

# การผลิตก๊าซไบโอไฮเทนจากขานอ้อยโดยกระบวนการหมักสองขั้นตอน ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก

## Biohythane Production from Sugarcane Bagasse by Two-stage Thermophilic Fermentation Process

วัฒนณรงค์ มากพันธ์\*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

สมพงษ์ โอทอง

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

Wattananarong Markphan

Program in Environmental Science, Faculty of Science and Technology,

Nakhon Si Thammarat Rajabhat University

Sompong O-Thong

Program in Biology, Faculty of Science, Thaksin University

### บทคัดย่อ

การผลิตก๊าซไบโอไฮเทนจากขานอ้อยโดยกระบวนการหมักสองขั้นตอนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก โดยใช้ขานอ้อยเป็นสารตั้งต้นในการผลิต พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนสูงสุด มีค่าเท่ากับ 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 28.54 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ในขณะที่การผลิตก๊าซมีเทนแบบขั้นตอนเดียวให้ผลผลิตมีเทนสูงสุดจากขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนมีค่าเท่ากับ 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร การปรับสภาพขานอ้อยเพื่อเพิ่มผลผลิตก๊าซมีเทนพบว่า การปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก 10% แรงดันสูง และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ ให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้นร้อยละ 30 160 และ 200 ตามลำดับ ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) เวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 7.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตร การปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยปริมาตร) เวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 17.10 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ส่วนขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ที่ปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 35.75 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) ที่ปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ (Microwave) เวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 39.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตร การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ด้วยกระบวนการย่อยสลายไร้อากาศสองขั้นตอน ให้ก๊าซชีวภาพผสมไฮโดรเจนและมีเทน 33.4 ลิตร มีอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอไฮเทน (H<sub>2</sub>=6.0%, CO<sub>2</sub>=35% and CH<sub>4</sub>=58.9%) และให้พลังงาน 1384 กิโลจูลต่อลิตร

คำสำคัญ: ขานอ้อย; ไบโอไฮเทน; การหมัก

\*ผู้รับผิดชอบบทความ: Wattananarong@ghotmail.com

### Abstract

Biohythane Production from Sugarcane Bagasse by Two-stage Thermophilic Fermentation Process consisting of hydrogen production as first stage and methane production as second stage was investigated. Maximum hydrogen and methane production from two-stage thermophilic fermentation

process obtaining at 15% w/v sugarcane bagasse were 4.87 L H<sub>2</sub>/L-waste and 28.54 L CH<sub>4</sub>/L-waste. Whereas, single stage gave maximum methane production of 10.35 L CH<sub>4</sub>/L-waste at 20% w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 1% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, steam explosion and microwave with subsequently methane production by two-stage thermophilic fermentation process improved methane production in second stage of 30, 160 and 200 % comparing with without pretreated, respectively. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 5% NaOH for 24 hours gave maximum methane production of 7.28 L CH<sub>4</sub>/L-waste at 10% w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 1% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> for 24 hours gave maximum methane production of 17.10 L CH<sub>4</sub>/L-waste at 15% w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by steam explosion at 121 °C for 1 hour gave maximum methane production of 35.75 L CH<sub>4</sub>/L-waste at 15 % w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 700-watt microwave for 3 min gave maximum methane production of 39.28 L CH<sub>4</sub>/L-waste at 30% w/v sugarcane bagasse. Hydrogen and methane production from sugarcane bagasse at 15% by two-stage thermophilic fermentation process gave 33.41 L of mixed biogas that has suitable composition (H<sub>2</sub>=6.0%, CO<sub>2</sub>=35% and CH<sub>4</sub>=58.9%) as biohythane fuels with total energy of 1384 KJ/L.

**Keyword:** Sugarcane Bagasse; Biohythane; Fermentation

## 1. บทนำ

พลังงานเป็นสิ่งจำเป็นในการดำรงชีวิตของทุกคนและเป็นปัจจัยพื้นฐานสำหรับการผลิตทั้งในภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรรมเพื่อสร้างความเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจของประเทศต่าง ๆ ในโลก พลังงานที่เราใช้ส่วนใหญ่ในปัจจุบันคือเชื้อเพลิงฟอสซิลซึ่งประกอบด้วย น้ำมัน ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ แหล่งพลังงานเหล่านี้ใช้แล้วหมดไปหรือจัดเป็นพลังงานประเภทสิ้นเปลือง (Non-renewable Energy) และจากสถานการณ์ราคาน้ำมันที่ปรับตัวสูงขึ้นและแนวโน้มการขาดแคลนในอนาคตอันใกล้ กระทรวงพลังงานจึงได้จัดทำแผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก ระยะ 10 ปี (พ.ศ.2555-2564) โดยได้กำหนดให้มีสัดส่วนการใช้พลังงานทดแทน เป็น ร้อยละ 25 ของการใช้พลังงานรวมทั้งหมด ในปี 2564 กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน [1] ดังนั้นประเทศไทยจำเป็นต้องมีการกระจายแหล่งเชื้อเพลิงอย่างเหมาะสม โดยคำนึงถึงหลักด้านความมั่นคง เศรษฐศาสตร์และสิ่งแวดล้อม

ทั้งนี้ปัญหาหมอกควันที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงจำพวกน้ำมันและถ่านหินที่ไม่สมบูรณ์ทำให้นานาประเทศรวมทั้งประเทศไทยมีการส่งเสริมและสนับสนุนให้นำก๊าซธรรมชาติมาใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ก๊าซธรรมชาติซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นก๊าซมีเทน ร้อยละ 70 ยังมีข้อด้อย คือ มีช่วงการติดไฟ (Flammability Range) แคบ และมีความเร็วในการติด

ไฟต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อเพลิงต่ำ และกระบวนการเผาไหม้ยังคงมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสาเหตุของภาวะเรือนกระจก (Greenhouse Effect) จึงทำให้นักวิจัยทางด้านพลังงานมีแนวคิดที่จะเติมก๊าซไฮโดรเจนลงไปในก๊าซธรรมชาติ ได้ผลผลิตที่เรียกว่าไฮเทน (Hythane) เพื่อช่วยเพิ่มช่วงและความเร็วในการติดไฟ และยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ภายในเครื่องยนต์ ส่งผลให้สามารถลดการปลดปล่อยมลพิษสู่สิ่งแวดล้อมอีกด้วย Kaparaju, Serrano, Thomsen, Kongjan and Angelidaki [2] ถึงแม้จะสามารถลดข้อด้อยของก๊าซธรรมชาติลงไปได้ด้วยวิธีดังกล่าวแล้วข้างต้น แต่ก๊าซธรรมชาติยังถือว่าเป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป ซึ่งจากการสำรวจของกรมเชื้อเพลิงธรรมชาติ กระทรวงพลังงาน พบว่าปริมาณสำรองก๊าซธรรมชาติที่พิสูจน์แล้วของประเทศไทย ณ สิ้นปี 2554 เท่ากับ 10.06 ล้านล้านลูกบาศก์ฟุตประกอบด้วยก๊าซจาก อ่าวไทย บนบก และพื้นที่พัฒนาร่วมไทย-มาเลเซีย จำนวน 7.5 0.5 และ 2.1 ล้านล้านลูกบาศก์ฟุตตามลำดับ ปริมาณสำรองก๊าซธรรมชาติที่พิสูจน์แล้วของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เพราะประเทศไทยผลิตก๊าซธรรมชาติขึ้นมาใช้เป็นระยะเวลาอันแล้ว ทำให้ปริมาณก๊าซธรรมชาติในแต่ละแหล่งลดน้อยลง และปัจจุบันยังไม่พบแหล่งใหม่ที่มีปริมาณก๊าซธรรมชาติมากพอที่จะทดแทนปริมาณที่ผลิตไปในแต่ละปีได้อย่างเพียงพอ กรมเชื้อเพลิงธรรมชาติ [3] และในระยะยาวจะไม่สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาการขาดแคลนก๊าซธรรมชาติ

เช่นเดียวกับปัญหาการขาดแคลนน้ำมันในปัจจุบันได้ ดังนั้นจึงต้องมีการหาแหล่งพลังงานทางเลือก (Alternative Energy) ใหม่จะต้องเป็นแหล่งพลังงานอย่างยั่งยืน เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ให้พลังงานสูงและราคาไม่แพง ก๊าซชีวภาพเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่กำลังได้รับความสนใจ

ก๊าซชีวภาพ (Biogas) ประกอบด้วยก๊าซหลายชนิด โดยมีก๊าซมีเทน ( $\text{CH}_4$ ) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) และก๊าซไฮโดรเจน ( $\text{H}_2$ ) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนก๊าซอื่นๆ เช่น ก๊าซแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $\text{H}_2\text{S}$ ) จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย ก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ให้ค่าความร้อนประมาณ 35,800 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ก๊าซชีวภาพที่มีสัดส่วนก๊าซมีเทน ร้อยละ 65 ให้ค่าความร้อนประมาณ 22,400 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ปริมาณความร้อนของก๊าซชีวภาพขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) หรือระดับความบริสุทธิ์ของก๊าซชีวภาพ จินตนา [4] ก๊าซไฮโดรเจน ( $\text{H}_2$ ) เป็นพลังงานสะอาด เมื่อเผาไหม้จะได้ น้ำ เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่จะนำไปสู่บรรยากาศ จึงเป็นมิตรกับสภาพแวดล้อม O-Thong, Prasertsan, Intrasungka, Dhamwichukorn, and Birkeland [5] ก๊าซไฮโดรเจนมีค่าความหนาแน่นของพลังงานสูงถึง 122 กิโลจูลต่อกรัม Pattra, Sangyoka, Boonmee and Reungsang [6] การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยทั่วไป แบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ 1) กระบวนการใช้ออกซิเจนสูง (Thermo Processes) 2) กระบวนการทางไฟฟ้าเคมี (Electrochemical Processes) 3) กระบวนการทางชีวภาพ (Biological Processes) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการทางชีวภาพสามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม (Waste Streams) Lee, Li, Kuo, Chen, Tein, Huang, Chuang, Wong and Cheng [7], Tawfik, Salem and El-Qelish [8] เศษเหลือทิ้งทางการเกษตร (Agricultural Residues) เช่น ชังข้าวโพด (Corn Stover) เส้นใยข้าวโพด (Corn Fibre) ชานอ้อย (Sugarcane Bagasse) Fangkum and Reungsang [9] และพืชผลทางการเกษตร (Agricultural Crop) Plangklang, Reungsang and Pattra [10] ซึ่งต้นทุนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธี Thermo Processes และ Electrochemical Processes มีราคาสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้พลังงานจากถ่านหินและน้ำมัน Cheong and Hansen [11] การผลิตไฮโดรเจนโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์จึงได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่มีความเป็นไปได้ โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมักได้

ไบโอไฮเทน (Biohythane) เป็นก๊าซผสมระหว่างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ได้จากกระบวนการทางชีวภาพได้รับความสนใจมากเนื่องจากเป็นเชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นพลังงานสะอาด นอกจากนี้ไฮเทนจะผลิตได้จากกระบวนการ Steam Reforming ของก๊าซธรรมชาติแล้ว ไบโอไฮเทนยังสามารถผลิตได้จากมวลชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบสองขั้นตอน ด้วยการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในถังแรก โดยการแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มผลิตก๊าซมีเทนออกจากถังปฏิกรณ์ และในขั้นตอนที่สองกรดอินทรีย์ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นก๊าซมีเทน ในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศสองขั้นตอน จะได้ก๊าซผสมระหว่างก๊าซมีเทน ( $\text{CH}_4$ ) ร้อยละ 58 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ร้อยละ 36 และก๊าซไฮโดรเจน ( $\text{H}_2$ ) ร้อยละ 6.9 ก๊าซผสมนี้เรียกว่าไบโอไฮเทน Cavinato, Giuliano, Bolzonella, Pavan and Cecchi [12] กระบวนการหมักสองขั้นตอนแบบไม่ใช้อากาศ ได้พัฒนาใช้ในการผลิตก๊าซมีเทนจากของเสียมวลชีวภาพ โดยการแยกกระบวนการ Hydrolysis และ Acidogenesis ในถังปฏิกรณ์แรกเพื่อย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงและตามด้วย Methanogenesis ในถังที่สองเพื่อผลิตก๊าซมีเทน Kongjan, O-Thong and Angelidaki [13] ส่งผลให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพและประสิทธิภาพการลดมลพิษสูงกว่าระบบแบบขั้นตอนเดียว อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย สามารถปลูกได้เกือบทุกภาคของประเทศไทย ในฤดูการผลิต 2555/56 มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยรวม 48 จังหวัด จำนวน 9,487,320 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงานจำนวน 8,342,228 ไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยทำพันธุ์จำนวน 645,092 ไร่ สำนักนโยบายอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทราย [14] ดังนั้นถ้านำอ้อยที่ปลูกได้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จะเหลือชานอ้อย (Sugarcane Bagasse) อยู่เป็นปริมาณที่สูงตามไปด้วย ถึงแม้ว่าโรงงานน้ำตาลจะนำชานอ้อยที่ได้ไปเป็นเชื้อเพลิง แต่ก็ไม่ได้ก่อให้เกิดมูลค่าที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นถ้านำชานอ้อยมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทนก็สามารถเพิ่มมูลค่าได้อีกทางหนึ่งและเป็นการลดปริมาณของเสียที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งมีผู้ได้ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวดังนี้

Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. and Reungsang, A. [6] ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากชานอ้อยโดยใช้เชื้อ *C. butyricum* โดยมีการปรับสภาพชานอ้อยด้วย  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 0.25-7.0 โดยปริมาตร) และให้ความร้อนโดยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 -

240 นาที สภาวะที่เหมาะสมได้เป็น  $H_2SO_4$  ร้อยละ 0.5 และใช้เวลา 60 นาที ซึ่งได้น้ำตาลทั้งหมด 24.5 กรัม-ซีโอต์ต่อลิตร โดยในการผลิตไฮโดรเจน ชานอ้อยหลังการปรับสภาพสามารถให้ผลผลิตไฮโดรเจนที่ดีที่สุดที่ 1.73 โมลไฮโดรเจนต่อโมลน้ำตาลทั้งหมด และอัตราการผลิตไฮโดรเจนจาก 1,611 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตรต่อวัน Rabelo, Fonseca, Andrade, Filho and Costa [15] ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชานอ้อย โดยการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร้อยละ 7.35 เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและย่อยด้วยเอนไซม์  $\beta$ -Glucosidase พบว่าได้ผลผลิตน้ำตาลสูงที่ 691 มิลลิกรัมต่อกรัมกลูโคส

ผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนากระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนโดยกระบวนการหมักสองขั้นตอนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก โดยแยกออกเป็นขั้นตอนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Acid Fermentation) และขั้นตอนการผลิตก๊าซมีเทน (Methane Fermentation) ออกจากกันโดยอิสระ โดยใช้ชานอ้อย (Sugarcane Bagasse) เป็นสับสเตรทต้นแบบ เพื่อนำไปสู่การผลิตก๊าซผสมระหว่างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน (ไบโอไฮเทน) โดยมุ่งหวังให้พลังงานที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้แทนก๊าซธรรมชาติได้อันจะส่งผลให้ลดหรือบรรเทาปัญหาการขาดแคลนพลังงานได้

ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษา (1) การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชานอ้อยความเข้มข้นต่างๆ ในระดับห้องปฏิบัติการ (2) เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและชานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระดับห้องปฏิบัติการ (3) เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพโดยการปรับสภาพชานอ้อยด้วยวิธีการทางเคมีและทางกายภาพ

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากชานอ้อยโดยกระบวนการหมักสองขั้นตอนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกได้แบ่งการดำเนินการวิจัยออกเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

### ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ชานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ชานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาลโดยใช้อัตราส่วนชานอ้อย : BA Medium เท่ากับ 1 : 10 โดยมวลต่อปริมาตร Zhao, Zhou and Lui [16] วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 60 90 120 150 180 210 240 270 และ 300 นาที เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

### ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชานอ้อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

การศึกษ้อัตราส่วนของชานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้ปริมาณชานอ้อยร้อยละ 1 5 10 15 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และใช้ BA Medium สารละลายซูโครส (Sucrose) ร้อยละ 1 สารละลายอโวเซล (Avicel) ร้อยละ 1 และสารละลายซูโครส ร้อยละ 0.5 ผสมกับสารละลายอโวเซล (Avicel) ร้อยละ 0.5 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนเป็นระบบแบบกะ (Batch Fermentation) ภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนดังนี้

1. นำชานอ้อยตามอัตราส่วนที่กำหนด ใส่ในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
2. ปิดขวดด้วยจุกยางและอลูมิเนียม จากนั้นปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน
3. ผสมกับเชื้อ *T. thermosaccharolyticum* 112YL ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BA Medium ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในปริมาณร้อยละ 20 โดยปริมาตร
4. นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
5. เก็บตัวอย่างก๊าซ และตัวอย่างน้ำทุก 12 ชั่วโมงเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซชีวภาพทั้งหมดและก๊าซไฮโดรเจนในก๊าซชีวภาพ ปริมาณน้ำตาล ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

### ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากชานอ้อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

การศึกษ้อัตราส่วนของชานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้ปริมาณชานอ้อยที่ร้อยละ 1 5 10 15 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และใช้ BA Medium สารละลายอโวเซล (Avicel) ร้อยละ 1 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซมีเทนเป็นระบบแบบกะ (Batch Fermentation) ภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทำการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนดังนี้

1. นำชานอ้อยตามอัตราส่วนที่กำหนด ใส่ในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมเชื้อผลิตมีเทน ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
3. ปิดขวดด้วยจุกยางและฝาอลูมิเนียม จากนั้นปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน

- นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
- เก็บตัวอย่างก๊าซ และตัวอย่างน้ำเป็นเวลา 45 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณชีวภาพทั้งหมดและก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

#### ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

การศึกษาการผลิตอัตราส่วนของขานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้ปริมาณขานอ้อยที่ร้อยละ 1 5 10 15 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และ ใช้ BA Medium สารละลายซูโครส (Sucrose) ร้อยละ 1 สารละลายอวิเซล (Avicel) ร้อยละ 1 และสารละลายซูโครส ร้อยละ 0.5 ผสมกับสารละลายอวิเซล (Avicel) ร้อยละ 0.5 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซมีเทนเป็นระบบแบบกะ (Batch Fermentation) ภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทำการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนดังนี้ โดยขั้นตอนดังนี้

1. นำน้ำหมักและขานอ้อยจากขั้นตอนที่ 2 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร บรรจุลงในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร
2. ผสมกับเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร
3. ปิดขวดด้วยจุกยางและฝาอลูมิเนียม จากนั้นปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน
4. นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
5. เก็บตัวอย่างก๊าซ และตัวอย่างน้ำเป็นเวลา 45 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณชีวภาพทั้งหมดและก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

#### ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาการก๊าซมีเทนจากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ

การปรับสภาพขานอ้อยที่ผ่านการหมักในขั้นตอนที่ 2 โดยแยกส่วนที่เป็นขานอ้อยออกจากน้ำหมักและอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการการปรับสภาพด้วยวิธีการเคมีและทางกายภาพ ดังนี้

1. การปรับสภาพทางเคมี
  - 1.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 24 ชั่วโมง Asgher, Ahmad and Iqbal [17]
  - 1.2 สารละลายซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยปริมาตร) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 24 ชั่วโมง (Fangkum and Reungsang [9])

#### 2. การปรับสภาพทางกายภาพ

2.1 ปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. and Reungsang, A. [6]

2.2 ปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง (Microwave) 700 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, U. K., Sukumaran, K. R. and Pandey, A. [18] จากนั้นรวมกับน้ำหมักที่แยกไว้ และนำไปผลิตก๊าซมีเทนตามขั้นตอนที่ 4

#### 3. วิธีการวิเคราะห์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugar) โดยวิธี Phenol-Sulfuric Method Doboys, et al. [19]

3.1.1 นำตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

3.1.2 เติม Phenol Solution ร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่า

3.1.3 เติม Conc. Sulfuric Acid 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

3.1.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $OD_{490}$  นาโนเมตร

3.1.5 การหา Standard Curve โดยใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติม Phenol Solution ร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่า และเติม Conc. Sulfuric Acid 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $OD_{490}$

3.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยวิธี Electrometric Method APHA [20]

3.2.1 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาด ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง

3.2.2 ใส่อิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน (pH Buffer ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง อยู่ที่ 4 7 และ 9)

3.2.3 ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือการใช้

3.2.4 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง

3.2.5 จุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่าง (ตัวอย่างที่วัดจะต้องมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือเท่ากับอุณหภูมิของสารละลาย pH Buffer ในข้อ 2)

3.2.6 อ่านค่าความเป็นกรดต่าง ที่ได้จาก-ต่าง-เครื่องวัด ความเป็นกรดและบันทึกค่า ความเป็นกรด -ต่าง ที่ได้

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณก๊าซด้วยการแทนที่น้ำ และวิเคราะห์ ตัวอย่างก๊าซ ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (Shimadza GC-8A) Thermal Conductivity Detector (TCD) ซึ่งมี สภาวะดังนี้

Inlet Temperature 100 °C  
Oven Temperature 40 °C  
Detector Temperature 100 °C

3.3.1 วัดปริมาณก๊าซโดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ก๊าซโครมาโตกราฟี

3.3.2 คำนวณปริมาณก๊าซไฮโดรเจนโดยเทียบพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ก๊าซตัวอย่างกับพื้นที่ใต้กราฟจากการวิเคราะห์ก๊าซมาตรฐาน

3.3.3 จากนั้นคำนวณกลับโดยนำข้อมูลที่ได้จาก 2 มาใช้ในสมการหลังจากได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนจากการวิเคราะห์ แล้วหาปริมาตรของก๊าซที่ผลิตขึ้นโดยคำนวณจากสมการ Mass Balance Equation. Song et al. [21]

$$VH.i = VH.i-1 + CH.i (VG.i - VG.i-1) + VH (CH.i - CH.i-1)$$
 เมื่อ

VH.i และ VH.i-1 คือ ปริมาตรไฮโดรเจนสะสม ที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านไป (i-1) ตามลำดับ

VG.i และ VG.i-1 คือ ปริมาตรก๊าซชีวภาพ ทั้งหมดที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านไป (i-1) ตามลำดับ

CH.i และ CH.i-1 คือ สัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจน ใน Headspace ที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านไป (i-1) ตามลำดับ

VH คือ ปริมาตรของ Headspace ในถังหมัก

3.4 วิธีการวิเคราะห์หา ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids: TS) ของแข็งที่ระเหยได้) Volatile Solids: VS) โดยวิธี Gravimetric Method APHA [20]

3.4.1 ออบครูซิเบิล ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือน้ำหนักคงที่

3.4.2 นำครูซิเบิลใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 15 - 30 นาที

3.4.3 ชั่งน้ำหนัก ครูซิเบิล (A)

3.4.4 ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ในครูซิเบิล

3.4.5 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครูซิเบิล (B)

3.4.6 นำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือน้ำหนักคงที่

3.4.7 นำครูซิเบิล ไปใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น ปริมาณ 15 - 20 นาที

3.4.8 ชั่งน้ำหนักรวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครูซิเบิล หลังการอบ (C)

3.4.9 นำไปเผาโดยใช้เตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 ± 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

3.4.10 นำครูซิเบิลใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง รวมกับน้ำหนักครูซิเบิล หลังการเผา (D) และคำนวณผล

การคำนวณตามสูตร

เปอร์เซ็นต์ TS (ปริมาณของแข็งทั้งหมด) =  $\frac{Y \times 100}{X}$

เปอร์เซ็นต์ VS (ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้) =  $\frac{(X-Z) \times 100}{Y}$

เปอร์เซ็นต์ MC (ความชื้น) =  $\frac{(X - Y) \times 100}{X}$

เมื่อ X = น้ำหนักของตัวอย่างสด (B - A) หน่วยเป็นกรัม

Y = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (B - C) หน่วยเป็นกรัม

Z = น้ำหนักของตัวอย่างหลังเผา (C - D) หน่วยเป็นกรัม

## 4. ผลการวิจัย

### 4.1 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล

จากศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugar) พบว่า ที่เวลา 120 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 18.66 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลดังกล่าวเพียงพอต่อการต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกลุ่มแบคทีเรียชอบร้อน

### 4.2 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ

การศึกษการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณ ขานอ้อยที่ร้อยละ 1 5 10 15 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน

สูงสุด เท่ากับ 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลได้ก๊าซไฮโดรเจน เท่ากับ 43.63 มิลลิลิตร-ไฮโดรเจนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้และประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งที่ระเหยได้ ประมาณร้อยละ 25 – 50

#### 4.3 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ

การศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณขานอ้อยที่ร้อยละ 1 5 10 15 20 25 และ 30 โดยน้ำหนัก โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร และให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 51.75 มิลลิลิตร-มีเทนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้ และประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งที่ระเหยได้ ประมาณร้อยละ 85 – 90

#### 4.4 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

การศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยหมักแบบไม่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 31.37 ลิตร-มีเทนต่อลิตรและให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 156.84 มิลลิลิตร-มีเทนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้

#### 4.5 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ

การศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนโดยใช้น้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลการศึกษาดังนี้

ผลการศึกษาวิธีที่ 1 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 7.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตรและให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 92.47 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

ผลการศึกษาวิธีที่ 2 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 17.10 ลิตรมีเทนต่อลิตร ให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 217.42 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

ผลการศึกษาวิธีที่ 3 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้

ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 35.75 ลิตรมีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 229.04 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

ผลการศึกษา วิธีที่ 4 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ความถี่สูง 700 วัตต์ (Microwave) เวลา 3 นาที พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 39.28 ลิตรมีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้ก๊าซมีเทน เท่ากับ 214.65 มิลลิลิตร-มีเทนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้

#### 4.6 ผลค่าพลังงานของก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ผลิตได้

ผลของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยแบบไม่ใช้อากาศสองขั้นตอนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อคำนวณค่าพลังงานทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในแต่ละชุดการทดลองได้ผลดังนี้

การผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร มีค่าพลังงาน เท่ากับ 410.80 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน เท่ากับ 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 28.54 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 1132.56 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น เท่ากับ 1194.81 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า

ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.21 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน เท่ากับ 53.68 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 7.28 ลิตรมีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 288.72 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น เท่ากับ 342.40 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.21 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน เท่ากับ 53.68 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผล

ผลิตก๊าซมีเทน 17.10 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 678.81 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น เท่ากับ 732.49 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน เท่ากับ 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 35.75 ลิตรมีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่า

พลังงาน 1418.70 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น เท่ากับ 1480.95 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ (Microwave) เวลา 3 นาที พบว่า ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน เท่ากับ 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 33.31 ลิตร-มีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 1322.11 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น เท่ากับ 1384.36 กิโลจูลต่อลิตร

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าพลังงานที่ได้จากการหมักขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ผ่านการหมักแต่ละวิธี

ตัวอย่าง	พลังงาน (KJ/L)					
	การผลิตก๊าซมีเทนขั้นตอนเดียว	หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน	ไฮโดรเจนออกไซด์ ร้อยละ 5 เวลา 24 ชั่วโมง	กรดซัลฟูริก ร้อยละ 1 เวลา 24 ชั่วโมง	ไอน้ำแรงดันสูง 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง	คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 700 วัตต์ เวลา 3 นาที
ขานอ้อย 1%	72.11	70.21	140.42	125.81	141.17	158.83
ขานอ้อย 5%	133.39	181.89	198.64	289.37	342.15	362.95
ขานอ้อย 10%	238.64	791.73	342.42	732.50	1289.36	1141.36
ขานอ้อย 15%	319.72	1194.82	106.11	152.74	1480.97	1384.37
ขานอ้อย 20%	410.81	1272.07	52.75	211.98	923.69	1112.41
ขานอ้อย 25%	350.36	1149.99	53.27	236.55	1330.89	1330.41
ขานอ้อย 30%	389.02	1229.84	67.95	328.54	1389.18	1647.51

## 5. อภิปรายผล

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugar) พบว่า ที่เวลา 120 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 18.66 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลดังกล่าวเพียงพอต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกลุ่มแบคทีเรียชอบร้อน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ O-thang, et al. [22] ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน พบว่า แบคทีเรีย *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด เช่น แป้ง ซูโครส และไซโลส แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิต

ไฮโดรเจนให้ได้ปริมาณและอัตราสูงสุด คือ ซูโครสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chen, et al. [23] ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจาก *C. butyricum* โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรท พบว่าปริมาณซูโครสเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนคือ 17.8 กรัมต่อลิตร

ผลการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจน พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลได้ก๊าซไฮโดรเจน เท่ากับ 43.63 มิลลิลิตร-ไฮโดรเจนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้ โดยส่วนใหญ่การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะมีประสิทธิภาพสูงที่ pH ในช่วง 5.0 – 6.5 Thungklin, Reungsang and Sittijunda [24] ศึกษาการผลิตก๊าซ



ไฮโดรเจนจากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ปีกโรงบำบัดโดยการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ซึ่งกากตะกอนที่ถูกทำให้ร้อนในไมโครเวฟที่ 850 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 12.77 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมต่อซีโอดี และ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดเป็น 5.5 แสดงให้เห็นว่าช่วง pH จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยตรง ทั้งนี้ pH ยังมีบทบาทในการยับยั้งการผลิตเนื่องจากระหว่างการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ผลผลิตที่เกิดขึ้นคือ กรดอินทรีย์ระเหยง่าย ซึ่งมีผลในการยับยั้งกระบวนการหมัก Kapdan and Karpı [25] เนื่องจากกรดอินทรีย์ระเหยง่ายสะสมอยู่มากจะทำให้สภาวะในการหมักเป็นกรดที่ทำให้กิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะของ pH จึงทำให้การเกิดก๊าซไฮโดรเจนเปลี่ยนแปลงไปด้วย Ruggeri, Tommasi and Sassi [26] และสอดคล้องกับ O-Thang, et al. [22] ศึกษาผลของ pH จากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยเชื้อ *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 พบว่าสภาวะ pH ที่ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 6.25 ในขณะที่สภาวะ pH ต่ำกว่า 4.0 จะไม่เกิดก๊าซไฮโดรเจน และพบว่าที่ pH สูงกว่า 8.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนก็ไม่เกิดเช่นกัน

ผลการศึกษาผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ จากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และจากการปรับสภาพขานอ้อยด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่า การผลิตก๊าซมีเทนจากการปรับสภาพขานอ้อยด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ (Microwave) เวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงกว่า น้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เวลา 24 ชั่วโมง การปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เวลา 24 ชั่วโมง และขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ทั้งนี้เพราะขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพทางกายภาพข้างต้นสามารถย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและยอเยมิเซลลูโลสซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของน้ำตาลคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม จะได้น้ำตาลไซลอสแมนโนส อะราบินอสและกลูโคส Sun and Cheng [27] ซึ่งสารดังกล่าวมีความเหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ใช้ในการผลิตก๊าซมีเทน แต่ขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจะไม่มีการกำจัดสารประกอบประเภทลิกนินที่ห่อหุ้มเยมิเซลลูโลสและเซลลูโลสออกไป Mosier, et al. [28] สาร

เหล่านี้มีผลต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ เพื่อผลิตก๊าซมีเทน ส่วนการปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เวลา 24 ชั่วโมง และสารละลายซัลฟูริก (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เวลา 24 ชั่วโมง นั้นมีสภาพ pH ที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน ทำให้ได้ผลผลิตก๊าซมีเทนในปริมาณน้อย โดยปกติค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน อยู่ในช่วง 7.0 – 8.5 ถ้า pH มีค่าสูงหรือต่ำกว่านี้ประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซมีเทนจะลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายไม่ทัน ทำให้ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยถูกสะสมมากขึ้น pH จึงต่ำลงอย่างรวดเร็วและสภาพ pH ต่ำลงถึง 4.5 – 5.0 จะทำให้จุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทนจะหยุดการเจริญเติบโตในระหว่างปรับสภาพด้วยกรด น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอมจะสลายตัวเป็นเฟอิวรัลและละลายอยู่ในน้ำหมัก ซึ่งความเป็นพิษและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ กล่าวคือจะทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตในระยะปรับตัว (lag phase) เป็นเวลานาน Binod, et al. [18]

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบสองขั้นตอน ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ได้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Kongjan, O-Thong and Angelidaki. [13] ศึกษากระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบสองขั้นตอนที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ฟางข้าวสาเลเป็นซับสเตรต ได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ 89 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ และ 307 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ Chu, et al. [29] ศึกษาศักยภาพของอินทรีย์ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนในกระบวนการหมักสองขั้นตอนที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ขยะจากครัวเรือนได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน เป็น 20.85 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ และ 329.36 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ และ Tahti, Kaparaju and Rintala. [30] ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบสองขั้นตอนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ในระบบ Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) ดำเนินการโดยใช้น้ำเสียได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 0.73 โมลไฮโดรเจนต่อโมลน้ำตาล และก๊าซมีเทนที่ถูกผลิตจากน้ำทิ้งที่ผ่านการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ได้ผลผลิตก๊าซมีเทน 117.5 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมซีโอดี

**ตารางที่ 2** การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนโดยใช้วัตถุดิบและวิธีในการผลิตต่าง ๆ

วัตถุดิบ	ระบบ	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
ฟางข้าวสาเลี	CSTR	190 ml-H <sub>2</sub> /g-total sugar 307 ml-CH <sub>4</sub> /g-VS	Kongjan, et al. (2011)
ขยะอินทรีย์	CSTR	20.85 ml-H <sub>2</sub> / g-VS 329.36 ml-CH <sub>4</sub> /g-VS	Chu, et al. (2012)
น้ำเสี	UASB	0.73 mol-H <sub>2</sub> /mol-glucose 117.5 ml- CH <sub>4</sub> /g-COD	Tahti, et al. (2013)
ชานอ้อย	Batch	43.63 ml-H <sub>2</sub> / g-VS 256.97 ml-CH <sub>4</sub> /g-VS	การศึกษานี้

## 6. เอกสารอ้างอิง

- [1] กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. (2555). **แผนพัฒนาพลังงานทดแทน 15 ปี (พ.ศ. 2551 - 2565)**. กรุงเทพฯ : กระทรวงพลังงาน. 11 น.
- [2] Kaparaju, P., Serrano, M., Thomsen, B. A., Kongjan, P., Angelidaki, I. (2009). "Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept," **Bioresource Technology**. 100, 2562 - 2568.
- [3] กรมเชื้อเพลิงธรรมชาติ. (2554). รายงานประจำปี 2554. กรุงเทพฯ : กระทรวงพลังงาน. 174 น.
- [4] จินตนา จิตต์ภูักดี. (2552). **การผลิตแก๊สชีวภาพจากเปลือกและพัลพ์สับประรดโดยการหมักแบบ 2 ขั้นตอน**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 147 น.
- [5] O-Thong, S., Prasertsan, P., Intrasungka, N., Dhamwichukorn, S. and Birkeland, N. K. (2007). "Improvement of biohydrogen production and treatment efficiency on palm oil mill effluent with nutrient supplementation at thermophilic condition using an anaerobic sequencing batch reactor," **Enzyme and Microbial Technology**. 41, 583 - 590.
- [6] Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. and Reungsang, A. (2008). "Biohydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*," **International Journal of Hydrogen Energy**. 33, 5256 - 5265.
- [7] Lee, Z., Li, S., Kuo, P., Chen, I., Tein, Y., Huang, Y., Chuang, C., Wong, S. and Cheng, S. (2010). "Thermophilic bioenergy process study on hydrogen fermentation with vegetable kitchen waste," **International Journal of Hydrogen Energy**. 35, 13458 - 13466.
- [8] Tawfik, A., Salem, A. and El-Qelish, M. (2010). "Two stage anaerobic baffled reactors for bio-hydrogen production from municipal food waste," **Bioresource Technology**. 102, 8723 - 8726.
- [9] Fangkum, A. and Reungsang, A. (2011). "Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung : Effects of initial pH and substrate concentration," **International Journal of Hydrogen Energy**. 36, 8687 - 8696.
- [10] Plangklang, P., Reungsang, A. and Pattra, S. (2012). "Enhance bio-hydrogen production from sugarcane juice by immobilized *Clostridium butyricum* on sugarcane bagasse," **International Journal of Hydrogen Energy**. 37, 15525 - 15532.
- [11] Cheong, D. Y. and Hansen, C. L. (2007). "Feasibility of hydrogen production in thermophilic mixed fermentation by

- natural anaerobes,” **Bioresource Technology**. 98, 2229 - 2239.
- [12] Cavinato, C., Giuliano, A., Bolzonella, D., Pavan, P. and Cecchi, F. (2012). “Bio-hythane production from food waste by darkfermentation coupled with anaerobic digestion process:A long-term pilot scale experience,” **International journal of hydrogen energy**. 37, 11549 - 11555.
- [13] Kongjan, P., O-Thong, S. and Angelidaki, I. (2011). “Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from hydrolysate in UASB reactors,” **Bioresource Technology**. 102, 4028 - 4035.
- [14] สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. (2556). รายงานพื้นที่ปลูกอ้อยปีการผลิต 2555/56. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย.
- [15] Rabelo, S. C., Fonseca, N. A., Andrade, R. R., Filho, R. M. and Costa, A. C. (2009). “Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide,” **Biomass and Bioenergy**. 35, 2600 - 2607.
- [16] Zhao, X., Zhou, Y. and Liu, D. (2012). “Kinetic model for glycan hydrolysis and formation of monosaccharides during dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse,” **Bioresource Technology**. 105, 160 - 168.
- [17] Asgher, M., Ahmad, Z. and Iqbal, H. M. N. (2013). “Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose polymers for saccharification and bio-ethanol production,” **Industrial Crops and Products**. 44, 488 - 495.
- [18] Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, U. K., Sukumaran, K. R. and Pandey, A. (2012). “Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse,” **Renewable Energy**. 37,109 - 116.
- [19] Dobois, M.,Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956). “Colorimetric method for determination of sugar and related substances,” **Analytical Chemical**. 28, 350-356.
- [20] APHA, AWWA and WEF. (1998). **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 20thed. Washington D.C. U.S.A. : American Public Health Association.
- [21] Song, Z. X., Wang, Z. Y., Wu, L. Y., Fan, Y. T. and Hou, H. W. (2012). “Effect of microwave irradiation pretreatment of cow dung compost on bio-hydrogen process from corn stalk by dark fermentation,” **International Journal of Hydrogen Energy**. 37, 6554 - 6561.
- [22] O-Thong, S., Prasertsan, P., Karakashev, D. and Angelidaki, I. (2008b). “Thermophilic fermentative hydrogen production by the newly isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2,” **International Journal of Hydrogen Energy**. 33, 1204-1214.
- [23] Chen, W. M., Tseng, Z. J., Lee, K. S., and Chang, J. S. (2005). “ Fermentation hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolate from anerobic sewage sludg,” **International Journal of Hydrogen Energy**. 30, 1063 - 1070.
- [24] Thungklin, P., Reungsang, A. and Sittijunda, S. (2011). “Hydrogen production from sludge of poultry slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave,” **International Journal of Hydrogen Energy**. 36, 8751 - 8757.

- [25] Kapdan, I. and Karpı, F. (2006). "Bio-hydrogen production from waste materials," **Enzyme and Microbial Technology**. 38, 569 - 582.
- [26] Ruggeri, B., Tommasi, T. and Sassi, G. (2009). "Experimental kinetics and dynamics of hydrogen production on glucose by hydrogen forming bacteria (HFB) culture," **International Journal of Hydrogen Energy**. 34, 753 - 763.
- [27] Sun, Y. and Cheng, J. J. (2002). "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production," **Bioresource Technology**. 83, 1 -11.
- [28] Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M. (2005). "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass," **Bioresource Technology**. 96, 673 - 686.
- [29] Chu, C., Xu, K., Li, Y. and Inamori, Y. (2012). "Hydrogen and methane potential based on the nature of food waste materials in a two-stage thermophilic fermentation process," **International Journal of Hydrogen Energy**. 37, 10611 - 10618.
- [30] Tahti, H., Kaparaju, P. and Rintala, J. (2013). "Hydrogen and methane production in extreme thermophilic conditions in two-stage (upflow anaerobic sludge bed) UASB reactor system," **International Journal of Hydrogen Energy**. 38, 4997 - 5002.