ศักดิ์ชาย เพ็ชรตรา. 2552. *การแยกสลายมวลชีวภาพของอ้อยเพื่อการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ.* วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. อลิศรา เรืองแสง,
ผศ. ดร. ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้อ้อยเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (ไฮโดรเจน มีเทน และเอทานอล) โดยใช้เชื้อ *Clostridium butyricum* TISTR 1032และกลุ่มจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ การทดลองแรกได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำอ้อยโดยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ *C. butyricum* TISTR 1032 บนชานอ้อยในกระบวนการหมักแบบกะ และกะซ้ำ ผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะเหมาะสม ได้แก่ ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นของสับสเตรทเท่ากับ 25 กรัมซีโอดี/ลิตร และใช้เซลล์ตรึงเป็นหัวเชื้อ ให้ค่าผลได้ไฮโดรเจน อัตราการผลิตไฮโดรเจน และองค์ประกอบไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 2.66 โมลไฮโดรเจน/โมลซูโครสที่ใช้ไป 3.11 ลิตรไฮโดรเจน/ลิตรสับสเตรท/วัน และ 45% ตามลำดับ โดยใช้เซลล์ตรึง จากนั้นได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนในกระบวนการหมักแบบกะซ้ำโดยใช้เซลล์ตรึงของ *C. butyricum* TISTR 1032 บนชานอ้อย ที่สภาวะเหมาะสมที่ได้จากกระบวนการหมักแบบกะ แปรผันค่าปริมาตรน้ำหมักเติมเข้า/ดึงออกจากถังหมักเป็น 25 50 และ 75% โดยปริมาตร ผลการทดลองพบว่า ค่าผลได้ไฮโดรเจน อัตราการผลิตไฮโดรเจน และองค์ประกอบไฮโดรเจนสูงสุดมีค่าเท่ากับ 3.04 โมลไฮโดรเจน/โมลซูโครสที่ใช้ไป 2.29 ลิตรไฮโดรเจน/ลิตร/วัน และ 45% ตามลำดับ ที่ปริมาตรน้ำหมักเติมเข้า/ดึงออกจากถังหมักที่เหมาะสม คือ 50% โดยปริมาตร จากนั้น ได้ทดลองเชื่อมต่อไฮโดรเจนที่ผลิตได้ระหว่างกระบวนการผลิตแบบกะซ้ำกับเซลล์เชื้อเพลิงเพื่อทดสอบความสามารถในการผลิตกระแสไฟฟ้า พบว่า สามารถผลิตกระแสไฟฟ้าได้คงที่และต่อเนื่องที่ 49 มิลลิวัตต์ ในช่วงเวลา 8-20 ชม ของกระบวนการหมัก จากนั้นได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนแบบต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนต่อเนื่อง (Continuous Stir Tank Reactor, CSTR) โดยใช้น้ำอ้อยที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นสับสเตรทและเติมเชื้อ *C. butyricum* ทำการหมักในสภาวะไม่ฆ่าเชื้อ และแปรผันระยะเวลากักเก็บ (Hydraulic Retention Time, HRT) (36-4 ชม.) ผลการทดลอง พบว่า HRT ที่เหมาะสม คือ 4 ชั่วโมง ให้ผลได้ไฮโดรเจนและอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด คือ 1.00 โมลไฮโดรเจน/โมลเฮกโซสที่ใช้ไป และ 1.82 ลิตรไฮโดรเจน/ลิตร/วัน ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถผลิตไฮโดรเจนจากน้ำอ้อยโดย *C. butyricum* TISTR 1032 ในสภาวะไม่ฆ่าเชื้อได้ อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของไฮโดรเจนในก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าค่อนข้างต่ำ คือ น้อยกว่า 25% ผลจากการ

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในน้ำอ้อย และจุลินทรีย์ที่เติมลงไปเพื่อเป็นหัวเชื้อ (*C. butyricum* TISTR 1032) ในการผลิตไฮโดรเจนในแต่ละ HRT โดยใช้เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) พบว่า *C. butyricum* เป็นจุลินทรีย์ที่เด่นและรับผิดชอบต่อการผลิตไฮโดรเจน โดยทำงานร่วมกับ *Klebsiella pneumoniae* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในน้ำอ้อยเพื่อช่วยในการผลิตไฮโดรเจนได้ นอกจากนี้ยังพบว่า *Lactobacillus harbinensis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในน้ำอ้อยอีกชนิดหนึ่งสามารถเจริญในระบบได้ แต่มีผลด้านลบในการยับยั้งการผลิตไฮโดรเจนจึงส่งผลให้องค์ประกอบไฮโดรเจนในก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าค่อนข้างต่ำ

เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากอ้อยสูงสุด งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากชานอ้อยโดย *C. butyricum* TISTR 1032 เตรียมตัวอย่างชานอ้อยโดยการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก แปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกและระยะเวลาทำปฏิกิริยาเป็น 0.25-7.0% โดยปริมาตร และ 15-240 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 121 °ซ และความดัน 15 กก./ตร.ซม. ในหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง ผลการทดลอง พบว่า สภาวะการย่อยชานอ้อยเหมาะสม คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเท่ากับ 0.5% โดยปริมาตร และระยะเวลาทำปฏิกิริยาเท่ากับ 60 นาที โดยได้ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดในไฮโดรไลเสตเท่ากับ 24.5 กรัม/ลิตร และจากการผลิตไฮโดรเจนโดยใช้ไฮโดรไลเสตของชานอ้อยที่ได้จากสภาวะการย่อยที่เหมาะสมนี้เป็นสับสเตรท พบว่า ได้ค่าผลได้ไฮโดรเจน และอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 1.73 โมลไฮโดรเจน/โมลน้ำตาลที่ถูกใช้ และ 1,611 มิลลิลิตรไฮโดรเจน/ลิตร/วัน ตามลำดับ ที่สภาวะเหมาะสม ได้แก่ ความเป็นกรดด่างและความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นของสับสเทรตเท่ากับ 5.5 และ 20 กรัมซีโอดี/ลิตร ตามลำดับ

เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำอ้อยและชานอ้อยจะได้น้ำหมักที่เหลือจากกระบวนการผลิตซึ่งจัดว่าเป็นน้ำเสีย และมีปริมาณมาก โดยมีองค์ประกอบหลักเป็นสารอินทรีย์ เช่น กรดบิวทิริก กรดอะซิติก และน้ำตาลที่เหลืออยู่ ซึ่งมีรายงานว่าสามารถนำมาใช้เป็นสับเสตรทในการผลิตมีเทนและเอทานอลได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาการผลิตมีเทนโดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศเป็นหัวเชื้อ และศึกษาการผลิตเอทานอลโดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในน้ำหมักเหลือจากการผลิตไฮโดรเจน ซึ่งในการผลิตมีเทนได้ใช้เทคนิคทางสถิติ ได้แก่ Response Surface Methodology (RSM) เพื่อเป็นเครื่องมือในการหาปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการผลิต ผลการทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของสับสเตรทเริ่มต้น อัตราส่วน $NaHCO_3$/ความเข้มข้นของสับสเตรท และความเป็นกรดด่างเริ่มต้น มีผลต่อผลได้มีเทนอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยที่สภาวะเหมาะสมมีค่าเท่ากับ 10.09 กรัมซีโอดี/ลิตร 5.53 และ 7.46 ตามลำดับ ให้ค่าผลได้มีเทนเท่ากับ 1,994.44 มิลลิลิตรมีเทน/กรัมของแข็งระเหยได้ที่เติมลงไป นอกจากนี้ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลจากน้ำหมักของกระบวนการผลิตไฮโดรเจนใน CSTR โดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในน้ำหมักที่เหลือจากการผลิตไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไม่ฆ่าเชื้อ และไม่มีการเติมจุลินทรีย์ชนิดอื่น ผลการทดลอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลคือ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของ

น้ำหมักเท่ากับ 7 และความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลซูโครสในน้ำหมักเท่ากับ 25 กรัมซีโอดี/ลิตร ให้ค่าผลได้เอทานอลเท่ากับ 0.31 โมลเอทานอล/โมลเฮกโซสที่ใช้ไป และอัตราการผลิตเทานอลจำเพาะเท่ากับ 0.22 มิลลิกรัมเอทานอล/มิลลิกรัมของแข็งระเหยได้/วันและพบว่า *C. butyricum* สามารถเจริญและทำหน้าที่ผลิตเอทานอลได้ในทุกช่วงความเป็นกรดด่าง (5.0-8.0) และความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น (25-300 กรัมซีโอดี/ลิตร) ที่ใช้ในการทดลองนี้ จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอ้อยสามารถนำมาใช้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพหลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น