บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การปรับปรุงกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง

Enhancement of hydrogen and methane production from palm oil mill effluent by two-stage anaerobic digestion

รายนามคณะผู้วิจัย

1) ผศ.ดร. สมพงศ์ โอทอง หัวหน้าโครงการ

2) นางสาวชลธิชา มามิมิน ผู้ร่วมโครงการ

สถานที่ทำงาน สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง 93210 โทรศัพท์/โทรสาร 074-693992

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท ทุนวิจัยร่วมบัณฑิตศึกษาประจำปี 2557 จำนวนเงิน 200,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ 1 มิถุนายน 2557 ถึง 31 พฤษภาคม 2558

น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (Palm oil mill effluent, POME) มีปริมาณสารอินทรีย์สูง โดยมีค่า COD สูงถึง 85.5 gCOD/l จึงเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตไฮโดรเจน งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยการหมักแบบไร้แสง (dark fermentation) ทำการทดลองโดยมีการแปรผันปริมาณสารอินทรีย์ที่ 20 40 และ 60 g/l ให้ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 130-200 ml H_2/g COD เมื่อสิ้นสุดการหมักกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และกรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้น 3.95 2.13 0.25 1.5 และ 0.99 g/l ตามลำดับ เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจน ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นพลังงานอย่างเช่น มีเทน ผ่านกระบวนการเมทาโนจีนีซิส methanogenesis) โดยจุลินทรีย์กลุ่มเมทาโนเจน (methanogens) ภายใต้สภาวะการย่อยสลายแบบไร้อากาศได้ ผลได้มีเทนจากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่ปริมาณสารอินทรีย์ 11.8 17.7 23.6 และ 29.5 gVS/l (คิดเป็นกรดไขมันระเหยได้เริ่มต้น 0.9 1.8 3.6 และ 4.7 g/l ตามลำดับ) เท่ากับ 510 467 428 และ 401 ml CH_4/g VS เพื่อศึกษาผลของกรดไขมันระเหยได้ในน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนต่อการผลิตมีเทนและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง พื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology) ถูกนำมาใช้ในการออกแบบการทดลอง ผลการศึกษาพบว่ากรดอะซิติกและกรดบิวทีริกที่ความเข้มข้นสูง (8 g/l) ยับยั้งกระบวนการผลิตมีเทน และเกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) เมื่อมีการเติมกรดแลคติกและกรดโพรพิโอนิก

สภาวะเหมาะสมสำหรับการผลิตมีเทน คือ กรดแลคติก 2.88 g/l กรดอะซิติก 5.01 g/l กรดบิวทีริก 0.44 g/l และกรดโพรพิโอนิก 5.55 g/l โดยให้ผลได้มีเทนสูงสุดที่ 447 ml CH_4/gVS ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยได้สูงกว่า 10 g/l ส่งผลกระทบต่อประชากรอาร์เคียแต่ไม่ส่งผลกระทบต่อแบคทีเรีย และพบประชากรอาร์เคียกลุ่มเด่น คือ **Methanoculleus thermophiles** จากผลการศึกษาพบว่าน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฮโดรเจน และน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีศักยภาพในการผลิตมีเทนสูง งานวิจัยนี้จึงพัฒนากระบวนการหมักแบบสองขั้นตอนสำหรับการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม การหมักสองขั้นตอนที่อุณหภูมิสูงและกระบวนการเมทาโนจินีซีสที่อุณหภูมิเมโซฟิลิก แสดงให้เห็นถึงวิธีการที่มีแนวโน้มในการกู้คืนพลังงานและการกำจัด COD และ SS จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มสูงโดยระบบการย่อยสลายไร้อากาศสำหรับผลิตไฮโดรเจนควบคู่กับการผลิตมีเทน การผลิตไฮโดรเจนในขั้นตอนที่หนึ่งเดินระบบในถังปฏิกรณ์ anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) ที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 55 ºC ระยะเวลากักเก็บน้ำ (Hydraulic retention time, HRT) 2 วัน และภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic loading rate, OLR) 60 gCOD/l/d ให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดที่ 1.84 l-H2/l/d คิดเป็นค่าเฉลี่ย 1.8 l-H2/l/d อัตราการผลิตมีเทนสูงสุดในขั้นตอนที่สองอยู่ที่ 2.6 และ 2.4 l-CH4/l/d ตามลำดับ ที่ HRT 15 วัน การผลิตไฮโดรเจนควบคู่กับการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มช่วยเพิ่มผลได้พลังงาน โดยให้ผลได้พลังงานสูงกว่าการผลิตมีเทนระบบเดี่ยวร้อยละ 34 และสูงกว่าการผลิตไฮโดรเจนระบบเดี่ยวถึงร้อยละ 90 โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์แสดงแบคทีเรีย **Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum** เป็นประชากรเด่นในการผลิตไฮโดรเจน ในขณะที่ **Methanoculleus** sp. เป็นประชากรเด่นในการผลิตมีเทน

คำสำคัญ: น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม การผลิตไฮโดรเจนและมีเทนที่อุณหภูมิสูง กรดไขมันระเหยได้ พื้นผิวตอบสนอง การผลิตไฮโดรเจนและมีเทนสองขั้นตอน, โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์

Abstract

Palm oil mill effluent (POME) was contained of 85.5 g/l COD. Thus, POME is suitable substrate for hydrogen production. This research aims to study on hydrogen production from POME by dark fermentation. POME was tested at different initial COD loading levels of 20, 40 and 60 gCOD/l. Gas production from POME reached an H_2 yield of 130-200 ml H_2/g COD. At the end of the BHP tests, lactic, acetic, butyric and propionic acids are the main products of POME hydrogenic effluent with a concentration of 3.95, 2.13, 0.25, 1.5 and 0.99 g/l respectively. Consequently, VFA could be converted into a suitable product or energy carrier such as methane via methanogenesis by methanogens under anaerobic digestion. Methane yields from POME hydrogenic effluent at VS loading of 11.8, 17.7, 23.6 and 29.5 gVS/l corresponding to initial volatile fatty acid loading of 0.9, 1.8, 3.6 and 4.7 g/l, respectively, was 510, 467, 428 and 401 mlCH_4/gVS. Response surface methodology was employed to study the effects of mixed VFA concentrations in biohydrogen effluent on methane yield and microbial community. It was found that acetic and butyric acid at high concentrations (8 g/l) were found to significantly inhibit the methane production process, more significantly than lactic and propionic acid ($P<0.01$). An optimization analysis showed that lactic, acetic, butyric and propionic acid at concentrations of 2.88, 5.01, 0.44 and 5.55 g/l, respectively, led to the methane yield of 447 ml CH4/gVS. The concentration of volatile fatty acid at higher than 10 g/l were found to inhibit thermophilic methanogenic archaea but it did not happen in thermophilic methanogenic bacteria. **Methanoculleus thermophilus** was the most abundant species identified in normal conditions, but was not present at inhibited conditions. The result was found that POME is suitable substrate for hydrogen production and POME hydrogenic effluent was high methane production. This study also demonstrates the feasibility of the two-stage hydrogen and methane from POME. A two-stage thermophilic fermentation and mesophilic methanogenic process shown very promising method for the combined energy recovery and removal of COD and SS in POME with the sequential anaerobic production of hydrogen and methane production. The hydrogen production in first stage was operated in anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) under a temperature of 55°C hydraulic retention time (HRT) of 2 d and organic loading rate (OLR) of 60 gCOD /l/d with maximum hydrogen production rate of 1.84 l H_2 /l/d and an average of 1.8 l H_2 /l/d. The maximum and average of methane production rate in the second stage were

2.6 and 2.4 l CH_4 /l/d, respectively at 15 d HRT. The sequential generation of hydrogen and methane from POME markedly increases the energy yield with 34% higher than single stage methane production and 90% higher than single stage hydrogen production. Hydrogen reactor was dominated with hydrogen producing bacteria of Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum, while Methanoculleus sp. was the dominant methanogen in methane reactor.

Keywords: Palm oil mill effluent, Thermophilic hydrogen and methane production, Volatile fatty acids, Response surface methodology, Two-stage hydrogen and methane production, Microbial community analysis

ประกาศคุณูปการ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีทุกคน ทั้งด้านข้อเสนอแนะทางวิชาการ หรืออำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ สถานที่วิจัย ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สมพงศ์ โอทอง ที่ปรึกษาทางวิชาการ ที่ช่วยทำงานวิจัยชิ้นนี้ให้ประสบผลสำเร็จ คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์ม สำหรับการให้ความอนุเคราะห์ของเสียในการวิจัยครั้งนี้ สุดท้ายขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับมหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้สนับสนุนงบประมาณวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 ประเภททุนวิจัยร่วมบัณฑิตศึกษา ทำให้โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินการแล้วเสร็จ

คณะผู้วิจัย

พฤษภาคม 2558

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ข
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ปาล์มน้ำมัน	5
2.2 โฮโดรเจน	6
2.3 กระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ	10
2.4 ไฮเทนและการใช้ประโยชน์	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	15
3.1 การเตรียมกล้าเชื้อผลิตไฮโดรเจนและมีเทน	15
3.2 ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยกระบวนการหมักแบบไร้แสงที่อุณหภูมิสูง	15
3.3 ศักยภาพการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังการผลิตไฮโดรเจนโดยกลุ่มจุลินทรีย์แบบไร้อากาศที่อุณหภูมิสูง	16
3.4 ผลของกรดไขมันระเหยได้ (VFA) ต่อการผลิตมีเทนและโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิสูง	16
3.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจน (ในถังปฏิกรณ์แบบ ASBR) และมีเทน (ในถังปฏิกรณ์แบบ UASB) จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน	18
3.6 การศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ โดยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)	19
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	21
4.1 ศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยกระบวนการหมักแบบไร้แสงที่อุณหภูมิสูง	21

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
4.2	ศักยภาพการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังการผลิตไฮโดรเจนโดยกลุ่มจุลินทรีย์แบบไร้อากาศที่อุณหภูมิสูง	22
4.3	ผลของกรดไขมันระเหยได้ (VFA) ต่อการผลิตมีเทนและโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิสูง	25
4.4	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนในถังปฏิกรณ์แบบ ASBR และมีเทนในถังปฏิกรณ์แบบ UASB จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน	33
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปและข้อเสนอแนะ		39
บรรณานุกรม		41

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	ลักษณะน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม	6
ตารางที่ 2.2	กระบวนการผลิตไฮโดรเจน	7
ตารางที่ 2.3	ปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการผลิตไฮโดรเจน	8
ตารางที่ 2.4	เปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของกระบวนการหมักไร้อากาศแบบขั้นตอนเดียวและแบบสองขั้นตอน	12
ตารางที่ 2.5	ผลของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME) ต่อการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน	13
ตารางที่ 2.6	ผลของอุณหภูมิต่อการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (POME)	14
ตารางที่ 3.1	การออกแบบการทดลองแบบ central composite experimental	17
ตารางที่ 4.1	แสดงองค์ประกอบของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	21
ตารางที่ 4.2	แสดงองค์ประกอบของน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจน	23
ตารางที่ 4.3	แสดงศักยภาพชีวเคมีของมีเทน ผลได้มีเทน และการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	25
ตารางที่ 4.4	การออกแบบการทดลองแบบ central composite experimental ที่มีตัวแปรอิสระ 4 ชนิด และผลผลิตมีเทน จากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจน	27
ตารางที่ 4.5	ค่าทางสถิติของผลของกรดไขมันระเหยได้ต่อการผลิตมีเทน	28
ตารางที่ 4.6	ประสิทธิภาพของกระบวนการและลักษณะน้ำทิ้งจากระบบการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนสองขั้นตอน และระบบการผลิตมีเทนขั้นตอนเดียว	34

สารบัญรูปภาพ

		หน้า
ภาพที่ 3.1	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน	19
ภาพที่ 4.1	ก๊าซไฮโดรเจนสะสมจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ความเข้มข้นสารอินทรีย์เริ่มต้นแตกต่างกัน	22
ภาพที่ 4.2	มีเทนสะสม (a) และผลได้มีเทน (b) จากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจน ที่ความเข้มข้นสารอินทรีย์แตกต่างกัน	24
ภาพที่ 4.3	มีเทนสะสม (a) และผลได้มีเทน (b) จากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่มีการเติมกรดไขมันระเหยได้ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	26
ภาพที่ 4.4	ความเข้มของกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และกรดโพรพิโอนิก ในน้ำหมักหลังการผลิตไฮโดรเจน (a) และประสิทธิภาพการย่อยสลายทางชีวภาพ (b) จากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่มีการเติมกรดไขมันระเหยได้	29
ภาพที่ 4.5	DGGE โปรไฟล์ ชิ้นยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากระบบผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่มีการเติมกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และกรดโพรพิโอนิก ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และดัชนีความคล้ายคลึงกัน (SI) ที่สอดคล้องกับ dendogram (UPGMA clustering)	31
ภาพที่ 4.6	DGGE โปรไฟล์ ชิ้นยีน 16S rRNA ของอาเคียร์จากระบบผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังกระบวนการผลิตไฮโดรเจนที่มีการเติมกรดแลคติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และกรดโพรพิโอนิก ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และดัชนีความคล้ายคลึงกัน (SI) ที่สอดคล้องกับ dendogram (UPGMA clustering)	32
ภาพที่ 4.7	อัตราการผลิตไฮโดรเจน ประสิทธิภาพการกำจัด COD และประสิทธิภาพการกำจัด SS (a) และผลิตภัณฑ์ที่พบในน้ำทิ้งหลังกระบวนการหมัก (b) จากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในถังปฏิกรณ์แบบ ASBR ที่ HRT 2 วัน ภายใต้อุณหภูมิสูง	33
ภาพที่ 4.8	โครงสร้างประชากรแบคทีเรีย (a) จากถังปฏิกรณ์ ASBR สำหรับการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิสูง และ (b) จากถังปฏิกรณ์ UASB สำหรับการผลิตมีเทนจากน้ำทิ้งหลังการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิเมโซฟิลิก (M) DGGE Marker (A) bacterial profile และ (B) archaea profile	35

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 4.9 อัตราการผลิตมีเทน ประสิทธิภาพการกำจัด COD ประสิทธิภาพการกำจัด SS (a) และความเข้นข้นของกรดไขมันระเหยได้ (b) จากถังปฏิกรณ์ UASB ที่มีการแปรผัน HRT 37