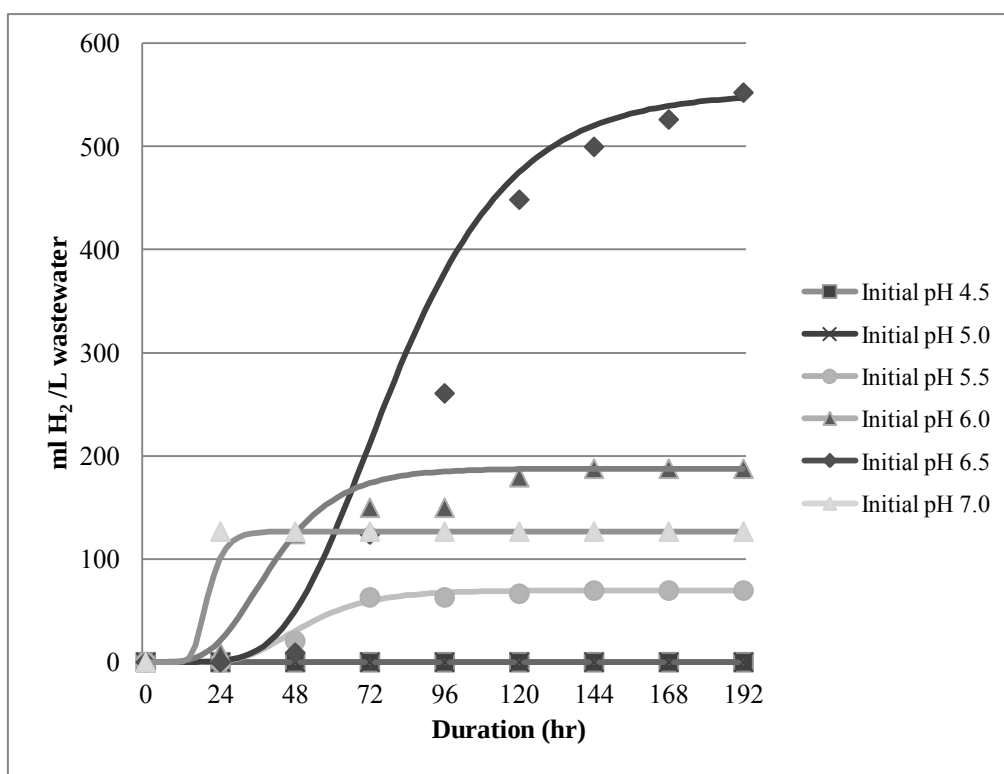


Figure 3 Effect of different initial pH on cumulative hydrogen production from noodle wastewater under thermophilic condition