ABSTRACT

This research investigated the feasibility of using cassava starch manufacturing wastewater as a substrate for hydrogen production in anaerobic fermentation process. A series of batch tests were conducted to investigate the biohydrogen production potential from cassava starch manufacturing wastewater at 20,000 mg-COD/L using three different inocula, namely (i) anaerobic sludge, (ii) co-culture of anaerobic sludge and *Rhodospirillum rubrum* and (iii) a sequential addition of anaerobic sludge and *R. rubrum*. Using anaerobic sludge alone, the maximum specific hydrogen production of 1,511 mL H_2/g-VSS and the maximum hydrogen yield of 251 mL/g-COD fed were obtained at thermophilic temperature (55°C) and initial pH 5.0. The use of co-culture of anaerobic sludge and *R. rubrum* in single stage as inoculum improved the specific hydrogen production by 1.7-fold and the hydrogen yield by 1.7-fold in comparison to the use of anaerobic sludge alone at the same test conditions of 30°C and initial pH 7.0. Superior results were obtained when a sequential addition of anaerobic sludge and *R. rubrum* was used for hydrogen production. The cumulative hydrogen of 300 mL with COD-H_2/COD_{input} of 0.28 was produced at 30°C and initial pH 7.0. This study indicated that cassava starch manufacturing wastewater has a potential for sustainable hydrogen production.

Sustainable hydrogen production from cassava wastewater was conducted in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. Inoculum used to form UASB granule was anaerobic sludge obtained from the alcoholic wastewater treatment plant. Prior to granule formation, anaerobic sludge was heat treated in boiling water for 30 minutes. A pH of the substrate in the UASB reactor was maintained at pH 6-6.5 by adding $NaHCO_3$. Heat shock treatment and pH control were conducted to inhibit methanogenic activity. The 9.4-L UASB reactor was operated for 7 months at 5 different hydraulic retention time (HRT) i.e., 24, 18, 12, 8.4 and 4.8 h with concentrations of cassava wastewater and inoculum approximately 10,000 mg COD/L and 10,000 mg/L, respectively. The biomass concentration in the bed zone of the UASB reactor was increased throughout the experiment suggesting that hydrogen producing granulated sludge were developed. A shift in HRT from 24 h to 12 h appeared to enhance hydrogen production rate. When HRT was shortened from 12 h to 4.8 h the percentage of hydrogen produced decreased from 46% to 10%. Peak of the hydrogen yield of 46 mL H_2/g COD and the hydrogen production rate of 16.1 L/d were obtained at HRT 12

h. These results indicated that HRT 12 h was an optimum HRT in producing hydrogen from cassava wastewater. An average granular sludge at HRT 12 h was a light-grey in color and was 0.14 mm in diameter. Each gram of biomass produced 0.89 mL H_2/day with gas evolved mixture of 46% hydrogen, 40% carbon dioxide and less than 2% methane. The effluent volatile suspended solid, the endogenous decay coefficient (Kd) and yield coefficient (Yg) of hydrogen producer granules were 235 mg/L and 0.64 /day and 0.93 g VSS/g COD, respectively. During the efficient hydrogen production stage, a major soluble metabolite was butyric acid, followed by acetic acid and propionic acid. Analysis of microbial by DGGE in granulated sludge indicated that dominant species found in each band on the DGGE profile at every HRT were *Megasphaer elsdenii* and *Megasphaera honisis*.

Keywords: anaerobic sludge; biohydrogen production; cassava starch manufacturing wastewater; *Rhodospirillum rubrum*, microbial community, UASB

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตไฮโดรเจน โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันเป็นสับเสตรทในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก เป็นการทดลองหมักแบบกะโดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัม COD ต่อลิตร เป็นสับเสตรท โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ 1) เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ (anaerobic sludge) 2) เชื้อจุลินทรีย์สองชนิดร่วมกัน ได้แก่ anaerobic sludge และ *Rhodospirillum rubrum* และ 3) ทำการหมักโดยใช้ anaerobic sludge ก่อน แล้วหมักต่อด้วย *R. rubrum* ผลการทดลองพบว่า การหมักโดยใช้ anaerobic sludge เพียงอย่างเดียว ที่อุณหภูมิสูง (50 องศาเซลเซียส) และค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 ให้ค่าการผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุด (maximum specific hydrogen production) เท่ากับ 1,1511 มิลลิกรัมไฮโดรเจนต่อกรัมสารแขวนลอยระเหยได้ (VSS) และผลได้ไฮโดรเจนสูงสุด (maximum hydrogen yield) เท่ากับ 251 มิลลิลิตรต่อกรัม COD เมื่อหมักโดยใช้ anaerobic sludge ร่วมกับ *R. rubrum* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7 พบว่าค่าการผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและค่าผลได้ไฮโดรเจนสูงสุดเพิ่มขึ้น 1.7 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้ anaerobic sludge เพียงอย่างเดียว และการทดลองให้ผลดียิ่งขึ้นเมื่อทำการหมักโดยใช้ anaerobic sludge ก่อนแล้วจึงทำการหมักต่อโดยใช้ *R. rubrum* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7 โดยให้ค่าไฮโดรเจนสะสมเมื่อสิ้นสุดการหมักเท่ากับ 30 มิลลิลิตร และค่าผลได้ไฮโดรเจนเท่ากับ 0.28 COD-ไฮโดรเจน ต่อ COD ที่เติมเข้าไปในระบบ จากผลการทดลองในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังเพื่อเป็นสับเสตรทในการผลิตไฮโดรเจน

การทดลองในส่วนที่สองเป็นการผลิตไฮโดรเจนในถังหมักระบบ Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการสร้างแกรนูลสำหรับผลิตไฮโดรเจนในระบบ UASB นี้ เป็น anaerobic sludge จากระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ โดยนำ anaerobic sludge ดังกล่าวมาต้มให้เดือดนาน 30 นาที ก่อนที่จะนำไปสร้างแกรนูลในระบบ และทำการทดลองโดยควบคุมพีเอชของสับเสตรทในระบบให้อยู่ในช่วง 6.0-6.5 ซึ่งการทรีตด้วยความร้อนและควบคุมพีเอชที่ระดับนี้ทำเพื่อยับยั้งการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตมีเทน ทำการทดลองผลิตไฮโดรเจนในถังหมักระบบ UASB ขนาด 9.4 ลิตร นาน 7 เดือน แปรผันระยะเวลาการกักเก็บ (HRT) เป็น 24 18 12 8.4 และ 4.8 ชั่วโมง ความเข้มข้นของกากตะกอนเริ่มต้นในระบบเท่ากับ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ความเข้มข้นของน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันที่เข้าสู่ระบบเท่ากับ 10,000 มิลลิกรัม COD ต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของชีวมวล (biomass) ในบริเวณ bed zone ของถังหมักมีการเพิ่มขึ้นตลอด

ระยะเวลาการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มีการเพิ่มขึ้นของแกรนูลของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน อัตราการผลิตไฮโดรเจนในระบบจะเพิ่มขึ้นเมื่อลด HRT จาก 24 ชั่วโมงเป็น 12 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตาม การลด HRT จาก 12 ชั่วโมงเป็น 4.8 ชั่วโมง มีผลทำให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนที่ผลิตลดลงจาก 48 เปอร์เซ็นต์ ไปเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ ผลได้ของไฮโดรเจนสูงสุด และอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดที่ได้จากระบบ UASB นี้ มีค่าเท่ากับ 46 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัม COD และ 16.1 ลิตรต่อวัน ตามลำดับที่ HRT เท่ากับ 12 ชั่วโมง ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า HRT ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง คือ HRT 12 ชั่วโมง แกรนูลที่ได้จากระบบที่ HRT 12 ชั่วโมง มีลักษณะเป็นสีเทา มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.14 มิลลิเมตร ปริมาณไฮโดรเจนที่ผลิตได้ต่อกรัมชีวมวลเท่ากับ 0.89 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อวัน โดยแกสที่ผลิตได้ประกอบด้วย ไฮโดรเจน 46 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอนไดออกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ และ มีเทนน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ สารตัวกลางที่ตรวจพบในน้ำหมักระหว่างทำการผลิตไฮโดรเจนคือ กรดบิวไทริก กรดอะซิติก และกรดโพรไพโอนิก และผลการวิเคราะห์กลุ่มของจุลินทรีย์ในแกรนูลจากระบบด้วยเทคนิค Dentured Gradient Gel Electrophoresis พบว่า มีเชื้อจุลินทรีย์ที่เด่นสองชนิด คือ *Megasphaera elsdenii* และ *Megasphaera honisis* โดยพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ในแกรนูลที่ได้จากระบบทุก HRT

คำสำคัญ anaerobic sludge; biohydrogen production; cassava starch manufacturing wastewater; *Rhodospirillum rubrum*, microbial community, UASB