



การผลิตก๊าซชีวภาพจากกระบวนการหมักร่วมย่อยของหญ้าเนเปียที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับน้ำเสียจากโรงงานฆ่าสัตว์

Biogas production from co-digestion of hydrolysate of microwave assisted sulfuric acid pretreated napier grass and slaughterhouse wastewater

สุรีย์วัลย์ สิทธิจันดา และคณะ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี  
งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี  
โดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
ประจำปีงบประมาณ 2557



การผลิตก๊าซชีวภาพจากกระบวนการหมักร่วมย่อยของหญ้าเนเปียที่ผ่านการ  
ปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับน้ำเสียจากโรงงานฆ่าสัตว์

Biogas production from co-digestion of hydrolysate of  
microwave assisted sulfuric acid pretreated  
napier grass and slaughterhouse wastewater

สุรีย์วัลย์ สิทธิจันดา และคณะ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี  
งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี  
โดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ  
ประจำปีงบประมาณ 2557

สุรีย์วัลย์ สิทธิจันดา. 2557. *การผลิตก๊าซชีวภาพจากกระบวนการหมักย่อยร่วมของหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับน้ำเสียจากโรงงานฆ่าสัตว์.*

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ โดยกลุ่มจุลินทรีย์แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิห้อง โดยปัจจัยที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ค่า pH เท่ากับ 6 7 และ 8 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ที่ระดับ 0.5:1 1:1 และ 2:1 %v/v ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์เริ่มต้นเท่ากับ 1 3 และ 6 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำการทดลองในกระบวนการหมักแบบกะผลการทดลองพบว่า pH อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ และความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตมีผลต่อการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทน โดยสภาวะที่เหมาะสมที่ให้การผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนสูงสุดเท่ากับ pH เริ่มต้น 7 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 %v/v และความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์เท่ากับ 6 กรัมต่อลิตร ณ สภาวะดังกล่าวจะให้ผลการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนสูงสุดเท่ากับ 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ ณ สภาวะดังกล่าวจุลินทรีย์มีการใช้สับสเตรทเพื่อผลิตมีเทนส่งผลให้ค่าซีไอดีเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักลดลง โดยคิดเป็นค่ากำจัดซีไอดีเท่ากับ 67.30% และเมื่อเปรียบเทียบผลของการเติมหัวเชื้อต่อการผลิตมีเทนจากกระบวนการหมักย่อยร่วมที่สภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวพบว่า การเติมหัวเชื้อเริ่มต้นจะส่งผลให้ค่าการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนที่สูงกว่าชุดควบคุมคือชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ (116.43 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.21 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h) ถึง 2.58 และ 2.57 เท่าตามลำดับ

Sureewan Sittijunda. 2014. *Biogas production from co-digestion of hydrolysate of microwave assisted sulfuric acid pretreated napier grass and slaughterhouse wastewater*. Research in Biotechnology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University.

### ABSTRACT

This research aim to optimize environmental factors effecting on methane production from co-digested of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater by anaerobic mixed cultures. Importance factors influencing methane production i.e., initial pH (6, 7, 8), hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater ratio (0.5:1; 1:1; 2:1 %v/v) and total sugar concentration (1, 3, 6 g/L) was conducted using batch test. Results indicated that initial pH, hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater ratio and total sugar concentration influences on methane production. Optimal conditions for the maximal methane production (MP) and methane production rate (MPR) were initial pH of 7, hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater ratio of 2:1 %v/v and total sugar concentration of 6 g/l in which MP and MPR of 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate and 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h were obtained. The COD removal efficiency obtained under optimum condition was 67.30%. Using the optimal conditions, MP and MPR from co-digestion of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater (300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate and 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h) was 2.58 and 2.57 times greater than the control (hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater without inoculum addition or self fermentation) (116.43 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate and 0.21 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h), indicating a significant enhance of MP and MPR by inoculum addition.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี โดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ. 2557 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ห้องปฏิบัติการวิจัยด้านสิ่งแวดล้อมและพลังงานทดแทน คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยจนกระทั่งดำเนินการทดลองเสร็จสิ้นตามวัตถุประสงค์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
3. ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
4. กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1. การผลิตมีเทนในกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกาศ	4
2. กระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกาศ	4
3. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมีเทน	6
4. หญ้าเนเปียร์	6
5. การปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส	11
6. น้ำเสียโรงฆ่าสัตว์	12
7. การใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสร่วมกับของเสียอื่นๆ (Co-digestion) เพื่อเป็นสับสเตรทการผลิตพลังงานชีวภาพ	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	14
1. อุปกรณ์และสารเคมี	14
2. วัสดุดิบ	15
3. หัวเชื้อเริ่มต้น	15
4. การเตรียมไฮโดรไลเสทของหญ้าเนเปียร์ และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์	16
5. การผลิตก๊าซมีเทนในกระบวนการหมักแบบกะ	16
6. การวิเคราะห์ผลการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์	20
2. ผลการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟ	20
3. การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของ ไฮโดรไลเสทหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์	21

## สารบัญ

	หน้า
4. ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ต่อ การผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสีย โรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์	24
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	27
บรรณานุกรม	28
ภาคผนวก	31
ประวัตินักวิจัย	34

## สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	องค์ประกอบของน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์	2
ตารางที่ 2	อุปกรณ์และเครื่องมือ	14
ตารางที่ 3	สารเคมี	14
ตารางที่ 4	สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลกรดไขมันระเหยง่ายและแอลกอฮอล์	17
ตารางที่ 5	สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพโดย gas chromatography	17
ตารางที่ 6	องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์	20
ตารางที่ 7	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์	21
ตารางที่ 8	การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของ ไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยแปรผันค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์	24
ตารางที่ 9	ค่าซีโอดีและ pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมักย่อยร่วมของ ไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ณ เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดกระบวนการหมัก	24
ตารางที่ 10	การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของ ไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยแปรผันความ เข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ ที่ค่า pH เท่ากับ 7 และอัตราส่วนระหว่าง ไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 % v/v	26
ตารางที่ 11	ค่าซีโอดีและ pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมักย่อยร่วมของ ไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ณ เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดกระบวนการหมักโดยแปรผัน ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ	26

## สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ	5
รูปที่ 2	หญ้าเนเปียร์	6
รูปที่ 3	โครงสร้างของพืชที่ประกอบด้วยวัสดุลิกโนเซลลูโลส	7
รูปที่ 4	โครงสร้างของเซลลูโลส	8
รูปที่ 5	โครงสร้างการเกิดพันธะไฮโดรเจนของเซลลูโลส	9
รูปที่ 6	โครงสร้างของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส	9
รูปที่ 7	โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	10
รูปที่ 8	โครงสร้างของลิกนิน	10
รูปที่ 9	การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของพืชในระหว่างการปรับสภาพ	11
รูปที่ 10	ปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ในแต่ละช่วงเวลาที่ค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลสเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ต่างๆ (ก) ชุดทดลองการเติม (ข) ของชุดควบคุมไม่มีการเติมหัวเชื้อ	23
รูปที่ 11	ปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ในแต่ละช่วงเวลาที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ ที่ค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลสเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 7 และ 2:1 %v/v	25
รูปที่ 12	ตัวอย่างลักษณะโครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ห้องประกอบของก๊าซชีวภาพโดยใช้ GC	32
รูปที่ 13	ตัวอย่างลักษณะโครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ห้องประกอบของไฮโดรไลสเสตโดยใช้ HPLC	33

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เชื้อเพลิงชีวภาพเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของพลังงานทดแทน และในปัจจุบันมีบทบาทเพิ่มขึ้นด้านการศึกษาและพัฒนาเกี่ยวกับเชื้อเพลิงชีวภาพ เพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรจึงเป็นการนำชีวมวลทางการเกษตรมาใช้เป็นพลังงานทดแทนพลังงานจากปิโตรเลียมที่มีอยู่อย่างจำกัด และมีราคาสูงขึ้น การแก้ไขปัญหาเหล่านี้ รัฐบาลจึงมีนโยบายส่งเสริมให้มีการศึกษาและพัฒนาพลังงานทดแทนที่มาจากชีวมวลและชีวมวลโดยจัดให้นโยบายด้านพลังงานทดแทนเป็นวาระแห่งชาติ ซึ่งมีการสนับสนุนการผลิตและการใช้พลังงานทดแทน และพลังงานทางเลือก เพื่อให้สามารถรับมือกับสถานการณ์การขาดแคลนพลังงานในอนาคต (สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน, 2554) ปัจจุบันรัฐบาลมีนโยบายหาพลังงานจากแหล่งอื่นมาทดแทนพลังงานจากถ่านหินและปิโตรเลียม เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ พลังงานลม พลังงานน้ำ พลังงานจากชีวมวล เป็นต้น โดยเฉพาะพลังงานจากชีวมวลที่ได้จากวัตถุดิบที่มีลิกโนเซลลูโลส ซึ่งลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบเป็น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน พบมากในผนังเซลล์ของพืชได้แก่ เศษวัสดุเหลือทิ้งจากไม้ทั้งไม้เนื้อแข็งและไม้เนื้ออ่อน เศษวัสดุจากการเกษตร เช่น ชังข้าวโพด ชานอ้อย ชานข้าวฟ่างหวาน แกลบ และพวกฟางข้าว ขยะจากกระบวนการแปรรูปอาหารและจากบ้านเรือน รวมถึงมูลสัตว์ต่างๆ โดยในแต่ละปีมีเศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรเป็นจำนวนมาก ซึ่งเราสามารถนำลิกโนเซลลูโลสเหล่านี้มาใช้เป็นชีวพลังงานได้ โดยวิธีการย่อยสลายของลิกโนเซลลูโลสจะได้น้ำตาลที่มีทั้งคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นสับสเตรทในกระบวนการผลิตพลังงานทดแทน

ปัจจุบันหญ้าเนเปียร์ถือเป็นพืชพลังงานที่รัฐบาลให้การสนับสนุนและส่งเสริมให้มีการเพาะปลูก ดังนั้นการนำหญ้าเนเปียร์มาผลิตเป็นพลังงานทดแทนจึงเป็นแนวทางที่สอดคล้องกับการส่งเสริมของรัฐบาล ซึ่งหญ้าเนเปียร์จัดเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสประเภทหนึ่ง มีองค์ประกอบหลักเป็น เซลลูโลส (31.7%) เฮมิเซลลูโลส (40.2%) และลิกนิน (4.1%) โดยเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนที่น่าสนใจ เนื่องจากมีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลเพนโตส (ไซโลส อะราบิโนส) และน้ำตาลเฮกโซส (กลูโคส) หากมีการนำมาผ่านกระบวนการย่อยสลาย (hydrolysis) ที่เหมาะสมเช่น การย่อยด้วยกรด การย่อยด้วยด่าง หรือการระเบิดด้วยไอน้ำ จะสามารถนำน้ำตาลเพนโตส และเฮกโซสไปใช้เป็นสับสเตรท ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตพลังงานทดแทน คือ ก๊าซชีวภาพได้ เมื่อศึกษาวิธีการปรับสภาพแต่ละวิธีจะเห็นว่า การระเบิดด้วยไอน้ำจะใช้ต้นทุนส่วนกว่าวิธีทางเคมี องค์ประกอบของไฮโดรไลเสตจะประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส ไซโลส อะราบิโนส ซึ่งองค์ประกอบดังที่ได้กล่าวมานั้นสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตามในการเจริญของจุลินทรีย์จะต้องมีแหล่งไนโตรเจนเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีความสนใจที่จะนำเอาน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ (Slaughterhouse wastewater) ซึ่งมีโปรตีนในปริมาณสูง (ตารางที่ 1) ทำให้มีความเหมาะสมในการใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน ร่วมกับไฮโดรไลเสตของหญ้าเนเปียร์ ในการผลิตก๊าซชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ (Cuetos et al., 2008)

องค์ประกอบ	ปริมาณ
คาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมด (% db)	23.1
อินทรีย์วัตถุ (% db)	39.6
ไนโตรเจนทั้งหมด (% db)	6.2
โปรตีนทั้งหมด (% db)	38.9
ไขมันทั้งหมด (% db)	40.5
อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (% db)	3.7
TS (%)	28.3
VS (%)	26.0

db: dry basis

## 2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์โดยรวมของงานวิจัย เพื่อให้ได้มาซึ่งสถานะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพมูลเปี้ยว โดยใช้กรด และนำ hydrolysate ที่ได้ไปผลิตก๊าซชีวภาพร่วมกับน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์หลักจึงแบ่งวัตถุประสงค์ย่อยออกเป็น 2 ข้อ คือ

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของค่าความเป็นกรดต่างและอัตราส่วนของ hydrolysate ต่อน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เพื่อผลิตมีเทน

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นใน hydrolysate ต่อการผลิตมีเทนจาก hydrolysate มูลเปี้ยวร่วมกับน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

## 3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการ โดยจะศึกษาเพื่อหาสถานะที่เหมาะสมในการย่อยมูลเปี้ยวด้วยกรด และนำส่วนของ hydrolyaste จากสถานะการย่อยที่เหมาะสมมาใช้เป็นสับสเตรทเริ่มต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพร่วมกับน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ โดยดำเนินการผลิตในกระบวนการหมักแบบกะภายใต้อุณหภูมิห้อง

## 4. กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

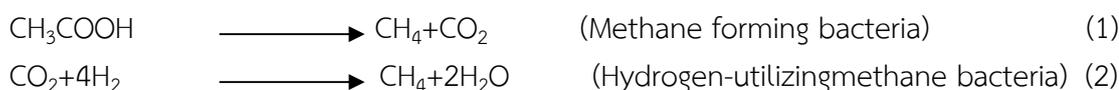
งานวิจัยนี้ดำเนินการวิจัยภายใต้สมมติฐานที่ว่า การปรับสภาพมูลเปี้ยวเพื่อให้ได้น้ำตาลเป็นกระบวนการที่สำคัญเพื่อให้ได้มาซึ่งการผลิตก๊าซชีวภาพโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่สูงขึ้น ดังนั้นเมื่อดำเนินการหาสถานะที่เหมาะสมในการปรับสภาพด้วยกรดจะส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลที่มากขึ้น และทำให้ได้ผลได้ก๊าซชีวภาพที่สูงขึ้นด้วย ซึ่งผลลัพธ์ของงานวิจัยที่ได้จะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่มูลเปี้ยวและได้แหล่งพลังงานทดแทนอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามในการผลิตก๊าซชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งเป็นวัตถุดิบจำพวกลิกโนเซลลูโลส สิ่งที่จะต้องคำนึงคือการเติมแหล่งไนโตรเจน เช่น สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เปปโตน (peptone) เป็นต้น เนื่องจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส จะไม่มีไนโตรเจนในองค์ประกอบ งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะนำน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ซึ่งมีปริมาณ

ไนโตรเจนสูง มาใช้เป็นสับสเตรทร่วมในการผลิตก๊าซชีวภาพจากไฮโดรไลเสตของหญ้าเนเปียร์ เพื่อปรับสมดุลของแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งหากงานวิจัยประสบความสำเร็จจะก่อให้เกิดประโยชน์ คือลดการเติมแหล่งไนโตรเจนสังเคราะห์ในการผลิตก๊าซชีวภาพจากไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ และช่วยลดการปล่อยของเสียสู่สิ่งแวดล้อม เช่น ปริมาณน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

## บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1. การผลิตมีเทนในกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกภาค

ก๊าซมีเทน ( $\text{CH}_4$ ) สามารถผลิตได้จากมวลชีวภาพต่างๆ ถือว่าเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพที่ใช้แล้วไม่หมดไป ก๊าซมีเทนค่าพลังงานความร้อนสูงถึง 9,000 กิโลแคลอรี/ม<sup>3</sup> หรือ 21,000 กิโลจูล/ม<sup>3</sup> จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในรูปแบบของพลังงานได้ เช่น เผาไหม้เพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง หรือใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับขับเคลื่อนเครื่องยนต์สันดาปภายใน หรือเป็นเชื้อเพลิงในการผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้า นอกจากนี้คุณสมบัติสำคัญของมีเทนคือเป็นแก๊สที่เมื่อเผาไหม้แล้วได้สารผลิตภัณฑ์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด (Wikipedia, 2006) จากขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ (รูปที่ 1) การผลิตมีเทนนั้นเกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 4 ที่เรียกว่ากระบวนการ Methanogenesis เป็นการเปลี่ยนกรดอินทรีย์โมเลกุลเล็กที่เกิดจากขั้นตอนการสร้างกรดไปเป็นก๊าซมีเทนถึง 70% โดย Methane forming bacteria (Polprasert, 1996) และอีกส่วนหนึ่งเกิดจากการรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทนโดย Hydrogen-utilizing methane bacteria ดังสมการที่ 1 และ 2



แบคทีเรียที่สร้างมีเทนมีการเจริญเติบโตได้ช้าและสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตค่อนข้างมาก ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมีเทนประกอบด้วย 1) ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมได้แก่ พีเอช (Masse and Droste, 2000) อุณหภูมิ ความเป็นต่าง สารพิษ สารยับยั้งปฏิกิริยา และลักษณะของของเสีย 2) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเดินระบบ ได้แก่ การกวนผสม (Molnar and Bartha, 1989) อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (organic loading rate, OLR) และระยะเวลาที่กักเก็บ (hydraulic retention time, HRT) (Lettinga 1995; Lo and Liao, 1985) การผลิตมีเทนจากแบคทีเรียสามารถใช้ผลผลิตทางการเกษตรหรือของเสียจากอุตสาหกรรมเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ ตัวอย่างเช่น น้ำเสียจากโรงเลี้ยงสัตว์ (Largus et al., 2004) น้ำเสียจากโรงอุตสาหกรรม (Chen et al., 2003) municipal solid waste (Liu et al., 2008) agricultural waste (Parawira et al., 2008) เป็นต้น

### 2. กระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกภาค

กระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกภาค (รูปที่ 1) มีปฏิกิริยาหลักๆ เกิดขึ้นอยู่ 2 ขั้นตอน (Two phase anaerobic process: TPAP) คือ 1) กระบวนการผลิตกรด (Acidogenesis) 2) กระบวนการผลิตมีเทน (Methanogenesis) ซึ่งพบว่ากระบวนการ TPAP นี้ สามารถผลิตได้ทั้งมีเทนและก๊าซไฮโดรเจนออกมาพร้อมๆ กันได้ ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกภาค (Anaerobic process) เกิดขึ้น 4 ขั้นตอนย่อยตามลำดับ ดังนี้

### 2.1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ไฮโดรไลซิสเป็นกระบวนการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ปล่อยออกมา

### 2.2 กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis)

ผลผลิตจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 จะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรดนำไปใช้เพื่อผลิตกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) เช่น กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวทริก เป็นต้น ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และมีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว

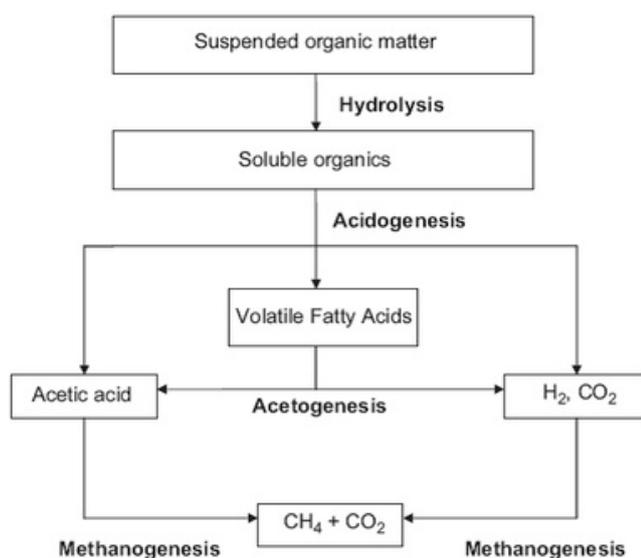
### 2.3 กระบวนการสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยง่าย (Acetogenesis)

กรดไขมันระเหยที่ได้จากกระบวนการสร้างกรดจะถูกแบคทีเรียอะซิโตจีนิค (Acetogenic bacteria) เปลี่ยนให้เป็นกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ปฏิกิริยานี้มีความสำคัญเนื่องจากการลดการสะสมของกรดไขมันระเหย ซึ่งการสะสมของกรดไขมันระเหยในปริมาณสูงสามารถยับยั้งการสร้างมีเทนได้

### 2.4 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างกรดจะถูกแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) ใช้สร้างมีเทน

ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ (ขั้นตอนการเกิดก๊าซชีวภาพ) คือ การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกลุ่มแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ (ไร้ออกซิเจน) ผลที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายส่วนใหญ่ คือ ก๊าซชีวภาพ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นก๊าซมีเทน ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ดังกล่าวโดยสรุปแสดงดังรูปที่ 1 (Energy Delta Institute, 2557)



รูปที่ 1 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ  
(Energy Delta Institute, 2557)

### 3. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมีเทน

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมีเทนประกอบด้วยปัจจัยหลัก 2 ปัจจัยได้แก่ 1) ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ความเป็นต่าง สารพิษ สารยับยั้งปฏิกิริยา และลักษณะของของเสีย 2) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเดินระบบ ได้แก่ การกวนผสม อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (organic loading rate, OLR) และเวลากักเก็บ (hydraulic retention time, HRT) มีรายงานการวิจัยหลายงานที่ศึกษาผลของปัจจัยดังกล่าวต่อการผลิตมีเทน เช่น McCarty (1964) ศึกษาผลกระทบของเกลือที่เป็นองค์ประกอบในของเสียพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 100-200 มก/ลิตร ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ mesophilic anaerobic bacteria ที่ผลิตมีเทน ซึ่งรายงานดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Kugelman and McCarty (1965) ที่พบว่าระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 230 mg Na<sup>+</sup>/ลิตรเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของ mesophilic hydrogenotrophic methanogens แต่เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์มีค่าสูงถึง 8,000 มก/ลิตร จะมีผลยับยั้งการผลิตมีเทน (McCarty 1964) Diaz et al. (1993) พบว่าขั้นตอนการเกิดก๊าซมีเทนจะเกิดขึ้นได้ดีที่พีเอช 6.8-7.2 และพีเอชที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 7.0 การศึกษาของ Zhang et al. (1998) พบว่าการผลิตมีเทนโดยแบ่งอุณหภูมิเป็น 2 ระดับคือ thermophilic และ mesophilic นั้นต้องทำการผลิตที่ HRT ต่ำ (3 วัน) จะให้ผลผลิตมีเทนได้สูงกว่าที่ HRT สูง (6 วัน)

### 4. หญ้าเนเปียร์ (Napier grass)

หญ้าเนเปียร์ (รูปที่ 2) เป็นหญ้าเขตร้อน มีใบหนาและกว้าง มีการนำเข้ามาเพาะปลูกในประเทศไทยประมาณ 30 ปีมาแล้ว และมีสายพันธุ์มากกว่า 130 สายพันธุ์ และสายพันธุ์เดิมนิยมปลูกในประเทศไทยมีอยู่ 3 สายพันธุ์ คือ หญ้าเนเปียร์ธรรมดา หญ้าเนเปียร์ยักษ์ (King Grass) และหญ้าเนเปียร์แคระ (Mott Dwarf Elephant Grass) โดยทั่วไปหญ้าเนเปียร์เป็นหญ้าที่ดอกไม่ติดเมล็ด จึงไม่เป็นปัญหาในการเป็นวัชพืช และในประเทศไทยมีการเพาะปลูกเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง มีผลผลิตสูงเฉลี่ย 40-80 ตันสดต่อไร่ต่อปี และมีคุณค่าทางอาหารสูง

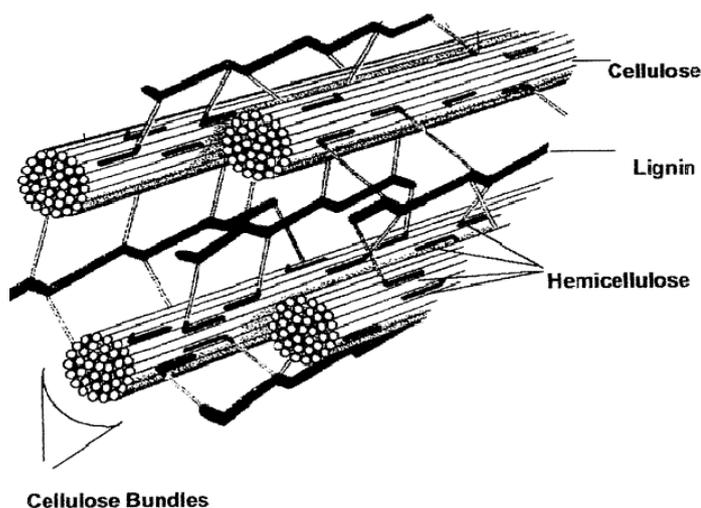


รูปที่ 2 หญ้าเนเปียร์  
(ปวาริต ภัทรสิทธิธร, 2555)

เป็นพืชที่มีคุณลักษณะคือ ชอบแสงแดด และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่ดินดี และมีน้ำเพียงพอแต่ไม่ท่วมขัง สามารถเพาะปลูกเหมือนการเพาะปลูกอ้อย ปลูกครั้งเดียวสามารถเก็บเกี่ยวได้นานถึง 6-7 ปี ต่อมาสถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน (สนพ.) กระทรวงพลังงาน ทำการวิจัยหญ้าที่เหมาะสมเป็นพืชพลังงาน จำนวน 20 ชนิด พบว่า หญ้าเนเปียร์ปากช่อง 1 เป็นสายพันธุ์ผสมที่เกิดจากการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างหญ้าเนเปียร์ยักษ์และ หญ้าไข่มุก สามารถเก็บเกี่ยวได้ปีละ 5-6 ครั้ง ให้ผลผลิตต่อไร่สูงสุดประมาณ 70-80 ตันสดต่อปีต่อไร่ ซึ่งมากกว่าหญ้าชนิดอื่น เกือบ 7 เท่า มีโครงสร้างสารอาหารเหมาะต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดแก๊ส มีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนสูงกว่าหญ้าชนิดอื่น โดยมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพประมาณ 6,860-7,840 ลบ.ม./ไร่/ปี สามารถนำมาผลิตก๊าซไบโอมีเทนอัด (CBG) มีค่าความร้อนประมาณ 14-18 MJ/kg ที่สามารถทดแทนก๊าซ NGV ได้ประมาณ 3,118 - 3,563 กก./ปี เหมาะสมต่อการนำมาผลิตเป็นพลังงานทดแทนมากกว่าหญ้าชนิดอื่น หญ้าเนเปียร์สดอายุประมาณ 60 วัน เมื่อทำการเก็บเกี่ยวและผ่านกระบวนการหมัก จะเกิดการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Digestion) ได้ผลผลิตเป็น ก๊าซชีวภาพ โดยหญ้าเนเปียร์สด 1 ตัน สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ 90 ลูกบาศก์เมตร เปลี่ยนเป็นพลังงานไฟฟ้าประมาณ 170 กิโลวัตต์ต่อวัน

#### 4.1 โครงสร้างขององค์ประกอบในหญ้าเนเปียร์

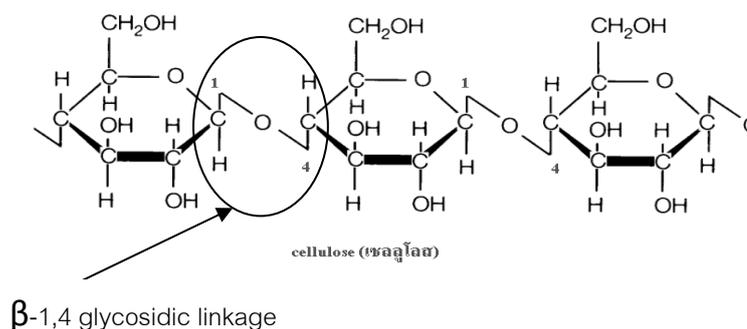
หญ้าเนเปียร์จัดเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสประเภทหนึ่ง ซึ่งโดยทั่วไปวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจะประกอบด้วยส่วนประกอบสำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และสารประกอบอื่น ๆ ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 โครงสร้างของพืชที่ประกอบด้วยวัสดุลิกโนเซลลูโลส  
(Scott et al., 2002)

#### 4.1.2 เซลลูโลส (Cellulose)

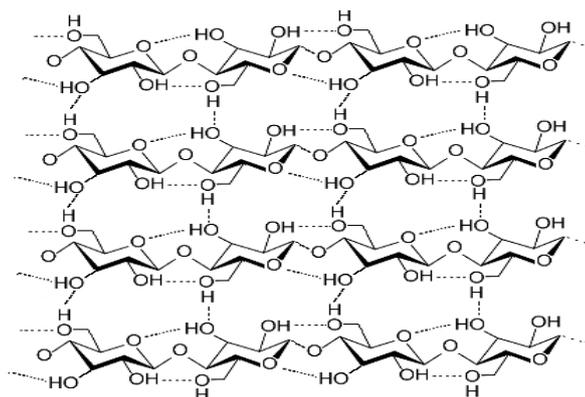
เซลลูโลส (Cellulose) มีสูตรโมเลกุลทั่วไปคือ  $C_6H_{12}O_6$  เป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ประเภท homopolysaccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (glucose) ต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ชนิดเบต้า-1, 4 ( $\beta$ -1,4) เป็นสายยาวมากกว่า 2000 โมเลกุล ดังรูปที่ 4 โดยจะมีความสัมพันธ์และพบรวมกับเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน เพนโตแซมกัน แทนนิน ไขมัน และสารที่ทำให้เกิดสี เป็นต้น (วรรณภา ตูलयัญญ, 2551)



#### รูปที่ 4 โครงสร้างของเซลลูโลส

(วรรณภา ตูलयัญญ, 2551)

เซลลูโลสมีหมู่ไฮดรอกซิลถึง 3 หมู่ ซึ่งจะทำให้ปฏิกิริยาโดยจะจับกับ ออกซิเจน (O), ไนโตรเจน (N) และ ซัลเฟอร์ (S) สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน (H - bond) ได้ ดังรูปที่ 5 แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของเซลลูโลสจึงมีมากและโครงสร้างของเซลลูโลสยังจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ จึงทำให้เซลลูโลสมีความเป็นผลึกสูงมาก อุณหภูมิการหลอมตัวจึงสูงมาก การที่จะแยกองค์ประกอบเหล่านี้ออกจากกันได้จึงจำเป็นต้องใช้กระบวนการทางเคมีเข้ามาช่วย เซลลูโลสมักจะสลายตัวก่อนถึงอุณหภูมิหลอมตัว และมีความสามารถในการละลายต่ำ เซลลูโลสธรรมชาติจะมีน้ำหนักเฉลี่ยต่างกัน การกระจายน้ำหนักโมเลกุลของเซลลูโลสมีความสำคัญต่อสมบัติทางกายภาพจึงจำเป็นที่จะต้องมีการนำวัตถุดิบไปผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อเปลี่ยนสภาพวัตถุดิบให้เหมาะต่อการนำไปย่อยให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้กรดหรือเอนไซม์ (น้ำย่อย) แล้วเข้าสู่กระบวนการหมักต่อไป (วิโววรรณ สีนะกุล, 2552)

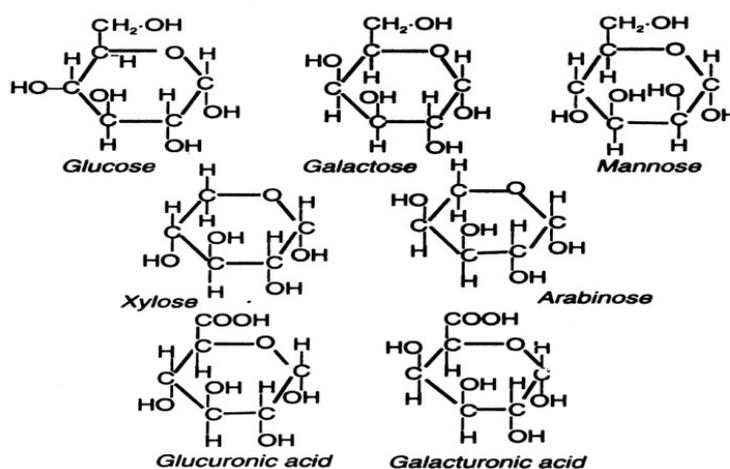


รูปที่ 5 โครงสร้างการเกิดพันธะไฮโดรเจนของเซลลูโลส  
(Yoshiharu et al., 2002)

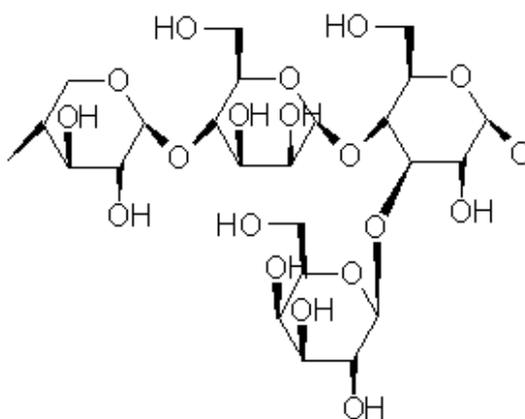
#### 4.1.3 เฮมิเซลลูโลส

โดยทั่วไปแล้วเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด (ปรีชา เกียรติกระจ่าย และทรงกลด จารุสมบัติ, 2528) คือ กลุ่มน้ำตาลเพนโตส (น้ำตาล C-5) ได้แก่ ไซโลส (Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) กลุ่มน้ำตาลเฮกโซส (น้ำตาล C-6) ได้แก่ แมนโนส (Mannose) กาแลกโตส (Galactose) กลูโคส (Glucose) และกรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid) ซึ่งเป็นมอนอเมอร์ของเฮมิเซลลูโลส ดังรูปที่ 6 เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ในผนังเซลล์พืช โดยทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมประสานกลุ่มเส้นใยเซลลูโลสร่วมกับลิกนินและเพกตินประกอบเป็นผนังเซลล์ทำให้เซลล์มีความแข็งแรงและคงรูปอยู่ได้ (วิไลวรรณ สีนะกุล, 2552) โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสดังรูปที่

7



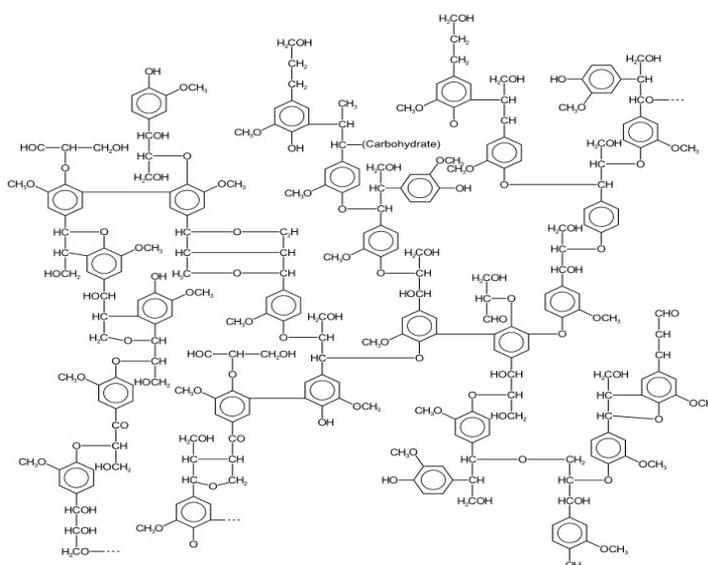
รูปที่ 6 โครงสร้างของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส  
(Slavin et al., 1983)



รูปที่ 7 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส  
(Wikipedia, 2014)

#### 4.1.4 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนิน (รูปที่ 8) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีน้ำหนักโมเลกุลสูงเป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนรวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิดซึ่งเป็นอะโรมาติก มักพบอยู่รวมกับเซลลูโลส ลิกนิน ของ Phenyl propane (จิไลวรรณ สิ้นะกุล, 2552) ซึ่งแบ่งเป็น aliphatic hydroxyl groups และ aromatic hydroxyl groups ซึ่งไม่ใช่สารองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต ดังรูปที่ 5 และรูปที่ 6 โดยทั่วไปลิกนินทำหน้าที่หลักคือเสริมความแข็งแรงให้กับโครงสร้างของพืช ขัดขวางการย่อยสลายของจุลินทรีย์ และขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาเคมี ในผนังเซลล์พืชมีปริมาณลิกนินอยู่ 10-25 %



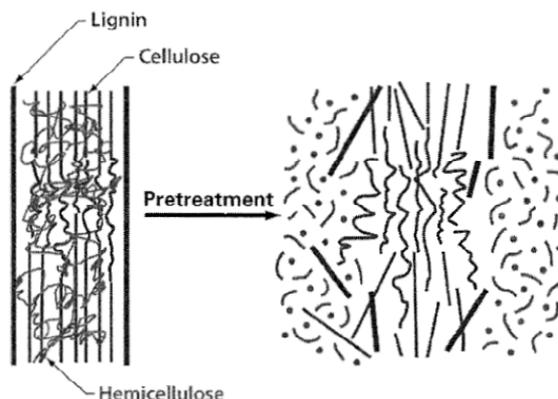
รูปที่ 8 โครงสร้างของลิกนิน  
(บุญรอด วงษ์สวาท, 2008)

## 5. การปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส

การนำวัสดุลิกโนเซลลูโลสมาผลิตพลังงานทดแทนประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญดังนี้คือ ขั้นตอนการปรับสภาพ (pretreatment) โดยกำจัดองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น ลิกนิน และย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม เมื่อผ่านการปรับสภาพจะได้องค์ประกอบ 2 ส่วนคือส่วนที่เรียกว่า hydrolysate ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม และ ลิกนิน อีกส่วนคือส่วนที่เป็นของแข็งซึ่งส่วนมากจะประกอบไปด้วยเซลลูโลส ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการย่อยต่อด้วยกรดต่าง หรือ เอนไซม์จะได้น้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม

### 5.1 กระบวนการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์

การปรับสภาพ (pretreatment) (รูปที่ 9) หญ้าเนเปียร์ มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อกำจัดลิกนิน (lignin) และปลดปล่อยเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ให้ได้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม และลดลักษณะที่เป็นผลึก (crystallinity) ของเซลลูโลส (cellulose) นอกจากนี้ยังปรับโครงสร้างของวัสดุให้สามารถเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายได้ง่าย โดยการปรับสภาพที่นิยมในปัจจุบันประกอบด้วย การปรับสภาพด้านกายภาพ (physical) ด้านเคมีกายภาพ (physico-chemical) ด้านเคมี (chemical) และด้านชีวภาพ (biological) (จันทร์จิรา สลับเชื้อ, 2550)



รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของพืชในระหว่างการปรับสภาพ

(Mosier et al., 2005)

**5.1.1 การปรับสภาพด้านกายภาพ (physical pretreatment)** เป็นวิธีการทำให้ขนาดของวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีขนาดเล็กลง โดยการตัด การบด การสั่น หรือโมให้มีขนาดประมาณ 2.2-10 มิลลิเมตร (Chandel et al., 2006) มีผลทำให้โครงสร้างที่เป็นผลึก (crystallinity) ลดขนาดลงและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการเกิดปฏิกิริยามากขึ้น

### 5.1.2 การปรับสภาพด้านเคมีกายภาพ (physico-chemical pretreatment)

1) Steam Explosion กระบวนการนี้เป็นวิธีการที่ทำให้วัสดุที่ผ่านการตัดแล้วอุ่มตัวด้วยน้ำภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูงและลดความดันลงทันทีทำให้น้ำระเหยออกอย่างรวดเร็ว โครงสร้างของผนังเซลล์พืชเกิดการเสียหาย โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ใช้เริ่มแรกเท่ากับ 160 –260 °C ความดัน 0.69–4.83 Mpa

2) Ammonia fiber explosion (AFEX) เป็นวิธีการหนึ่งของการปรับสภาพทางด้านเคมีกายภาพ ซึ่งวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสจะถูกรวมด้วยแอมโมเนียเหลวที่ความดันและอุณหภูมิสูงตามระยะเวลาที่กำหนด หลังจากนั้นความดันจะลดลงทันที ซึ่งหลักการคล้ายกันกับวิธี Steam Explosion โดยในการ AFEX ปริมาณแอมโมเนียเหลวที่ใช้จะอยู่ที่ระดับ 1–2 กรัมแอมโมเนียต่อ กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง

### 5.1.3 การปรับสภาพด้านเคมี (chemical pretreatment)

1) ปรับสภาพด้วยกรด (acid pretreatment) เช่น กรดซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ถูกนำมาใช้ในกระบวนการปรับสภาพวัสดุลิกโนเซลลูโลส ซึ่งในการใช้กรดมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพเซลลูโลส แต่กรดเข้มข้นมีความเป็นพิษ กัดกร่อนได้ดีและอันตราย ถึงปฏิกิริยาที่ต้องใช้ต้องมีความทนทานต่อกรด ดังนั้นในการใช้จึงต้องมีการเจือจางก่อน ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของวัสดุได้ดีเช่นกัน

2) ปรับสภาพด้วยเบส (alkaline hydrolysis) สารเคมีที่มีความเป็นเบสบางชนิดสามารถนำมาใช้ในการปรับสภาพวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสได้ และผลกระทบของการใช้เบสขึ้นกับปริมาณของลิกนินในวัสดุ การใช้เบสเจือจางทำให้โครงสร้างวัสดุที่ยึดกันแน่นคลายออกจากกัน ทำให้มีพื้นที่ผิวมากยิ่งขึ้น ลดลักษณะที่เป็นผลึกแยกโครงสร้างวัสดุที่เชื่อมต่อกันของลิกนินและคาร์โบไฮเดรต และทำลายโครงสร้างของลิกนิน

### 5.1.4 การปรับสภาพด้านชีวภาพ (biological pretreatment)

ในกระบวนการปรับสภาพทางชีวภาพโดยส่วนใหญ่จะเป็นการใช้จุลินทรีย์ในกลุ่ม brown-, white- และ soft-rot fungi ในการย่อยลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ซึ่ง brown-rot fungi มีประสิทธิภาพดีเฉพาะเซลลูโลส ส่วน white- และ soft-rot fungi มีประสิทธิภาพต่อเซลลูโลสและลิกนิน โดยเฉพาะ white-rot fungi มีความเหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพโดยวิธีทางชีวภาพ เมื่อวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสถูกปรับสภาพเพื่อลดปริมาณลิกนินและเฮมิเซลลูโลสแล้วจะทำให้โครงสร้างของวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสมีความเป็นผลึกลดลง ซึ่งง่ายต่อกระบวนการย่อยวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสด้วยกรดหรือเอนไซม์ต่อไป

## 6. น้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ (Slaughterhouse wastewater)

โดยปกติโรงฆ่าสัตว์ จะก่อให้เกิดน้ำเสียเฉลี่ยระหว่าง 300–500 ลิตรต่อตัว ซึ่งของเสียเหล่านี้จะมีสิ่งสกปรกในรูปของไขมัน น้ำมัน โปรตีนจากเลือด และสารอินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในปริมาณสูง (ตารางที่ 1) หากโรงฆ่าสัตว์ไม่มีระบบบำบัดความสกปรกในน้ำเสียเหล่านี้ หรือไม่มีการจัดการของเสียก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ก็จะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำหรือสิ่งแวดล้อมได้ รวมทั้งก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นรบกวนอีกด้วย อย่างไรก็ตามได้มีนักวิจัยบางท่านได้มีความสนใจที่จะการพัฒนากระบวนการผลิตไฮโดรเจนโดยใช้น้ำเสีย และกากตะกอนน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์เป็นสับสเตรท ซึ่งทำให้ช่วยลดสิ่งสกปรกในน้ำเสีย นอกจากนี้ยังให้พลังงานไฮโดรเจนอีกด้วย Thungklin et al. (2010) ได้รายงานการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ โดยทำการปรับสภาพน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ด้วยไมโครเวฟ และเติม *E. aerogenes* ซึ่งได้ผลได้ไฮโดรเจน 12.77 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัม COD นอกจากนี้ Sittijunda et al. (2010) ได้รายงานการผลิตไฮโดรเจนจากกากตะกอนของน้ำเสียโรง

ฆ่าสัตว์ โดยใช้กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในกากตะกอนของน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เป็นหัวเชื้อในการผลิตไฮโดรเจน ซึ่งไม่ทำการเติมเชื้อเพิ่ม ซึ่งได้ผลได้ไฮโดรเจน 136.9 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัม TS

## 7. การใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสร่วมกับของเสียอื่นๆ (Co-digestion) เพื่อเป็นสับสเตรทการผลิตพลังงานชีวภาพ

วัสดุลิกโนเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เมื่อผ่านการปรับสภาพจะได้ไฮโดรไลเสตที่ประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส ไซโลส อะราบิโนส ซึ่งโดยโครงสร้างของน้ำตาลจะประกอบด้วยโมเลกุลของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ดังนั้นเมื่อนำไฮโดรไลเสตของวัสดุลิกโนเซลลูโลสมาใช้เพื่อเป็นสับสเตรทในการผลิตพลังงานชีวภาพ เช่น แก๊สชีวภาพ ไฮโดรเจน เอทานอล โดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ จึงจำเป็นต้องเติมแหล่งไนโตรเจนเพื่อปรับสมดุลของสารอาหารให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ Chen et al. (2008) รายงานการใช้ลำต้นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนร่วมกับปุ๋ยหมักจากไส้เดือนฝอยเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน ในการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยดำเนินการในกระบวนการหมักแบบกะ ที่ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าการใช้ปุ๋ยหมักจากไส้เดือนฝอยเป็นสับสเตรทร่วม (แหล่งไนโตรเจน) ทำให้ผลได้ของแก๊สชีวภาพเพิ่มขึ้นจาก  $217.60 \pm 13.87$  มิลลิลิตรต่อกรัม TS เป็น  $410.30 \pm 11.01$  มิลลิลิตรต่อกรัม TS นอกจากนี้ Komatsu et al. (2007) รายงานการผลิตมีเทนจากฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนร่วมกับตะกอนน้ำเสียเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยดำเนินการหมักแบบต่อเนื่อง ซึ่งจากการทดลองพบว่าการใช้ตะกอนน้ำเสียร่วมกับฟางข้าว 1:0.5 ของของแข็งทั้งหมด (TS) ทำให้ผลได้ของมีเทนสูงขึ้น 66-82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลได้มีเทนที่ผลิตได้คือ 0.311 ลิตรต่อกรัม VS ที่เติม

### บทที่ 3 วิธีการทดลอง

#### 1. อุปกรณ์และสารเคมี

##### 1.1 อุปกรณ์

##### ตารางที่ 2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

ลำดับ	ชื่อ	ยี่ห้อ	รุ่น	บริษัท	ประเทศ
1	แก๊สโครมาโตกราฟ Gas Chromatography (GC)	Shimadzu	GC-2014	Bara Scientific Co., Ltd.	ญี่ปุ่น
2	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	Shimadzu	Model CT-20A	Bara Scientific Co., Ltd.	ญี่ปุ่น
3	ตู้แช่แข็ง Freezer	Sanyo	SF-C697 (GYN)	Sanyo Commercial Solutions (Thailand) Co.,Ltd.	ไทย
4	เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Scale balance)	Ohaus	Scout Pro	Pano porytech Co.,Ltd.	ไทย
5	เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)	Mettler Toledo	FE-20kit	Pano porytech Co.,Ltd.	ไทย
6	ตู้อบลมร้อน (Hot air Oven)	Memmert		Becthai Co.,Ltd.	ไทย

##### 1.2 สารเคมี

##### ตารางที่ 3 สารเคมี

ลำดับ	ชื่อ/สูตรโมเลกุล	ยี่ห้อ	ประเทศ
1	Phenol (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O)	Sigma-aldrich	เยอรมัน
2	Sulfuric (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
3	Calcium hydroxide (CaOH <sub>2</sub> )	Merck	เยอรมัน
4	Ammonium chloride (NH <sub>4</sub> Cl)	Merck	เยอรมัน
5	Sodium chloride (NaCl)	Merck	เยอรมัน
6	Magnesium chloride hexahydrate (MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O)	Merck	เยอรมัน

ตารางที่ 3 สารเคมี (ต่อ)

ลำดับ	ชื่อ/สูตรโมเลกุล	ยี่ห้อ	ประเทศ
7	Copper (II) chloride dihydrate ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
8	Dipotassium phosphate anhydrate ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
9	Sodium bicarbonate ( $\text{NaHCO}_3$ )	Merck	เยอรมัน
10	Iron (II) chloride ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
11	Boric acid ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	Merck	เยอรมัน
12	Zinc chloride ( $\text{ZnCl}_2$ )	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
13	Calcium chloride ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
14	Manganese chloride ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
15	Ammonium molybdate tetraydrate ( $\text{NH}_4$ ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> 4H <sub>2</sub> O	Merck	เยอรมัน
16	Aluminium chloride ( $\text{AlCl}_3$ )	Merck	เยอรมัน
17	Cobalt chloride hexahydrate ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
18	Nickel chloride hexahydrate ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
19	Ethylene diamine tetraacetate ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8$ )	Fluka	สวิตเซอร์แลนด์
20	Hydrochloric acid (HCl)	Merck	เยอรมัน
21	Sodium selenite pentahydrate ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	Merck	เยอรมัน
22	Yeast extract (YE)	Sigma-aldrich	เยอรมัน

## 2 วัตถุดิบ

### 2.1 กล้วยาเนเปียร์

กล้วยาเนเปียร์ที่ใช้ในการทดลอง เป็นกล้วยาสายพันธุ์ ปากช่อง 1 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทศรีวิโรจน์ ฟาร์ม จำกัด จังหวัดขอนแก่น เริ่มต้นนำกล้วยาเนเปียร์มาตากให้แห้งและอบให้แห้ง จากนั้นนำมาบดและกรองผ่านตะแกรงขนาด 10 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบ เริ่มต้นได้แก่ ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ

### 2.2 น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ เป็นน้ำเสียส่วนที่ได้จากการล้างและทำความสะอาดของโรงฆ่าสัตว์ อำเภอกุดจับ จังหวัดอุดรธานี ซึ่งน้ำเสียส่วนนี้เป็นน้ำเริ่มต้นที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวนการบำบัด จากนั้นนำมาเก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำการทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบเริ่มต้น

## 3. หัวเชื้อเริ่มต้น

กล้าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (UASB granules) ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactor จากบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด (เปียร์สิงห์) อำเภอกาฬพระ จังหวัดขอนแก่น ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ มาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการผลิตก๊าซมีเทน นำเม็ดตะกอนดังกล่าวมาวิเคราะห์ปริมาณ

ของแข็งทั้งหมด (Total solid; TS) และ ของแข็งระเหยง่ายทั้งหมด (Volatile solid; VS) ตามลำดับ ก่อนนำมาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

#### 4. การเตรียมไฮโดรไลเสตของหญ้าเนเปียร์ และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์

นำหญ้าเนเปียร์จากข้อที่ 3.1 มาปรับสภาพโดยไมโครเวฟร่วมกับกรดซัลฟูริกทำได้โดยการชั่งหญ้าเนเปียร์ปริมาณ 30 กรัม น้ำหนักแห้งใส่ในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเติม 1.5 % กรดซัลฟูริก 450 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการปรับสภาพ 7.6 นาที ที่ 450 วัตต์ (Khamtib et al., 2013) จากนั้นนำหญ้าเนเปียร์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว แยกส่วนที่เป็นของแข็งออกให้เหลือเฉพาะส่วนที่เป็นไฮโดรไลเสต จากนั้นกำจัดสารประกอบฟีนอลโดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของไฮโดรไลเสตด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) ที่ 10 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง จากนั้นแยกตะกอนออกจากส่วนใส นำส่วนใสไปปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ 7 เก็บตัวอย่างไฮโดรไลเสตไปทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบโดย HPLC ต่อไป

การเตรียมน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ทำได้โดยการนำน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์มาปั่นด้วยเครื่องปั่น จากนั้นทำการแยกเศษเครื่องใน หนึ่ง และกากมูลสัตว์ออก ด้วยการกรองผ่านผ้าตาข่าย เก็บตัวอย่างน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เพื่อไปทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบต่อไป

#### 5. การผลิตก๊าซชีวภาพในกระบวนการหมักแบบกะ

ทำการผลิตก๊าซชีวภาพจากไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ในขวดซีรัมขนาด 120 มิลลิลิตร โดยกำหนดค่าปัจจัยต่างๆ ได้แก่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (g/L) เท่ากับ 1, 3, 6 ค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 6, 7, 8 และอัตราส่วนของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ เท่ากับ 0.5:1, 1:1, 2:1 (%v/v) ตามลำดับ โดยมีปริมาตรทำการเท่ากับ 85 มิลลิลิตร จากนั้นเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์คือเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (UASB granules) โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7 g-VS/L และมีสารอาหารเสริมคือ Basalt salt medium (BA) ประกอบไปด้วย (กรัมต่อลิตร) 100  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 10  $\text{NaCl}$ , 10  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 5  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 200  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 52  $\text{NaHCO}_3$ , 2  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.05  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0.05  $\text{ZnCl}_2$ , 0.038  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.05  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.05  $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.05  $\text{AlCl}_3$ , 0.05  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.092  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.5 ethylene diamine tetraacetate, 0.1  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 1 มิลลิลิตรต่อลิตร HCl และ 100 กรัมต่อลิตร yeast extract (YE) ปิดด้วยฝาจุลินทรีย์โคนและฝาจุลินทรีย์นิยัมโดยใช้ hand crimper เปลี่ยนบรรยากาศภายใน head space ให้เป็นแก๊สไนโตรเจนเป็นระยะเวลา 5 นาที เพื่อทำให้เกิดสภาวะไร้อากาศ (anaerobic condition) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง และมีชุดควบคุมได้แก่ชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้น ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ระหว่างการทดลองคือ ปริมาตรแก๊สโดยใช้กระบอกฉีดยาแก้วที่หล่อลื่นด้วยน้ำ (Owen et al., 1979) ชนิดและความเข้มข้นของแก๊สที่เกิดขึ้น ได้แก่ ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน และไนโตรเจน โดยใช้ Gas chromatography และค่า COD ด้วยวิธี close reflux

## 6. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

### 6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรไลเสตโดยใช้ HPLC

การวิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรไลเสต (น้ำตาลไซโลส อะราบิโนส กลูโคส กรดอะซิติก และเพอร์ฟูรอล) โดยเก็บตัวอย่างไฮโดรไลเสตปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟูก นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC ทำการละลายตัวอย่างและกรองผ่าน disc filter (0.45  $\mu\text{m}$  Nylon membrane) วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้ HPLC สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4 ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาทีต่อตัวอย่าง

ตารางที่ 4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ กรดไขมันระเหยง่าย และแอลกอฮอล์

Equipment	HPLC (Shimadzu) model CTO-20A
Column type	Vertise <sup>TM</sup> OA
Oven temp	45 องศาเซลเซียส
Mobile phase	5 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Flow rate	0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
Detector type	UV and RID
Injection volume	20 ไมโครลิตร

### 6.2 การวิเคราะห์แก๊ส

ปริมาตรของแก๊สชีวภาพทำการวัดโดยการใส่กระบอกฉีดยาแก้วที่หล่อลื่นด้วยน้ำ (Owen et al., 1979) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างแก๊สชีวภาพปริมาตร 3 มิลลิลิตร โดยใช้ gas tight syringe ใส่ในขวดซีรัม ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่ปิดด้วยจุกซิลิโคนและฝาอะลูมิเนียม นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ โดยใช้ gas chromatography สภาวะที่ใช้แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพโดย gas chromatography

Equipment	GC-2014 (Shimadzu)
Column type	Shin carbon
Injection temp	130 องศาเซลเซียส
Column temp	120 องศาเซลเซียส
Detector temp	140 องศาเซลเซียส
Detector type	TCD
Current	100 มิลลิแอมแปร์
Total flow of carrier gas (He)	25 มิลลิลิตรต่อนาที
Sampling rate	80 วินาที
Injection volume	1 มิลลิลิตร
Stop time	6 นาที

### 6.3 การวิเคราะห์ซีไอดี

การวิเคราะห์ซีไอดีของตัวอย่างทำได้ โดยนำตัวอย่างที่จะวิเคราะห์เจือจางกับน้ำกลั่นให้มีสารอินทรีย์ในปริมาณที่เหมาะสม จากนั้นดูดตัวอย่างที่เจือจาง 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร ที่ทำการล้างทำความสะอาดด้วยกรดซัลฟูริก 20 % แล้วเติม digestion reagent ลงไป 1.5 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน จากนั้นค่อย ๆ เติม กรดซัลฟูริกเข้มข้นที่ผสม  $\text{AgSO}_4$  ลงไป 3.5 มิลลิลิตร ให้ไหลลงกันหลอดแก้ว เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นของน้ำตัวอย่างและ digestion reagent ภายหลังการเติมกรดซัลฟูริก ให้สังเกตสีของตัวอย่างดังต่อไปนี้

- ถ้าได้สีเขียว แสดงว่าปริมาณ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  เหลืออยู่มาก ใช้ปริมาณน้ำตัวอย่างน้อยเกินไป ต้องเพิ่มปริมาณน้ำตัวอย่างอีก
- ถ้าได้สีเขียวอมเหลือง แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างเหมาะสม สามารถนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ได้
- ถ้าได้สีเขียวอมฟ้า แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างมากเกินไป ต้องทำการเจือจางน้ำตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นน้อยกว่านี้

จากนั้นปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลาย ๆ ครั้งอย่างทั่วถึงก่อนจะนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความร้อนสะสมอยู่ที่ก้นหลอด ซึ่งอาจแตกได้ในขณะทำการรีฟลักซ์ให้ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง ประมาณ 1-2 หลอดนำหลอดแก้วทั้งหมดที่ใส่น้ำตัวอย่างและ Blank วางบนที่ตั้งหลอดทดลอง แล้วเข้าเตาอบที่ทำให้อุณหภูมิสูงถึง  $150 \pm 2^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเย็นเทตัวอย่างจากหลอดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วไทเทรตกับสารละลาย FAS โดยใช้ ferroin จำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ จนถึงจุดยุติ จะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ อ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดงทันที

การคำนวณ

$$\text{COD, mg / L} = \frac{(a - b) \times N \times 8000}{\text{ml sample}} \quad (6)$$

- a = มิลลิลิตรของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้ไทเทรต Blank  
 b = มิลลิลิตรของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้ไทเทรตน้ำตัวอย่าง  
 N = Normality ของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้

### 6.4 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่าง

การวัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำหมักโดยใช้เครื่อง pH meter เริ่มต้นทำการตรวจสอบความแม่นยำของเครื่อง pH meter โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่ทราบค่า pH ที่แน่นอน จากนั้นนำตัวอย่างไฮโดรไลเสตที่ผ่านการปรับสภาพและน้ำหมักจากกระบวนการหมักไปวัดค่า pH

### 6.5 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด Total solids (TS)

1) นำ crucible มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง นำ crucible ที่ผ่านการอบแล้วมาทำให้เย็นโดยนำไปวางในโถดูดความชื้น ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักโดยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (น้ำหนัก A)

2) ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร (C) ใส่ลงไปใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแล้วข้างต้น ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3) นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก โดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (น้ำหนัก B)

#### การคำนวณปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS)

$$TS, (\text{mg/L}) = \frac{(B - A) \times 10^6}{C}$$

TS = ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)

A = น้ำหนักของ crucible, มิลลิกรัม

B = น้ำหนักของ crucible และของแข็งที่เหลืออยู่หลังจากอบแห้งที่ 103-105 องศาเซลเซียส, มิลลิกรัม

C = ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้, มิลลิลิตร

### 6.6 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด Volatile solids (VS)

นำ crucible หลังจาก TS แล้วมาเผาใน Muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวจากนั้นนำไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักโดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (น้ำหนัก D)

#### การคำนวณปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด (VS)

$$VS, (\text{mg/L}) = \frac{[(B - D) \times 10^6]}{C}$$

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเริ่มต้นของหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์พบว่า หญ้าเนเปียร์ประกอบไปด้วยคาร์บอนและไนโตรเจนเท่ากับ 49.93 และ 0.02 % w/w ตามลำดับ และมีปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 0.86 กรัมของแข็งทั้งหมดต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และของแข็งระเหยง่ายเท่ากับ 0.86 กรัมของแข็งระเหยง่ายทั้งหมดต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 6) ขณะที่ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์พบว่าประกอบไปด้วยไนโตรเจนและค่าซีไอดีทั้งหมดเท่ากับ 2.05 % w/w และ 54.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 0.021 มิลลิกรัมของแข็งทั้งหมดต่อลิตร และ ปริมาณของแข็งระเหยง่ายทั้งหมดเท่ากับ 0.016 มิลลิกรัมของแข็งระเหยง่ายทั้งหมดต่อลิตร (ตารางที่ 6) จากผลการทดลองพบว่าหญ้าเนเปียร์ประกอบไปด้วยคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักโดยมีปริมาณสูงถึง 49.93% w/w และมีปริมาณไนโตรเจนค่อนข้างต่ำประมาณ 0.02% w/w ดังนั้นการเติมแหล่งไนโตรเจน เช่น น้ำเสียโรงฆ่าสัตว์จึงสามารถช่วยเพิ่มปริมาณแหล่งไนโตรเจนในกระบวนการหมักได้ โดยไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ และเป็นองค์ประกอบหลักของ DNA อีกด้วย (Sittijunda and Reungsang, 2012)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์

องค์ประกอบ	หญ้าเนเปียร์	น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์
ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (%w/w)	49.93	NA
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%w/w)	0.02	2.05
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid)	0.86 กรัมของแข็งทั้งหมดต่อกรัมน้ำหนักแห้ง	0.021 มิลลิกรัมต่อลิตร
ปริมาณของแข็งระเหยง่ายทั้งหมด (volatile solid)	0.86 กรัมของแข็งระเหยง่ายทั้งหมดต่อกรัมน้ำหนักแห้ง	0.016 มิลลิกรัมต่อลิตร
Total Chemical oxygen demand (tCOD)	NA	53.40 กรัมต่อลิตร

#### 2. ผลการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟ

ผลการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟโดยใช้สภาวะจากรายงานการวิจัยของ Khamtib et al ปี 2013 พบว่าก่อนปรับสภาพหญ้าเนเปียร์มีปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเท่ากับ 32.04% 34.25% และ 17.36 % (w/w) ตามลำดับ และหลังจากกระบวนการปรับสภาพหญ้าเนเปียร์ด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟ พบว่าปริมาณ ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่อยู่

ในหญ้าเนเปียร์มีค่าเท่ากับ 22.9 29.9 และ 13.0 % (w/w) ตามลำดับ (ตารางที่ 7) จากผลการทดลองพบว่าการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟสามารถย่อยสลายวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส และกำจัดลิกนินได้สูงถึง 28.53% นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงปริมาณของเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส พบว่ามีปริมาณลดลงหลังจากผ่านการปรับสภาพด้วยกรดร่วมกับไมโครเวฟ แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพด้วยวิธีดังกล่าวสามารถย่อยโครงสร้างของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ ซึ่งอยู่ในส่วนของน้ำที่เรียกว่า “ไฮโดรไลเสต” และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์เริ่มต้น พบว่ามีค่าเท่ากับ 6.36 และ 2.91 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์โดยใช้ HPLC พบว่าประกอบไปด้วย น้ำตาลกลูโคส 1.63 กรัมต่อลิตร น้ำตาลไซโลส 0.95 กรัมต่อลิตร และอะราบินอส 0.19 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

**ตารางที่ 7** ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์

องค์ประกอบ	ก่อนปรับสภาพ (%w/w)	ปรับสภาพด้วยกรด ร่วมกับไมโครเวฟ (%w/w)	% removal
ลิกนิน	32.04	22.9	28.53
เซลลูโลส	34.25	29.9	
เฮมิเซลลูโลส	17.36	13.0	

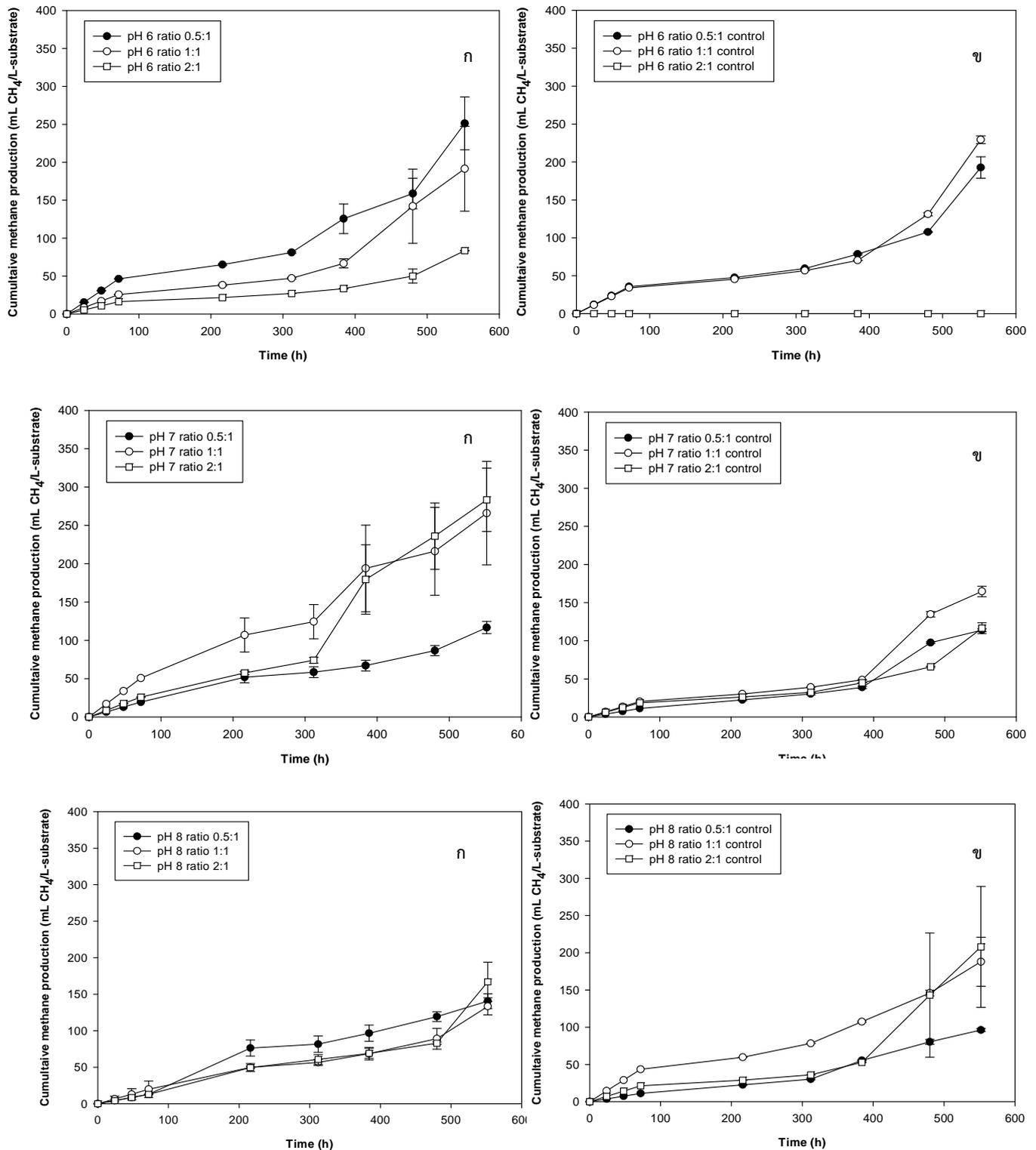
### 3. การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์

การทดลองนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์ แปรผันปัจจัยในการทดลอง ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 6 7 และ 8 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 0.5:1 1:1 และ 2:1 % (v/v) ตามลำดับ ใช้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (UASB granules) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7 g-VS/L และเติมอาหารสูตร BA เป็นแหล่งอาหารเสริมทำการหมักแบบกะภายใต้อุณหภูมิห้องในขวดซีรัมปริมาตร 120 มิลลิลิตร ปริมาตรทำการหรือปริมาตรอาหารเท่ากับ 85 มิลลิลิตร ชุดควบคุมคือชุดการทดลองที่ไม่เติมหัวเชื้อ ผลการทดลองพบว่าเมื่อแปรผันค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์จะส่งผลต่อการผลิตมีเทนทั้งในชุดการทดลองและชุดควบคุม (รูปที่ 10 และตารางที่ 8) ผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่แปรผันค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 6 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์จาก 0.5:1 เป็น 1:1 และ 2:1 %v/v ตามลำดับ จะส่งผลให้การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนมีค่าลดลง (ตารางที่ 8) ขณะที่ในชุดการทดลองที่แปรผันค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7 และ 8 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์จาก 0.5:1 เป็น 1:1 และ 2:1 %v/v ตามลำดับ จะส่งผลให้การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนมีค่าเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 5) โดยปริมาณมีเทนที่ผลิตได้มีค่าระหว่าง 94.36 ถึง 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate (ตารางที่ 8) และที่ค่า

pH เริ่มต้นเท่ากับ 7 และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลสเสทหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 % v/v เป็นสถานะที่เหมาะสมโดยให้ค่าการผลิตมีเทน (MP) และอัตราการการผลิตมีเทน (MPR) สูงสุดเท่ากับ 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ และที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 6 และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลสเสทหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 % v/v เป็นสถานะที่ให้ค่าการผลิตมีเทนและอัตราการการผลิตมีเทนต่ำสุดเท่ากับ 94.36 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.18 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ (ตารางที่ 8) เมื่อพิจารณาถึงชุดควบคุมคือ ชุดที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อพบว่าสามารถผลิตมีเทนได้ระหว่าง 96.26 ถึง 207.97 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate (รูปที่ 10ข) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นพบว่าการเติมหัวเชื้อจะให้การการผลิตมีเทนที่สูงกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 10)

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณสับสเตรทที่ถูกใช้ไปในการผลิตมีเทนโดยดูจากค่า COD consumed พบว่ามีค่าระหว่าง 82.19 ถึง 102.97 g-tCOD<sub>consumed</sub>/L คิดเป็นค่าการกำจัดซีโอดี (% COD removal) เท่ากับ 63.96 และ 80.12 % โดยชุดการทดลองที่ให้การผลิตมีเทนสูงสุดคือ (pH 7 ratio 2:1) จะมีปริมาณสับสเตรทที่ถูกใช้ไปเท่ากับ 97.87 g-tCOD<sub>consumed</sub>/L คิดเป็นค่าการกำจัดซีโอดี เท่ากับ 67.30% (ตารางที่ 9) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีความสามารถในการกำจัดซีโอดีในน้ำหมักเพื่อเปลี่ยนไปเป็นพลังงานหรือมีเทน ส่งผลให้ค่าซีโอดีของน้ำหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีค่าลดลง และเมื่อพิจารณาผลเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมัก พบว่าค่า pH ในช่วงแรกมีค่าลดลง และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกๆ ชุดการทดลอง (ตารางที่ 9) ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีการใช้ไฮโดรไลสเสทหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เพื่อผลิตเป็นกรดไขมันระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก กรดโฟโฟอิก กรดบิวทริก เป็นต้น ในช่วงแรกส่งผลให้ค่า pH ของน้ำหมักมีค่าลดลง (Reungsang et al., 2012) จากนั้นจุลินทรีย์จะเปลี่ยนกรดไขมันระเหยง่ายที่ผลิตได้ ไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นมีเทน และในช่วงการผลิตมีเทนนั้นจุลินทรีย์จะมีอัตราการย่อยสลายไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นเพื่อนำไปสร้างเซลล์จุลินทรีย์ ส่งผลความเข้มข้นของ NH<sub>4</sub> ในน้ำหมักมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักค่า pH ของน้ำหมักจึงมีค่าเพิ่มขึ้น (Reungsang et al., 2012)

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลสเสทหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์มีผลต่อการผลิตมีเทน โดยสถานะที่เหมาะสมที่ให้ค่าการผลิตมีเทน และอัตราการการผลิตมีเทนสูงสุดคือ ที่ pH เริ่มต้น เท่ากับ 7 และอัตราส่วนเท่ากับ 2:1 %v/v โดยสถานะดังกล่าวให้ผลการผลิตมีเทนสูงสุดเท่ากับ 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ จากนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปจะศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลสเสทหญ้าเนเปียร์ต่อการผลิตมีเทน โดยใช้สถานะที่เหมาะสมดังกล่าว



รูปที่ 10 ปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ในแต่ละช่วงเวลาที่มีค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ต่างๆ (ก) ชุดทดลองการเติม (ข) ของชุดควบคุมไม่มีการเติมหัวเชื้อ

**ตารางที่ 8** การผลิตมีเทนและอัตราการการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยแปรผันค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์

pH	Ratio of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater (%v/v)	Methane production (MP) (ml CH <sub>4</sub> /L-substrate)	Methane production rate (MPR) (ml CH <sub>4</sub> /L-substrate h)
6	0.5:1	282.07 ± 34.90	0.52 ± 0.06
	1:1	208.53 ± 55.94	0.38 ± 0.10
	2:1	94.36 ± 0.38	0.18 ± 0.01
7	0.5:1	129.52 ± 7.99	0.23 ± 0.01
	1:1	299.69 ± 6.79	0.52 ± 0.12
	2:1	300.12 ± 4.14	0.54 ± 0.07
8	0.5:1	149.16 ± 10.08	0.27 ± 0.01
	1:1	146.35 ± 10.09	0.26 ± 0.03
	2:1	175.56 ± 2.69	0.32 ± 0.04

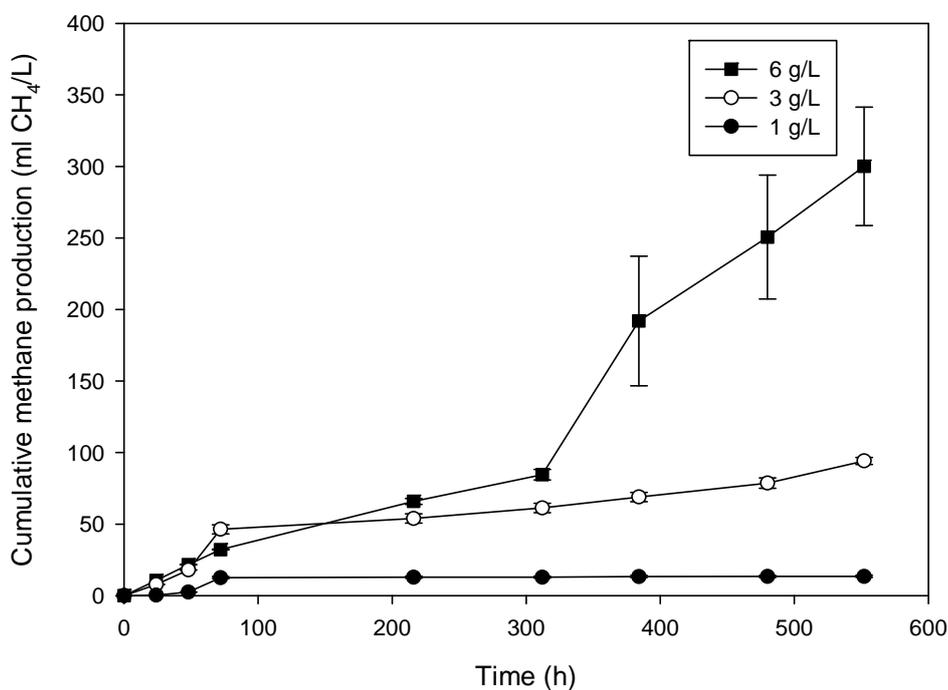
**ตารางที่ 9** ค่าซีโอดีและ pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ณ เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดกระบวนการหมัก

pH	Ratio of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater (%v/v)	COD value (g-tCOD/L)			COD removal (%)	pH	
		Initial	Final	consumed		Initial	Final
6	0.5:1	123.58 ± 2.84	41.21 ± 4.48	82.37 ± 2.49	66.65	6.05	7.65
	1:1	128.51 ± 2.34	46.32 ± 25.49	82.19 ± 13.25	63.96	6.05	7.25
	2:1	145.42 ± 9.89	48.43 ± 5.98	96.99 ± 4.35	66.70	6.05	7.27
7	0.5:1	123.58 ± 2.84	23.42 ± 4.65	100.16 ± 2.18	81.05	7.01	7.39
	1:1	128.51 ± 2.34	41.21 ± 21.42	87.30 ± 5.67	67.91	7.01	7.89
	2:1	145.42 ± 9.89	47.55 ± 2.49	97.87 ± 7.32	67.40	7.01	6.98
8	0.5:1	123.58 ± 2.84	35.93 ± 21.30	87.65 ± 7.23	70.93	8.02	8.06
	1:1	128.51 ± 2.34	25.54 ± 11.23	102.97 ± 8.12	80.13	8.02	7.33
	2:1	145.42 ± 9.89	53.36 ± 23.13	92.06 ± 10.21	63.31	8.02	7.10

#### 4. ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่ม

ตะกอนจุลินทรีย์ ทำการทดลองโดยใช้ค่า pH และอัตราส่วนระหว่างหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 7 และ 2:1 %v/v ซึ่งเป็นสถานะที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 4.3 แปรผันความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 1 3 และ 6 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ใช้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (UASB granules) เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 7 g-VS/L และเติมอาหารสูตร BA เป็นแหล่งอาหารเสริม ทำการหมักแบบกะภายใต้อุณหภูมิห้องในขวดซีรัมปริมาตร 120 มิลลิลิตร ปริมาตรทำการหรือปริมาตรอาหารเท่ากับ 85 มิลลิลิตร ชุดควบคุมคือชุดการทดลองที่ไม่เติมหัวเชื้อ ผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นจาก 1 เป็น 6 กรัมต่อลิตร จะส่งผลให้ค่าการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนมีค่าเพิ่มขึ้น (รูปที่ 11 ตารางที่ 10) โดยที่น้ำตาลเริ่มต้น 6 กรัมต่อลิตร เป็นสถานะที่ทำให้การผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนสูงสุด เท่ากับ 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ (ตารางที่ 10) รองลงมาคือที่น้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนเท่ากับ 94.11 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.23 54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ขณะที่ชุดการทดลองที่น้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร จะให้ผลการผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนต่ำสุด จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการผลิตมีเทนในกระบวนการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์



รูปที่ 11 ปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ในแต่ละช่วงเวลาที่มีความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ ที่ค่า pH และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 7 และ 2:1 %v/v

**ตารางที่ 10** การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ ที่ค่า pH เท่ากับ 7 และอัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ เท่ากับ 2:1 % v/v

pH	Ratio of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater (%v/v)	Initial sugar (g/L)	Methane production (MP) (ml CH <sub>4</sub> /L-substrate)	Methane production rate (MPR) (ml CH <sub>4</sub> /L-substrate h)
7	2:1	1.00	13.39 ± 0.72	0.02 ± 0.0018
		3.00	94.11 ± 2.45	0.23 ± 0.006
		6.00	300.12 ± 4.14	0.54 ± 0.07

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณสับสเตรทที่ถูกใช้ไปในการผลิตมีเทนโดยดูจากค่า COD consumed พบว่ามีเท่ากับ 4.03 12.16 และ 97.87 g-tCOD<sub>consumed</sub>/L คิดเป็นค่าการกำจัดซีโอดี (% COD removal) เท่ากับ 15.03 15.24 และ 67.30 % ตามลำดับ (ตารางที่ 11) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีความสามารถในการกำจัดซีโอดีในน้ำหมักเพื่อเปลี่ยนไปเป็นพลังงานหรือมีเทน ส่งผลให้ค่าซีโอดีของน้ำหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีค่าลดลง และเมื่อพิจารณาผลเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมักพบว่าค่า pH ของน้ำหมักมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก (ตารางที่ 11)

**ตารางที่ 11** ค่าซีโอดีและ pH ของน้ำหมักในกระบวนการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ ณ เวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดกระบวนการหมักโดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้นต่างๆ

pH	Ratio of hydrolysate napier grass and slaughterhouse wastewater (%v/v)	Initial sugar (g/L)	COD value (g-tCOD/L)			COD removal (%)	pH	
			Initial	Final	consumed		Initial	Final
7	2:1	1.0	26.81 ± 7.21	22.78 ± 3.89	4.03 ± 4.12	15.03	7.21	7.54
		3.0	79.81 ± 5.45	67.65 ± 8.12	12.16 ± 7.77	15.24	7.20	7.41
		6.0	145.42 ± 9.89	47.55 ± 2.49	97.87 ± 7.32	67.30	7.01	6.98

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมีเทนจากการหมักย่อยร่วมของไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ร่วมกับน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยกลุ่มจุลินทรีย์แบบไร้อากาศภายใต้อุณหภูมิห้อง ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ค่า pH เท่ากับ 6 7 และ 8 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ที่ระดับ 0.5:1 1:1 และ 2:1 %v/v ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์ เท่ากับ 1 3 และ 6 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองในกระบวนการหมักแบบกะ ผลการทดลองพบว่า pH อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ และความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสต มีผลต่อการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทน โดยที่ pH เริ่มต้น เท่ากับ 7 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 %v/v ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์เท่ากับ 6 กรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมโดยให้ค่าการผลิตมีเทน และอัตราการผลิตมีเทนสูงสุดเท่ากับ 300.12 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.54 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ และที่ pH เริ่มต้น เท่ากับ 7 อัตราส่วนระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์เท่ากับ 2:1 %v/v ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์เท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่ให้ค่าการผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนต่ำสุดเท่ากับ 13.39 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.02 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลของการเติมหัวเชื้อต่อการผลิตมีเทนจากกระบวนการหมักย่อยร่วมที่สภาวะที่เหมาะสมพบว่า การเติมหัวเชื้อเริ่มต้นจะส่งผลให้ได้การผลิตมีเทนและอัตราการผลิตมีเทนที่สูงกว่าชุดควบคุม คือชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ (116.43 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate และ 0.21 ml CH<sub>4</sub>/L-substrate h) ถึง 2.58 และ 2.57 เท่าตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการกำจัดของเสียทั้ง 2 ชนิด และเป็นการนำไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์มาใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตมีเทน นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการทดลองดังกล่าวยังสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเริ่มต้นในการผลิตมีเทนจากกระบวนการหมักย่อยร่วมระหว่างไฮโดรไลเสตหญ้าเนเปียร์และน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์ได้อีกด้วย

## บรรณานุกรม

- สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน. (2554). Online: [http://www.opdc.go.th/uploads/files/5%E0%B8%9E%E0%B8%A255\\_v3.pdf](http://www.opdc.go.th/uploads/files/5%E0%B8%9E%E0%B8%A255_v3.pdf)
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2555. เอกสารองค์ความรู้เรื่อง **พลังงานก๊าซชีวภาพ**. สืบค้นออนไลน์: <http://www.dede.go.th/dede>. สืบค้นเมื่อ 3 กันยายน 2557
- บุญรอด วงษ์สวาท. 2008. **ลิกนิน**. วิชาเคมีกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์. โรงเรียนพรหมานุสรณ์ จังหวัดเพชรบุรี
- ปรีชา เกียรติกระจาย และทรงกลด จารุสมบัติ. (2528). โครงสร้างของพืช. ค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2556, จาก [http://buranapagroup.com/knowledge\\_chemical.php](http://buranapagroup.com/knowledge_chemical.php).
- ปวาริศ ภัทรสิทธิศร. 2555. **หญ้าเนเปียร์**. สืบค้นออนไลน์: <http://encrop.sut.ac.th/project/content/khmuulkaarpluukhyaa-sthash.dpbs>. สืบค้นเมื่อ 19 กันยายน 2557
- วรรณมา ตฤยธัญ. 2551. **เคมีอาหารของคาร์โบไฮเดรต**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 66 หน้า.
- วิไลวรรณ สีนะกุล. 2552. **ผลของการทำปฏิกิริยาด้วยกรดเจือจางกับไม้ไผ่ต่อการผลิตเอทานอล**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมพลังงานบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Angelidaki I, Sander W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Rev Environ Sci Biotechnol** 2004; 3: 117-129.
- Cao W, Sun C, Liu R, Yin R, Wu X. Comparison of the effects of five pretreatment methods on enhancing the enzymatic digestibility and ethanol production from sweet sorghum bagasse. **Bioresour Technol**. 2012;111:215–221.
- Chandel AK, Da Silva SS, Singh OMV. 2006. Detoxification of Lignocellulosic Hydrolysates for Improved Bioethanol Production. **Biofuel Production Recent Developments and Prospects**. 225-247.
- Chen W, Han S, Sung S. 2003. Sodium Inhibition of Thermophilic Methanogens. **Journal of Environmental Engineering**. 129(6), 506-512
- Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresour Technol**. 99, 4044–4064
- Cuetos MJ, Gomez X, Otero M, Moran A. 2008. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste (SHW) at laboratory scale: Influence of co-digestion with the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). **Biochemical Engineering Journal**. 40, 99-106.

- Diaz LF, Savage GM, Eggerth LL, Golueke CG. 1993. **Composting and recycling municipal solid waste**. Lewis Publishers. Boca Raton.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Phenol sulfuric total sugar. *Anal Chem* 1956;28:350–356.
- Energy Delta Institute: Energy Business School. 2557. **กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกาศ**. สืบค้นออนไลน์: <http://www.syntropolis.net>. สืบค้นเมื่อ 20 กันยายน 2557.
- Fangkum, A., Reungsang, A. 2011. Biohydrogen production from sugarcane baggase hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**. 36(14), 8687-8696.
- Komatsu T, Kudo K, Himeno S. 2007. Anaerobic Co-digestion of Sewage Sludge and Enzyme Pretreated Rice Straw. **J. of Japan Sewage Works Association**. 44, 139-150
- Kugelman IJ, McCarty PL. 1965. Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment I. Slug feed studies. **Journal of the Water Pollution Control Federation**. 37, 97-116
- Khamtib K, Plangklang P, Reungsang A. 2011. Optimization of fermentative hydrogen production from hydrolysate of microwave assisted sulfuric acid pretreated oil palm trunk by hot spring enriched culture. **International Journal of Hydrogen Energy**. 36, 14204-14216.
- Largus TA, Khursheed K, Muthanna HAD, Brian AW, Espinosa RD. 2004. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. **Trends in Biotechnology**. 22 (9), 477-485.
- Lettinga G. 1995. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems: **Antonie van Leeuwenhoek**, 67, 3-28.
- Liu D, Liu D, Zeng RJ, Angelidaki I. 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Research**. 40, 2230 – 2236.
- Lo KV, Liao PH. 1986 Thermophilic anaerobic digestion of screened dairy manure using a two-phase process. **Energy in Agriculture**. 5(3), 249-255.
- McCarty PL. 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals III. **Public Works**, 95(9). pp. 91-99.
- Massé DI, Droste RL, 2000. Comprehensive model of anaerobic digestion of swine manure slurry in a sequencing batch reactor. **Water Research**. 34:3087–3106.
- Molnar L, Bartha I, 1989. High solids anaerobic fermentation for biogas and compost production. **Biomass**. 16(3), 173–182.

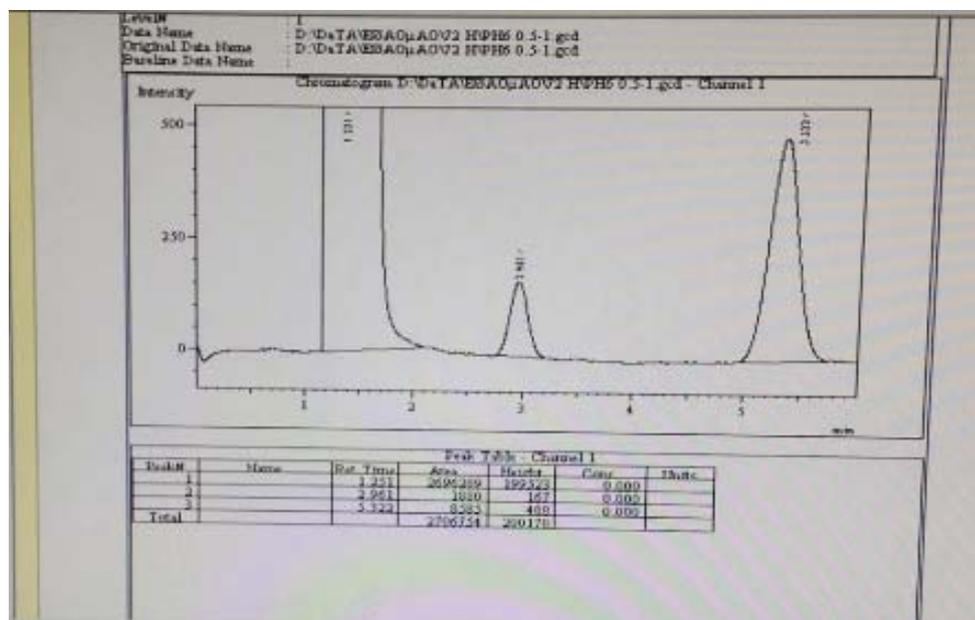
- Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee YY, Holtzapple M, Ladisch MR. 2005. Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. **Bioresource Technology**. 96(6): 673-686.
- Owen WF, Stuckey DC, Healy Jr JB, Young LY, McCarty PL. 1979. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. **Water Research**.13:485-493
- Parawira W, Read JS, Wattiasson B, Bjornss L. 2008. Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**. 32, 44-50.
- Polprasert C. 1996. **Organic Waste Recycling and Management**. John Wiley & Sons, England.
- Reungsang A, Pattra S, Sittijunda S. 2012. Optimization of key factors affecting methane production from acidic effluent coming from the sugarcane juice hydrogen fermentation process. *Energies*. 5(11). 4746-4757.
- Scott S, Dagher M, Myles E, Tillman A. 2002. Plant structure. Online: <http://energy.Mississippi.org/energycd/Report>
- Slavin JL, Brauer PM, Marlett JA. 1981. Neutral detergent fiber, hemicellulose and cellulose digestibility in human subjects. **The Journal of nutrition**. 111 (2), 287-97
- Sittijunda S, Reungsang A. 2012. Biohydrogen production from waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures. **Int J Hydrogen Energy**. 37, 13789–13796.
- Sittijunda S, Reungsang A, O-thong S. Biohydrogen production from dual digestion pretreatment of poultry slaughterhouse sludge by anaerobic self-fermentation. **Int J Hydrogen Energy** 2010; 35: 13427-13434.
- Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: a review. **Bioresource Technol** 2002; 83: 1-11.
- Thungklin P, Reungsang A, Sittijunda S. 2011. Hydrogen production from sludge of poultry slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave. **Int J Hydrogen Energy**. 36, 8751-8757.
- Yoshiharu N, Paul L, Henri C. 2002. Crystal Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose In from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. **Journal of American Chemistry Society**. 124 (31), 9074–9082.
- Zhang RH, Tao J, Dugba PN. 1998. Evaluation of two-stage anaerobic sequencing batch reactor systems for animal wastewater treatment. **American Society of Agricultural Engineers**. 43(6), 1795-1801.

ภาคผนวก

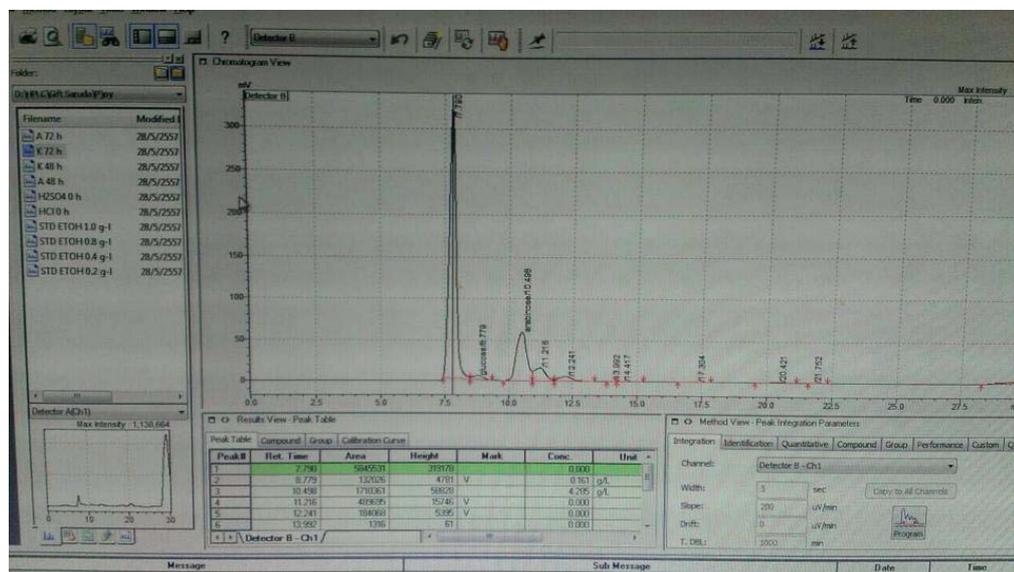
### 1. สูตรอาหาร BA (Basalt salt medium) (Fangkum et al., 2011)

เตรียมอาหารเสริม BA 1,000 มิลลิตร โดย มีสูตรของอาหาร ดังนี้

Stock A ประกอบด้วย	1. $\text{NH}_4\text{Cl}$ 100 g/L	2. $\text{NaCl}$ 10 g/L
	3. $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 g/L	4. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5 g/L
Stock B ประกอบด้วย	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 200 g/L	
Stock C ประกอบด้วย	$\text{NaHCO}_3$ 52 g/L	
Stock D ประกอบด้วย	1. $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2 g/L	2. $\text{H}_3\text{BO}_3$ 0.05 g/L
	3. $\text{ZnCl}_2$ 0.05 g/L	4. $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L
	5. $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L	6. $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L
	7. $\text{AlCl}_3$ 0.05 g/L	8. $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L
	9. $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.092 g/L	10. $\text{HCl}$ 1ml
	11. Ethylene Diamine Tetraacetate 0.5 g/L	
	12. $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/L	
Stock E ประกอบด้วย	yeast extract (YE)	100 g/L



รูปที่ 12 ตัวอย่างลักษณะโครมาโตแกรมของการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพโดยใช้ GC



รูปที่ 13 ตัวอย่างลักษณะโครมาโตแกรมของการวิเคราะห์องค์ประกอบของไฮโดรไลเสตโดยใช้ HPLC

## ประวัตินักวิจัย

**1. Name:** (ภาษาไทย) นางสาวสุรีย์วัลย์ สิทธิจันดา  
(ภาษาอังกฤษ) MISS SUREEWAN SITTIJUNDA

**2. Contact Address:** Biotechnology Program, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University 64 Thaharn Road, Muang, Udon Thani 41000, Thailand **Telephone number:** (042) 211-040 to 612

**3. E-mail:** [sittijunda27@gmail.com](mailto:sittijunda27@gmail.com)

### 4. Education

Ph. D. (Biotechnology), Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand (GPA 3.86)

Thesis: Development of Biohydrogen production from glycerol waste discharged after biodiesel production process

M. Sc. (Environmental and Hazardous Waste Management), Center of Excellence for Environmental and Hazardous Waste Management, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (GPA 3.56)

Thesis: Carbofuran removal from soil by supplementation with agricultural residues

B. Sc. (Biotechnology), Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand with second class honor (GPA 3.46)

### 5. Expertise

Biohydrogen and biogas production

Bioremediation (Biostimulation)

Waste utilization

### 6. Research interests

Biohydrogen and biogas production

### 7. Publications

1. Sreela-or, C., Reungsang A., **Sittijunda S.** 2014. Methane production from acidic effluent obtained from hydrogen fermentation process of food

waste using continuous stirred tank reactor. **Chaing Mai Journal of Science. In Press.**

2. **Sittijunda, S.**, Tomas, AF., Reungsang, A., O-thong S., Angelidaki, I. 2013. Ethanol production from glucose and xylose by immobilized *Thermoanaerobacter pentosaceus* at 70 °C in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. **Bioresour Technol.** 143:598–607.

3. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. 2013. Determining optimum media compositions for bio-hydrogen production from waste glycerol by anaerobic mixed cultures. **Current Opinion in Biotechnology** 24(1): S67–S68.

4. Reungsang, A., **Sittijunda, S.**, and O-Thong, S 2013. Bio-hydrogen production from glycerol by immobilized *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 on heat-treated UASB granules as affected by organic loading rate. **International Journal of Hydrogen Energy.** 38(17):6970-6979.

5. Reungsang, A., **Sittijunda, S.**, Angelidaki, I. 2013. Simultaneous production of hydrogen and ethanol from waste glycerol by *Enterobacter aerogenes* KKU-S1. **International Journal of Hydrogen Energy.** 38(16):1813-1825.

6. Reungsang, A., Pattra, S., **Sittijunda, S.** 2012. Optimization of key factors affecting methane production from acidified effluent coming from hydrogen fermentation process of sugarcane juice. **Energies.** doi 10.3390/en50x000x.

7. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. 2012. Media optimization for biohydrogen production from waste glycerol by anaerobic thermophilic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy.** 37(20):15473-15482.

8. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. 2012. Biohydrogen production from waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures. **International Journal of Hydrogen Energy.** 37(18):13789-13796.

9. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. and O-Thong, S. 2010. Biohydrogen production from dual digestion pretreatment of poultry slaughterhouse sludge by anaerobic self-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy.** 35(24):13427-13434.

10. Plangklang, P., **Sittijunda, S.**, TeerakuL, M., Reungsang, A. 2010. Hydroponic removal of carbofuran from contaminated waste by local Thai aquatic plants. **J Biotechnology.** 150S S1-S576.

11. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. 2010. Determining optimum media compositions for bio-hydrogen production from waste glycerol by anaerobic mixed cultures. **J Biotechnology**. 24:S67-S68.

12. 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(14):8751-8757.

13. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2009. Biostimulation of carbofuran degradation in soil by organic amendments. **Thai Environmental Engineering Journal**. 23 (1):1-10.

## 9. International Conference Proceedings

1. **Sittijunda S.** 2014. Methane production from hydrolysate and cellulose fraction of napier grass using anaerobic mixed cultures. Proceeding of the 2014 Asia Biohylinks (ABHL) Meeting: Asia Biohydrogen and Biorefinery (ABB) Symposium. 16-18, December, 2014, Melaka, Malaysia (Oral presentation)

2. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A. 2012. Fermentative hydrogen production from glycerol using upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor: Optimization of organic loading rate. Proceeding of the 2012 Asian Biohydrogen and Bioproducts Symposium (ABBS). November 8-13, 2012, Chongqing, China. (Oral presentation)

3. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A., O-thong, S. 2011. Optimization of key factors affecting bio-hydrogen production from co-digestion of waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures using response surface methodology. Proceeding of the 11<sup>th</sup> international conference on Clean Energy (ICCE-2011). November 2-5, 2011, Feng Chai University, Taiwan. (Poster presentation)

4. **Sittijunda, S.**, Reungsang, A., O-thong, S. 2011. Media optimization for biohydrogen production from glycerol wastes discharged after biodiesel manufacturing process by anaerobic thermophilic mixed cultures. Proceeding of the **Asian Bio-Hydrogen and Biorefinery Symposium (2011ABBS)**. October 13-15, 2011, Borgor, Indonesia. (Oral presentation)

5. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2010. Optimization of hydrogen production from glycerol containing waste discharged after biodiesel

production process by using statistical methods. 14<sup>th</sup> International Biotechnology Symposium and Exhibition. September 14-18, 2010. Rimini, Italy. (Poster presentation)

6. Plangklang, P., **Sittijunda, S.**, Teerakul, M., and Reungsang, A. 2010. Hydroponic Removal of Carbofuran from Contaminated Water by Local Thai Aquatic Plants. 14<sup>th</sup> International Biotechnology Symposium and Exhibition. September 14-18, 2010. Rimini, Italy. (Poster presentation)

7. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2010. Influences of temperature and initial pH on hydrogen production from smashed banana peel by thermophilic bacteria. 14<sup>th</sup> International Biotechnology Symposium and Exhibition. September 14-18, 2010. Rimini, Italy. (Poster presentation)

8. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2010. Optimization of hydrogen production from glycerol containing waste discharged after biodiesel production process by using statistical methods. Commission on Higher Education Congress III: University Staff Development Consortium CHE-USDC Congress III. September 9-11, 2010. Royal Cliff Beach Resort, Pattaya, Chonburi. (Poster presentation)

9. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2009. Bio-hydrogen production from poultry slaughterhouse sludge pretreated by *Bacillus stearothermophilus*. The 6<sup>th</sup> International Symposium on Environmental Anaerobic Technologies. November 12-13, 2009. The University of Hong Kong, Hong Kong, China. (Poster presentation)

10. Thungklin P., **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2009. Hydrogen production from sludge of slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave. November 12-13, 2009. The University of Hong Kong, Hong Kong, China. (Poster presentation)

11. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2009. Bio-hydrogen production from poultry slaughterhouse sludge pretreated by *Bacillus stearothermophilus*. The 2009 Asian Bio-Hydrogen Symposium. August 26-28, 2009. Khon Kaen, Thailand. (Oral presentation)

12. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2010. Biohydrogen production from dual digestion pretreatment of poultry slaughterhouse sludge. TRF Master Research Grant (TRF-MAG), 3<sup>rd</sup> of Science and Technology program April 1-3, 2009. Jomtien Palm Beach Resort, Pattaya, Chonburi. (Oral presentation)

13. **Sittijunda, S.**, and Reungsang, A. 2008. Hydrogen production from the fermentation of activated sludge of chicken slaughter house. 2008 Asia BioHyLinks-The 2008 Asian Bio-Hydrogen Symposium/Harbin BioHyLinks meeting. December 26-28, 2008. Harbin, China. (Oral presentation)

14. **Sittijunda, S.** and Reungsang, A. 2008. Biostimulation of carbofuran degradation in soil by organic amendments. The Proceedings of 7<sup>th</sup> National environmental Conferences. March 12-14, 2008. Chulabhorn Research Institute, Bangkok. (Oral presentation)

15. **Sittijunda S.**, and Reungsang A. 2006. Biostimulation of Carbofuran Degradation in Soil by Agricultural Residues. International Conference on Environment 2006. 13-15 November, 2006, Penang, Malaysia. (Oral presentation)

## 10. Experience and Awards

1. Reviewer: International Journal of physical science (IJPS), <http://academeresearchjournals.org/journal/ijps> year: 2013

2. Reviewer: The 5<sup>th</sup> International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products (FerVAAP 2013), Khon Kaen University year: 2013

3. Reviewer: Burapha University International Conference (BUU-2013), Faculty of Science, Burabha University year: 2013

4. คณะอนุกรรมการวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ “ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี” เพื่อพิจารณาข้อเสนอโครงการวิจัยเพื่อรับจัดสรรทุนสนับสนุนงานวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ ประจำปี 2556 คำสั่งเลขที่ 1217/2556

5. วิทยากร: อบรมเทคนิคการเขียนรายงานการวิจัยและบทความวิจัย/บทความวิชาการ ณ ห้องประชุม 1 ชั้น 2 อาคารเรียนรวมและปฏิบัติการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม การเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคามระหว่างวันที่ 29-30 พฤศจิกายน 2556 ตามคำสั่งเลขที่ ศธ 0530.2(1)/2095

6. วิทยากร: อบรมหลักสูตรขยายผลการอบรมเชิงปฏิบัติการการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนด้วยชุดอบรมครูระบบทางไกล ETV ปีที่ 3 ณ โรงเรียนเซนต์ปอลหนองคาย จังหวัดหนองคาย ระหว่างวันที่ 27-28 มิถุนายน 2557 ตามคำสั่งเลขที่ ซป 112/2557

7. Excellent Ph.D. Dissertation, 2013, Graduate School, Khon Kaen University, “Development of biohydrogen production from glycerol waste discharged after biodiesel production process”

8. Taguchi Prize for Excellent Ph.D. Dissertation, 2014, Thai Society for Biotechnology (TSB), Thailand “Development of biohydrogen production from glycerol waste discharged after biodiesel production process”

9. วิทยากร: อบรมเพื่อเตรียมความพร้อมนักศึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ณ วันที่ 22-25 ธันวาคม 2557

10. The Ph.D. Thesis Award of the Year 2014 National Research Council of Thailand (NRCT), “Development of biohydrogen production from glycerol waste discharged after biodiesel production process”

11. Invited speaker: “Development of biohydrogen production from glycerol waste discharged after biodiesel production process” The 50<sup>th</sup> anniversary of Khon Kaen University, 22-23 January 2015.

12. วิทยากรบรรยายพิเศษ หัวข้อ “เทคโนโลยีพลังงานทดแทน-พลังงานไฮโดรเจน” สาขาวิชาเทคโนโลยีเครื่องกล คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ณ วันที่ 14 มีนาคม 2558

## ประวัตินักวิจัย

- |                   |                       |
|-------------------|-----------------------|
| 1. ชื่อ – นามสกุล | อ.สพ.ญ.ปราณปรียา คำมี |
| ชื่อ – นามสกุล    | Pranpreya Kummee      |
| ตำแหน่งปัจจุบัน   | อาจารย์               |

### 2. ประวัติการศึกษา

1. สพ.บ. (สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต) คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2553
2. วท.ม. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาสหวิทยาการสัตวแพทย์) คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2558

### 3. ผลงานทางวิชาการ

หัวข้อโครงการวิจัย: เรื่อง การศึกษาความหลากหลายของสารสกัดจากดอกบัวแดงที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 7 ชนิด (Study the chemical diversity of *Nymphaea lotus* Linn. blossom crude extract as different 7 solvent solutions)

### 4. งานตีพิมพ์และงานวิจัย

1. Rittichai Pilachai, Sudawan Chuenpreecha, **Pranpreya Kummee**. 2015. Prevalence of subclinical mastitis and potential risk factors in lactating cows in Udon Thani Province. Vet KKU. J. (Accepted, In Thai)

### 5. การเผยแพร่ผลงานในรูปการประชุมวิชาการ

1. **Kummee, P.**, Chanlun, A., and Borisutpeth., M. 2013. Effect of *Psidium guajava* Linn. leaf crude extract as pre-milking teat dip on teat-end bacterial load in lactating dairy cows. In: Sukon, P., Taweean, W., and Chanlun, S., Editors. **International Conference on Learning the Past, Planning the Future, Targeting One Health**. The 14<sup>th</sup> KKU Veterinary Annual International Conference 2013., 6-7 June 2013; Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand. 204. (Oral presentation)
2. **Kummee, P.**, Khongmak, K., Namchai, P., Satsomnuek, W., Pilachai, R and Chuenpreecha., S. 2014. Antimicrobial Resistant among *Escherichia coli* isolated from chicken and pig. In: Proceeding of 15th Khon Kaen Veterinary Annual International Conference, 24-25 April, 2014. (poster presentation)

3. Pilachai, R., **Kummee, P** and Chuenpreecha, S. 2014. Subclinical mastitis and associated risk factors on dairy cows in Udon Thani of Thailand. In: Proceeding of 15th Khon Kaen Veterinary Annual International Conference, 24-25 April, 2014. (Oral & poster presentation)