ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม | วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง

Feasibility Study for Biohydrogen Production from Brewery Wastewater by Dark Fermentation

นามผู้วิจัย นางสาวชไมพร สมจิตต์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์สุชาติ เหลืองประเสริฐ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์นุษรา สินบัวทอง, Ph.D.)

รักษาราชการแทน หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สัญญา สิริวิทยาปกรณ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพ จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง

Feasibility Study for Biohydrogen Production from Brewery Wastewater by Dark Fermentation

โดย

นางสาวชไมพร สมจิตต์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชไมพร สมจิตต์ 2555: การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์สุชาติ เหลืองประเสริฐ, Ph.D. 108 หน้า

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ในสภาพปกติที่ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆ ลงไป โดยการหมักแบบไม่ใช้แสงด้วยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ นำแบคทีเรียมาผ่านการคัดกรองด้วยความร้อน กรด ด่าง คลอโรฟอร์มและการแช่แข็งและละลาย เพื่อกำจัดแบคทีเรียชนิดที่ผลิตก๊าซมีเทน จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรียด้วยสารละลายกลูโคสและสารอาหาร เป็นเวลาประมาณ 15 วันจึงนำไปทำการศึกษาต่อ มวลแบคทีเรียเริ่มต้นมีค่าประมาณ 4,000 มก. /ล. น้ำเสียที่ใช้มีค่าซีโอดีประมาณ 6,000 มก./ล. พีเอชเริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า 6.3 การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกทำการหมักน้ำเสียและแบคทีเรียโดยการเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ทดลองที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสและพีเอชเริ่มต้นของน้ำเสียในช่วง 4-7 ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซและน้ำเสียในระบบเพื่อวิเคราะห์หาผลผลิตก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น ส่วนที่สองทำการหมักน้ำเสียด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆ โดยการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง ระยะเวลาเก็บกัก 2.6 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 30 วัน เก็บตัวอย่างก๊าซที่เกิดขึ้นเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซที่ระบบผลิตได้

ผลการศึกษาพบว่าน้ำเสียและแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการและสภาวะที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน การคัดกรองด้วยความร้อน กรด และด่างผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้น้อยมาก โดยให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดประมาณ 30 มล./ก.ซีโอดีที่ถูกกำจัด (ที่สภาวะมาตรฐาน) ยิ่งไปกว่านั้นการคัดกรองแบคทีเรียด้วยคลอโรฟอร์มและการแช่แข็งและละลายในสภาวะที่ศึกษานี้ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ แต่กลับพบว่ายังคงสามารถผลิตก๊าซมีเทนได้ในปริมาณสูง ผลจากงานวิจัยนี้ยังพบอีกว่าแบคทีเรียผลิตก๊าซมีเทนจากโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรงและทนต่อความร้อน กรด ด่าง คลอโรฟอร์มและการแช่แข็งได้เป็นอย่างดีและสามารถฟื้นฟูกลับมาได้เมื่อระยะเวลาเพียงพอ

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chamaiporn Somjit 2012: Feasibility Study for Biohydrogen Production from Brewery Wastewater by Dark Fermentation. Master of Engineering (Environmental Engineering), Major Field: Environmental Engineering, Department of Environmental Engineering. Thesis Advisor: Mr. Suchat Leungprasert, Ph.D. 108 pages.

The objective of this research was a feasibility study for biohydrogen production from normal brewery wastewater through dark fermentation by using the mixed bacterial culture originated from the brewery digested sludge. Five pretreatment methods including heat, acid, base, chloroform, and freezing and thawing methods were applied to suppress methane producing bacteria. Glucose-based substrate was used to acclimate the pretreated bacterial culture for 15 days. The acclimated bacterial culture was used as a parent culture. The initial biomass was approximately 4000 mgMLVSS/l. Brewery wastewater used was prepared to be 6000 mgCOD/l. The wastewater pH was 6.3. The study was divided into two parts. The first part was a digestion of brewery wastewater by the separate pretreated bacteria in a batch mode at 35^0C. Each batch test lasted about 120 hours. The initial pHs of brewery wastewater were varied in the range of 4-7. The biogas and digested wastewater in the system were collected to determine the biogas yield obtained from the system. The second part was a digestion of brewery wastewater by the separate pretreated bacteria in a semi-continuous mode at the hydraulic retention time of 2.6 days at 30^0C. Experiments were conducted up to 30 days. The biogas was collected to determine the content of gas.

The results found that normal brewery wastewater digested with the pretreated bacteria under the tested conditions was not appropriate to produce H_2. Heat, acid and base pretreated culture produced H_2 insignificantly level. The maximum H_2 yield obtained was approximately 30 ml at STP/g COD degraded. Moreover H_2 was not detected from the reactors that contained chloroform and freezing and thawing pretreated bacteria. On the other hand, CH_4 in the produced biogas was detected at high levels. Another finding was that methane producing bacteria could tolerate heat, acid, base, chloroform, and freezing and thawing and could be recovered when sufficient time was allowed.

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดีเนื่องจากความกรุณาจากหลายท่านที่ได้อนุเคราะห์ให้ความร่วมมือช่วยเหลือ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุชาติ เหลืองประเสริฐ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือในการแนะนำ และวางแนวทางแผนการดำเนินงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งแนะนำการนำเสนอจนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ดร.นุษรา สินบัวทอง ที่เมตตาดูแลผู้วิจัยอย่างใกล้ชิดให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานเป็นที่ปรึกษาคอยให้ความช่วยเหลือและแก้ไขปัญหาเฉพาะหน้าที่เกิดขึ้น ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องที่มีส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วง รวมทั้ง ผศ.ดร.นฤมล วงศ์ธนาสุนทร ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้ายและผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ผศ.ดร.ชลอ จารุสุทธิรักษ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายเครื่องมือและวิทยาศาสตร์อาคารปฏิบัติการกลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือแนะนำและอนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ปราโมทย์ ศิริโรจน์ ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำในการวางแผนการทดลองและให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย และ ขอบคุณบริษัทปทุมธานี บริวเวอร์รี่ จำกัด อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี ที่อนุเคราะห์น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์และแบคทีเรียเพื่อใช้ในงานวิจัยนี้ด้วย

สุดท้าย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัย ที่สนับสนุนผู้วิจัยเป็นอย่างดีเป็นกำลังใจและแรงผลักดันที่ทำให้ผู้วิจัยมีความอดทน และพยายามที่จะทำหน้าที่ที่มีให้ดีที่สุด ขอขอบคุณนางสาวบุษกร กาญจนาคาร เพื่อนที่คอยร่วมทุกข์ร่วมสุข เป็นที่ปรึกษาและกำลังใจที่ดีให้แก่ผู้วิจัย และ ขอขอบคุณทุกๆท่านที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ทั้งทางด้านการดำเนินงาน กำลังใจ และแรงผลักดันที่มีให้แก่ผู้วิจัยเสมอมา

ชไมพร สมจิตต์

เมษายน 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	38
สรุปและข้อเสนอแนะ	61
สรุป	61
ข้อเสนอแนะ	62
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	63
ภาคผนวก	71
ภาคผนวก ก ข้อมูลจากการศึกษา	72
ภาคผนวก ข วิธีการคำนวณค่าต่างๆ ในการศึกษา	98
ประวัติการศึกษาและทำงาน	108

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1	สภาวะที่ใช้ในการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดผลิต H_2 ในงานวิจัยที่ศึกษาในช่วงที่ผ่านมา (pretreatment condition of seed sludge)	20
2	pH และ COD ของแบคทีเรียและของเสียจากโรงงานผลิตเบียร์	38
3	ลักษณะสมบัติและองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการทดลองเมื่อน้ำเสียมีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l	39
4	ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย(%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment	45
5	ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment	50
6	ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment	54
7	สรุปปริมาตร H_2 ที่ผลิตได้ (และ CH_4 ที่เกิดขึ้น) ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองทั้ง 5 วิธี โดยการเดินระบบแบบ batch operation	59
8	สรุปปริมาณ H_2 ที่ผลิตได้ (และ CH_4 ที่เกิดขึ้น) ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองทั้ง 5 วิธี โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	60

ตารางผนวกที่

ก1	ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment	74
ก2	ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing	77
ก3	ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี heat treatment	80
ก4	ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี acid treatment	81
ก5	ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี base treatment	82
ก6	ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี chloroform treatment	83

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก7	ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี freezing and thawing	84
ก8	ปริมาตรสะสม H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment	85
ก9	ปริมาตรสะสม H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment	86
ก10	ปริมาตรสะสม H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment	87
ก11	ปริมาตรสะสม CH_4 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองวิธี heat treatment	88
ก12	ปริมาตรสะสม CH_4 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองวิธี acid treatment	89
ก13	ปริมาตรสะสม CH_4 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองวิธี base treatment	90
ก14	ปริมาตรสะสม CH_4 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment	91
ก15	ปริมาตรสะสม CH_4 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing	92
ก16	ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	93
ก17	ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	94
ก18	ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	95
ก19	ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	96
ก20	ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	97
ข1	ปริมาตรก๊าซทั้งหมดที่ได้จากการทดลอง (total gas, ml) และปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐานที่ได้จากการคำนวณ (total gas, ml at STP)	101
ข2	ปริมาตร H_2 ที่สภาวะมาตรฐาน (STP)	102
ข3	ปริมาตร H_2 สะสมที่สภาวะมาตรฐาน (STP)	103

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ขั้นตอนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ	14
2	การเรียงแท่งแก้วในขวดน้ำกรดของระบบเก็บตัวอย่างก๊าซโดยการแทนที่น้ำ	28
3	ลักษณะขวดเก็บก๊าซที่เป็นการเก็บตัวอย่างก๊าซทำโดยการแทนที่น้ำ	28
4	แผนภูมิการดำเนินการทดลอง	29
5	การคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิต H_2 โดยการปรับสภาพด้วยวิธี heat treatment	30
6	ภาพแสดงการเชื่อมต่อ serum bottle ในระบบ batch process กับ gas collection system	35
7	การเดินระบบแบบ batch operation	35
8	$\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment	41
9	$\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment	41
10	$\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment	42
11	$\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment	43
12	$\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing	43
13	ปริมาตรสะสมของ H_2 และ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7	45
14	H_2 yield และ CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7	46
15	$\%H_2$ และ $\%CH_4$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	47
16	ปริมาตรสะสมของ H_2 และ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7	48
17	H_2 yield และ CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7	51
18	$\%H_2$ และ $\%CH_4$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation	52

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

19 ปริมาตรสะสมของ H_2 และ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 53

20 H_2 yield และ CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatmentที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 55

21 $\%H_2$ และ $\%CH_4$ ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation 56

ภาพผนวกที่

ก1 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 73

ก2 CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 75

ก3 $\%H_2$ และ $\%CH_4$ ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation 76

ก4 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 77

ก5 CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 78

ก6 $\%H_2$ และ $\%CH_4$ ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous 79

ข1 ความดันของก๊าซในระบบเก็บก๊าซของการทดลอง 99

ข2 เครื่อง Gas chromatography (GC/TCD) Model Shimadzu รุ่น GC-14 105

ข3 chromatogram ของ standard gas 105

ข4 chromatogram ของ H_2 105

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพ จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง

Feasibility Study for Biohydrogen Production from Brewery Wastewater by Dark Fermentation

คำนำ

ความต้องการพลังงานของมนุษย์กำลังเพิ่มมากขึ้นอย่างไร้ขีดจำกัดในปัจจุบัน มนุษย์เราใช้พลังงานเพื่อผลประโยชน์ทั้งทางด้านเศรษฐกิจ คมนาคม และความสะดวกสบายในการดำรงชีวิต ประเทศไทยนับได้ว่าเป็นประเทศกำลังพัฒนาซึ่งมีการขยายตัวทางด้านเศรษฐกิจและสังคม เช่นเดียวกันกับประเทศทั่วโลก ส่งผลให้มีความต้องการพลังงานในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น จากสาเหตุดังกล่าวทำให้มีปัญหาการขาดแคลนพลังงานเกิดขึ้น จึงมีความพยายามในการวิจัยและพัฒนาค้นคว้าหาแหล่งพลังงานทดแทนอย่างกว้างขวาง เพราะพลังงานที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นพลังงานที่ได้จากเชื้อเพลิงฟอสซิล ได้แก่ น้ำมัน ถ่านหิน และ ก๊าซธรรมชาติ ซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่มีอยู่อย่างจำกัด อีกทั้งการแปรรูปเชื้อเพลิงที่กล่าวมานี้ไปเป็นพลังงานยังก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางอากาศ ดังนั้นพลังงานทดแทนในอนาคตจึงต้องคำนึงถึง ความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ความยั่งยืน และการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ จึงได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อหาแหล่งพลังงานที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทน ก๊าซชีวภาพ (biogas) เป็นเชื้อเพลิงที่สามารถตอบสนองความต้องการแหล่งพลังงานทดแทนในอนาคตของมนุษย์ได้เช่นกัน เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในประเทศไทยนั้นการศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพเพื่อเป็นพลังงานทดแทนส่วนใหญ่เป็นไปเพื่อผลิตก๊าซมีเทน (CH_4) แต่ในการสันดาปเชื้อเพลิงมีเทนก่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก (green house gas) ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมทำให้โลกร้อนขึ้น ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณไม่มากก็ตาม ในขณะที่ก๊าซชีวภาพอีกชนิดหนึ่งอย่างไฮโดรเจน (H_2) นั้นจัดได้ว่าเป็นเชื้อเพลิงสะอาด เนื่องจากการสันดาปของเชื้อเพลิง H_2 กับออกซิเจน (O_2) จะให้ผลิตภัณฑ์ออกมาในรูปแบบของพลังงานความร้อนและน้ำเท่านั้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กระบวนการผลิต H_2 ในระดับอุตสาหกรรมมีด้วยกันหลายวิธี แต่ที่ใช้กันมาก และมีต้นทุนต่ำมีอยู่ 2 วิธี วิธีแรกเรียกว่า “steam hydrocarbon reforming” โดยจะฉีดพ่นไอน้ำอุณหภูมิสูงเข้าผสมกับก๊าซธรรมชาติ ทำให้โมเลกุลไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon, HC) เกิดการแตกตัว และปลดปล่อย H_2 ออกมา วิธีที่สองเรียกว่า “gasification” คือ การเผาถ่านหินที่มีกำมะถันต่ำ โดยใช้อุณหภูมิสูงแล้วดักจับก๊าซที่เกิดขึ้นไปสกัดแยก H_2 จากก๊าซอื่นๆ เช่น คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide, CO) และ CO_2 ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นวิธีการผลิตที่มาจากกระบวนการทางความร้อนเคมีทั้งสิ้น งานวิจัยทางเทคโนโลยีชีวภาพในช่วงที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้สิ่งมีชีวิตบางชนิดมาเป็นตัวช่วยในการผลิต H_2 ในปริมาณมากได้จากทรัพยากรธรรมชาติที่ใช้ไม่หมด เช่น แสงแดด น้ำ นอกจากนี้ยังผลิตได้จากของเสียที่เป็นชีวมวล (biomass) หรือ จากกระบวนการบำบัดน้ำเสียได้อีกด้วย

การผลิต H_2 จากการบำบัดน้ำเสียเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ เนื่องจากสามารถผลิต H_2 และ ลดปริมาณของเสียที่จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ในเวลาเดียวกัน การผลิต H_2 ด้วยวิธีทางชีวภาพสามารถทำได้โดยใช้แบคทีเรีย (hydrogen producing bacteria) เป็นตัวช่วยย่อยสลายของเสียในรูปของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ทั้งนี้ประเทศไทยยังเป็นประเทศอุตสาหกรรมการเกษตร ทำให้มีของเสียในรูปของสารอินทรีย์ที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทาการเกษตรในปริมาณมาก ดังนั้นการผลิต H_2 โดยวิธีทางชีวภาพจึงเป็นแนวทางในการผลิตที่น่าสนใจ และควรมีการศึกษาเพื่อพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากจะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านของแหล่งพลังงานทดแทนของประเทศ และ ยังเป็นการจัดการของเสียที่ไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมไปพร้อมๆกัน

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ โดยใช้แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) จากถัง UASB (upflow anaerobic sludge blanket) ของโรงงานผลิตเบียร์ ภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้แสงและไม่ใช้ออกซิเจน โดยที่แบคทีเรียที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ต้องผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้ การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (heat treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (acid treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (base treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform treatment) และการคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลาย (freezing and thawing treatment) นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการศึกษาต่อไป น้ำเสียมีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l มวลแบคทีเรีย (MLVSS) มีค่าประมาณ 4000 mg/l สำหรับแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองทุกวิธี งานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนแรกทำการเดินระบบแบบการเติมครั้งเดียว (batch operation) ที่อุณหภูมิ 35°C โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วในแต่ละวิธีการมาทำการศึกษา ไม่มีการปรับค่า pH เริ่มต้นของแบคทีเรีย ในขณะที่น้ำเสียที่นำมาใช้ปรับค่า pH เริ่มต้นให้อยู่ในช่วง 4-7 อัตราส่วนมวลแบคทีเรียต่อน้ำเสียที่ใช้ในการหมักมีค่าเท่ากับ 1:4 ทำการศึกษาจนกระทั่งระบบไม่มีก๊าซเกิดขึ้น ประมาณ 120ชั่วโมง พิจารณาชนิดและผลผลิตของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากผลผลิต H_2 (H_2 yield, mlH_2/gCOD degraded) และ/หรือผลผลิต CH_4 ที่ (CH_4 yield, ml CH_4 / g COD degraded) ที่เกิดขึ้นในระบบตลอดทั้ง พิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดของเสียของระบบ โดยพิจารณาจากความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ในรูป COD ที่ลดลง (%COD degradation) และหาค่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต H_2 และ/หรือ CH_4 ส่วนที่สองทำการศึกษาโดยการเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation) ที่ระยะเวลาเก็บกักน้ำเสียระบบเท่ากับ 2.6 วัน อุณหภูมิห้องประมาณ 30°C เป็นเวลาประมาณ 30 วัน งานวิจัยนี้ใช้น้ำเสียจาก EQ tank (Equalization tank) ของโรงงานผลิตเบียร์ผสมรวมกับกากยีสต์ที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิต (COD ประมาณ 6,000 mg/l) เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวเท่านั้นไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไป (normal brewery wastewater) ทั้งนี้เพื่อให้ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้ได้จริงในทางปฏิบัติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซ ไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไป (normal brewery wastewater) โดยใช้แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน 5 วิธี ได้แก่ การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (heat treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (acid treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (base treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform treatment) และการคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลาย (freezing and thawing treatment) โดยทำการเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch process) ที่อุณหภูมิ 35°C และ เดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous process) ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30°C ภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digestion) และ ไม่ใช้แสง (dark fermentation)

ขอบเขตการวิจัย

1. น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ (brewery wastewater) และ แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้นำมาจากโรงงานผลิตเบียร์ของโรงงานปทุมธานีบริวเวอร์รี่ จังหวัดปทุมธานี

2. น้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไป (normal brewery wastewater) มีความเข้มข้นของ COD ประมาณ 6,000 mg/l และ pH 6.31 ศึกษาด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดผลิตก๊าซไฮโดรเจน 5 วิธี ได้แก่ การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (heat treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (acid treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (base treatment), การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform treatment) และการคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลาย (freezing and thawing)

3. ทำการศึกษาภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digestion) และ ไม่ใช้แสง (dark fermentation)

4. ทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ (lab scale)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันก๊าซชีวภาพที่เป็นที่รู้จักและนำมาใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงกันอย่างแพร่หลาย คือก๊าซมีเทน (CH_4) นอกจาก CH_4 แล้วก๊าซไฮโดเจน (H_2) เป็นก๊าซชีวภาพอีกชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจในการศึกษา วิจัยและพัฒนา เพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานควบคู่กับเซลล์เชื้อเพลิงสำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าและใช้แทนน้ำมันเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ โดยเชื้อเพลิง hydrogen สามารถสังเคราะห์ได้จากวัตถุดิบ ตามธรรมชาติหลายประเภท อาทิเช่น วัสดุชีวมวล ก๊าซชีวภาพ ก๊าซธรรมชาติ และ ถ่านหิน ข้อดีของ H_2 คือ เป็นเชื้อเพลิงที่สะอาดไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม แม้กระทั่ง ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งเป็นต้นเหตุสำคัญของภาวะโลกร้อน

คุณสมบัติของก๊าซไฮโดรเจน

H_2 จัดว่าเป็นเชื้อเพลิงอนาคต ทั้งนี้เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเกิดการเผาไหม้กับ O_2 โดยจะมีเพียงไอน้ำเป็นผลพลอยได้ ซึ่งแตกต่างจากเชื้อเพลิงประเภทอื่นที่ให้ CO_2 เป็นผลพลอยได้ ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก (greenhouse gas) ที่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการทำให้โลกมีอุณหภูมสูงขึ้น (global warming) นอกจากนี้ยังสามารถนำ H_2 ไปผลิตกระแสไฟฟ้าโดยป้อนเข้าเซลล์เชื้อเพลิง ในขณะนี้นักวิจัยทั่วโลกให้ความสนใจเป็นอย่างมากในการพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เนื่องจากประสิทธิภาพของเซลล์เชื้อเพลิงมีค่าสูงกว่าอุปกรณ์ผลิตไฟฟ้าแบบอื่นมากด้วยเหตุผลดังกล่าว H_2 จึงเป็นพลังงานอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนพลังงานดั้งเดิมได้ โดยพิจารณาความเหมาะสมจากคุณสมบัติในด้านต่างๆของ H_2 ซึ่งสรุปพอสังเขปดังนี้

1. แหล่งพลังงานดั้งเดิมก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก ซึ่งก๊าซชนิดนี้ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลก โดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนมอนออกไซด์ (CO) ที่เกิดจากการสันดาป (combustion) ของสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำมัน แต่พลังงานจาก H_2 เป็นพลังงานสะอาดไม่ก่อให้เกิดก๊าซเรือนกระจก ดังนั้นจึงไม่ส่งผลให้เกิดภาวะเรือนกระจก

2. การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงดั้งเดิมไม่ว่าจะมาจากยานพาหนะ หรือ แหล่งอุตสาหกรรม ก่อให้เกิดกลุ่มควันและฝุ่นละออง แต่พลังงาน H_2 ไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศเหล่านี้

3. พลังงาน H_2 สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับงานที่ต้องใช้พลังงานดั้งเดิมได้ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับครัวเรือน เครื่องยนต์สันดาปภายใน เครื่องกังหัน และ เครื่องไอพ่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ค่าพลังงานเชื้อเพลิงที่ได้จาก H_2 มากกว่าค่าพลังงานในเชื้อเพลิงประเภทไฮโดรคาร์บอน (HC) และ เชื้อเพลิงจากแอลกอฮอร์ (alcohol) เช่น เมทานอล (methanol) และ เอทานอล (ethanol) ถึง 2.5 และ5 เท่า ตามลำดับ

5. H_2 สามารถนำไปใช้กับเซลล์เชื้อเพลิง (fuel cell) ในการผลิตไฟฟ้าได้ ซึ่งอยู่ระหว่างการพัฒนาและคาดว่าจะนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอนาคต

กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

กระบวนการผลิต H_2 มีหลายวิธี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต H_2 สามารถผลิตจากแหล่งวัตถุดิบที่หลากหลาย เช่น ฟอสซิล น้ำ ชีวมวล โดยกระบวนการผลิตทางเคมี หรือการผลิตด้วยกระแสไฟฟ้า อีกทั้ง H_2 สามารถที่จะเก็บเพื่อไว้ใช้เป็นพลังงานทดแทนในอนาคตได้ง่ายและสามารถเคลื่อนย้ายได้ตามต้องการ (ธัญญารัตน์ และคณะ, 2553)

เราสามารถจำแนกกระบวนการผลิต H_2 ตามชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ได้ดังนี้

1. การผลิต H_2 จากเชื้อเพลิงฟอสซิล (hydrogen production from fossil)

ปัจจุบันกระบวนการผลิต H_2 ที่มีการศึกษาวิจัยมากที่สุดและได้รับการคาดหวังไว้ว่าจะสามารถใช้งานได้จริงในเชิงพาณิชย์และอย่างง่ายที่สุดคือ กระบวนการความร้อนเคมี (thermo-chemical processes) ซึ่งเป็นการผลิตเชื้อเพลิงใช้ทางการค้าสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมเคมี ส่วนใหญ่ผลิตจากก๊าซธรรมชาติ และ น้ำมัน เช่น กระบวนการรีฟอร์มมิง (reforming)

กระบวนการ reforming สามารถแบ่งออกประเภทตามสารที่ใช้ในกระบวนการ ดังนี้

1.1 Steam reforming หรือ การรีฟอร์มมิงด้วยไอน้ำ เป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพการผลิต H_2 สูง แต่เสียค่าใช้จ่ายน้อยจึงถูกนำมาใช้ในทางการค้าแล้ว โดยหลักการของกระบวนการคือ การป้อนไอน้ำ (steam) เข้าสู่ระบบเพื่อทำปฏิกิริยากับสารไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon, HC) ที่อยู่ในสถานะก๊าซ เช่น ก๊าซธรรมชาติ ก๊าซชีวภาพ และ เอทานอล เป็นต้น โดย H_2 จะถูกดึงออกจากไอน้ำ (H_2O), hydrocarbon ส่วนออกซิเจน (oxygen, O) ที่เหลือจากน้ำ และ คาร์บอน (carbon, C) ที่เหลือจาก hydrocarbon จะรวมตัวกันเป็น CO

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แต่วิธีนี้ก่อให้เกิดมลพิษเนื่องจากการตกค้างของสารไฮโดรคาร์บอนที่ไม่เผาไหม้ CO_2 และ ซัลเฟอร์ (sulfur, S_2) เป็นต้น วิธีนี้เป็นที่นิยมมากเนื่องจากมีราคาต้นทุนที่ต่ำ (Werner and Wuster, 1996)

สมการพื้นฐานของการใช้ steam reforming กับก๊าซมีเทน มีดังนี้

$$CH_4 + Steam\ (H_2O + heat) \rightarrow 3H_2 + CO$$
$$CO + Steam\ (H_2O + heat) \rightarrow CO_2 + H_2$$

1.2 Carbon dioxide reforming หรือ dry reforming กระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วย CO_2 เป็นกระบวนการที่คล้ายคลึงกับกระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ แต่จะแตกต่างกันตรงที่ใช้ CO_2 เป็นวัตถุดิบ ข้อดีของกระบวนการนี้คือ ช่วยลด CO_2 ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจกในบรรยากาศ อีกทั้งยังควบคุมระบบการทำงานได้ง่ายกว่ากระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ แต่ข้อเสียคือ สัดส่วนของ H_2 ที่ได้จากกระบวนการนี้จะต่ำกว่ากระบวนการแรก และ ตัวเร่งปฏิกิริยาจะเสื่อมสภาพเร็วกว่า เนื่องจากจะมี C จาก CO_2 ไปเกาะอยู่ที่บริเวณผิวของตัวเร่งปฏิกิริยา

1.3 Partial oxidation หรือ กระบวนการออกซิเดชันบางส่วน เป็นกระบวนการระหว่าง hydrocarbon กับ O_2 กระบวนการนี้มีข้อได้เปรียบกว่าสองกระบวนการแรกตรงที่ไม่จำเป็นต้องป้อนพลังงานจากภายนอกเนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบคายความร้อนทำให้เกิดพลังงานขึ้นภายในระบบแต่ข้อจำกัดของกระบวนการนี้คือปริมาณ O_2 ที่ป้อนเข้าสู่ระบบต้องไม่สูงเกินไป เนื่องจาก O_2 ที่เหลือจากกระบวนการจะกลับมาทำปฏิกิริยากับ H_2 ที่ผลิตได้กลายเป็นน้ำทำให้สูญเสียผลผลิต H_2 นอกจากนั้นข้อจำกัดที่สำคัญอีกประการของการใช้กระบวนการนี้ในเชิงพาณิชย์ คือ ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูงกว่ากระบวนการ reforming ปกติ เนื่องจากต้องมีระบบแยก O_2 จากอากาศก่อนการป้อนเข้าสู่ระบบ เพราะหากไม่แยก O_2 ออกจะทำให้ปริมาณความเข้มข้นของ H_2 ที่ผลิตได้ลดลง เนื่องจากอากาศมีปริมาณก๊าซไนโตรเจน (nitrogen, N_2) สูง

1.4 Autothermal reforming หรือ ออโตเทอร์มัลรีฟอร์มมิ่ง เป็นกระบวนการร่วมระหว่างกระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ กับ ออกซิเดชันบางส่วน เป็นกระบวนการใหม่ที่นำข้อดีของกระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ และ กระบวนการออกซิเดชันบางส่วนมารวมกัน โดยการป้อนทั้งน้ำ และ O_2 เพื่อทำปฏิกิริยากับ hydrocarbon ข้อดีของกระบวนการนี้ คือ สามารถผลิต H_2 ได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในอัตราส่วนที่มากกว่ากระบวนการออกซิเดชันบางส่วน และ ใช้พลังงานน้อยกว่ากระบวนการรีฟอร์มมิ่งด้วยไอน้ำ ในปัจจุบันกระบวนการดังกล่าวกำลังเป็นที่นิยมและเริ่มมีการใช้งานจริงในเชิงพาณิชย์อย่างแพร่หลาย

2. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำ (Hydrogen production from water)

2.1 Electrolysis เป็นวิธีการผลิต H_2 จากน้ำ ด้วยวิธีแยกน้ำด้วยไฟฟ้าโดยใช้พลังงานไฟฟ้าในการแยก hydrogen atom และ oxygen atom ออกจากโมเลกุลของน้ำโดยตรง ซึ่งอาศัยอิเล็กโทรด (electrode) 2 ขั้วที่ตรงข้ามกัน คือ อิเล็กโทรดขั้วบวก (positive electrode) และ อิเล็กโทรดขั้วลบ (negative electrode) โดยจุ่ม electrode ทั้ง 2 ขั้วลงในน้ำที่มีการเติมสารจำพวกอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) เช่น โปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) หรือ กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ลงไปเพื่อเพิ่มความเป็นตัวนำไฟฟ้า ทำให้ hydrogen atom (H^+) และ oxygen atom (O^{2-}) แยกตัวออกจากกัน โดย hydrogen atom จะไปเกาะที่ negative electrode และ oxygen atom จะไปเกาะที่ positive electrode ดังสมการ

ANODE (OXIDATION) $H_2O \longrightarrow \frac{1}{2} O_2 (g) + 2H^+ + 2e^-$

CATHODE (REDUCTION) $2e^- + 2H_2O \longrightarrow H_2 (g) + 2OH^-$

วิธีนี้จะไม่ก่อให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่มีต้นทุนที่สูงกว่าการผลิตจากน้ำมันและ ก๊าซธรรมชาติอยู่มาก

2.2 Photolysis เป็นกระบวนการแยกโมเลกุลของไฮโดรเจนออกจากน้ำโดยแสง ซึ่งมีตัวเร่งคะตะลิสเป็นตัวช่วยให้การทำปฏิกิริยาปฏิกิริยา มีลักษณะเหมือนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ในปัจจุบันมีการนำเอาพลังงานหมุนเวียน เช่น พลังงานแสงอาทิตย์มาใช้โดยใช้แสงอาทิตย์ส่องบนเซลล์ photoeletrochemical (PEC) ที่ทำจาก amorphism และ silicon ซึ่งเซลล์นี้จุ่มอยู่ในน้ำ ทำให้เกิดฟองไฮโดรเจน (วัชระ, 2548)

2.3 Thermochemical water แยกโดยใช้สารเคมี เช่น โบรมีน (Br) หรือไอโอดีน (I) โดยใช้ความร้อนแยกโมเลกุลของน้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. วิธีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชีวมวล (Hydrogen production from fossil)

ชีวมวล (biomass) คือ สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งกักเก็บพลังงานจากธรรมชาติ และ สามารถนำมาใช้ผลิตพลังงานได้ สารอินทรีย์เหล่านี้ได้จากพืชและสัตว์ต่างๆ เช่น เศษไม้ ขยะ วัสดุเหลือใช้จากการเกษตร ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมและชุมชน การเลือกวิธีในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชีวมวลนั้น จะถูกกำหนดโดยชนิด คุณสมบัติ องค์ประกอบ และ ปริมาณของชีวมวลที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต เนื่องจากต้องคำนึงถึงความเหมาะสม และ ความคุ้มค่าในการลงทุน

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชีวมวลนั้นสามารถแบ่งกระบวนการผลิตได้ดังนี้

3.1 Gasification เป็นกระบวนการทางความร้อนชนิดหนึ่ง ซึ่งใช้ในการเปลี่ยนชีวมวล ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และ ออกซิเจน (O) ในสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon, CH) ให้กลายเป็นก๊าซที่เผาไหม้ได้ ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO), ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) และ ก๊าซมีเทน (CH_4) โดยกระบวนการดังกล่าวนั้น เป็นกระบวนการเผาไหม้อินทรีย์สารแบบจำกัดปริมาณออกซิเจน ทำให้เกิดการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ จึงทำให้ก๊าซที่ได้สามารถนำไปเป็นเชื้อเพลิงได้

3.2 Pyrolysis คือ กระบวนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้ความร้อน โดยการเผาไหม้ในสภาวะไม่ใช้อากาศ โดยเกิดการแตกของพันธะโมเลกุลในองค์ประกอบ จากสายโซ่พันธะเคมียาวๆกลายเป็นสายโซ่สั้นๆ ส่วนที่เป็นองค์ประกอบคาร์บอนระเหยได้ก็กลายเป็นก๊าซเชื้อเพลิง บางส่วนที่ถูกควบแน่นก็กลายเป็นของเหลว ผลิตภัณฑ์ไฮโดรเจนที่ได้ เกิดจากอุณหภูมิสูงของก๊าซ และ ขบวนการคายความร้อนของชีวมวลที่อุณหภูมิต่ำ เทคโนโลยีนี้ เป็นการใช้ประโยชน์จากเชื้อเพลิงซากสิ่งมีชีวิต (fossil fuels)

นอกจากนี้ยังมีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพ ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่อาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียในการเปลี่ยนรูปชีวมวลไปเป็นก๊าซไฮโดรเจน โดยมีวิธีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ซึ่งกระบวนการดังกล่าวนี้เรียกว่า biohydrogen production

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพ

กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพจากชีวมวล จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เนื่องจากสามารถลดปริมาณของเสียไปในตัวกระบวนการนี้จัดว่าเป็นเทคโนโลยีสีเขียว เนื่องจากมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพ

กระบวนการผลิต H_2 ด้วยวิธีทางชีวภาพหลักๆ นั้นมีทั้งสิ้น 4 วิธี คือ

1. Direct biophotolysis เป็นกระบวนการที่พบได้ในขั้นตอนการสังเคราะห์แสงของพืช และ สาหร่าย เช่น สาหร่ายสีเขียว (gleen algae) โดยมีการใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานเปลี่ยนน้ำให้เป็น H_2 และ O_2 ดังสมการ

$$2H_2O + \text{light energy}” \longrightarrow 2H_2 + O_2$$

2. Indirect biophotolysisเป็นการผลิต H_2 ด้วยไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) ซึ่งมักรู้จักกันในชื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) โดยจะแยกปฏิกิริยาออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรก cyanobacteria จะใช้ CO_2 ในอากาศเป็นแหล่ง carbon และ แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงาน เพื่อผลิต O_2 และ น้ำตาล เพื่อใช้ในการผลิต H_2 ในปฏิกิริยาที่สอง ต่อไป ดังสมการ

$$6H_2O + 6CO_2 + \text{light energy} \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

Overall reaction:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + \text{light energy} \longrightarrow 12H_2 + 6O_2$$

$$12H_2O + 6CO_2 + \text{light energy} \longrightarrow 12H_2 + 6O_2$$

3. Photo-fermentation ใช้แบคทีเรียกลุ่ม photosynthesis bacteria เช่น *Rhodobacter sphaeroides* ซึ่งจะใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนส (nirogenase) ร่วมกับแสงอาทิตย์ในการย่อยสลายกรดอินทรีย์ (organic acids) เช่น กรดอะซีติก (CH_3COOH) ให้กลายเป็น H_2 ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ โดยมีการถ่ายทอดอิเลคตรอนผ่านเฟอร์รีดอก (ferredoxin) ไปสู่เอนไซม์ nirogenase เพื่อสร้าง ATP มีปฏิกิริยาเป็นไปดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + \text{light energy} \longrightarrow 12H_2 + 6O_2$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. Dark fermentation เป็นกระบวนการหมักของ anaerobic bacteria และ สาหร่ายบางชนิดที่เจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีแสง กระบวนการนี้จะทำการเปลี่ยนสารที่มีปริมาณ carbohydrate สูงไปเป็น H_2 และ CO_2 กระบวนการหมักจะเกิดผ่านกลไกของปฏิกิริยาของ pyruvate เพื่อสร้าง acetyl-CoA และ CO_2 โดยมี ferredoxin ทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดซ์ จากนั้นในขั้นตอนต่อไป ferredoxin จะถูกออกซิไดซ์กลับมาอยู่ในรูปแบบเดิม พร้อมกับผลิต H_2 ขึ้น ปฏิกิริยารวมเป็นดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \longrightarrow 4H_2 + 2CO_2 + 2CH_3COOH$$

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$$

หรือ

$$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \longrightarrow 12H_2 + 6CO_2$$

Chen *et al.* (2006) ได้ให้แนวความคิดที่ว่า กระบวนการผลิต H_2 ด้วยวิธีการหมักแบบไม่ใช้แสง มีข้อดีกว่ากระบวนการอื่นๆเพราะวิธีการดังกล่าวมีความสามารถในการผลิต H_2 อย่างต่อเนื่อง จากปริมาณอาหารที่หมุนเวียนเข้าสู่ระบบโดยไม่ต้องอาศัยพลังงานจากภายนอกแต่อย่างใด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการผลิต H_2 โดยใช้แสง กับแบบไม่ใช้แสงนั้นพบว่าวิธีการผลิต H_2 แบบไม่ใช้แสงมีความเป็นไปได้มากกว่าในอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถควบคุมการผลิตได้ง่าย และ มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานที่ไม่สูงนัก (Levin *et al.*, 2004; Li and Fang, 2007)

การเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย

การเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย (feeding system) การเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียมีอยู่หลายวิธี แบ่งตามวิธีการได้ดังนี้

1. การเติมน้ำเสียครั้งเดียว (batch type feeding) เป็นการเติมน้ำเสียเพียงครั้งเดียวในหนึ่งวันลงในถังปฏิกิริยาหรือระบบบำบัดน้ำเสีย แล้วปล่อยให้แบคทีเรียย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย หลังจากนั้นจึงมีการถ่ายน้ำเสียที่บำบัดแล้วหรือกำจัดสารอินทรีย์แล้วออกจากระบบ เติมน้ำเสียใหม่เข้าไปทีเดียวในระบบและดำเนินการตามขบวนการแบบข้างต้น การเติมน้ำเสียในลักษณะนี้เหมาะสำหรับน้ำเสียปริมาณไม่มากนัก และไม่มีกระบวนการที่ก่อให้เกิดน้ำเสียตลอด 24 ชั่วโมง มีน้ำเสียเกิดขึ้นเป็นช่วงๆ ไม่ต่อเนื่อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเติมน้ำเสียแบบต่อเนื่อง (continuous type feeding) เป็นการเติมน้ำเสียเข้าถังปฏิกิริยาหรือระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่องตลอด 24 ชั่วโมง คือ จะมีน้ำเสียถูกเติมเข้า และออกจากถังปฏิกิริยาหรือระบบบำบัดน้ำเสียตลอดเวลา เป็นแบบที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ทั้งนี้เพื่อต้องการให้ระบบบำบัดน้ำเสียสามารถดำเนินไปอย่างสม่ำเสมอ การเติมในลักษณะนี้เหมาะสำหรับกระบวนการผลิตที่ก่อให้เกิดน้ำเสียตลอดเวลา หรือ มีน้ำเสียเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง

3. การเติมน้ำเสียแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous feeding) เป็นการเติมน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกิริยาหรือระบบบำบัดน้ำเสียแบบกึ่งต่อเนื่องโดยจะมีการหยุดป้อนน้ำเสียเป็นช่วงๆ ซึ่งส่วนใหญ่มักจะพิจารณาการเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวให้มีความสอดคล้องกับลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่เกิดขึ้น ในแง่ของคุณภาพของน้ำเสียหรือปริมาณที่มีความแตกต่างกันมาก

ปฏิกิริยาของกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

กระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

1. Hydrolysis หรือ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และ ไขมัน ให้อยู่ในรูปที่ไม่ซับซ้อนและละลายได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน และ กลีเซอรอล เพื่อให้ง่ายต่อการลำเลียงข้ามสู่เยื่อเซลล์ได้ ปฏิกิริยาในขั้นนี้จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (extracellular enzymes) ของจุลินทรีย์พวกไฮโดรไลติกแบคทีเรีย (hydrolytic bacteria) อย่างไรก็ตามยังมีเอนไซม์อื่นๆที่เกี่ยวข้องอีก ได้แก่ เซลลูเลส (cellulases) อะไมเลส (amylases) โปรตีเอส (proteases) โดยเอนไซม์เหล่านี้สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียที่เกิดการหมัก (fermentative bacteria) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของปฏิกิริยาขั้นถัดไป อย่างไรก็ตามการย่อยสลายในขั้นตอนนี้เป็นไปได้ช้าและมีขีดจำกัดในการย่อยสลายสารบางชนิด เช่น พวกเซลลูโลสที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบ

2. Acidogenesis หรือปฏิกิริยาอะซิโดเจนนิซิส เป็นปฏิกิริยาที่อาศัยแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ กรดอะมิโน และน้ำตาลถูกย่อยสลายโดยปฏิกิริยาการหมัก ซึ่งสารอินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน ผลผลิตหลักในปฏิกิริยานี้คือสารกลางที่จะถูกย่อยสลายได้ต่อไป (intermediary degradative products) ได้แก่ กรดโพรไพโอนิก (propionic acid) กรดบิวทิริก (butyric acid) กรดอะซีติก (acetic acid) และ H_2 ผลผลิตของ H_2 จากปฏิกิริยาการหมักมีเพียงเล็กน้อยซึ่งได้มาจากการปล่อย H_2 ออก (dehydrogenation) ของไพรูเวท นอกจากนี้ผลผลิตของปฏิกิริยานี้ยังได้แก่ แอลกอฮอล์ และ คีโตน (เช่น เอทานอล เมทานอล กลีเซอรอล อะซิโตน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อะซิเตต CO_2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยานี้เรียกว่า อะซิโดจินิกแบคทีเรีย (acetogenic bacteria) ได้แก่ obligate และ facultative anaerobes

3. Acetogenesis เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนกรดไขมันระเหย (volatile fatty acid; VFA ได้แก่ กรดโพรไพโอนิก(propionic acid) กรดบิวทิริก (butyric acid)) และแอลกอฮอล์ไปเป็นอะซิเตต (acetate acid) H_2 และ CO_2 โดยการทำงาน acetogenic bacteria หรือแบคทีเรียที่สร้างอะซิเตตและ H_2 (acetate and H_2-producing bacteria) ได้แก่ *Syntrobacter wolinii* และ*Syntrophomonas wolfei* แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการความดัน H_2 ต่ำ (low hydrogen tensions) สำหรับการเปลี่ยนรูปของกรดไขมันระเหย กรณีที่มีความดัน H_2 ค่อนข้างสูงการเกิด acetate acid จะลดลง และ substrate จะถูกเปลี่ยนเป็น propionic acid, butyric acid และเอทานอล (ethanol) มากกว่า CH_4 acetogenic bacteria และ เมทาโนเจน (methanogenic bacteria) จะมีความสัมพันธ์ที่เอื้อกัน methanogenic bacteria จะช่วยให้เกิดความดัน H_2 ต่ำ acetogenic bacteria อย่างไรก็ตาม acetogenic bacteria เจริญเร็วกว่าแบคทีเรียกลุ่ม methanogenic bacteria เป็นอย่างมาก การทำงาน acetogenic bacteria เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$CH_3CH_2OH + H_2O \longrightarrow CH_3COOH + 2H_2$$

(ethanol) (acetic acid)

$$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \longrightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$$

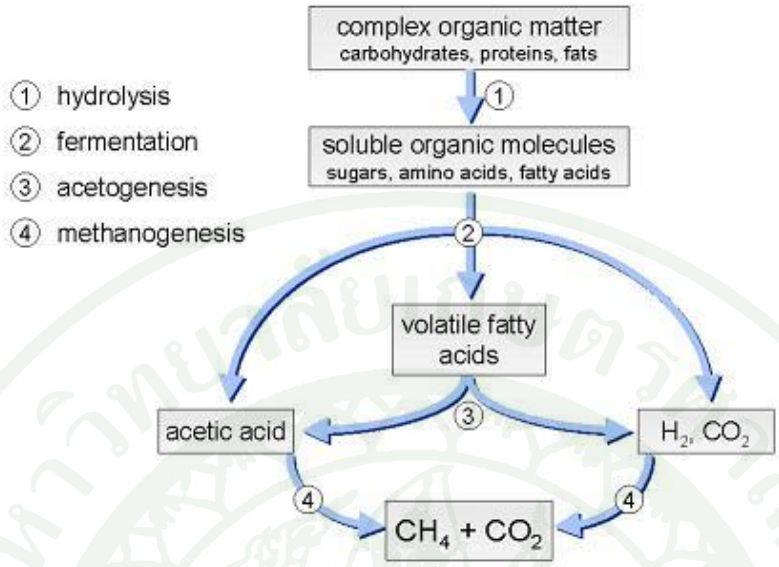
(propionic acid) (acetic acid)

$$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \longrightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$$

(butyric acid) (acetic acid)

4. Methanogenesis เป็นขั้นตอนที่กรดอะซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) CO_2 และ H_2 ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างกรด และจะถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียสร้างมีเทน (methanogenic bacteria) ใช้สร้าง CH_4 (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

ที่มา: http://water.me.vccs.edu/courses/ENV149/lesson4.htm (2006)

แบคทีเรียผลิตก๊าซมีเทน

แบคทีเรียผลิต CH_4 (methanogenesis bacteria) แบคทีเรียผลิต CH_4 เป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ O_2 อย่างเด็ดขาดไม่อาจทนต่อ O_2 ได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียชนิดเคโมเฮเทโรทรอปดำรงชีวิตอยู่และเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นสารอาหารของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น ส่วนสารอาหารชนิดอื่นไม่ว่าจะเป็นกรดไขมันระเหย เช่น butyric acid หรือ propionic acid ซึ่งเป็นสารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียผลิต CH_4 ไม่สามารถนำไปใช้ได้

ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียผลิต CH_4

1. อุณหภูมิ ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในกระบวนการที่ไม่ใช้ O_2 มีอยู่ 2 ช่วง คือ

- ช่วง 30 – 40 $^{\circ}$C เรียกว่า mesophillic
- ช่วง 45 – 55 $^{\circ}$C เรียกว่า thermophillic

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตามปกติแล้วเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์จะเร็วขึ้นอัตราการเจริญเติบโตก็เพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มสูงเกินกว่าที่เซลล์ทำงานได้ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และ ส่วนประกอบของเซลล์หลายส่วนจะถูกทำลายจนไม่อาจกลับคืนสภาพได้ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจึงเพิ่มการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ได้จนถึงอุณหภูมิหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านั้นการทำงานและการเจริญเติบโตจะลดลงเป็นศูนย์อย่างรวดเร็ว

2. พีเอช (pH) แบคทีเรียแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชช่วงหนึ่ง แบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 5 – 10 เพราะสภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ในธรรมชาติมักมี pH อยู่ในช่วง 5 – 10 แบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ที่ pH ต่ำกว่า 5 เรียกว่า acidophiles เช่น รา และแบคทีเรียบางชนิดที่เจริญเติบโตได้ที่ pH 10–11 เรียกว่า alkaliphiles pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนควรอยู่ระหว่าง 6.8–7.2 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียผลิต CH_4 ถ้า pH ต่ำกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว

3. กรดไขมันระเหยและสภาพด่าง กรดไขมันระเหยที่ผลิตโดยแบคทีเรียสร้างกรดปกติควรมีค่าประมาณ 200–400 มก.กรดอะซิติก/ล. กรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นสัญญานบอกว่าระบบกำลังเสียสมดุล เพราะทำให้ pH ลดลงจนไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมของแบคทีเรียในระบบ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียผลิต CH_4 หรือแบคทีเรียสร้างกรด แม้ว่าแบคทีเรียสร้างกรดจะทนต่อกรดที่ผลิตขึ้นได้มากกว่าแบคทีเรียผลิต CH_4 ก็ตาม สังเกตได้จากแบคทีเรียสร้างกรดสามารถอยู่ได้ในช่วง pH ที่กว้างกว่า ดังนั้นสภาพด่างจึงแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มี pH ค่อนข้างคงที่ และ ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไปกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนควรมีสภาพด่างประมาณ 1,500–2,000 มก./ล นอกจากจะดูสภาพด่างแล้วยังต้องพิจารณาอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยในรูปกรดอะซิติกต่อสภาพด่าง (as $CaCO_3$) ด้วย โดยค่าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างน้อยกว่า 0.4 ถือได้ว่าระบบยังทำงานได้ดี แต่ถ้าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างสูงกว่า 0.8 แล้ว แสดงว่าระบบมีบัฟเฟอร์ต่ำควรหาสาเหตุที่ทำให้อัตราส่วนสูงขึ้น และ แก้ไขเพราะพีเอชมีแนวโน้มลดลงจนระบบอาจล้มเหลวได้

4. ธาตุอาหาร แม้ว่าเซลล์ของแบคทีเรียที่สร้างขึ้นมาในกระบวนการไม่ใช้ O_2 จะมีน้อยกว่าแบบใช้ O_2 แต่จากอัตราส่วน carbon: nitrogen: phosphorus: sulfur (C: N: P: S) ในเซลล์มีค่าประมาณ 100:10:1:1 จึงจำเป็นต้องรักษาอัตราส่วนนี้ไว้ไม่ให้น้อยกว่านี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

Nandi and Sengupta (1998) ได้รายงานผลการศึกษา เกี่ยวกับชนิดของแบคทีเรียที่ผลิต H_2 ได้ในกระบวนการหมักว่า แบคทีเรียที่กล่าวถึงทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการผลิต และกักเก็บ H_2 โดยกระบวนการผลิต H_2 นั้นเป็นการจัดการกับอิเล็กตรอนส่วนเกินผ่านการทำงานของไฮโดรจีเนส แบคทีเรีย (hydrogenase bacteria) ซึ่งแบคทีเรียในกระบวนการดังกล่าวนี้ประกอบด้วย Strict anaerobes bacteria *(Clostridia, methylotrophs, rumen bacteria, methanogenic bacteria, archaea*), Facultative anaerobes (*Escherichia coli, Enterobacter, Citrobacter*) และ Even aerobes (*Alcaligenes, Bacillus*) การรายงานครั้งนี้สามารถอธิบายได้จากการศึกษาลักษณะของวงจรในการผลิต H_2 ของแบคทีเรียดังกล่าว

สำหรับแบคทีเรียที่สามารถผลิต H_2 *Clostridium sp.* และ *Enterobacter sp.* เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง (Holt *et al.*,1994; Nandi and Sengupta, 1998) ซึ่งการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิต H_2 ส่วนใหญ่พบว่าจะดำเนินการที่ pH 5.8-6.0 อุณหภูมิ 37 ± 1 °C สำหรับ *Clostridium* และ *Enterobacter*, และ pH 7.0 - 7.4 ที่อุณหภูมิ 65 - 80 °C สำหรับ thermophiles ผลจากการศึกษาพบว่า *Clostridium* สามารถผลิต H_2 ได้เท่ากับ 190 – 340 ml H_2/ g hexose และอัตราสูงสุดเท่ากับ 4.2–18.2 L H_2/L/d. ซึ่งเป็นค่าที่สอดคล้องกับ 82-460 ml H_2 / g hexose และ 11.8- 34.1 L H_2/L/d ในขณะที่ผลการทดลองสำหรับชนิด *Enterobacter* และ 450 - 540 ml H_2/g hexose และ 1.6-5.9 L H_2/L/d สำหรับ thermophiles (de Vrije and Claassen, 2003) อีกทั้ง Girbal *et al.* (1995) และ Yokoi *et al.* (1995) ได้นำเสนอผลการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิต H_2 ในสภาวะไม่มี O_2 สำหรับ *Clostridium sp.* สามารถผลิตได้ 2 mol H_2/mol glucose เมื่อเทียบกับ *Enterobacter sp.* ที่สามารถผลิตได้เท่ากับ 1 mol H_2/mol glucose

อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิต H_2 เป็นไปได้อย่างยากลำบากเนื่องจากปริมาณ O_2 ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ภายในระบบจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต จึงได้มีการนำเอา L-cysteine มาเป็นตัวช่วยในการกำจัด O_2 เพื่อรักษาสภาวะไม่ใช้ O_2 แต่การกระทำดังกล่าวทำให้ต้นทุนในการดำเนินงานเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ *Clostridium* จะมีโอกาสอยู่รอดได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่มีการสร้างสปอร์ในระบบบำบัดที่ภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ O_2 ซึ่งแบคทีเรียเหล่านั้นเป็นแบคทีเรียชนิดที่ใช้ H_2 ในการทำกิจกรรม (Lay, 2001; Oh *et al.*, 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ด้วยข้อจำกัดของปัจจัยในหลายๆอย่างในการจัดการระบบบำบัดน้ำเสีย หรือของเสีย เช่น ต้นทุนในการเดินระบบ การดูแลรักษา การควบคุม รวมทั้งปริมาณและความหลากหลายของสารตั้งต้นที่ถูกเติมเข้าสู่ระบบบำบัด จึงทำให้วิศวกรส่วนใหญ่นิยมใช้แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) มากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์เดียว (pure culture) ในการเดินระบบบำบัด แบคทีเรียแบบผสมถูกนำมาใช้ในกระบวนบำบัดมากขึ้นเนื่องจาก แบคทีเรียเหล่านั้นมีความยุ่งยากไม่มากนักต่อการนำมาใช้งาน การควบคุม และอาจมีทางเลือกในการบำบัดที่มากกว่าสำหรับสารตั้งต้นที่ถูกป้อนเข้าสู่ระบบ (Valdez *et al.*, 2005) แต่การใช้แบคทีเรียผสมนั้นก็มีส่วนทำให้ปริมาณ H_2 ที่ผลิตได้ลดลง เนื่องจากมีแบคทีเรียบางชนิดที่ใช้ H_2 เป็นสารตั้งต้นในการทำกิจกรรม ดังนั้นเพื่อควบคุม H_2 ที่เกิดจากระบบหมักของแบคทีเรียแบบผสม จึงต้องมีการปรับสภาพตะกอนแบคทีเรียก่อนการหมักเพื่อจำกัดหรือหยุดกิจกรรมของแบคทีเรียที่บริโภค H_2 ให้ได้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ในขณะที่ยังคงรักษากิจกรรมของแบคทีเรียที่ผลิต H_2 ไว้ การปรับสภาพตะกอนแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถทำได้โดยอาศัยลักษณะของ spore-forming ของแบคทีเรียที่ผลิตไฮโดรเจนอย่าง *Clostridium* ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมากทั้งในกากตะกอนและตะกอนของระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ (Brock *et al.*, 1994)

การคัดกรองแบคทีเรีย

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) อาจมีแบคทีเรียที่ใช้ไฮโดรเจนเป็นสารตั้งต้นในการทำกิจกรรม เช่น แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการผลิตก๊าซมีเทน (methane producing bacteria, MPB) ที่ใช้ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในระบบ เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตก๊าซมีเทน (CH_4) จึงทำให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ที่ได้ลดลง ดังนั้นในการหมักเพื่อผลิต H_2 นั้น จึงจำเป็นต้องทำการคัดกรองแบคทีเรียก่อนการหมักเพื่อยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่ใช้ H_2 ให้ได้มากที่สุด ซึ่งการคัดกรองแบคทีเรียนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการให้ความร้อน (Heat treatment)

การคัดกรองโดยให้ความร้อนแก่แบคทีเรีย เป็นวิธีการที่พบมากที่สุดสำหรับการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิต H_2 (Lay *et al.*, 1999) ซึ่งเหตุผลที่ใช้ความร้อนเนื่องจากแบคทีเรียที่ผลิต H_2 ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มที่มีสปอร์เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ เช่น *Clostridium* และ *Bacillus sp.* เป็นต้น เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมเชื้อแบคทีเรียจะอยู่ในรูปของสปอร์แต่ถ้าเมื่อใดอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมแล้วสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียจะงอกและเจริญเติบโตได้ใหม่ ดังนั้นแบคทีเรียที่ผลิต H_2 จึงทนต่อความร้อนได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ผลิต CH_4 ซึ่งไม่มีสปอร์ (Indania and Hector, 2009)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในการปรับสภาพกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C, 90°C และ 100°C เป็นระยะเวลา 15 และ 30 นาทีใช้กลูโคส (glucose) เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) ให้แก่แบคทีเรียที่ผลิต H_2 Wang *et al.* (2010) พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 30 นาที สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต H_2 ได้ 53.20% เมื่อเทียบกับแบคทีเรียที่ไม่ได้ผ่านการคัดกรองแต่อย่างใด

2. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรดหรือด่าง (Acid/Base treatment)

โดยทั่วไปแล้วในกระบวนการ methanogenic ในระบบบำบัดน้ำเสีย หรือของเสียจะมีการควบคุม pH ให้มีค่าใกล้เคียง pH 7 ให้ได้มากที่สุด เพื่อรักษาประสิทธิภาพในการทำงานของแบคทีเรียที่ผลิต CH_4 ที่เจริญเติบโตได้ดีในช่วง 5.5-7 ด้วยเหตุนี้หากต้องการจำกัดความสามารถในการผลิต CH_4 จึงต้องทำการปรับ pH ให้มีค่าต่างออกไปจากค่าเดิมเพื่อทำให้สภาวะที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ไม่เหมาะสมต่อแบคทีเรียผลิต CH_4 ซึ่งในปัจจุบันพบว่าค่าที่นิยมใช้กันนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 2 ช่วง คือ pH 2-4 ซึ่งเรียกวิธีการปรับ pH ในช่วงดังกล่าวนี้ว่า acid pretreatment และ pH 9-11 เรียกว่า base pretreatment โดยจะรักษา pH ไว้ที่ช่วงดังกล่าวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการปรับสภาพของแบคทีเรียให้อยู่ในสภาวะเป็นกลาง Reungsang *et al.* (2007) ได้อธิบายผลการวิจัยเกี่ยวกับการผลิต H_2 ว่าpH เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตมีค่า pH เท่ากับ 7 เนื่องจากให้ผลผลิต H_2 สูงที่สุด เมื่อใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้น

3. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการใช้สารเคมี (Chemical treatment)

การใช้สารเคมีในการปรับสภาพนี้เป็นการเติมสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียชนิดที่ผลิต CH_4 โดยทั่วไปมักใช้ 2-bromoethanesulfonate (BES), acetylene และ chloroform เนื่องจาก BES มีลักษณะโครงสร้างเหมือน co-enzyme M ที่มีอยู่ในแบคทีเรียชนิดผลิต CH_4 ดังนั้นการใช้ BES จะเข้าไปยับยั้งไม่ให้เกิดการผลิต CH_4 ได้ Chenlin and Herbert (2007) ได้เสนอผลการศึกษาเกี่ยวกับระดับความเข้มข้นของ BES ที่ใช้ในการยับยั้งการผลิต CH_4 ว่าที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า 100 มิลลิโมล BES จะมีผลต่อการแบคทีเรียผลิต H_2 ได้เช่นกัน

Sprott *et al.* (1982) ได้เสนอว่า Acetylene มีความดันย่อยเท่ากับ 500 Pa ซึ่งเป็นระดับความดันที่สามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียชนิดผลิตCH_4เท่านั้น ในสภาพในแวดล้อมที่ศึกษา นอกจากนี้ Sparling *et al.* (1997) พบว่าการมีอะเซทิลีนอยู่ใน headspace ของระบบย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศจากของเสียที่ใช้ผลิตกระดาษสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต H_2 ได้เหมือนกับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเติม BES เช่นกันอีกทั้งผลการวิจัยยังแสดงให้เห็นว่า acetylene ไม่มีผลต่ออัตราการผลิต H_2 ของ *C. thermocellum*

ในทำนองเดียวกันการใช้ chloroform นั้นอาจช่วยยับยั้งกิจกรรมการใช้ H_2 ของแบคทีเรียชนิดที่ใช้ H_2 เป็นสารตั้งต้นในการทำกิจกรรมได้ (Liang *et al.*, 2002)

4. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็ง (Freezing and thawing treatment)

เป็นการปรับสภาพแบคทีเรีย โดยการนำแบคทีเรียไปแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 24 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง

Liu *et al*. (2009) ได้ทำการศึกษาวิธีการคัดกรองแบคทีเรียจากทะเลทั้งหมด 4 วิธี ได้แก่ การให้ความร้อน การปรับสภาพให้เป็นกรด เบส และ การแช่แข็งและละลาย ซึ่งวิธีการแช่แข็งและละลายนี้เขาทำการทดลองที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าการคัดกรองแบบแช่แข็งนี้สามารถผลิต H_2 ได้เท่ากับ 0.17± 0.01 molH_2 /mol glucose ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตเป็นอันดับสามรองจากการปรับสภาพเป็นกรด และ การให้ความร้อน

5. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการเติมออกซิเจน (Aeration)

แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตมีเทน (methane producing bacteria, MPB) ทั้งหมดนั้นเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ O_2 ในการทำกิจกรรม แต่แบคทีเรียที่ผลิต H_2 บางกลุ่มเป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มี O_2 ก็ได้ (facultative anaerobic bacteria) จึงทำให้ยังคงมีแบคทีเรียผลิต H_2 บางกลุ่มที่ยังคงเหลืออยู่ภายหลังการเติมอากาศให้แก่ระบบ ซึ่งการปรับสภาพโดยการเติมอากาศนี้จะทำโดยการเพิ่ม O_2 ให้แก่ระบบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือเติม O_2 โดยควบคุมค่า DO (dissolved Oxygen) ให้มีค่า (<0.5 mg/L) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (Ren *et al.*, 2008)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการใช้กระแสไฟฟ้า

(Electric current treatment)

เป็นวิธีการที่ใช้กระแสไฟฟ้าแรงดันต่ำ (3.0-4.5 โวลต์) ยับยั้งกิจกรรมของตะกอนแบคทีเรียที่ใช้ H_2 ในการทำกิจกรรม Roychowdhury (2000) พบว่าแบคทีเรียผลิต H_2 สามารถคัดกรองจากแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศได้โดยใช้กระแสไฟฟ้า หลังการบำบัดด้วยกระแสไฟฟ้าแรงดันต่ำ (3.0-4.5 โวลต์) โดยทำการศึกษาจากตะกอนแบคทีเรียจากหลุมฝังกลบและตะกอนแบคทีเรียจากน้ำเสียชุมชนซึ่งสามารถผลิต H_2 ได้ โดยที่ไม่พบว่ามา CH_4 เกิดขึ้นแต่อย่างใด

จะเห็นได้ว่าการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดที่ผลิต H_2 มีหลายวิธีการ แต่ไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าวิธีการ หรือสภาวะในการคัดกรองใดที่มีความเหมาะสมต่อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการศึกษาได้อย่างชัดเจน จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ในช่วงที่ผ่านมางานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิต H_2 จึงมีความหลากหลายทางวิธีการที่ใช้ในการคัดกรองแบคทีเรีย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่ใช้ในการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดผลิต H_2 ในงานวิจัยที่ศึกษาในช่วงที่ผ่านมา (pretreatment condition of seed sludge)

Treatment	Description	Sludge source	Reference
Heat	75˚C 1 h	SS	Chang *et al.*, 2002
Heat	80˚C 20 min	SS	Noike *et al.*, 2003
Heat	80˚C 10–60 min	ADS	Noike, 2002
Heat	90˚C 10 min	ADS	Cheng et at., 2003
Heat	90˚C 10 min	Compost	Chien *et al.*, 2004
Heat	100˚C 15 min	ADS	Lay *et al.*, 1999
Heat	100˚C 15 min	ADS	Lay, 2000
Heat	100˚C 15 min	SBM	Noike and Mizuno, 2000
Heat	100˚C 15 min	SBM	Mizuno *et al.*, 2000
Heat	100˚C 15 min	ADS	Lay, 2001
Heat	100˚C 15 min	ADS	Han and Shin, 2004a
Heat	100˚C 15 min	ADS	Han and Shin, 2003

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Treatment	Description	Sludge source	Reference
Heat	100˚C 30 min	ADS	Fang *et al.*, 2006
Heat	100˚C 45 min	SS	Chang and Lin, 2004
Heat	100˚C 45 min	AS	Lin and Lay, 2004a
Heat	100˚C 45 min	AS	Lin and Lay, 2004b
Heat	100˚C 45 min	AS	Lin and Lay, 2005
Heat	100–105˚C 2 h	Compost	Fan *et al.*,2004
Heat	100˚C 2 h	Compost	Lay *et al.*, 2003
Heat	104˚C 2 h	Compost and soil	Ginkel *et al.*, 2001
Heat	104˚C 2 h	Soil	Logan *et al.*, 2002
Heat	104˚C 2 h	ADS	Oh *et al.*, 2003
Heat	105˚C 2 h	Compost	Khanal *et al.*, 2004
Heat	121˚C 30 min	Waste biosolids	Wang *et al.*, 2003
Acid/base	pH 3, 10 24 h	SS	Chen *et al.*, 2002
Acid/base	pH 3–4 24 h	SS	Chang *et al.*, 2002
Methanogenic	inhibitors Acetylene 1%	ADS	Sparling *et al.*, 1997
Methanogenic	inhibitors Chloroform 28 mg/L	ADS	Cheng *et al.*, 2003
Methanogenic	inhibitors Chloroform	ADS	Liang *et al.*, 2002
Electric current	Low voltage of 3.0–4.5 V	ADS	Roychowdhury, 2000

หมายเหตุ AS, acclimated sludge; SS, sewage sludge; ADS, anaerobic digested sludge; SBM, soybean meal.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

ในการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน นอกจากวิธีการคัดกรองแบคทีเรียให้เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตไฮโดรเจนแล้วนั้น จะต้องคำนึงถึงสภาวะแวดล้อมของระบบที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เพื่อรักษาและเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของระบบ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนมีดังนี้

1. อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมินับว่าเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของแบคทีเรียเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการดำรงชีวิต และ ดำเนินกิจกรรมภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน การเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ด้วยกัน 2 ช่วง ได้แก่ อุณหภูมิระหว่าง 30-40˚C แบคทีเรียที่สามารถทำงานได้ภายใต้ช่วงอุณหภูมิดังกล่าวเรียกว่า mesophilic bacteria และอุณหภูมิระหว่าง 50-60˚C ซึ่งเรียกแบคทีเรียที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ว่า thermophilic bacteria

2. ความเป็นกรดด่าง (pH)

ความเป็นกรดด่าง หรือ pH ถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน เนื่องจากมีอิทธิพลต่อกระบวนการย่อยสลายและกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศหลายชนิดที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ (Lay, 2002) ทั้งนี้ช่วงของพีเอชที่แตกต่างกันจะส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่แตกต่างกัน ค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนอยู่ระหว่าง 4.5-6.5 (พัทจารี, 2550)

3. อาหาร (Substrate)

อาหารแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ สารอาหารหลัก เช่น carbon, nitrogen และ phosphorus และสารอาหารรอง เช่น calcium, magnesium และ zinc ปริมาณ nitrogen และ phosphorus ที่แบคทีเรียต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่น้อยที่สุดในระบบ anaerobic digestion มีอัตราส่วน BOD: N: P เท่ากับ 100:1.1:0.2 (อารียา, 2546) โดยแบคทีเรียใช้ carbon ในการสังเคราะห์พลังงาน ใช้ nitrogen ในการสังเคราะห์โปรตีน และใช้ phosphorus ในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (nucleic acid)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ระยะเวลาในการเก็บกักน้ำเสียในระบบ (Hydraulic retention time, HRT)

เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน อัตราการย่อยสลายจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บกัก ส่งผลให้มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เพิ่มมากขึ้นจนถึงจุดจุดหนึ่งแล้วปริมาณก๊าซไฮโดรเจนจะลดลงจนหมดไปในที่สุด ทั้งนี้เกิดจากแบคทีเรียกลุ่มผลิตก๊าซมีเทนใช้ไฮโดรเจนในการเจริญเติบโต จึงทำให้ปริมาณของก๊าซไฮโดรเจนลดลง (Chenlin and Herbert, 2007)

สำหรับการคำนวณหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บกักน้ำเสียในระบบ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$HRT = \frac{V}{Q}$$

โดยที่ V = ปริมาตรความจุของถัง หน่วย ปริมาตร (L, m^3)

Q = อัตราการเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบ หน่วย ปริมาตรต่อเวลา (L/hr, m^3/day)

HRT = Hydraulic retention time หน่วย เวลา (hours, day)

Hawkes *et al.* (2007) รายงานว่า การผลิต H_2 ในถังปฏิกิริยาที่ไม่มีการผลิต CH_4 เกิดขึ้นนั้นมีค่า pH อยู่ในช่วงระหว่าง 4.5-6.7 โดยมีระยะเวลาเก็บกักที่เหมาะสมที่สุดอยู่ในช่วงตั้งแต่ไม่กี่ชั่วโมงไปจนกระทั่ง 3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ substrate ที่ใช้ในกระบวนการผลิต H_2 เมื่อเดินระบบแบบ continuous operation ภายใต้สภาวะ dark fermentation

น้ำเสียและของเสียจากโรงงานผลิตเบียร์

มลพิษจากโรงงานผลิตเบียร์ส่วนใหญ่มาจากกากของเหลือ และน้ำทิ้ง น้ำทิ้งจากโรงงานคือส่วนที่จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้มากที่สุด ในการผลิตเบียร์นั้นใช้น้ำเป็นวัตถุดิบสำคัญในกระบวนการผลิต และ กว่าจะออกมาเป็นเบียร์ 1 ลิตร จะมีน้ำเสียที่ผ่านการใช้งานโดยประมาณ 3-10 ลิตร ซึ่งน้ำเสียเหล่านั้นเกิดขึ้นจากทุกขั้นตอนการผลิตเบียร์ เช่น การล้างขวด การหกล้นขณะบรรจุขวด การล้างพื้น การระบายน้ำทิ้งและการล้างถัง หม้อผสม อ่างบด และหม้อต้ม ส่วนกากของเหลือนั้นประกอบไปด้วยกากข้าว และยีสต์ (yeast) ที่ผ่านการใช้งานแล้ว

การผลิตเบียร์ อาศัยยีสต์ในกระบวนการหมักวัตถุดิบที่ใช้ คือ ข้าวมอลต์ที่กำลังงอก (barley malt) และ แป้ง (starch adjuncts) ผสมกับน้ำอุ่น หลังจากปล่อยให้เอนไซม์ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แล้วจะได้น้ำเวิร์ท (wort) ออกมา นำมากรองและต้มกับดอกฮอป (hops) เพื่อให้น้ำเวิร์ทเข้มข้น มีรสชาติเพิ่มขึ้นและทำลายแบคทีเรีย แล้วนำมาหมักด้วยยีสต์ซึ่งจะหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และ คาร์บอนไดออกไซด์ และเกิดการเปลี่ยนแปลงกับโปรตีนและสารอื่นๆ ทำให้เกิดรสชาติที่ดี ยีสต์ประกอบไปด้วยธาตุอาหารมากมีกรดอะมิโน 16 ชนิด เกลือแร่ 14 ชนิด วิตามิน 17 ชนิด นอกจากนี้ยังมีเกลือแร่สูง คือ โครเมียม สังกะสี เหล็ก ฟอสฟอรัส และเซเลเนียม อีกทั้งยีสต์ยังเป็นแหล่งสำคัญของโปรตีนถึง 16 กรัมต่อปริมาตรยีสต์ 30 กรัม มีมากถึง 50%-55%

ปัจจุบันได้มีการนำส่วนประกอบของ yeast ที่เป็น by product ที่ได้จากโรงงานผลิตเบียร์มาใช้ประโยชน์ด้วยกันหลากหลายรูปแบบ อาทิเช่น นำมาทำปุ๋ย นำมาทำเป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น ซึ่งจะมีทั้งการนำมาใช้ในรูปแบบของเหลวและรูปแบบแห้ง ทั้งนี้ yeast ที่ได้จากโรงงานผลิตเบียร์เป็น yeast ที่มีประโยชน์ และ เป็น yeast ที่ตายแล้วคงเหลือแต่ผนังเซลล์ของ yeast ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพย่อยสลายได้ทันที นอกจากนี้ yeast ที่ได้จากโรงงานผลิตเบียร์ยังมีอย่างอื่นตามมาอีกด้วยนั่นคือกากของข้าวต่างๆที่นำมาทำเบียร์ทำให้คุณค่าทางอาหารที่มีในน้ำ yeast นั้นมีคุณค่าสูงและเหมาะอย่างยิ่งที่จะนำมาทำเป็นอาหารสัตว์ หรือใช้ทำปุ๋ย

ของเสียอุตสาหกรรมและของเสียอันเนื่องมาจากการดำรงชีวิตของมนุษย์หลายประเภท เช่น ของเสียจากโรงงานกระดาษ เซลลูโลส ขยะมูลฝอยในเขตเทศบาล น้ำเสียจากโรงกลั่นไวน์ข้าว เศษมันฝรั่งหวานและแป้งสาลีรวมถึงผลิตภัณฑ์อื่นๆ ถูกนำมาศึกษาเกี่ยวกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนอย่างแพร่หลาย (Liu *et al.*, 2003) แต่การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียโรงเบียร์ยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก ซึ่งการศึกษาดังกล่าวนับว่าเป็นแนวทางที่ดีในการจัดการของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตเบียร์ (Janhom *et al.*, 2009) นอกจากนี้แบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์นั้น มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมไม่ปกติได้ดีซึ่งสามารถอธิบายได้จากการรายงานของ Sinbuathong *et al.* (2009) ที่ได้แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียแบบไม่ใช้อากาศจากกากตะกอนที่ใช้ย่อยสลายในโรงงานผลิตเบียร์พบว่ามีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่งในการบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟต(sulfate) และโลหะหนักปนเปื้อนอยู่ เมื่อพิจารณาจากอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียร่วมกับอัตราการลดลงของของเสีย และ sulfate ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียดังกล่าวมีความทนทาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพจากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง มีการจัดเตรียมอุปกรณ์ดังนี้

1. อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น beaker, flasks, erlenmeyer flasks, dropper และอื่นๆ

2. เครื่องมือพื้นฐานในห้องปฏิบัติการและเครื่องมือวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำ ได้แก่

2.1 COD reflux apparatus Model EV GERHARDT

2.2 pH meter Model 500 Cyber scan

3. เครื่องมือที่มีความสลับซับซ้อนในห้องปฏิบัติการได้แก่ gas chromatograph (GC) ที่มีตัวตรวจวัดเป็น thermal conductivity detector (GC/TCD) Shimadzu GC 14B โดยใช้ก๊าซอาร์กอน (Ar) เป็นก๊าซตัวพา (carrier gas) และใช้ standard gas เป็นก๊าซไฮโดรเจน (hydrogen, H_2) 30%, ก๊าซมีเทน (methane, CH_4) 30% และ balance ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide, CO_2) ซึ่งมี conditions ของเครื่อง GC ดังต่อไปนี้

- Column oven temperature	40 °C
- Injection port temperature	60 °C
- Detector temperature	70 °C
- Current	70

4. สารเคมีในการวิเคราะห์หาลักษณะสมบัติของน้ำเสีย ได้แก่ COD (chemical oxygen demand) ตามวิธีมาตรฐาน Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA *et al.*, 1992)

5. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 (feasibility biohydrogen production) โดยเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

5.1 ขวดน้ำดื่มพลาสติกขนาด 1.5 L ใช้ทำขวดหมัก

5.2 จุกยาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 สายยาง

5.4 หลอดแก้ว

5.5 กระดาษอลูมิเนียมฟอยล์

5.6 ตู้แช่แข็ง (deep freeze -20°C) FZ-269 model Mirage

5.7 Water bath

6. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการศึกษาชนิดและปริมาตรก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น โดยเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation)

6.1 ขวดซีรั่ม (serum bottle) พร้อมฝาอลูมิเนียม ขนาดความจุใช้งาน 100 ml

6.2 สายยาง

6.3 ขวดน้ำดื่มพลาสติกขนาด 500 ml ใช้เป็นระบบเก็บก๊าซ (gas collection system) โดยการแทนที่น้ำ (water displacement)

6.4 จุกยาง

6.5 คลิปหนีบกระดาษสำหรับหนีบสายยาง

6.6 แท่งแก้วงอ

6.7 แท่งแก้วตรง

6.8 ลวดขนาดเล็ก

6.9 กระดาษอลูมิเนียมฟอยล์

7. แหล่งแบคทีเรียและสารตั้งต้น (substrate)

7.1 แบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ เก็บจากถัง UASB (upflow anaerobic sludge blanket) ของโรงงานผลิตเบียร์

7.2 น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ (brewery wastewater) ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l เป็นสารตั้งต้นในการทดลองนี้ เนื่องจาก Shi *et al.* (2010) รายงานค่า COD ที่เหมาะสมต่อการผลิต H_2 ของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่าประมาณ 6,050 mg/l

น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l เตรียมได้จากน้ำเสียที่นำมาจาก Equalization tank (EQ tank) ของโรงงานผลิตเบียร์ผสมรวมกับกากยีสต์ ที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิตเบียร์ จากการศึกษาเบื้องต้นของการทดลองนี้พบว่าน้ำเสียจาก EQ tank มีค่า COD ประมาณ 1,530 mg/l ขณะที่ยีสต์มีค่า COD ประมาณ 223,000 mg/l จึงคำนวณอัตราส่วนผสมของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์:ยีสต์ ได้เท่ากับ 980:20 (ml:ml) ตามลำดับ จากนั้นนำน้ำเสียที่ผสมได้ไปวิเคราะห์ค่า COD เพื่อตรวจสอบค่า COD ของน้ำเสียที่ผสมขึ้นใหม่ให้มีค่าประมาณ 6,000 mg/l

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตามที่ได้คำนวณไว้แล้วจึงนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป (ค่า COD ที่ใช้จริงในการทดลองบันทึกไว้ในส่วนของผลการทดลอง)

8. Nutrient broth ของบริษัท Himedia

Nutrient broth เป็นสารอาหารเสริมของแบคทีเรีย (ประกอบด้วย peptic digest of animal tissue, sodium chloride, beef extract และ yeast extract) นำมาใช้เป็นอาหารของแบคทีเรียในช่วงเริ่มต้นเลี้ยงแบคทีเรีย หลังจากแบคทีเรียผ่านการคัดกรองในแต่ละวิธีแล้ว เพื่อเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรีย (acclimation) โดยจะใช้ที่ความเข้มข้นประมาณ 1.3% ตามที่ได้แนะนำไว้บนฉลากข้างขวด

9. ระบบเก็บตัวอย่างก๊าซ (gas collection system) ของการเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation) ทำการสร้างระบบเก็บตัวอย่างก๊าซจำนวน 15 ชุด (ภาพที่ 3)

การเก็บตัวอย่างก๊าซที่เกิดจากแบคทีเรียในระบบ batch operation ทำโดยการแทนที่น้ำ (water displacement) มีขั้นตอนในการต่อระบบเก็บตัวอย่างก๊าซ ดังนี้

9.1 นำขวดน้ำดื่มพลาสติกขนาด 500 ml มาทำการปิดปากขวดด้วยจุกยางสีดำที่เจาะรู 3 รูในแนวเดียวกัน

9.2 ต่อแท่งแก้วที่มีลักษณะปลายงอเข้ากับรูทางด้านริมทั้งสองด้านของจุกยาง โดยให้ปลายของแท่งแก้วอยู่ในลักษณะที่ปลายงอออกทางด้านบนและล่างในทิศทางที่ตรงข้ามกันเมื่อวางขวดในแนวราบ และต่อแท่งแก้วที่มีลักษณะตรงเข้ากับรูที่อยู่ตรงกลาง (ภาพที่2)

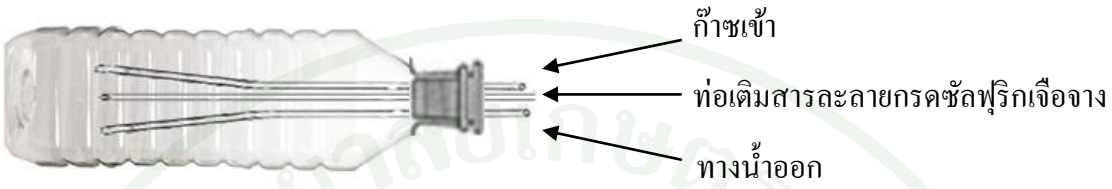
9.3 นำสายยางมาต่อเข้ากับแท่งแก้วทั้ง 3 แท่ง โดยกำหนดให้

- แท่งแก้วที่มีปลายโค้งขึ้นทางด้านบนเป็นท่อสำหรับให้ก๊าซที่เกิดขึ้นในระบบผลิตก๊าซไหลผ่านเข้ามาแทนที่น้ำในขวดพลาสติก (เมื่อทำการทดลอง serum bottle จะถูกต่อเข้ากับปลายสายอีกด้านของท่อนี้โดยจะถูกขั้นด้วยหลอดแก้วรูปตัวทีเพื่อใช้ในการเก็บตัวอย่างก๊าซไปวิเคราะห์)
- แท่งแก้วที่มีลักษณะตรงใช้เป็นท่อสำหรับการเติมสารละลายกรดซัลฟุริกเจือจางเข้าสู่ระบบเพื่อการแทนที่น้ำของก๊าซ
- แท่งแก้วที่มีปลายโค้งลงใช้เป็นท่อสำหรับทางน้ำออกเมื่อถูกแทนที่ด้วยก๊าซ

9.4 เติมสารละลายกรดซัลฟุริกเจือจาง (sulphuric acid, H_2SO_4) ที่มีความเข้มข้น 0.05 M ลงในขวด (ใช้ H_2SO_4 เพื่อป้องกันไม่ให้ CO_2 ละลายในน้ำ) โดยระวังไม่ให้สารละลายกรดซัลฟุริกเจือจางในขวดมีปริมาตรสูงกว่าปลายแท่งแก้วที่งอขึ้นทางด้านบน และให้สารละลายกรดซัลฟุริกเจือจางที่เติมในขวดมีปริมาตรเท่าๆกันทุกขวด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำระบบเก็บก๊าซที่พร้อมใช้งานไปใช้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ โดยการเดินระบบแบบ batch operation ต่อไป (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 2 การเรียงแท่งแก้วในขวดน้ำกรดของระบบเก็บตัวอย่างก๊าซโดยการแทนที่น้ำ

ภาพที่ 3 ลักษณะขวดเก็บก๊าซที่เป็นการเก็บตัวอย่างก๊าซทำโดยการแทนที่น้ำ (water displacement)

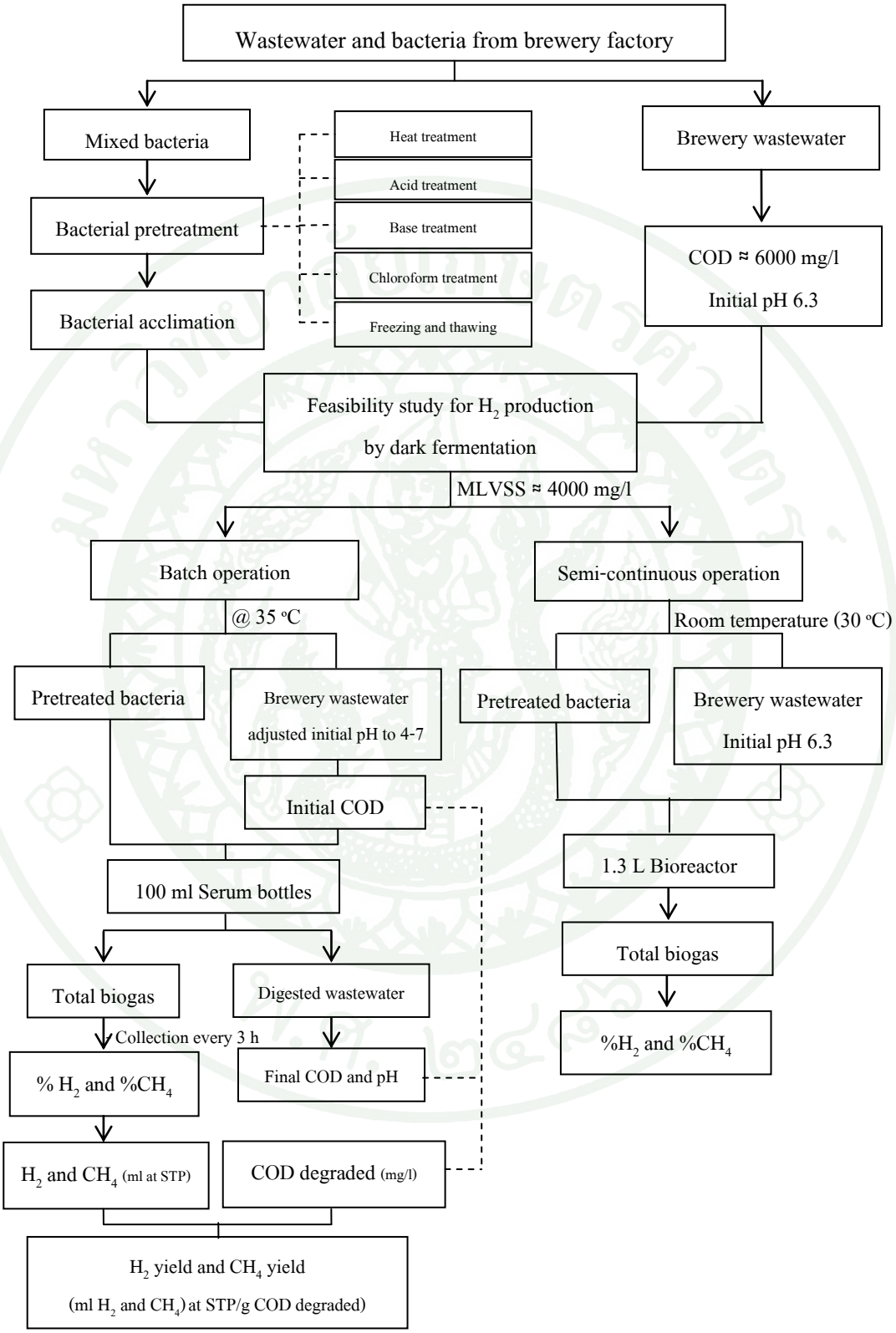
วิธีการ

วิธีการประกอบด้วย 3 ข้อหลักดังนี้

1. การคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน
2. การเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรีย
3. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation

โดยแผนภูมิการดำเนินการทดลองสรุปไว้ในภาพที่ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 แผนภูมิการดำเนินการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. การคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Pretreatment methods for hydrogen producing bacteria)

การผลิต H_2 โดยใช้ mixed culture อาจมีแบคทีเรียที่ใช้ H_2 (hydrogen consuming bacteria) ผสมอยู่ ดังนั้นในการหมักเพื่อผลิต H_2 จำเป็นต้องทำการคัดกรองแบคทีเรียก่อนการหมักเพื่อยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่ใช้ H_2 ในการศึกษานี้จึงนำแบคทีเรียมาผ่านการคัดกรองเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดผลิต H_2 ด้วยวิธีการต่างๆ 5 วิธี รายละเอียดดังต่อไปนี้

1.1 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (heat treatment) (Sung *et al.*, 2002)

การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน เริ่มจากนำแบคทีเรียแบบผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ใส่ลงในหลอดทดลอง แช่หลอดทดลองที่ภายในบรรจุแบคทีเรียที่เตรียมไว้ใส่ในอ่างน้ำ (water bath) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ 85°C (ระดับน้ำในอ่างต้องอยู่เหนือระดับแบคทีเรียในหลอด) เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นนำหลอดแบคทีเรียจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิมาทำให้เย็นทันทีโดยแช่การลงในอ่างน้ำแข็งประมาณ 15 นาที

การคัดนำแบคทีเรียที่ผ่านกรองแล้วมาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคย (bacterial acclimation) และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ในขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 5 การคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิต H_2 โดยการปรับสภาพด้วยวิธี heat treatment

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (acid treatment) (Ren *et al.*, 2008)

การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรดทำโดยปรับค่า pH ของแบคทีเรียให้มีค่า pH เท่ากับ 3 โดยใช้ 10 N HCl (hydrochloric acid) แล้วคงสภาพนี้ไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่า pH ให้มีค่าเป็นกลาง (ประมาณ 7) โดยใช้ 10 N NaOH (sodium hydroxide)

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคย (bacterial acclimation) และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ในขั้นตอนต่อไป

1.3 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (base treatment) (Ren *et al.*, 2008)

การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่างทำโดยปรับค่า pH ของแบคทีเรียให้มีค่า pH เท่ากับ 11 โดยใช้ 10 N NaOH (sodium hydroxide) คงสภาพนี้ไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่า pH ให้มีค่าเป็นกลาง (ประมาณ 7) โดยใช้ 10 N HCl (hydrochloric acid)

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคย (bacterial acclimation) และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ในขั้นตอนต่อไป

1.4 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform treatment) (Wang and Wan, 2008)

การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์มทำโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 2% โดยปริมาตรลงในแบคทีเรีย ในการศึกษานี้ใช้แบคทีเรียปริมาตร 800 ml มาเติมคลอโรฟอร์ม 16 ml ตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคย (bacterial acclimation) และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ในขั้นตอนต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลาย (freezing and thawing treatment) (Liu *et al.*, 2009)

การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลายทำโดยการนำแบคทีเรียแช่ในตู้ deep freeze ที่อุณหภูมิ -20°C คงสภาพนี้ไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาตั้งไว้ให้ละลายในอุณหภูมิห้อง

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคย (bacterial acclimation) และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ในขั้นตอนต่อไป

แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆดังกล่าวแล้วมีค่า pH เริ่มต้นของแบคทีเรียที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 6.5-7.5 ซึ่งเป็นค่า pH จริงที่ไม่ได้ผ่านการปรับ ยกเว้นแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วย acid treatment และ base treatment เท่านั้นที่มีการปรับ pH ให้มีค่าประมาณกลางในขั้นตอนสุดท้าย

2. การเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรีย (Bacterial acclimation)

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆแล้ว มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรียด้วยสารละลาย glucose-based substrate ที่ได้จากการผสมสารละลาย glucose 0.5% w/v (glucose 5 g ในน้ำกลั่น 1 L) และสารละลาย nutrient broth 1.3% w/v (nutrient broth 13 gในน้ำกลั่น 1 L) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อใช้เป็นอาหารให้แก่แบคทีเรียเป็นระยะเวลาประมาณ 15 วัน จากนั้นเริ่มเปลี่ยนอาหารแบคทีเรียเป็นน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l โดยเริ่มจากผสมน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เข้ากับสารละลาย glucose-based substrate ทีละน้อย จนกระทั่งใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เป็นอาหารให้แก่แบคทีเรียเพียงอย่างเดียวเท่านั้น หลังการให้อาหารแบคทีเรียประมาณ 2 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างก๊าซเพื่อตรวจสอบปริมาณ H_2 ($\%H_2$) ที่เกิดขึ้น นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆไปทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ในขั้นตอนต่อไป

ในการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรียมีขั้นตอนดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1 นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ แล้ว ใส่ลงในขวดน้ำดื่มพลาสติกใส ที่หุ้มด้วยฟลอยด์ปริมาตร 1.5 L ในปริมาตร 800 ml

2.2 ให้อาหารแบคทีเรียโดยใช้สารละลาย glucose-based substrate ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่นำมาใช้ในการทดลอง (วิเคราะห์ COD ของ glucose-based substrate พบว่ามีค่าประมาณ 6,800 mg/l) ในปริมาตร 500 ml ใช้จุกยางสีดำที่มีท่อต่อกับสายยางมาปิดที่ปากขวดให้แน่น จากนั้นนำปลายสายยางอีกด้านจุ่มลงในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำเพื่อสังเกตความสามารถในการผลิตก๊าซของแบคทีเรีย

2.3 ให้อาหารแบคทีเรียด้วยสารละลาย glucose-based substrate ในปริมาตร 500 ml เท่ากันเช่นนี้ประมาณ 15 วัน จากนั้นลดปริมาตรสารละลาย glucose-based substrate ลง ทดแทนปริมาตรอาหารที่ลดลงด้วยน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์:สารละลาย glucose-based substrate ในอัตราส่วน 1:3 ต่อมาใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์:สารละลาย glucose-based substrate ในอัตราส่วน 1:2 และ อัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ จนกระทั่งอาหารที่ให้แก่แบคทีเรียเป็นน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เพียงอย่างเดียว

2.4 สังเกตการเกิดก๊าซหลังให้อาหารโดยดูจากฟองก๊าซในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำและเก็บตัวอย่างก๊าซที่เกิดหลังจากทำการให้อาหารแบคทีเรียแล้วเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง

2.5 วิเคราะห์ตัวอย่างก๊าซที่เกิดเพื่อดูความสามารถในการผลิต H_2 ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองในแต่ละวิธี โดยใช้เครื่อง GC/TCD เป็นเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์

2.7 นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ มาศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ในขั้นตอนต่อไป

3. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Feasibility study for biohydrogen production)

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ทำโดยนำน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l หมักรวมกับแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองและผ่านการ acclimation แล้ว ซึ่งมีค่ามวลแบคทีเรีย (mixed liquor volatile suspended solids, MLVSS) ประมาณ 4000 mg/l เท่ากันทุกวิธีการคัดกรองแบคทีเรีย ทำการศึกษาภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไม่ใช้แสง (dark fermentation) ในขั้นตอนนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ตามวิธีการเดินระบบดังนี้

3.1 การเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation)

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยเดินระบบแบบ batch operation ศึกษาที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ที่ pH เริ่มต้นของแบคทีเรียภายหลังจากผ่านขั้นตอน acclimation แล้วโดยไม่มีการปรับ pH ของแบคทีเรียแต่อย่างใด ในการหมักโดยเดินระบบแบบ batch operation ใช้อัตราส่วนน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์:มวลแบคทีเรียเท่ากับ 1:4 โดยปริมาตร และใช้ขวดซีรัม (serum bottle) ที่หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์เป็นขวดหมัก (bioreactor) ศึกษาที่อุณหภูมิ 35°C เก็บตัวอย่างก๊าซ (gas collection system)โดยการแทนที่น้ำ (water displacement) ทำการศึกษาจนกระทั่งระบบหยุดผลิตก๊าซหรือประมาณ 120 ชั่วโมง ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยเดินระบบแบบ batch operation มีขั้นตอนในการเดินระบบดังนี้

3.1.1 นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองและผ่านการ acclimation ปริมาตร 20 ml ใส่ลงใน serum bottle ขนาดบรรจุ 100 ml (ที่หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์) จากนั้นนำน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ปรับให้มี pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ด้วย 10 N HCl หรือ 10 N NaOH (ไม่ใช้ $NaHCO_3$ ในการปรับ pH เนื่องจากจะเกิด H_2 จาก $NaHCO_3$) เติมน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ปริมาตร 80 ml ลงใน serum bottle ที่บรรจุแบคทีเรียไว้แล้ว ทำการปิดฝาให้สนิทและต่อ serum bottle เข้ากับ gas collection system (ข้อ 9 ในส่วนของอุปกรณ์) ทำการควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 35°C โดยการนำ serum bottle แช่ไว้ใน water bath

3.1.2 เก็บข้อมูลก๊าซที่เกิดขึ้นในระบบตลอดการศึกษาประมาณทุก 3 ชั่วโมงโดยบันทึกปริมาตรน้ำที่ออกจาก gas collection system ซึ่งถูกแทนที่ด้วยก๊าซที่ผลิตได้ใน serum bottle และเก็บตัวอย่างก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซโดยใช้เครื่อง GC/TCD

3.1.3 เก็บตัวอย่างน้ำเสียระหว่างการหมักโดยใช้ syringe เก็บตัวอย่างน้ำเสียในปริมาตร 5 ml เพื่อนำมาวัด pH และวิเคราะห์ค่า COD ในช่วงเวลาต่างๆของการหมักประมาณทุก 24 ชั่วโมง และ COD สุดท้าย (final COD)

3.1.4 ทำการหมักจนกระทั่งระบบหยุดผลิตก๊าซคือประมาณ 120 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.1.5 นำผลที่ได้จากข้อ 3.1.2 และ 3.1.3 มาคำนวณหาผลผลิตก๊าซชีวภาพ (yield) ในหน่วยปริมาตรก๊าซที่ผลิตได้ในสภาวะมาตรฐานต่อกรัมสารอินทรีย์ที่ถูกกำจัด (ml gas at STP / g COD degraded) ดูรายละเอียดวิธีการคำนวณได้จากข้อ 1.6 ภาคผนวก ข

3.1.6 พิจารณา pH เริ่มต้นของน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่ให้ yield สูงสุด

3.1.7 ทำการทดลองซ้ำในข้อ 3.1.1-3.1.6 สำหรับแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีอื่นๆ จนครบทุกวิธี และพิจารณา H_2 yield สูงสุดที่ได้จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อหาวิธีการคัดกรองแบคทีเรียที่มีความเป็นไปได้สูงสุดในการผลิต H_2

ภาพที่ 6 ภาพแสดงการเชื่อมต่อ serum bottle ในระบบ batch process กับ gas collection system

ภาพที่ 7 การเดินระบบแบบ batch operation

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

การศึกษาโดยเดินระบบแบบ semi-continuous operation ทำการศึกษาที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 6.3 (ซึ่งเป็น pH จริงของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ได้จากการเตรียมน้ำเสียให้มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l) ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l ทำการหมักน้ำเสียด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองและผ่านการ acclimation แล้ว ทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30°C โดยใช้ขวดน้ำดื่มพลาสติกใสความจุใช้งาน 1300 ml ที่หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์ (เพื่อควบคุมให้อยู่ภายใต้สภาวะ dark fermentation) เป็นขวดหมัก (bioreactor) หมักโดยใช้อัตราส่วนน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์:มวลแบคทีเรียประมาณ 1:2 ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 30 วันและมีค่าระยะเวลาในการเก็บกักน้ำเสียในระบบ (hydraulic retention time, HRT) เท่ากับ 2.6 วัน คำนวณได้ดังต่อไปนี้

จากสมการ $$HRT = \frac{V}{Q}$$

โดยที่ V = ปริมาตรความจุใช้งานของขวด 1300 ml (น้ำเสีย 500 ml + แบคทีเรีย 800 ml)

Q = อัตราการเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบ 500 ml/day

HRT = Hydraulic retention time (day)

แทนค่า

$$HRT = \frac{1300ml}{500ml/day}$$

HRT = 2.6 day

ดังนั้น HRT ของระบบจึงมีค่าเท่ากับ 2.6 วัน ซึ่งมีค่าไม่เกิน 3 วัน ตามการรายงานของ Hawkes *et al.* (2007) ที่สรุปว่า HRT ที่เหมาะสมต่อการผลิต H_2 นั้น มีค่าตั้งแต่เพียงไม่กี่ชั่วโมงไปจนกระทั่ง 3 วันขึ้นอยู่กับ substrate ที่ใช้ในกระบวนการผลิต H_2 เมื่อเดินระบบแบบ continuous operation ภายใต้สภาวะ dark fermentation

การเดินระบบแบบ semi-continuous operation มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.1 นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองและผ่านการ acclimation แล้วมาปริมาตร 800 ml ใส่ลงในขวดน้ำดื่มพลาสติกใสที่หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟลอยด์ขนาดบรรจุประมาณ 1.5 L

3.2.2 เติมน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ปริมาตร 500 ml ลงในนี้ ใช้จุกยางสีดำที่มีท่อต่อกับสายยางปิดที่ปากขวดให้แน่น จากนั้นนำปลายสายยางอีกด้านจุ่มลงในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำเพื่อสังเกตความสามารถในการผลิตก๊าซของแบคทีเรีย

3.2.3 ศึกษาเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 30 วัน โดยทำการเติมน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์เข้าระบบในปริมาตร 500 ml เท่ากันทุกวัน (Q = 500 ml/day) ซึ่งต้องถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบแล้วจึงเติมอาหารใหม่เข้าระบบ

3.2.4 เก็บตัวอย่างก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบหมักหลังจากให้อาหารแบคทีเรียแล้ว 2 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น ($\%H_2$ และ $\%CH_4$) โดยใช้เครื่อง GC/TCD โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ ประมาณ 3 วันตลอดการทดลอง

3.2.5 บันทึกผล $\%H_2$ และ $\%CH_4$ เพื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์กับเวลา (วัน)

3.2.6 ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้ (ตามข้อ 3.2.1-3.2.5) สำหรับแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ

เมื่อทำการทดลองโดยเดินระบบแบบ batch operation (ข้อ 3.1) และ semi-continuous operation (ข้อ 3.2) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆจนครบทุกวิธี พิจารณาผลการศึกษาทั้ง 2 ส่วนเปรียบเทียบกัน เพื่อหาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ภายใต้สภาวะ dark fermentation

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนทางชีวภาพ (biohydrogen) จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l โดยการหมักแบบไม่ใช้แสง (dark fermentation) และใช้แบคทีเรียผสม (mixed culture) จากโรงงานเดียวกันที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ 5 วิธี (ดังกล่าวไว้แล้วในส่วนวิธีการ ข้อที่ 1)

ผลการศึกษาค่า pH และ COD ของแบคทีเรียและของเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เบื้องต้นแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 pH และ COD ของแบคทีเรียและของเสียจากโรงงานผลิตเบียร์

Items	Quantities
pH	
- Original bacteria	6.96
- Brewery wastewater	6.79
- Yeast	6.54
COD (mg/l)	
- Brewery wastewater from EQ tank	1,530
- Yeast	223,850

เมื่อนำน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l (เตรียมดังที่อธิบายไว้ในส่วนอุปกรณ์ ข้อ 7.2) มาทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติและองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำเสียเพื่อพิจารณาความเหมาะสมในการนำไปผลิต H_2 เนื่องจากกระบวนการผลิต H_2 มีความต้องการสารอาหารเพื่อให้แบคทีเรียนำไปใช้ในการทำกิจกรรมเช่นเดียวกันกับทุกกระบวนการหมัก

ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติและองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำเสีย แสดงไว้ดังตารางที่ 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ลักษณะสมบัติและองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการทดลอง เมื่อน้ำเสียมีค่า COD ประมาณ 6,000 mg/l

Parameters	Characteristics of brewery wastewater
pH	6.31
BOD	2,350 mg/l
COD	approximately 6,000 mg/l
BOD/COD	0.4
N	90 mg/l
C/N ratio	66.67
P	0.50 mg/l
K	50 mg/l
Metals (mg/l)	
Ca	0.16
Fe	1.73
Mn	0.14
Mg	0.39
Na	18.20
Cu	0.08
Zn	1.07
Cd	0.02
Pb	0.53
Ni	0.08
Cr	0.43

Li and Fang (2007) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกระบวนการผลิต H_2 และอธิบายว่าไนโตรเจน (nitrogen, N) เป็นหนึ่งในสารอาหารที่มีความจำเป็นที่สุดในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิต H_2 โดยช่วงความเข้มข้นของ nitrogen ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต H_2 คือ 0.1-2.0 g N/l จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ nitrogen ของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์เทียบกับงานวิจัยของ Li and

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Fang (2007) พบว่าความเข้มข้นของ nitrogen ในน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ (90 mg/l) มีค่าต่ำกว่าช่วงความเข้มข้นของ nitrogen ที่เหมาะสมที่ในการผลิต H_2

นอกจาก nitrogen แล้ว ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) เป็นสารอาหารอีกชนิดหนึ่งที่มีความความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิต H_2 เช่นกัน โดยทั่วไปความต้องการอาหารของแบคทีเรียในการหมักปริมาณ nitrogen และ phosphorus ที่แบคทีเรียต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่น้อยที่สุดในระบบ anaerobic digestion มีอัตราส่วน BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 (อารียา, 2546) จากตารางที่ 3 พบว่าอัตราส่วน BOD:N:P ของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่า 100:3.8:0.02 เมื่อเทียบกับอัตราส่วนที่แบคทีเรียต้องการใช้ในการย่อยสลายจะเห็นได้ว่า น้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีปริมาณ phosphorus ที่น้อยกว่าปริมาณความต้องการของแบคทีเรีย Hawkes *et al.* (2002) ได้ทำการเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่าง carbon ต่อ phosphorus (C/P ratio) จากงานวิจัยที่ศึกษาการผลิต H_2 โดยทำการศึกษาในช่วง 6-260 ได้สรุปว่า C/P ratio ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต H_2 คือ 130 ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของ Lin and Lay (2004b) ที่ได้นำเสนอ C/P ratio ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต H_2 จาก sucrose คือ 120 เมื่อทำการศึกษา C/P ratio ในช่วง 8.7–800

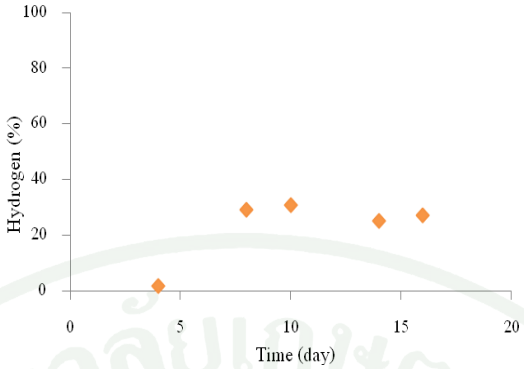
ผลการพิจารณาคัดเลือกแบคทีเรียเพื่อนำไปศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (hydrogen gas, H_2) ในขั้นตอนต่อไป มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

1.1 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (Heat treatment)

จากการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี heat treatment เพื่อผลิต H_2 พบว่าเมื่อนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้ว มาทำการเพิ่มปริมาณและสร้างความคุ้นเคยให้แก่แบคทีเรีย (acclimation) โดยใช้สารละลาย glucose-based substrate เป็นอาหารในช่วงประมาณ 15 วันแรก แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment มีแนวโน้มที่จะผลิต H_2 ได้ (ภาพที่ 8 ตารางผนวกที่ ก3) จึงเริ่มเปลี่ยนอาหารของแบคทีเรียเป็นน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ และนำแบคทีเรียไปศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

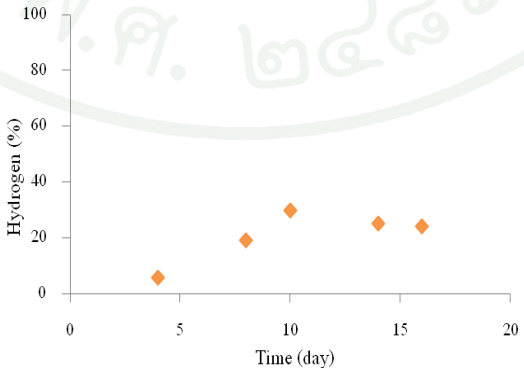


ภาพที่ 8 %H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment

จากภาพที่ 8 พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment สามารถผลิต H_2 ได้สูงสุดประมาณ 40% และ เมื่อพิจารณาความสามารถในการผลิต H_2 เฉลี่ยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาในขั้นตอน acclimation พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31% (ตารางผนวกที่ ก3)

1.2 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (Acid treatment)

เมื่อนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี acid treatment เพื่อผลิต H_2 มาทำการ acclimation พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment มีแนวโน้มจะผลิต H_2 ได้เมื่อใช้สารละลาย glucose-based substrate เป็นอาหาร ซึ่งมีค่า %H_2 สูงสุดประมาณ 30% (ภาพที่ 9 ตารางผนวกที่ ก4) %H_2 เฉลี่ยตลอดระยะเวลาการ acclimation เท่ากับ 20% เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 15 วัน จึงเริ่มเปลี่ยนอาหารของแบคทีเรียเป็นน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์และนำแบคทีเรียไปศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อไป

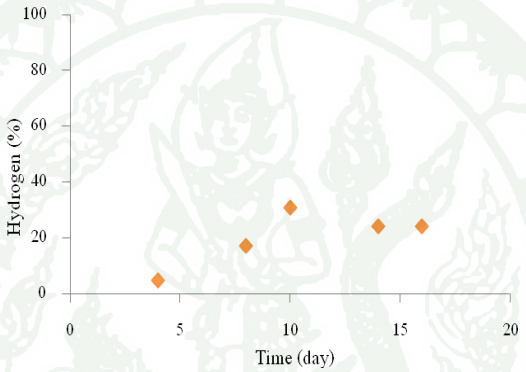


ภาพที่ 9 %H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (Base treatment)

จากการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี base treatment เพื่อผลิต H_2 พบว่าเมื่อนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองแล้วมาทำการ acclimation โดยใช้สารละลาย glucose-based substrate เป็นอาหารในช่วงประมาณ 15 วันแรก พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment มีแนวโน้มที่จะผลิต H_2 ได้ (ภาพที่ 10 ตารางผนวกที่ ก5) ซึ่งมีค่า $\%H_2$ สูงสุดประมาณ 30% และมีค่า $\%H_2$ เฉลี่ยตลอดระยะเวลาการ acclimation เท่ากับ 20% จึงเริ่มเปลี่ยนอาหารของแบคทีเรียเป็นน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์และนำแบคทีเรียไปศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อไป

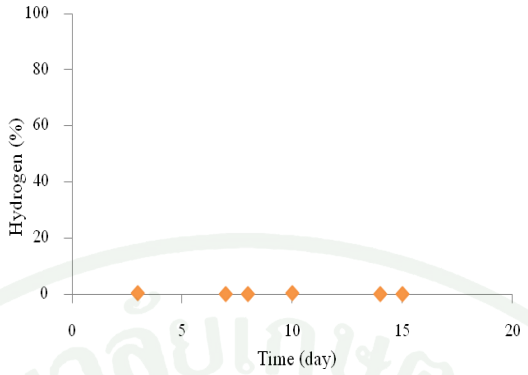


ภาพที่ 10 $\%H_2$ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment

1.4 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform treatment)

ผลการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี chloroform treatment เพื่อผลิต H_2 พบว่า การคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี chloroform treatment ระบบไม่สามารถผลิต H_2 ได้ (ภาพที่ 11, ตารางผนวกที่ ก6) ไม่ว่าจะใช้สารละลาย glucose-based substrate หรือน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียก็ตาม การศึกษานี้จึงไม่นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ไปทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2

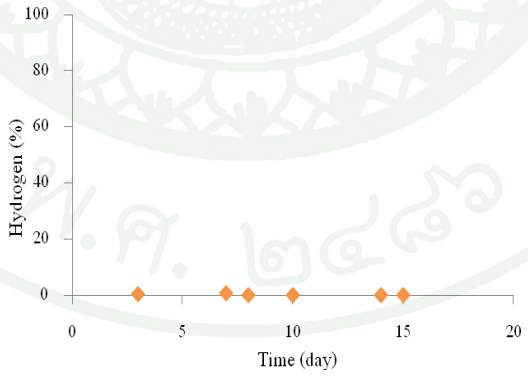
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 %H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment

1.5 การคัดกรองแบคทีเรีย โดยการปรับสภาพด้วยการแช่แข็งและละลาย (Freezing and thawing treatment)

ผลการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี freezing and thawing treatment เพื่อผลิต H_2 พบว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ (ภาพที่ 12, ตารางผนวกที่ ก7) ไม่ว่าจะใช้สารละลาย glucose-based substrate หรือน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์เป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียก็ตาม จึงไม่นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ไปทำการศึกษาต่อถึงความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อไป



ภาพที่ 12 %H_2 ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment

จากผลการศึกษาการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิต H_2 ด้วยวิธีการทั้ง 5 วิธี ภายใต้สภาวะที่ใช้ในการศึกษานี้พบว่า การคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี heat treatment, acid treatment และ base

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

treatment มีแนวโน้มที่จะสามารถผลิต H_2 ได้ จึงนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการดังกล่าวไปทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อไป ในขณะที่การคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ จึงไม่นำไปทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 ต่อแต่ทำการศึกษาชนิดและผลผลิตก๊าซชีวภาพที่ได้จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการ chloroform treatment และ freezing and thawing treatment ซึ่งแสดงผลการศึกษาไว้ในภาคผนวก ก ตอนที่ 1

2. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 (feasibility study for biohydrogen production)

ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 (feasibility study for biohydrogen production) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยการเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation) และผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

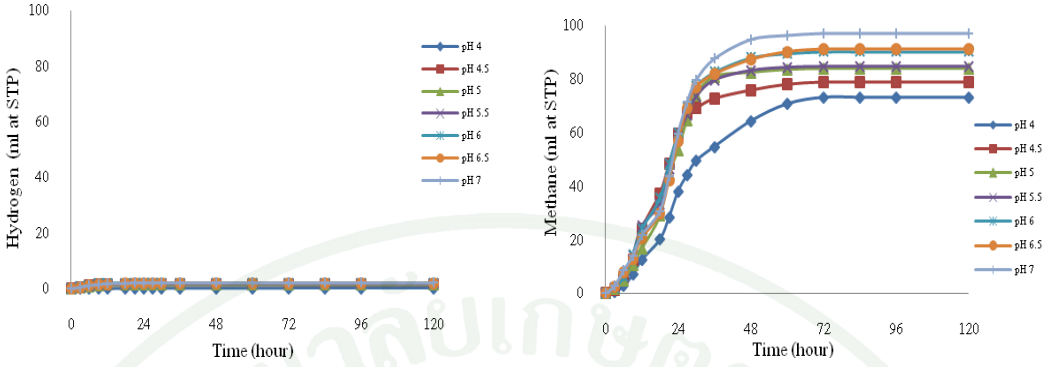
2.1 เมื่อใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองโดยการปรับสภาพด้วยความร้อน (Heat treatment)

2.1.1 การเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation)

จากการหมักน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD 6,050 mg/l ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment มีค่า MLVSS 3,980 mg/l โดยใช้น้ำเสียที่ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 โดยการเดินระบบแบบ batch operation

ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ผลิต H_2ได้น้อยมาก (ภาพที่ 13 (ก)) 20, 21, 39, 41, 19, 19 และ 20 ml ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ แต่กลับพบว่าระบบยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ ซึ่งผลิต CH_4 ได้ในปริมาตร 73, 79, 84, 85, 90, 91 และ 97 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียตั้งแต่ 4, 4 .5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 13 และตารางผนวกที่ ก8, ก11)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพที่ 13 ปริมาตรสะสมของ H_2(ก) และ CH_4 (ข) ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

ตารางที่ 4 ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (% COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatmentที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

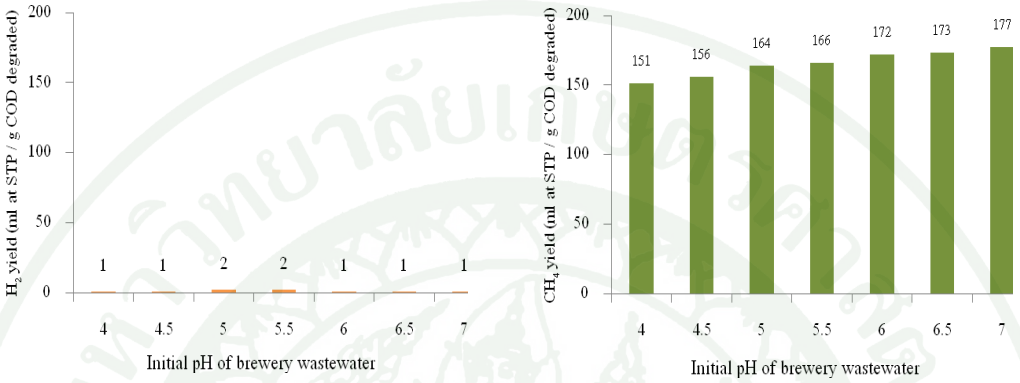
Initial pH	Initial COD (mg/l)	Final COD (mg/l)	COD degraded (mg/l)	% COD removal
4	6050	1210	4840	80.0
4.5	6050	990	5060	83.5
5	6050	945	5105	84.5
5.5	6050	950	5100	84.5
6	6050	810	5240	86.5
6.5	6050	780	5270	87.0
7	6050	565	5485	90.5

ผลการศึกษา COD degradation แสดงดังตารางที่ 4

H_2 yield คือ ปริมาตร H_2 ต่อกรัม COD ที่ถูกกำจัด (ml at STP/ g COD degraded) จากการทดลองนี้พบว่า แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ให้ H_2 yield เท่ากับ 1, 1, 2, 2, 1 ,1 และ 1 ml at STP/ g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ H_2 yield ที่ได้จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment แสดงดังภาพที่ 14 (ก) (การคำนวณดังข้อ 1.6 ภาคผนวก ข) ในทางตรงกันข้าม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระบบสามารถผลิต CH_4 ได้ และได้ CH_4 yield เท่ากับ 151, 156, 164, 166, 172 ,173 และ 177 ml at STP/ g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 14 (ข))



(ก) (ข)

ภาพที่ 14 H_2 yield (ก) และ CH_4 yield (ข) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

จากภาพที่ 14 จะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ดีที่สุดในการผลิต H_2 yield สำหรับการศึกษานี้คือ 5-5.5 ถึงแม้ว่าจะให้ H_2 yield ได้ในปริมาตรที่น้อยมากก็ตาม ในขณะที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียที่ดีที่สุดในการผลิต CH_4 yield คือ 7 ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Fang and Liu (2002) ที่สรุปว่า pH 5.5 เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดในการให้ H_2 yield เมื่อใช้ hexose เป็น substrate และ Metcalf and Eddy (1991) ที่ได้นำเสนอช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียที่สร้าง CH_4 มีค่าเท่ากับ 6.7-7.4

ตามทฤษฎีพบว่า การกำจัดสารอินทรีย์ 1 g COD จะเกิด CH_4 350 ml ที่ STP เมื่อใช้ glucose เป็น substrate หรือ CH_4 yield จากการกำจัด glucose 1 g คือ 350 ml ที่ STP/ g COD degraded (Tehobanoglous and Burton, 1991) เมื่อเทียบกับการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า CH_4 yield จากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าค่าตามทฤษฎี เนื่องจากสารอินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ง่าย (biodegradable organic) และ substrate น้อยกว่า glucose (ตารางที่ 3) ประกอบกับ BOD:N:P ของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการทดลองมีค่าที่น้อยกว่าค่าความต้องการของแบคทีเรียที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และแบคทีเรียผลิต

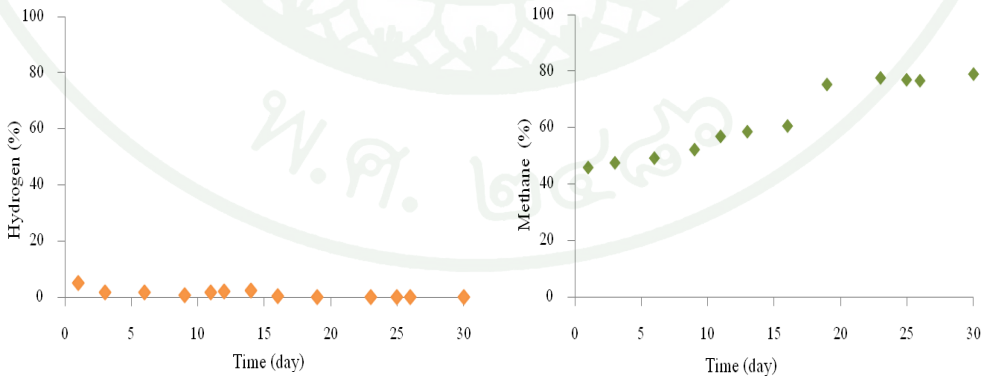
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

CH_4 (methane producing bacteria, MPB) ได้รับความร้อนในระหว่างการคัดกรองแบคทีเรีย อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิต CH_4 ลดต่ำลง

ผลจากการศึกษาพบว่า แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ ถึงแม้ว่าแบคทีเรียจะผ่านการคัดกรองโดยปรับสภาพด้วยความร้อน 85°C เป็นเวลา 15 นาทีมาแล้วก็ตาม แสดงให้เห็นว่า methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรงและทนต่อความร้อนได้ดีภายใต้วิธีการที่นำมาใช้ในการคัดกรอง

2.1.2 การเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ โดยเดินระบบแบบ semi-continuous operation เมื่อใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment และผ่านการ acclimation แล้วพบว่า $\%H_2$ ที่ระบบผลิตได้มีค่าลดต่ำลงเรื่อยๆ จนกระทั่งเป็นศูนย์หรือตรวจไม่พบ H_2 ในระบบเมื่อเวลาผ่านไป (ภาพที่ 15 (ก) และตารางผนวกที่ ก16) ในขณะที่ภาพที่ 15 (ข) ซึ่งแสดง $\%CH_4$ กลับพบว่า ระบบสามารถผลิต CH_4 ได้ และมีแนวโน้มของการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งสามารถผลิตได้อยู่ในระดับที่คงที่ (steady state) มีค่าเฉลี่ยประมาณ 60% จนสิ้นสุดการศึกษา (ตารางผนวกที่ ก16)



(ก) (ข)

ภาพที่ 15 $\%H_2$ (ก) และ $\%CH_4$ (ข) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

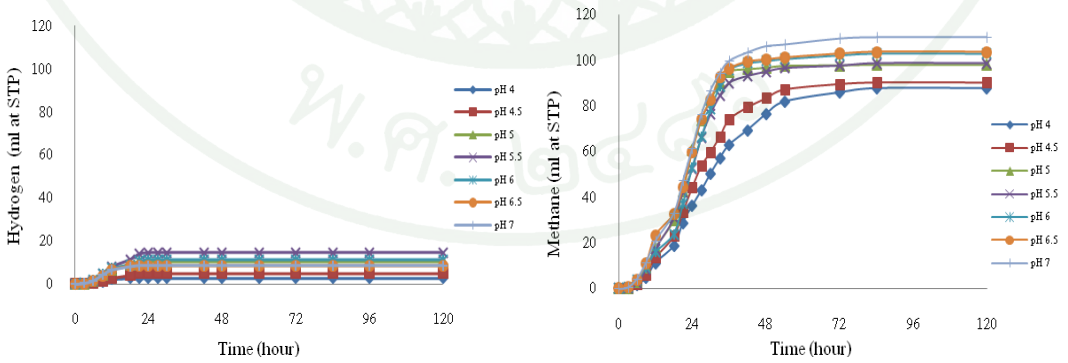
ผลจากการศึกษาขั้นตอนนี้สามารถอธิบายได้ว่า methane producing bacteria สามารถฟื้นฟูกลับมาได้ภายหลังจากได้รับความร้อน พิจารณาจากภาพที่ 10 (ข) ซึ่งแสดงปริมาณ CH_4 ที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ แสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของ methane producing bacteria ที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสามารถกลับมาผลิต CH_4 ได้เต็มความสามารถเหมือนเดิม

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment โดยการเดินระบบแบบ batch operation (ข้อ 2.1.1) และเดินระบบแบบ semi-continuous operation (ข้อ 2.1.2) พบว่าผลการศึกษามีความสอดคล้องกันทั้งในส่วนของ H_2 และ CH_4 คือแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ผลิต H_2 ได้ต่ำมาก แต่กลับสามารถผลิต CH_4 ได้ในระดับที่ค่อนข้างสูง แสดงให้เห็นว่า methane producing bacteria มีความแข็งแรง ทนต่อความร้อนและสามารถฟื้นฟูกลับมาได้ จึงทำให้ H_2 ในระบบถูกนำไปใช้ในการผลิต CH_4 ทั้งหมด

2.2 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยกรด (Acid treatment)

2.2.1 การเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation)

ทำการหมักน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD 6,075 mg/l ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment มีค่า MLVSS 4,060 mg/l โดยใช้น้ำเสียที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ทำการเดินระบบแบบ batch operation



(ก) (ข)

ภาพที่ 16 ปริมาตรสะสมของก๊าซ H_2(ก) และ CH_4 (ข) ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment สามารถผลิต H_2 ได้ในปริมาตรเพียง 7, 13, 18, 17, 12, 11 และ 11 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 16 (ก) และตารางผนวกที่ ก9) และที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่าประมาณ 5 สามารถผลิต H_2 ได้ดีที่สุด

ในทางกลับกันกลับพบว่า ระบบสามารถผลิต CH_4 ได้และผลิต CH_4 ในปริมาตรสูง คือ 88, 90, 99, 99, 100, 103 และ 110 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 16 (ข) และตารางผนวกที่ ก12)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรง ทนต่อความเป็นกรดได้เป็นอย่างดี ถึงแม้ว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี acid treatment จะทำการปรับสภาพแบคทีเรียให้อยู่ในสภาวะกรด (pH 3) เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก็ตาม methane producing bacteria ก็ยังคงอยู่รอด และเมื่อนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment มาทำการหมักด้วยน้ำเสียที่ pH เริ่มต้นเป็นกรด (pH 4-5) พบว่า methane producing bacteria ยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ สามารถผลิต CH_4 ได้ดีที่สุดเมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า 7 ผลการศึกษานี้ไม่เป็นไปตามคำแนะนำของ Metcalf and Eddy (1991) ที่แนะนำให้ควบคุม pH ของระบบผลิต CH_4 ไม่ควรให้มีค่าต่ำกว่า pH 5 เพราะจะส่งผลกระทบต่อแบคทีเรียผลิต CH_4 อย่างรุนแรง อาจส่งผลถึงขั้นทำให้การทำงานของระบบล้มเหลว

เมื่อพิจารณาความสามารถการกำจัดของเสียอินทรีย์ของระบบ ในรูปของ COD ในตารางที่ 5 โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment พบว่าที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ 4-7 ระบบมีค่า %COD removal ไม่แตกต่างกันมากนักอยู่ในช่วง 94%-96% ระบบสามารถกำจัด COD ได้ดีที่สุดที่ pH 7 ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับความสามารถในการผลิต CH_4 ภายใต้สภาวะกรดของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment เป็นการสนับสนุนความแข็งแรง ทนต่อความเป็นกรดของ methane producing bacteria จากโรงงานผลิตเบียร์ตามที่ได้นำเสนอไว้ข้างต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment

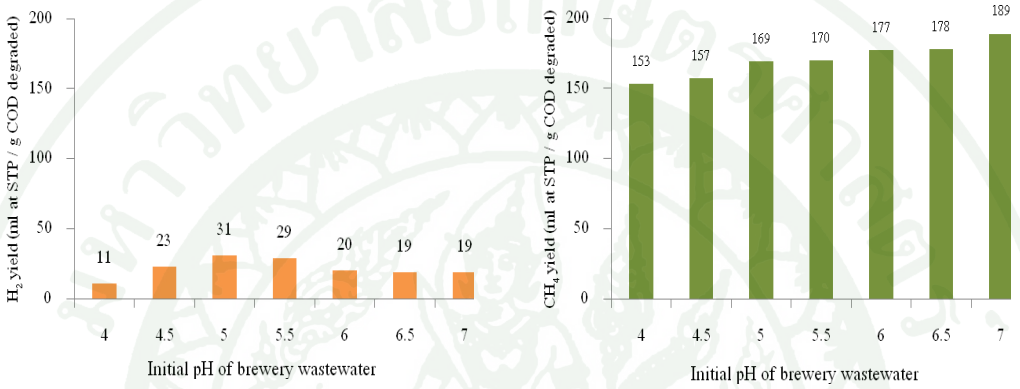
Initial pH	Initial COD (mg/l)	Final COD (mg/l)	COD degraded (mg/l)	% COD removal
4	6075	330	5745	94.5
4.5	6075	320	5755	94.5
5	6075	280	5795	95.5
5.5	6075	270	5805	95.5
6	6075	250	5825	96.0
6.5	6075	255	5820	96.0
7	6075	235	5840	96.0

การผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์เมื่อใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ batch operation พบว่า ระบบผลิต H_2 yield ได้เพียง 11, 23, 31, 29, 20, 19 และ 19 ml at STP/ g COD degraded แต่กลับผลิต CH_4 yield ได้สูงถึง 153, 157, 169, 170, 177, 178 และ 189 ml STP/ g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 17 และจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ดีที่สุดที่ให้ H_2 yield สูงสุดในการศึกษานี้คือ 5 (ภาพที่ 17 (ก)) ซึ่งเป็นไปตามคำแนะนำของ Fang and Liu (2002) และ pH เริ่มต้นของน้ำเสียที่ดีที่สุดที่ให้ CH_4 yield สูงสุดคือ 7 ซึ่งเป็นไปตามการนำเสนอของ Metcalf and Eddy (1991)

Sung *et al.* (2002) อธิบายว่า ถ้าหากสารอาหารเริ่มต้นถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกทั้งหมด H_2 yield จะมีค่าสูงสุดที่ 467 ml H_2/g COD จากการทดลองนี้พบว่าระบบให้ H_2 yield สูงสุดเพียง 31 ml H_2 at STP/g COD degraded ซึ่งมีค่าน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับผลงานวิจัยของ Sung *et al.* (2002) ซึ่งสามารถอธิบายได้จากงานวิจัยของ Li and Fang (2007) ที่ได้แนะนำว่าในการผลิต H_2 สิ่งที่จะต้องกระทำต่อ mixed culture คือ การกำจัดแบคทีเรียผลิต CH_4 (methane producing bacteria, MPB) เพราะ methane producing bacteria นั้นสามารถบริโภค H_2 ได้ (methane producing bacteria เป็น hydrogen consuming bacteria) เนื่องจากผลการทดลองนี้พบว่าระบบยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้และให้ CH_4 yield ในปริมาตรสูง แสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิต H_2 ด้วยวิธี acid treatment ไม่สามารถกำจัด methane producing bacteria ในระบบให้หมดไปได้ และเมื่อพิจารณา CH_4 yield สูงสุดที่ผลิตได้ซึ่งผลิตได้ 189 ml STP/g COD degraded (ภาพที่ 17(ข)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เทียบกับค่าที่ได้ตามทฤษฎี คือ 350 ml at STP/g COD degraded (Tehobanoglous and Burton, 1991) พบว่า CH_4 yield จากการทดลองนี้มีค่าน้อยกว่าค่าตามทฤษฎีเป็นผลมาจาก biodegradable organic และ nutrients ในน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่าต่ำ (ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในผลการทดลองช่วงแรก) และประสิทธิภาพในการผลิต CH_4 ของ methane producing bacteria ต่ำลงเมื่อได้รับความเป็นกรด



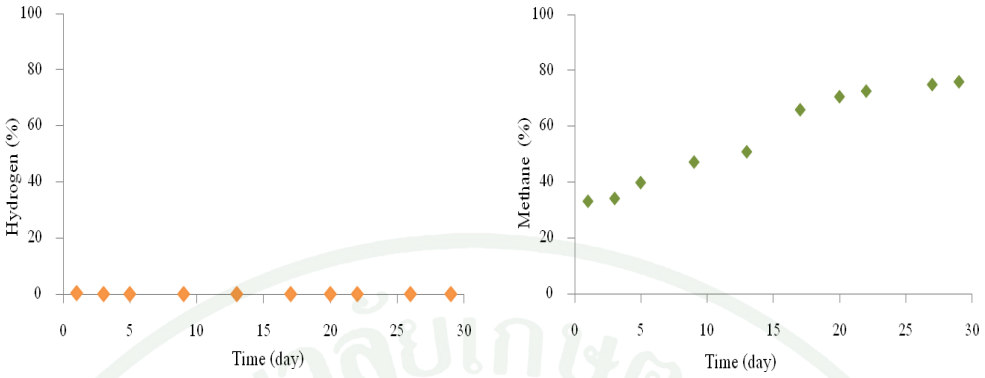
(ก) (ข)

ภาพที่ 17 H_2 yield (ก) และ CH_4 yield (ข) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

2.2.2 การเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยเดินระบบแบบ semi-continuous operation เมื่อใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ภายหลังจาก acclimation พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment สามารถผลิต H_2 ได้ในปริมาณที่ต่ำมากตั้งแต่เริ่มทำการศึกษา (ภาพที่ 18(ก)) และเมื่อเวลาผ่านไป $\%H_2$ ในระบบลดลงจนวิเคราะห์ไม่พบในที่สุด (ตารางผนวกที่ ก17) ในทางกลับกันจากภาพที่ 18(ข) ซึ่งแสดง $\%CH_4$ พบว่าในช่วงระยะเวลาแรกแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment สามารถผลิต CH_4 ได้ในปริมาณไม่สูงนัก แต่มีแนวโน้มของการผลิตเพิ่มขึ้นอยู่อย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งระบบสามารถผลิต CH_4 ได้ในระดับคงที่ (steady state) มีค่าปริมาณ CH_4 ประมาณ 70% จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ก17) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย ผลิต CH_4 ถึงแม้จะผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment มาแล้ว แบคทีเรียก็ยังคงสามารถอยู่รอดและฟื้นฟูกลับมาผลิต CH_4 ได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพที่ 18 %H_2 (ก) และ %CH_4 (ข) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ batch operation (ข้อ 2.2.1) และเดินระบบแบบ semi-continuous operation (ข้อ 2.2.2) พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันคือ methane producing bacteria จากโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรง ทนต่อความเป็นกรดได้เป็นอย่างดี ส่งผลให้ H_2 ที่เกิดขึ้นในระบบถูก methane producing bacteria นำไปใช้ในกระบวนการผลิต CH_4 จนหมดทำให้ตรวจไม่พบ H_2 ในระบบแสดงให้เห็นว่า การคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี acid treatment ที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้คัดกรองแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์เพื่อการผลิต H_2

2.3 การคัดกรองแบคทีเรียโดยการปรับสภาพด้วยด่าง (Base treatment)

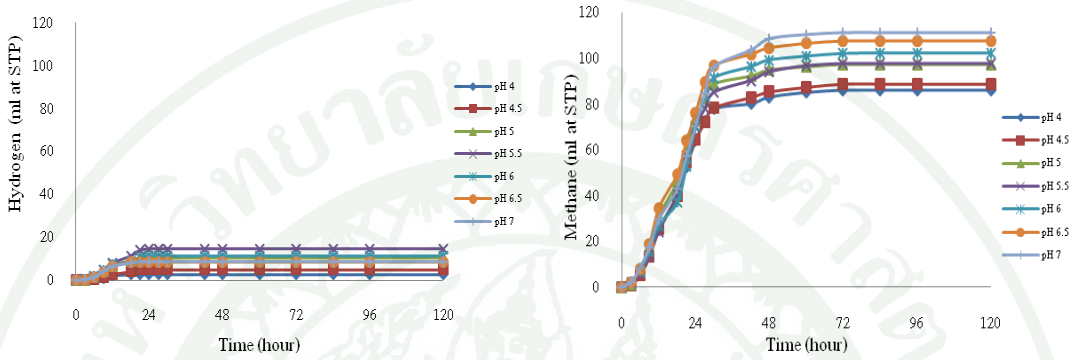
2.3.1 การเดินระบบแบบเติมครั้งเดียว (batch operation)

ทำการหมักน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD เท่ากับ 6,040 mg/l ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment มีค่า MLVSS เท่ากับ 3,270 mg/l โดยใช้น้ำเสียที่ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 โดยการเดินระบบแบบ batch operation ผลการศึกษาแสดงไว้ดังภาพที่ 19

ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment สามารถผลิต H_2 ได้ในปริมาตรเพียง 3, 5, 10, 15, 11, 9 และ 9 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 19(ก) และตารางผนวกที่ ก10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในทางกลับกันพบว่าสามารถผลิต CH_4 ได้ในปริมาตรสูงคือ 86, 89, 97, 97, 102, 107 และ 111 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 19(ข) และตารางผนวกที่ ก13)



(ก) (ข)

ภาพที่ 19 ปริมาตรสะสมของ H_2(ก) และ CH_4 (ข) ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

จากภาพที่ 19 จะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า 5.5 สามารถผลิต H_2 ได้ดีที่สุดซึ่งเป็นไปตามการนำเสนอของ Fang and Liu (2002) ในขณะที่ระบบสามารถผลิต CH_4 ได้ดีที่สุดเมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า 7 สอดคล้องกับรายงานของ Metcalf and Eddy (1991)

เมื่อพิจารณาความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในรูปของ COD ในตารางที่ 6 พบว่า %COD removal ลดลงเมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่าความเป็นกรด คือที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4 ระบบกำจัด COD ได้น้อยที่สุด และระบบสามารถกำจัด COD ได้ดีที่สุดที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่า 7 จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า %COD removal มีความสอดคล้องกับปริมาตร CH_4 ที่ระบบผลิตได้ จึงสรุปได้ว่าสารอินทรีย์ในน้ำเสียถูกนำไปใช้ในการผลิต CH_4 ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็น CH_4 ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (Metcalf and Eddy, 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

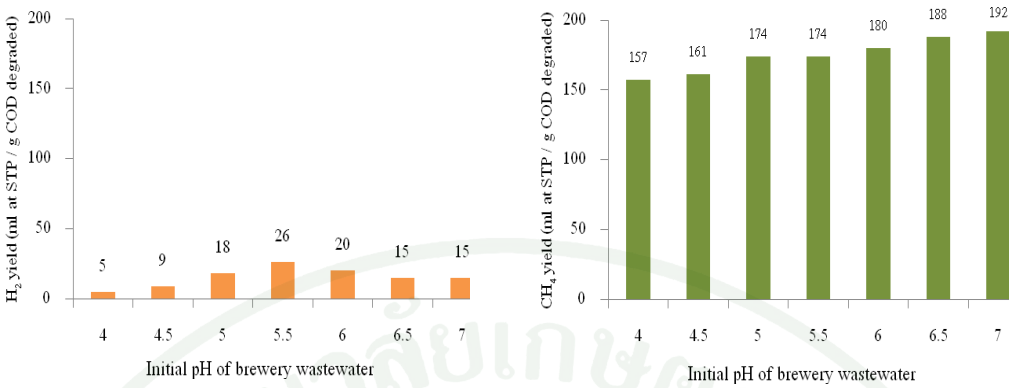
ตารางที่ 6 ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (% COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Initial pH	Initial COD (mg/l)	Final COD (mg/l)	COD degraded (mg/l)	% COD removal
4	6040	545	5495	91.0
4.5	6040	500	5540	91.8
5	6040	540	5500	92.7
5.5	6040	425	5615	93.0
6	6040	345	5695	94.3
6.5	6040	325	5715	94.6
7	6040	240	5800	96.0

เมื่อหมักน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment พบว่าระบบผลิต H_2 ได้ในปริมาตรที่น้อยมาก มีค่า H_2 yield เพียง 5, 9, 18, 26, 20 ,15 และ 15 ml H_2 at STP/g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า H_2 yield ที่ได้จากระบบมีความแตกต่างกันเมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียมีค่าต่างกันและให้ H_2 yield สูงสุดเมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 5.5 คือมีค่า 26 ml H_2 STP/g COD degraded (ภาพที่ 19(ก)) เมื่อเทียบกับ H_2 yield ที่สามารถผลิตได้ตามทฤษฎี (467 ml H_2/g-COD) จาก Sung *et al.* (2002) พบว่า H_2 yield ที่ได้นี้มีค่าน้อยกว่าทฤษฎีมาก

ในทางกลับกันค่า CH_4 yield ที่ได้จากระบบมีค่าสูงถึง 157, 161, 174, 174, 180, 188 และ 192 ml CH_4 at STP/g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ (ภาพที่ 19(ข)) และมีค่า CH_4 yield สูงสุดที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 7 คือผลิตได้ 192 ml CH_4 STP/g COD degraded เมื่อเทียบกับ CH_4 yield ที่สามารถผลิตได้ตามทฤษฎี (350 ml at STP/gCOD degraded) จาก Tehobanoglous and Burton (1991) พบว่า CH_4 yield มีค่าน้อยกว่าค่าที่ได้จากทฤษฎีเช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

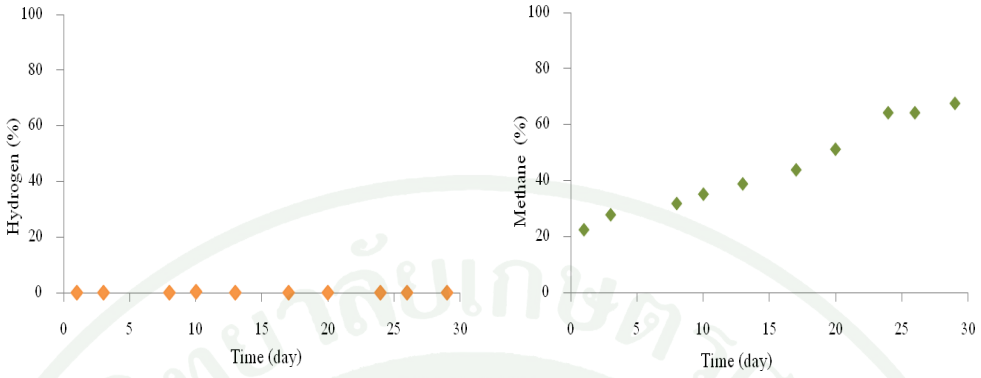
ภาพที่ 20 H_2 yield (ก) และ CH_4 yield (ข) ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

จากภาพที่ 20 พบว่าระบบสามารถผลิต H_2 ได้น้อยมาก แต่ผลิต CH_4 ได้ในปริมาตรที่ค่อนข้างสูง การที่ระบบยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ แสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี base treatment ไม่สามารถกำจัด methane producing bacteria ในระบบให้หมดไปได้ ทำให้ methane producing bacteria นี้ใช้ H_2 เป็น substrate ในการผลิต CH_4 ต่อไป จึงส่งผลให้ปริมาตร H_2 ที่ได้จากระบบลดลง (Heguang and Michel, 2006)

2.3.2 การเดินระบบแบบการเติมกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous operation)

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 โดยการเดินระบบแบบsemi-continuous operation เมื่อใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment และผ่านการ acclimation แล้ว พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ คือตรวจไม่พบ H_2 ในก๊าซชีวภาพที่ระบบผลิตได้ตั้งแต่เริ่มทำการศึกษา (ภาพที่ 21(ก) และตารางผนวกที่ ก18) ในทางกลับกันจากภาพที่ 21(ข) ซึ่งแสดง $\%CH_4$ ที่เวลาต่างๆพบว่า ในช่วงระยะเวลาแรกแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment สามารถผลิต CH_4 ได้ในปริมาณไม่สูงนัก แต่มีแนวโน้มของการผลิตเพิ่มขึ้นอยู่อย่างต่อเนื่องจนกระทั่งระบบสามารถผลิต CH_4 ได้ในระดับคงที่ (steady state) มีค่าปริมาณ CH_4 ประมาณ 70% จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ก18) แสดงให้เห็นว่า methane producing bacteria ถึงแม้จะผ่านการคัดกรองด้วยด่าง (pH 11 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) มาแล้วก็ตามแต่ methane producing bacteria ยังคงอยู่รอด และเมื่อเวลาผ่านไปสามารถฟื้นฟูกลับมาผลิต CH_4 ได้ในระดับที่คงที่ (ภาพที่ 21)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพที่ 21 $\%H_2$ (ก) และ $\%CH_4$ (ข) ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment โดยการเดินระบบแบบ batch operation (ข้อ 2.3.1) และเดินระบบแบบ semi-continuous operation (ข้อ 2.3.2) พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกัน คือ methane producing bacteria จากโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรงและทนต่อความเป็นด่างได้เป็นอย่างดี ส่งผลให้ H_2 ที่เกิดขึ้นในระบบถูก methane producing bacteria นำไปใช้ในกระบวนการผลิต CH_4 จนหมด ทำให้ตรวจไม่พบ H_2 ในระบบแสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี base treatment ที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้คัดกรองแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์เพื่อผลิต H_2

ผลการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (H_2) จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ตามสภาพจริงที่ไม่ได้มีการเติมสารอาหารใดๆ เพิ่มลงไป (normal brewery wastewater) โดยใช้แบคทีเรียแบบผสม (mixed culture) จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดที่ผลิต H_2 (hydrogen producing bacteria) ด้วยวิธีการทั้ง 5 วิธี พบว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี heat treatment, acid treatment และ base treatment มีแนวโน้มที่จะผลิต H_2 ได้แต่ผลิต H_2 ได้ในปริมาณที่น้อยมากแสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธีการทั้ง 5 วิธีดังที่กล่าวมาตามการทดลองนี้ไม่สามารถกำจัด methane producing bacteria ได้ (ซึ่ง methane producing bacteria เป็น hydrogen consuming bacteria) การศึกษานี้ยังพบอีกว่า methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์เมื่อได้รับความร้อน กรด ด่าง สามารถฟื้นฟู

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กลับมาผลิต CH_4 ได้เมื่อได้รับอาหารที่เหมาะสม ได้แก่ glucose-based substrate และน้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ ในเวลาที่เหมาะสมคือประมาณ 50 วัน (ในการทดลองนี้ประมาณ 15 วันในช่วงการ acclimation และ 30 วันในช่วงการหมัก) ส่วนแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment พบว่าสารเคมี และความเย็นที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่สามารถทำอันตรายใดๆ แก่ methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์ได้เลย

Li and Fang (2007) ที่ได้แนะนำการผลิต H_2 จากแบคทีเรียแบบผสมว่า สิ่งที่จะต้องทำต่อแบคทีเรียแบบผสม คือการกำจัด methane producing bacteria ให้หมดไปก่อนนำมาใช้ในการผลิต H_2 เนื่องจาก methane producing bacteria สามารถบริโภค H_2 ได้ เช่นเดียวกันกับ Liu *et al.* (2009) ที่ได้กล่าวถึงสาเหตุที่ทำให้ปริมาณ H_2 ที่ระบบผลิตได้ลดลง เนื่องจากแบคทีเรียชนิดที่ใช้ H_2 ยังคงเจริญเติบโตอยู่ได้ภายหลังจากการคัดกรองแบคทีเรียแบบผสม นอกจากนี้ Liu *et al.* (2009) ยังพบว่า methane producing bacteria สามารถฟื้นฟูและกลับมาผลิต CH_4 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อให้ได้แบคทีเรียชนิดที่ผลิต H_2 ด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment (ผลการทดลองแสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวก ก ตอนที่ 1) พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการข้างต้นไม่สามารถผลิต H_2 ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment ภายใต้สภาวะที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถยับยั้ง หรือกำจัด methane producing bacteria ที่มีต้นกำเนิดมาจากโรงงานผลิตเบียร์ได้ methane producing bacteria โรงงานผลิตเบียร์มีความสามารถในการปรับตัวให้อยู่รอดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้เป็นอย่างดีเนื่องจากน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์นั้นประกอบไปด้วยสารเคมีและของเสียหลายชนิดจากกระบวนการต่างๆ ภายในโรงงาน เช่น กากของเสียจากกระบวนการผลิต สารเคมีจากกระบวนการล้างทำความสะอาดเครื่องจักรและบรรจุภัณฑ์ รวมทั้งสารเคมีและน้ำมันจากกระบวนการซ่อมบำรุง ซึ่งของเสียและสารเคมีต่างๆ เหล่านี้ได้แก่ กรด ด่าง โลหะหนัก น้ำมัน และ อื่นๆ (Devolli *et al.*, 2010) นอกจากนี้ความทนทานของแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์นี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sinbuathong *et al.* (2009) ที่ได้รายงานไว้ว่าแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารเคมี เพราะแบคทีเรียของโรงงานผลิตเบียร์นั้นสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เป็นปกติได้เป็นอย่างดี

Shi *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่อุณหภูมิ 102°C เป็นเวลา 30 นาที เดินระบบแบบ batch

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

operation โดยมีการเติมสารอาหารอื่นๆ หลายชนิดลงในน้ำเสีย พบว่าระบบสามารถผลิต H_2 ได้สูงสุดเมื่อน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า COD 6.05 g/l ที่อุณหภูมิ 35.9°C และ pH 5.95 ผลิต H_2 ได้เท่ากับ 149.6 ml H_2 /g COD ในขณะที่ อรุณี และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษาการผลิต H_2 จากกากยีสต์ของโรงงานผลิตเบียร์ผสมกับสารละลายกลูโคส (glucose solution) และสารอาหารอื่นๆ หลายชนิด (nutrients) โดยการหมักแบบไม่ใช้แสงในระบบ batch operation ควบคุม pH ให้มีค่าเท่ากับ 5 และอุณหภูมิ 30°C โดยแบคทีเรียที่ใช้ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่อุณหภูมิ 80-85°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสามารถผลิต H_2 ได้ 1.42 mol H_2/mol glucose นอกจากนี้เมื่อพิจารณางานวิจัยที่ทำการศึกษาการผลิต H_2 จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการต่างๆ พบว่างานวิจัยส่วนใหญ่จะทำการศึกษาโดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหาร (substrate) ให้แก่แบคทีเรียทั้งสิ้น (Wang and Wan, 2008)

ส่วนงานวิจัยนี้ทำการศึกษาโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ตามสภาพจริง (normal brewery wastewater) ไม่มีการเติมสารอาหารเพิ่มลงไป เพื่อให้สอดคล้องกับความเป็นจริงในทางปฏิบัติพบว่าน้ำเสียและแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์ไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการผลิต H_2 ภายใต้สภาวะและวิธีการที่ใช้ในการศึกษานี้ นอกจากนี้ยังพบอีกว่า methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์มีความแข็งแรงทนต่อสภาวะที่ไม่ปกติได้เป็นอย่างดีและสามารถฟื้นฟูกลับมาผลิต CH_4 ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อได้รับอาหารที่เหมาะสม ในเวลาประมาณ 50 วัน

ตารางที่ 7 และ 8 เป็นการสรุปถึงปริมาณ H_2 ที่ผลิตได้ (และ CH_4 ที่เกิดขึ้น) ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองทั้ง 5 วิธี โดยการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 สรุปปริมาตร H_2 ที่ผลิตได้ (และ CH_4 ที่เกิดขึ้น) ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆ โดยการเดินระบบแบบ batch operation

Pretreatment	Biogas				%COD removal
	Hydrogen		Methane		
	Optimum Initial pH of BWW	H_2 Yield (ml STP/g COD degraded)	Optimum Initial pH of BWW	CH_4 Yield (ml STP/g COD degraded)	
Heat treatment	5	2	7	177	90.5
Acid treatment	5	31	7	189	96.0
Base treatment	5.5	26	7	192	96.0
Chloroform treatment	ND	ND	7	200	96.5
Freezing and thawing treatment	ND	ND	7	218	97.5

หมายเหตุ BWW = Brewery wastewater

ND = Not detectable

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 สรุปปริมาณ H_2 ที่ผลิตได้ (และ CH_4 ที่เกิดขึ้น) จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีต่างๆ โดยเดินระบบแบบ semi-continuous operation เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียที่ใช้มีค่า 6.3

Pretreatment	Biogas	
	Hydrogen	Methane
	% H_2 at steady state	% CH_4 at steady state
Heat treatment	ND	60
Acid treatment	ND	70
Base treatment	ND	70
Chloroform treatment	ND	75
Freezing and thawing treatment	ND	75

หมายเหตุ ND = Not detectable

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาการผลิตไฮโดรเจน (H_2) จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ตามสภาพจริง (normal brewery wastewater) ที่ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆ เพิ่มลงระบบ น้ำเสียมีค่า COD ประมาณ 6000 mg/l pH 6.3 เดินระบบแบบเติมครั้งเดียวและแบบกึ่งต่อเนื่องด้วยแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองด้วยความร้อน (heat treatment) กรด (acid treatment) ด่าง (base treatment) คลอโรฟอร์ม (chloroform treatment) และการแช่แข็งและละลาย (freezing and thawing treatment) และผ่านการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียมาแล้ว มวลแบคทีเรียเริ่มต้นการหมักประมาณ 4000 mg/l ศึกษาภายใต้สภาวะไม่ใช้แสง สรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

1. แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment, acid treatment และ base treatment สามารถผลิต H_2 ได้ เมื่อเติมสารละลาย glucose-based substrate เข้าระบบ โดยปริมาณ H_2 ที่ผลิตได้สูงสุดมีค่าประมาณ 40, 30 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment, acid treatment และ base treatment ผลิต H_2 ได้น้อยมากเมื่อเติมน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์เข้าระบบ โดย H_2 yield สูงสุดที่ได้จากระบบ batch operation เป็นดังนี้

- เมื่อคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี heat treatment H_2 yield มีค่า 2 ml H_2 at STP/gCOD degraded ที่น้ำเสียเริ่มต้น pH 5
- เมื่อคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี acid treatment H_2 yield มีค่า 31 ml H_2 at STP/gCOD degraded ที่น้ำเสียเริ่มต้น pH 5
- เมื่อคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี base treatment H_2 yield มีค่า 26 ml H_2 at STP/gCOD degraded ที่น้ำเสียเริ่มต้น pH 5.5

ในขณะที่แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้เลย

3. ในการเดินระบบแบบ batch operation และ semi-continuous operation พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการทั้ง 5 วิธียังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ในปริมาณสูงโดยให้ CH_4 yield ได้ดีที่สุดที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 7 แสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธีการและ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สภาวะการทดลองที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิต CH_4 (methane producing bacteria) ได้แบคทีเรียชนิดนี้จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์มีความทนทานต่อความร้อน กรด ด่าง คลอโรฟอร์มและการแช่แข็งได้เป็นอย่างดีและสามารถฟื้นฟูกลับมาผลิต CH_4 ได้เมื่อได้รับอาหารที่เหมาะสมในเวลาประมาณ 50 วัน

ผลจากการศึกษาการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ตามสภาพจริงที่ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆ เพิ่มลงระบบ โดยใช้แบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเบียร์ที่ผ่านการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธีการต่างๆ 5 วิธีได้ผลไม่เป็นที่พอใจ แต่ในทางกลับกันกลับเห็นผลถึงความแข็งแรง ทนทานของ methane producing bacteria ผลจากการวิจัยนี้จึงไม่แนะนำการผลิต H_2 จากน้ำเสียและแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์ แต่กลับสนับสนุนการผลิต CH_4 เนื่องจาก methane producing bacteria ของโรงงานผลิตเบียร์นั้นมีความแข็งแรงและทนต่อภาวะที่ไม่เป็นปกติ เช่น อุณหภูมิ กรด ด่าง และสารเคมีได้เป็นอย่างดี

ข้อเสนอแนะ

1. การคัดกรองแบคทีเรียจากโรงงานผลิตเบียร์เพื่อผลิต H_2 ด้วยความร้อน กรด และ ด่าง มีโอกาสผลิต H_2 ได้ แต่อาจจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงภาวะบางอย่าง เช่น การเพิ่มอุณหภูมิและเวลาที่ใช้สำหรับการคัดกรองด้วยความร้อน เพิ่มระยะเวลาให้แบคทีเรียอยู่ในภาวะกรดและด่างหรือทำให้มีสภาพความเป็นกรดหรือด่างมากขึ้นในการคัดกรอง เพิ่มความเข้มข้นของคลอโรฟอร์มให้สูงขึ้นและลดอุณหภูมิหรือเพิ่มเวลาที่ใช้สำหรับการคัดกรองด้วยการแช่แข็งและละลาย

2. ถ้าต้องการผลิต H_2 จากน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ตามสภาพจริง (normal brewery wastewater) ที่ไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงระบบ ควรนำน้ำเสียจากโรงงานอื่นมาผสมเพื่อให้ได้ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ง่าย (biodegradable organic substances) และสารอาหาร (nutrients) สำหรับแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น และมีสภาพที่เหมาะสมต่อการหมักเพื่อการผลิต H_2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2543. **วิศวกรรมการกำจัดน้ำเสียเล่ม 4**. มิตรนราการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2545. **ตำราระบบบำบัดมลพิษน้ำ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สมาคมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ธัญญารัตน์ คชารัตน์, ศศิธร ศรีสัมพันธ์ และ ลอยเคราะห์ สนิทวงศ์ ณ อยุธยา. 2553. **รู้จักพลังงานไฮโดรเจน**. แหล่งที่มา: http://203.150.230.208/~h2o/index.php/know-hydrogen, 1 ธันวาคม 2553.

พัชจารี ใจอุ่น. 2550. **การศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพและประสิทธิภาพการลดปริมาณสารอินทรีย์ของกากตะกอนจากกระบวนการผลิตมัสตาร์ด**. สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

วัชระ มั่งวิทิตกุล. 2548. Hydrogen Technology. **Industrial Technology**, 138: 162-163.

อาริยา วิรัชวรกุล. 2546. **การผลิตก๊าซชีวภาพจากเศษอาหารโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี ศุภสินสาธิต. 2551. **การผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบไม่ใช้แสงจากของเสียโรงงานเบียร์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Brock, T.D., M.T. Madigan, J.M. Martinko and J. Parker. 1994. **Biology of Microorganisms**. Prentice Hall, New York.

Chang, J.S., K.S. Lee and P.J. Lin. 2002. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. **Int. J. Hydrogen Energy**, 27 (11/12): 1167–1174.

Chang, F.Y. and C.Y. Lin. 2004. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **Int. J. Hydrogen Energy,** 29 (1): 33–39.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chen, C.C., C.Y. Lin and M.C. Lin. 2002. Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process. **Appl. Microbial. Biotechnol,** 58(2):224–228.

Cheng, S.S., C.Y. Lin, I.C. Tseng, C.M. Lee, H.I. Lin, M.R. Lin, S.T. Chen, S.D. Chen and P.W. Liu. 2003. Biohydrogen production mechanisms and processes application on multiple substrates. pp. 33–39. **Proc. 1st NRL International Workshop on Innovative Anaerobic Technology**. Daejeon, Korea.

Chenlin, L. and H. P. Herbert. 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. **Environ. Sci. Technol.** 37: 1-39.

Chen, W.H., S.Y. Chen, S.K. Khanal, S. Sung. 2006. Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. **Int J Hydrogen Energy**, 31(15): 2170–2178.

Chien, C.H., I.C. Tseng, W.L. Wu, C.Y. Chang, T.Y. Shih and Y.F. Liu. 2004. Cultivationdependent and independent approaches for determining hydrogen producing. pp. 37–45. Bacteria. **1st International Symposium on Green Energy Revolution**. Nagaoka, Japan.

De vrije, T., and P.A.M. Claassen. 2003. Dark hydrogen fermentations. pp. 103–123. **In Bio-methane and Bio-hydrogen.** Dutch biological hydrogen foundation, Smiet Offset, The Hague, the Netherlands.

Devolli, A., L. Shabani, S. Mali and N. Hila. 2010. Brewery Waste Water Management**.** **In: Proceeding of the BALWOIS 2010**. Macedonia.

Fan, K.S. and Y.Y. Chen. 2004. H_2 production through anaerobic mixed culture: Effect of batch S0/X0 and shock loading in CSTR. **Chemosphere.** 57: 1059–1068.

Fang, H.H.P. and H. Liu. 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by mixed culture, **Bioresour Technol**. 82:87-93.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Fang, H.H.P. and H. Liu. 2004. Biohydrogen production from wastewater by granular sludge. pp. 31–36. **1st International Symposium on Green Energy Revolution**. Nagaoka, Japan.

_____, C.L. Li and T. Zhang. 2006. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry. **Int. J. Hydrogen Energy**. 31(6): 683–692.

Girbal, L., C. Croux, I. Vasconcelos, P. Soucaille. 1995. Regulation of metabolic shifts in clostridium acetobutylicum ATCC824. **FEMS Microbiol**. 17:287–97.

Han, S.K. and H.S. Shin. 2003. Innovative two-stage process, biocell, producing H2 and CH4 from food waste. pp. 69–78. **Proc. 1st NRL International Workshop on Innovative Anaerobic Technology**. Daejeon, Korea.

_____ and _____. 2004. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. **Int. J. Hydrogen Energy**. 29 (6): 569–577.

Harriett, L. 2006. **Aerobic and Anaerobic Digestion and Types of Decomposition**. Available Source: http://water.me.vccs.edu/courses/ENV149/lesson4.htm, January 1, 2012.

Hawkes, F.R., R. Dinsdale, D.L. Hawkes, I. Hussy. 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization. **Int J Hydrogen Energy**. 27:1339–1347.

_____, I. Hussy, G. Kyazze, R. Dinsdale, D.L. Hawkes. 2007. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress. **Int J Hydrogen Energy**. 32 (1) 72–84.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 9th ed. Williams & Willkins, Baltimore, MD.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hu, B. and Chen, S. 2007. Pre-treatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation. **Int J Hydrogen Energy**. 32: 3266–73.

Indnia, V. and M. P. Hector. 2009. Hydrogen production by fermentative consortia. **Renewable Sustainable Energy Rev.** 13: 1000-1013.

Janhom, T., S. Wattanachira, P. Pavasant. 2009. Characterization of brewery wastewater with spectrofluorometry analysis. **J Environ Manage**. 90: 1184–1190.

Kapdan, I.K. and F. Kargi. 2006. Biohydrogen production from waste materials. **Enzyme Microb Technol**. 38:569–82.

Khanal, S.K., W.H. Chen, L. Li and S.W. Sung. 2004. Biological hydrogen production: Effects of pH and intermediate products. **Int. J. Hydrogen Energy.** 29 (11): 1123–1131.

Lay, J.J., Y.J. Lee and T. Noike. 1999. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste, **Water. Res**. 33 (11): 2579–2586.

_____ . 2000. Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. **Biotechnol. Bioeng**. 68 (3): 269–278.

_____. 2001. Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose, **Biotechnol. Bioeng**. 74 (4):280–287.

_____, K.S. Fan, J.I. Chang and C.H. Ku. 2003. Influence of chemical nature of organic wastes on their conversion to hydrogen by heat-shock digested sludge. **Int. J. Hydrogen Energy.** 28 (12): 1361–1367.

Levin, D.B., L. Pitt, M. Love. 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations topractical application. **Int J Hydrogen Energy.** 29 (2): 173–185.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Li, C.L. and H.H.P. Fang. 2007. Fermentative hydrogen production from wastewater and solid wastes by mixed cultures. **Crit RevEnviron Sci Technol**. 37(1).

Liang, T.M., S.S. Cheng and K.L. Wu. 2002. Behavioral study on hydrogen fermentation reactor installed with silicone rubber membrane. **Int. J. Hydrogen Energy**. 27(11/12), 1157–1165.

Lin, C.Y. and C.H. Lay. 2004a. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 29 (1): 41–45.

_____ and _____. 2004b. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **Int. J. Hydrogen Energy**. 29 (3): 275–281.

_____ and _____. 2005. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **Int. J. Hydrogen Energy.** 30 (3): 285–292.

Liu, H., T. Zhang and H.H.P. Fang. 2003. Thermophilic H_2 production from a Cellulosecontaining wastewater. **Biotechnol. Lett.** 25: 365–369.

_____, G. Wang, D. Zhu and G. Pan. 2009. Enrichment of the hydrogen-producing microbial community from marine intertidal sludge by different pretreatment methods. **Int J Hydrogen Energy** 34, 9696–9701.

Logan, B., S.E. Oh, I.K. Kim and S.W. Van Ginkel. 2002. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers. **Environ. Sci. Technol**. 36(11): 2530–2535.

Metcalf and Eddy. 1991. **Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse**. McGraw Hill Book Company, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Mizuno, O., R. Dinsdale, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes and T. Noike. 2000. Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. **Bioresource Technol**. 73 (1): 59–65.

Nandi, R. and S. Sengupta. 1998. Microbial production of hydrogen—An overview, **Crit. Rev. Microbiol.** 24(1), 61–84.

Noike, T. and O. Mizuno. 2000. Hydrogen fermentation of organic municipal wastes. **Water Sci. Technol**. 42 (12): 155–162.

_____. 2002. Biological hydrogen production of organic wastes—Development of the two-phase hydrogen production process. **International Symposium on Hydrogen and Methane Fermentation of Organic Waste**. Tokyo. 31–39.

_____, I.B. Ko, D.Y. Lee and S. Yokoyama. 2003. Continuous hydrogen production from organic municipal wastes. pp. 53–60. **Proc. 1st NRL. International Workshop on Innovative Anaerobic Technology**. Daejeon, Korea.

Oh, S.E., S.W. Van Ginkel and B.E. Logan. 2003. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production, **Environ. Sci.Technol.**. 37(22): 5186–5190.

Ren, N.Q., W.Q. Guo, X.J. Wang, W.H. Xiang, B.F. Liu, X.Z. Wang. 2008. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacterial for hydrogen production. **Int J. Hydrogen Energy.** 33: 4318–4324.

Roychowdhury, S. 2000. **Process for production of hydrogen from anaerobically decomposed organic materials.** U.S. Patent.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Reungsang, A., S. Sangyoka, P. Chaiprasert and T. Imai. 2007. Factors affecting hydrogen production from cassava wastewater by a co-culture of anaerobic sludge and Rhodospirillum rubrum. **Pak J Biol Sci.** Oct 15, 10 (20) : 3571-3577.

Shi, X.Y., D.W. Jin, Q.Y. Sun and W.W. Li. 2010. Optimization of conditions for hydrogen production from brewery wastewater by anaerobic sludge using desirability function approach. **Renewable Energy**. 35: 1493–1498.

Sinbuathong, N., P. Sirirote, W. Liengcharernsit, S. Khaodhiar and J. Watts Daniel. 2009. Kinetic comparison of microbial assemblages for the anaerobic treatment of wastewater with high sulfate and heavy metal contents, **Int. J. Environ. Biol**. 30(1), 11-15.

Sparling, R., D. Risbey and H.M. Poggi-Varaldo. 1997. Hydrogen production from inhibited anaerobic composters, **Int. J. Hydrogen Energy** 22(6), 563–566.

Sprott, G.D., K.F. Jarrel, K.M. Shaw and R.K. Knowles. 1982. Acetylene as an inhibitor of methanogenic bacteria, **J. Gen. Microbiol** 128, 2453–2462.

Sung S., L. Raskin, T. Duangmanee, S. Padmasiri and J.J. Simmons. 2002. Hydrogen production by anaerobic microbial communities exposed to repeated heat treatments. **In: Proceeding of the 2002 US DOE hydrogen program review.**

Valdez Vazquez, I., E. Rios Leal, F. Esparza Garcia, F. Cecchi and H.M. Poggi Varaldo. 2005. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H2 production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime, **Int J. Hydrogen Energy** 30(13/14) : 1383–1391.

Van Ginkel, S., S. Sung, J.J. Lay. 2001. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. **Environ Sci Technol**. 35: 4726–4730.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Wang, C.C., C.W. Chang, C.P. Chu, D.J. Lee, B.V. Chang, C.S. Liao and J.H. Tay. 2003. Using filtrate of waste biosolids to effectively produce bio-hydrogen by anaerobic fermentation. **Water Res**. 37 (11): 2789–2793.

Wang, J. and W. Wan. 2008. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. **Int J. Hydrogen Energy**. 33: 2934– 2941.

Wang, Y.Y., P. Ai, C.X. Hu and Y.L. Zhang. 2010. Effects of various pretreatment methods of anaerobic mixed microflora on biohydrogen production and the fermentation pathway of glucose. **Int J Hydrogen Energy**.

Werner, Z. and R. Wurster. 1996. Production of hydrogen**.** Hydrogen in the Energy Sector. Available Source: *http://www.hyweb.de/Knowledge-eng3.html*.

Yokoi H, T. Ohkawara, J. Hirose, S. Hayashi and Y. Takasaki. 1995. Characteristic of hydrogen production by aciduricEnterobacter aerogenes strain HO-39. **J Ferment Bioeng**. 80: 571–574.

Zhu, H. and M. Be land. 2006. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge. **Int J Hydrogen Energy**. 31: 1980–1988.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

ข้อมูลจากการศึกษา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

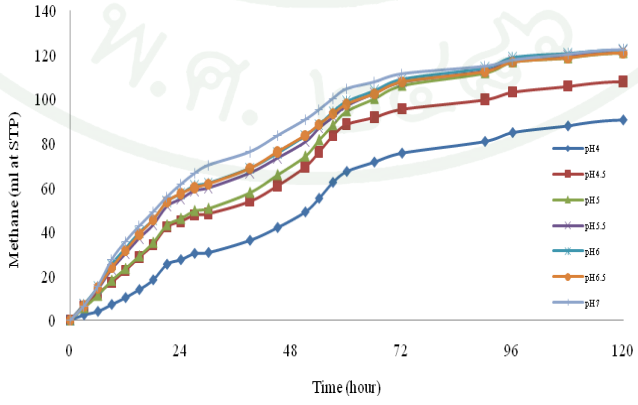
ตอนที่ 1

จากการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment และ freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ จึงนำแบคทีเรียดังกล่าวมาทำการศึกษาชนิดและผลผลิตก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น โดยทำการศึกษาภายใต้วิธีการเดินและสภาวะเดียวกันกับที่ใช้ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิต H_2 จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธีการที่สามารถผลิต H_2 ได้ทุกประการ ผลการศึกษามีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การศึกษาชนิดและผลผลิตของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment

1.1 ชนิดและผลผลิตของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้โดยการเดินระบบแบบ batch operation

ในระบบ batch operation จากการหมักน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD เท่ากับ 6,025 mg/l ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่มีค่า MLVSS เท่ากับ 3,715 mg/l หมักที่ค่า pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ในขวดหมักที่มีความจุ 100 ml พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ แต่สามารถผลิต CH_4 ได้ ผลิต CH_4 ได้ในปริมาตร 95, 111, 123, 124, 123, 123 และ 129 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ แสดงผลปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ดังภาพผนวกที่ ก1 (และตารางผนวกที่ ก14)



ภาพผนวกที่ ก1 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากภาพที่ ก1 จะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า 7 สามารถผลิต CH_4 ได้ในปริมาตรสูงสุดและจากการทดลองพบว่าถึงแม้ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเป็นกรดมีค่า 4 ระบบยังคงสามารถผลิต CH_4 ได้ และเมื่อพิจารณาความสามารถในการกำจัดของเสียในรูปของ COD (ตารางผนวกที่ ก1) พบว่าที่น้ำเสียที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7 สามารถกำจัดของเสียได้ดีที่สุด คือ 96.5% ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียตั้งแต่ 4.5-7 ระบบมีความสามารถในการกำจัด COD ไม่แตกต่างกันมากนักอยู่ในช่วง 94%-96.5% ในขณะที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4 มีความสามารถในการกำจัด COD ที่แตกต่างจากค่าอื่นๆอย่างชัดเจนซึ่งมีค่าเท่ากับ 90.5%

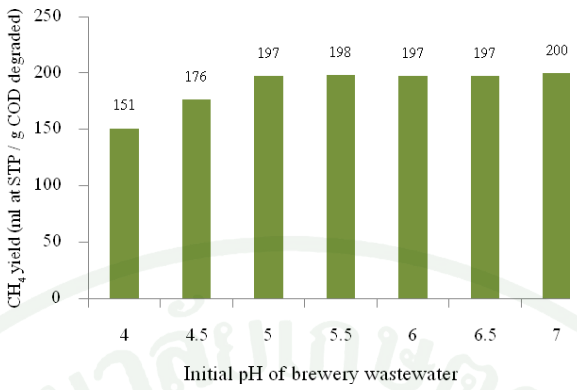
ตารางผนวกที่ ก1 ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Initial pH	Initial COD (mg/l)	Final COD (mg/l)	COD degraded (mg/l)	%COD removal
4	6025	570	5460	90.5
4.5	6025	370	5655	94.0
5	6025	280	5745	95.5
5.5	6025	280	5810	95.5
6	6025	280	5750	95.5
6.5	6025	280	5745	95.5
7	6025	325	5790	96.5

ผลการศึกษา COD degradation แสดงดังตารางผนวกที่ ก1

CH_4 yield คือ ปริมาตร CH_4 ต่อกรัม COD ที่ถูกกำจัด (ml at STP/ g COD degraded) จากการทดลองนี้พบว่า แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ให้ CH_4 yield เท่ากับ 151, 176, 197, 198, 197 ,197 และ 200 ml STP/g COD degraded เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงาน ผลิตเบียร์มีค่า pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพผนวกที่ ก2 (การคำนวณดังข้อ 1.6 ภาคผนวก ข)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



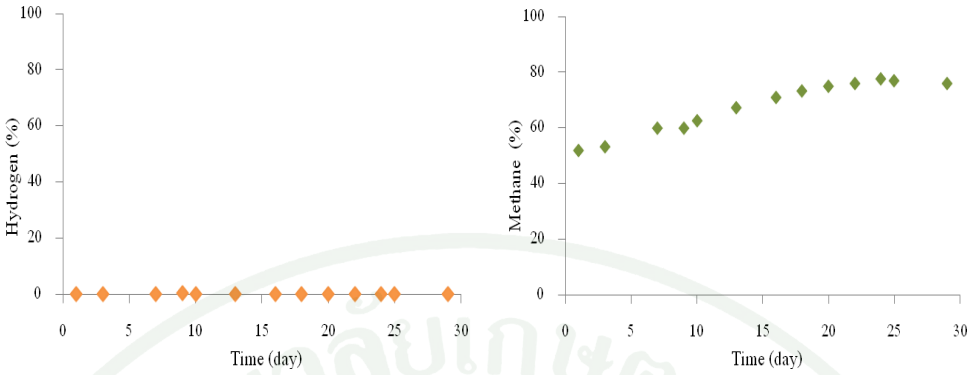
ภาพผนวกที่ ก2 CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

จากภาพที่ ก2 จะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่เหมาะสมที่สุดในการให้ผลผลิต CH_4 คือ 7 ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Metcalf and Eddy (1991) ที่ได้นำเสนอช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของ methane producing bacteria มีค่าเท่ากับ 6.7-7.4 และการที่ระบบยังคงผลิต CH_4 ได้ในปริมาตรที่สูงแสดงให้เห็นว่า methane producing bacteria นั้นมีความทนทานต่อสารเคมีที่เป็นพิษซึ่งในการทดลองนี้หมายถึง chloroform ถึงแม้ว่าระบบจะมีการปนเปื้อนของสารเคมีที่เป็นพิษ methane producing bacteria ก็ยังคงทำงานได้และสามารถผลิต CH_4 ได้ผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 200 ml STP/g COD degraded

1.2 ชนิดของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

ในการเดินระบบแบบ semi-continuous operation ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ แต่ก๊าซชีวภาพที่แบคทีเรียสามารถผลิตได้คือ CH_4 ซึ่งสามารถผลิตได้ในปริมาณสูงตั้งแต่ในช่วงระยะเวลาแรกของการศึกษาประมาณ 50% และมีแนวโน้มการผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งผลิตได้อยู่ในระดับที่คงที่ (steady state) มีค่าปริมาณ CH_4 ประมาณ 75% ไปจนสิ้นสุดการทดลอง (ภาพผนวกที่ ก3) แสดงให้เห็นว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี chloroform treatment ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถกำจัด methane producing bacteria จากโรงงานผลิตเบียร์ได้ ถึงแม้จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียในช่วงแรกแต่เมื่อเวลาผ่านไป methane producing bacteria สามารถฟื้นฟูกลับมาผลิต CH_4 ได้ ผลการศึกษาแสดงดังภาพผนวกที่ ก3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

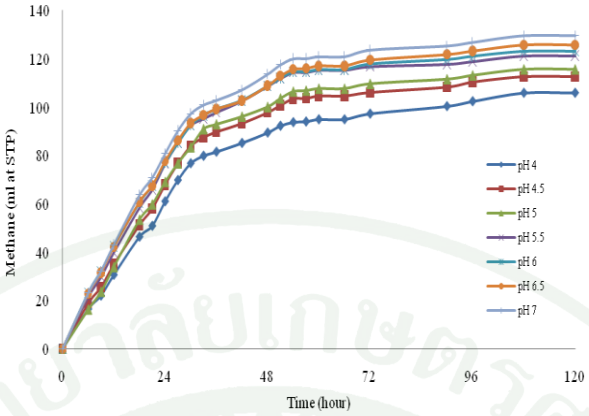
ภาพผนวกที่ ก3 $\%H_2$ (ก) และ $\%CH_4$ (ข) ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

2. การศึกษาชนิดและผลผลิตของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้ จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment

2.1 ชนิดและผลผลิตของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้โดยการเดินระบบแบบ batch operation

ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบ batch operation จากการหมักน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่มีค่า COD เท่ากับ 6,050 mg/l COD ด้วยแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่มีค่า MLVSS เท่ากับ 3,270 mg/l ทำการหมักที่ค่า pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ในขวดหมักความจุ 100 ml พบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ แต่สามารถผลิต CH_4 ได้ ซึ่งสามารถผลิต CH_4 ได้ ผลิตได้ในปริมาตร 106, 113, 115, 120, 123, 126 และ 132 ml (รายงานผลที่สภาวะ STP) ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ ดังภาพที่ ก4 และตารางผนวกที่ ก15

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก4 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

เมื่อพิจารณาความสามารถในการกำจัดของเสียในรูปของ COD พบว่าที่น้ำเสียที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7 สามารถกำจัดของเสียได้ดีที่สุดคือ 97.5% ผลดังแสดงไว้ในตารางที่ ก2

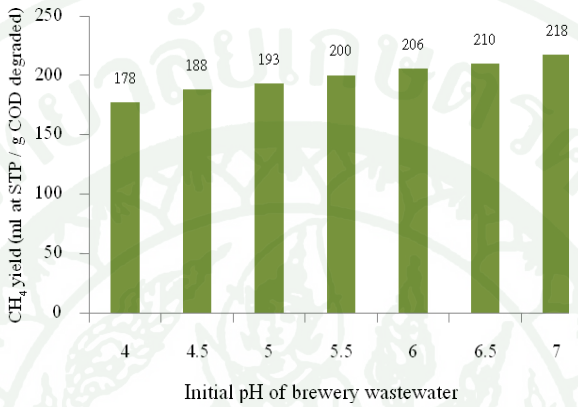
ตารางที่ ก2 ความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย (%COD removal) โดยใช้แบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Initial pH	Initial COD (mg/l)	Final COD (mg/l)	COD degraded (mg/l)	% COD removal
4	6050	590	5460	90.5
4.5	6050	495	5555	92.0
5	6050	430	5620	93.0
5.5	6050	250	5800	96.0
6	6050	245	5805	96.0
6.5	6050	230	5820	96.0
7	6050	160	5890	97.5

จากปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ (ภาพที่ ก4 และตารางผนวกที่ ก15) และความสามารถในการกำจัดของเสียในน้ำเสีย (ตารางผนวกที่ ก2) ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment พบว่า CH_4 yield มีค่าเท่ากับ 178, 188, 193, 200, 206, 210

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ 218 ml STP/g COD degraded (การคำนวณดังข้อ 1.6 ในภาคผนวก ข) เมื่อ pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์มีค่า pH 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 ตามลำดับ แสดงผล CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7 ดังภาพที่ ก5



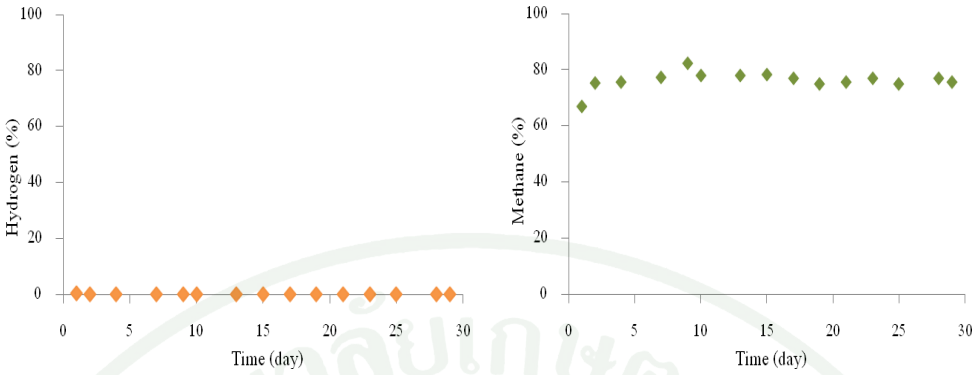
ภาพผนวกที่ ก5 CH_4 yield ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

จากภาพที่ ก5 จะเห็นได้ว่า pH เริ่มต้นของน้ำเสียโรงงานผลิตเบียร์ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต CH_4 คือ 7 ซึ่งมีค่า CH_4 yield เท่ากับ 218 ml STP/g COD degraded

2.2 ชนิดของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

ผลการศึกษาชนิดก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment โดยเดินระบบแบบsemi-continuous operationแสดงดังภาพที่ ก6

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพผนวกที่ ก6 $\%H_2$ (ก) และ $\%CH_4$ (ข) ที่เวลาต่างๆ ที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous

ในการเดินระบบแบบ semi-continuous operation ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing treatment ไม่สามารถผลิต H_2 ได้ ในทางกลับกันพบว่าสามารถผลิต CH_4 ได้ และผลิตได้สูงตั้งแต่ช่วงแรกของการศึกษาประมาณ 65% และอยู่ในระดับที่คงที่ (steady state) ซึ่งมีค่าปริมาณ CH_4 ประมาณ 75% ไปจนกระทั่งสิ้นสุดการศึกษา ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ ก6 ซึ่งจะเห็นได้ว่าการคัดกรองแบคทีเรียด้วยวิธี freezing and thawing treatment ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียที่ผลิต CH_4 จากโรงงานผลิตเบียร์ได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตอนที่ 2

ตารางผนวกที่ ก3 ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี heat treatment (นำแบคทีเรียไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป)

Day	pH	$\%H_2$	Substrate solution
1	6.01	-	glucose-based substrate 500 ml
2	4.92	-	glucose-based substrate 500 ml
3	5.58	-	glucose-based substrate 500 ml
4	5.11	1.54	glucose-based substrate 500 ml
7	4.06	-	glucose-based substrate 500 ml
8	5.17	29.02	glucose-based substrate 500 ml
9	5.11	-	glucose-based substrate 500 ml
10	4.99	39.92	glucose-based substrate 500 ml
11	5.1	-	glucose-based substrate 500 ml
14	5.25	25.21	glucose 195 ml + nutrient 195 ml + BWW 130 ml
15	5.28	-	glucose 170 ml + nutrient 170 ml + BWW 170 ml
16	5.23	27.18	glucose 130 ml + nutrient 130 ml + BWW 260 ml
17	5.33	-	BWW 500 ml
18	5.21	-	BWW 500 ml

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

BWW หมายถึง Brewery wastewater

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก4 ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี acid treatment (นำแบคทีเรียไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป)

Day	pH	$\%H_2$	Substrate solution
1	6.4	-	glucose-based substrate 500 ml
2	4.79	-	glucose-based substrate 500 ml
3	5.06	-	glucose-based substrate 500 ml
4	4.78	5.54	glucose-based substrate 500 ml
7	4.02	-	glucose-based substrate 500 ml
8	4.27	19.02	glucose-based substrate 500 ml
9	5.09	-	glucose-based substrate 500 ml
10	5.1	29.92	glucose-based substrate 500 ml
11	4.84	-	glucose-based substrate 500 ml
14	5.1	25.21	glucose 195 ml + nutrient 195 ml + BWW 130 ml
15	5.11	-	glucose 170 ml + nutrient 170 ml + BWW 170 ml
16	4.97	24.18	glucose 130 ml + nutrient 130 ml + BWW 260 ml
17	5.25	-	BWW 500 ml
18	5.13	-	BWW 500 ml

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

BWW หมายถึง Brewery wastewater

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก5 ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี base treatment (นำแบคทีเรียไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป)

Day	pH	$\%H_2$	Substrate solution
1	6.77	-	glucose-based substrate 500 ml
2	6.24	-	glucose-based substrate 500 ml
3	6.12	-	glucose-based substrate 500 ml
4	4.94	4.54	glucose-based substrate 500 ml
7	4.25	-	glucose-based substrate 500 ml
8	5.05	17.02	glucose-based substrate 500 ml
9	5.4	-	glucose-based substrate 500 ml
10	5.36	30.92	glucose-based substrate 500 ml
11	5.15	-	glucose-based substrate 500 ml
14	5.27	24.21	glucose 195 ml + nutrient 195 ml + BWW 130 ml
15	5.29	-	glucose 170 ml + nutrient 170 ml + BWW 170 ml
16	5.26	24.18	glucose 130 ml + nutrient 130 ml + BWW 260 ml
17	5.33	-	BWW 500 ml
18	5.35	-	BWW 500 ml

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

BWW หมายถึง Brewery wastewater

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก6 ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี chloroform treatment (นำแบคทีเรียไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป)

Day	pH	$\%H_2$	Substrate solution
1	6.69	-	glucose-based substrate 500 ml
2	6.28	-	glucose-based substrate 500 ml
3	6.93	0.18	glucose-based substrate 500 ml
4	6.31	-	glucose-based substrate 500 ml
7	6.14	0.00	glucose-based substrate 500 ml
8	6.31	0.09	glucose-based substrate 500 ml
9	6.94	-	glucose-based substrate 500 ml
10	6.38	0.35	glucose-based substrate 500 ml
11	6.30	-	glucose-based substrate 500 ml
14	6.51	0.04	glucose 195 ml + nutrient 195 ml + BWW 130 ml
15	6.45	0.13	glucose 170 ml + nutrient 170 ml + BWW 170 ml
16	6.71	-	glucose 130 ml + nutrient 130 ml + BWW 260 ml
17	6.42	-	BWW 500 ml
18	6.67	-	BWW 500 ml

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

BWW หมายถึง Brewery wastewater

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก7 ผลการคัดกรองแบคทีเรียเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี freezing and thawing treatment (นำแบคทีเรียไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป)

Day	pH	$\%H_2$	Substrate solution
1	6.69	-	glucose-based substrate 500 ml
2	7.31	-	glucose-based substrate 500 ml
3	6.13	-	glucose-based substrate 500 ml
4	6.54	0.25	glucose-based substrate 500 ml
7	6.23	-	glucose-based substrate 500 ml
8	6.38	0.53	glucose-based substrate 500 ml
9	6.81	0.08	glucose-based substrate 500 ml
10	6.5	-	glucose-based substrate 500 ml
11	6.21	0.04	glucose-based substrate 500 ml
14	6.42	-	glucose 195 ml + nutrient 195 ml + BWW 130 ml
15	6.35	0.05	glucose 170 ml + nutrient 170 ml + BWW 170 ml
16	6.42	0.05	glucose 130 ml + nutrient 130 ml + BWW 260 ml
17	6.61	-	BWW 500 ml
18	6.43	-	BWW 500 ml

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

BWW หมายถึง Brewery wastewater

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก8 ปริมาตรสะสมของ H_2 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative H_2 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.02	0.58	0.39	0.59	0.70	0.62	0.65	0.04
6	0.06	1.19	0.74	0.99	1.18	1.17	1.23	0.09
9	0.08	1.43	1.21	1.45	1.84	1.47	1.59	0.09
12	0.10	1.57	1.44	1.64	2.03	1.77	1.89	0.09
18	0.19	1.58	1.48	1.72	2.09	1.95	2.05	0.09
21	0.19	1.58	1.48	1.80	2.10	2.05	2.19	0.09
24	0.21	1.58	1.49	1.83	2.10	2.11	2.19	0.09
27	0.21	1.58	1.49	1.83	2.10	2.11	2.19	0.09
30	0.23	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.09
36	0.24	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.09
48	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.10
60	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.10
72	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.11
84	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.11
96	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.11
120	0.25	1.58	1.50	1.83	2.10	2.11	2.19	0.11

หมายเหตุ Accumulative H_2 (ml at STP/100ml) ได้จาก $\%H_2$ (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก9 ปริมาตรสะสมของ H_2 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative H_2 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	1.20	0.57	1.08	1.39	1.59	1.46	1.33	0.00
6	2.89	2.46	3.32	2.91	3.03	3.05	2.78	0.00
9	3.80	4.96	5.82	5.16	4.78	5.11	4.64	0.00
12	4.70	7.38	8.35	7.07	6.54	7.14	6.20	0.00
18	5.17	9.72	10.81	9.49	7.65	8.58	7.81	0.00
21	5.50	11.24	12.66	11.39	8.97	9.66	9.35	0.00
24	5.59	12.29	14.66	12.71	9.98	10.30	10.21	0.00
27	5.71	12.65	16.24	14.27	10.81	10.73	10.77	0.00
30	5.86	12.81	17.11	15.37	11.23	10.85	11.02	0.00
33	5.86	12.81	17.54	16.04	11.54	10.94	11.05	0.00
36	6.01	12.95	17.88	16.50	11.71	10.96	11.10	0.00
42	6.01	13.00	17.94	16.72	11.71	10.98	11.11	0.00
48	6.17	13.03	17.96	16.81	11.71	10.98	11.14	0.00
54	6.26	13.06	17.98	16.87	11.73	10.99	11.15	0.00
72	6.28	13.07	17.98	16.88	11.74	11.00	11.15	0.00
84	6.39	13.10	17.98	16.89	11.74	11.00	11.15	0.00
120	6.39	13.10	17.98	16.89	11.74	11.00	11.15	0.00

หมายเหตุ Accumulative H_2 (ml at STP/100ml) ได้จาก $\%H_2$ (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก10 ปริมาตรสะสมของ H_2 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative H_2 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.12	0.10	0.27	0.35	0.55	0.30	0.43	0.00
6	0.41	0.60	1.66	1.44	1.83	1.39	1.62	0.00
9	1.10	1.55	4.22	4.74	4.69	4.03	4.29	0.00
12	2.26	2.78	6.76	8.05	7.37	6.72	6.53	0.00
18	2.75	4.15	9.07	11.37	8.91	8.54	8.13	0.00
21	2.75	5.00	10.17	13.96	10.68	8.69	8.65	0.00
24	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
27	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
30	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
42	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
48	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
60	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
72	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
84	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
96	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00
120	2.75	5.00	10.17	14.58	11.39	8.69	8.65	0.00

หมายเหตุ Accumulative H_2 (ml at STP/100ml) ได้จาก $\%H_2$ (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก11 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.64	1.36	1.63	2.21	2.11	2.62	2.71	0.23
6	2.67	5.85	4.89	6.52	6.15	8.02	8.55	0.53
9	7.05	12.51	10.58	14.14	14.34	12.98	13.96	0.53
12	12.54	24.18	16.74	25.11	23.97	20.50	21.72	0.53
18	20.14	37.38	28.92	33.39	35.58	29.90	30.75	0.53
21	28.33	48.32	44.21	46.45	48.29	42.33	43.71	0.53
24	38.05	59.48	53.53	58.37	59.88	56.92	59.65	0.53
27	44.23	67.21	64.80	66.53	69.68	69.26	71.40	0.53
30	49.51	69.21	74.03	73.49	77.25	76.91	79.63	0.53
36	54.77	72.77	80.90	79.63	82.60	81.85	87.62	0.53
48	64.28	75.90	82.46	83.20	88.03	87.27	94.81	0.59
60	70.69	78.10	83.53	84.38	89.64	90.18	96.38	0.59
72	73.15	78.93	83.92	84.71	90.34	91.17	97.15	0.65
84	73.15	78.93	83.92	84.71	90.34	91.17	97.15	0.65
96	73.15	78.93	83.92	84.71	90.34	91.17	97.15	0.65
120	73.15	78.93	83.92	84.71	90.34	91.17	97.15	0.65

หมายเหตุ Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml) ได้จาก $\%CH_4$ (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก12 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.27	0.10	0.24	0.37	0.67	0.64	0.68	0.13
6	1.63	1.96	3.09	2.63	3.74	3.75	4.45	0.13
9	4.66	6.21	9.00	8.49	9.13	10.97	11.67	0.13
12	11.16	13.49	17.91	17.44	15.81	23.14	21.06	0.13
18	18.72	23.01	29.79	30.70	23.86	32.65	33.16	0.13
21	28.83	33.67	42.46	42.32	37.17	44.24	47.50	0.13
24	36.22	44.35	60.45	52.38	52.98	59.89	61.65	0.96
27	42.92	53.80	73.92	66.22	66.49	74.07	76.50	0.96
30	50.35	59.90	82.71	76.56	78.57	82.66	87.03	0.96
33	56.95	66.63	89.85	84.40	88.74	92.48	94.52	0.96
36	62.85	74.13	95.11	90.09	96.04	96.41	99.84	1.89
42	69.33	79.56	96.07	93.15	98.84	99.38	103.56	1.89
48	76.30	83.45	96.74	94.96	99.85	100.30	106.30	1.89
54	81.78	87.34	97.55	96.55	100.73	101.17	107.03	2.46
72	85.84	89.74	97.79	97.64	102.38	102.85	109.66	2.47
84	87.65	90.43	98.02	98.72	103.14	103.67	110.25	2.47
120	87.65	90.43	98.02	98.72	103.14	103.67	110.25	2.47

หมายเหตุ Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml) ได้จาก %CH_4 (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก13 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	1.21	0.68	1.31	1.64	2.26	2.28	2.40	0.02
6	5.47	5.49	7.23	5.68	7.33	8.08	8.64	0.20
9	13.38	13.64	17.32	13.73	15.81	18.81	17.70	0.39
12	25.02	25.52	31.01	24.37	26.99	34.53	29.63	0.60
18	40.32	40.07	46.04	40.71	37.01	49.42	42.93	0.60
21	52.45	54.89	59.99	57.56	52.77	64.09	57.24	0.60
24	64.18	64.69	73.28	70.01	70.21	76.48	70.49	0.60
27	72.49	72.19	82.41	78.17	83.70	89.88	84.95	0.60
30	78.13	78.47	88.93	85.23	91.57	96.95	96.19	0.60
42	80.24	83.05	92.38	90.33	96.42	101.94	103.62	0.60
48	83.11	85.50	95.00	94.13	99.32	104.62	108.49	0.60
60	85.16	87.50	96.45	96.80	100.97	106.59	110.33	0.60
72	86.15	88.93	97.42	97.72	102.17	107.67	111.15	0.60
84	86.15	88.93	97.42	97.72	102.34	107.67	111.15	0.62
96	86.15	88.93	97.42	97.72	102.34	107.67	111.15	0.65
120	86.15	88.93	97.42	97.72	102.34	107.67	111.15	0.65

หมายเหตุ Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml) ได้จาก $\%CH_4$ (จากGC/TCD) X gas (จาก water displacement) ที่สภาวะ room temperature และเปลี่ยนให้เป็นที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก14 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	2.38	6.16	5.63	7.11	7.20	6.67	6.53	0.00
9	3.90	12.17	11.18	13.95	15.02	14.62	15.46	0.00
12	7.05	17.03	17.99	23.04	25.26	23.73	27.36	0.00
18	10.15	22.53	23.30	30.12	32.55	31.40	35.61	0.00
21	13.79	28.53	29.02	37.15	39.68	38.88	42.58	0.00
24	18.18	34.15	35.10	43.11	45.41	45.43	48.96	0.00
27	25.23	42.24	42.99	51.53	53.64	53.55	55.75	0.00
30	27.29	44.71	45.91	54.84	57.15	57.18	61.37	0.00
33	30.14	47.57	49.46	58.64	60.83	59.99	66.37	0.00
36	30.54	48.21	50.48	59.85	62.02	61.57	70.06	0.00
42	36.06	53.74	57.64	66.65	68.73	68.58	76.11	0.00
48	48.90	69.34	74.08	80.63	83.36	83.52	90.59	0.25
51	55.06	76.12	81.45	86.90	88.27	88.45	95.10	0.25
54	62.26	83.46	88.22	91.88	94.21	93.19	100.14	0.69
57	67.20	88.57	94.48	96.99	98.90	97.61	104.50	0.98
60	71.46	91.74	100.14	102.62	103.72	102.29	107.58	1.15
66	75.51	95.42	106.08	107.70	108.94	107.63	111.30	1.39
72	87.79	105.71	118.55	119.82	120.55	118.47	120.04	2.04
90	90.49	107.93	120.85	121.83	122.16	120.69	122.15	2.23
96	92.31	109.08	122.48	123.63	123.50	122.06	123.55	2.33
108	93.84	110.32	123.91	124.72	124.32	123.28	124.75	2.43
120	94.65	110.93	124.83	125.24	124.72	124.12	125.45	2.47

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก15 ปริมาตรสะสมของ CH_4 ที่ผลิตได้ในเวลาต่างๆ ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4-7

Time (hour)	Accumulative CH_4 (ml at STP/100ml)							
	Initial pH of brewery wastewater							
	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	Control
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	16.46	18.79	16.20	21.37	23.18	22.69	23.06	0.17
9	22.05	25.49	23.58	29.70	32.14	31.42	32.17	0.17
12	30.63	34.88	33.82	39.85	42.36	42.18	43.08	0.17
18	46.40	51.22	53.35	58.37	60.42	60.86	63.62	0.17
21	50.90	57.94	59.65	65.85	67.42	67.55	70.82	0.17
24	61.06	67.92	68.94	76.54	76.90	77.67	80.79	0.17
27	69.87	76.74	76.66	85.22	85.02	86.22	90.24	0.17
30	76.81	83.88	83.31	92.47	92.38	93.37	97.28	0.19
33	79.91	87.47	90.73	95.25	96.42	96.73	100.94	0.19
36	81.58	89.73	92.72	97.85	99.08	99.25	102.84	0.19
42	85.23	93.27	95.94	102.61	102.74	102.63	107.21	0.19
48	89.51	97.77	99.96	108.71	108.64	108.85	113.68	0.19
51	92.33	100.76	103.44	111.86	111.98	112.91	117.55	0.19
54	93.82	103.46	106.25	114.42	114.49	115.65	120.06	0.30
57	94.10	103.59	106.67	114.42	114.49	115.99	120.12	0.30
60	95.00	104.62	107.49	115.35	115.42	117.10	120.93	0.30
66	95.00	104.62	107.49	115.35	115.42	117.10	120.93	0.30
72	97.37	106.08	109.48	116.83	117.74	119.52	123.67	0.30
90	100.46	108.31	111.39	117.79	119.60	121.80	125.41	0.30
96	102.49	110.38	112.98	118.93	120.94	123.22	126.89	0.30
108	105.98	112.63	115.46	121.24	122.97	125.77	129.67	0.30
120	105.98	112.67	115.46	121.24	122.97	125.77	129.67	0.30

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก16 ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

Day	pH	$\%H_2$	$\%CH_4$	Substrate solution
1	4.93	4.89	35.97	Brewery wastewater 500 ml
2	5.02	-	-	Brewery wastewater 500 ml
3	5.30	1.60	37.39	Brewery wastewater 500 ml
5	5.07	-	-	Brewery wastewater 500 ml
6	5.30	1.64	49.08	Brewery wastewater 500 ml
9	5.34	0.73	52.31	Brewery wastewater 500 ml
0	5.24	-	-	Brewery wastewater 500 ml
11	5.51	1.75	56.72	Brewery wastewater 500 ml
12	5.54	-	-	Brewery wastewater 500 ml
13	5.00	1.98	58.44	Brewery wastewater 500 ml
14	4.90	-	-	Brewery wastewater 500 ml
16	5.07	2.49	60.60	Brewery wastewater 500 ml
17	5.18	-	-	Brewery wastewater 500 ml
19	5.34	0.24	69.30	Brewery wastewater 500 ml
23	5.85	0.03	69.71	Brewery wastewater 500 ml
24	5.90	-	-	Brewery wastewater 500 ml
25	5.99	0.03	70.95	Brewery wastewater 500 ml
26	6.07	0.03	70.53	Brewery wastewater 500 ml
29	6.41	-	-	Brewery wastewater 500 ml
30	6.33	0.04	70.95	Brewery wastewater 500 ml

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก17 ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี acid treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

Day	pH	$\%H_2$	$\%CH_4$	Substrate solution
1	4.81	0.23	43.14	Brewery wastewater 500 ml
2	4.86	-	-	Brewery wastewater 500 ml
3	5.16	0.17	44.20	Brewery wastewater 500 ml
5	5.05	0.05	46.80	Brewery wastewater 500 ml
8	5.36	-	-	Brewery wastewater 500 ml
9	5.59	0.08	49.07	Brewery wastewater 500 ml
10	5.45	-	-	Brewery wastewater 500 ml
11	5.74	-	-	Brewery wastewater 500 ml
12	5.93	0.09	58.75	Brewery wastewater 500 ml
13	6.44	-	-	Brewery wastewater 500 ml
17	6.34	0.12	65.76	Brewery wastewater 500 ml
20	6.28	0.13	70.68	Brewery wastewater 500 ml
22	6.18	0.11	72.48	Brewery wastewater 500 ml
24	6.24	-	-	Brewery wastewater 500 ml
25	6.33	-	-	Brewery wastewater 500 ml
26	6.49	0.06	74.92	Brewery wastewater 500 ml
29	6.58	0.14	75.12	Brewery wastewater 500 ml
30	6.68	-	-	Brewery wastewater 500 ml

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก18 ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี base treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

Day	pH	$\%H_2$	$\%CH_4$	Substrate solution
1	5.26	0.09	42.36	Brewery wastewater 500 ml
2	5.22	-	-	Brewery wastewater 500 ml
3	5.26	0.13	48.80	Brewery wastewater 500 ml
5	5.21	-	-	Brewery wastewater 500 ml
8	5.41	0.13	56.65	Brewery wastewater 500 ml
9	5.44	-	-	Brewery wastewater 500 ml
10	5.09	0.28	59.21	Brewery wastewater 500 ml
11	5.42	-	-	Brewery wastewater 500 ml
13	5.49	0.02	64.76	Brewery wastewater 500 ml
16	5.31	-	-	Brewery wastewater 500 ml
17	5.54	0.03	68.76	Brewery wastewater 500 ml
19	5.46	-	-	Brewery wastewater 500 ml
20	6.12	0.03	70.14	Brewery wastewater 500 ml
24	6.39	0.04	72.20	Brewery wastewater 500 ml
26	6.35	0.04	71.90	Brewery wastewater 500 ml
29	6.64	0.03	74.56	Brewery wastewater 500 ml
30	6.53	-	-	Brewery wastewater 500 ml

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก19 ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี chloroform treatment โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

Day	pH	$\%H_2$	$\%CH_4$	Substrate solution
1	6.71	0.06	51.89	Brewery wastewater 500 ml
2	6.56	-	-	Brewery wastewater 500 ml
3	6.55	0.10	53.12	Brewery wastewater 500 ml
4	6.38	-	-	Brewery wastewater 500 ml
7	6.67	0.10	59.80	Brewery wastewater 500 ml
8	6.48	-	-	Brewery wastewater 500 ml
9	6.51	0.18	59.80	Brewery wastewater 500 ml
10	6.45	0.10	62.53	Brewery wastewater 500 ml
13	6.59	0.08	67.26	Brewery wastewater 500 ml
15	6.51	-	-	Brewery wastewater 500 ml
16	6.53	0.07	71.06	Brewery wastewater 500 ml
17	6.49	-	-	Brewery wastewater 500 ml
18	6.52	0.05	73.44	Brewery wastewater 500 ml
19	6.55	-	-	Brewery wastewater 500 ml
20	6.22	0.02	74.96	Brewery wastewater 500 ml
21	6.59	-	-	Brewery wastewater 500 ml
22	6.73	0.02	75.94	Brewery wastewater 500 ml
23	6.63	-	-	Brewery wastewater 500 ml
24	6.65	0.03	77.55	Brewery wastewater 500 ml
25	6.61	0.03	76.80	Brewery wastewater 500 ml
28	6.79	-	-	Brewery wastewater 500 ml
29	6.66	0.03	75.94	Brewery wastewater 500 ml
30	6.59	-	-	Brewery wastewater 500 ml

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก20 ปริมาณ H_2 และ CH_4 ที่เวลาต่างๆที่เกิดจากแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี freezing and thawing โดยการเดินระบบแบบ semi-continuous operation

Day	pH	$\%H_2$	$\%CH_4$	Substrate solution
1	6.56	0.21	67.04	Brewery wastewater 500 ml
2	6.47	0.15	75.17	Brewery wastewater 500 ml
3	6.35	-	-	Brewery wastewater 500 ml
4	6.28	0.07	75.68	Brewery wastewater 500 ml
7	6.67	0.17	77.16	Brewery wastewater 500 ml
8	6.41	-	-	Brewery wastewater 500 ml
9	6.43	0.05	82.25	Brewery wastewater 500 ml
10	6.49	0.09	78.09	Brewery wastewater 500 ml
13	6.6	0.16	77.87	Brewery wastewater 500 ml
15	6.56	0.11	78.23	Brewery wastewater 500 ml
16	6.49	-	-	Brewery wastewater 500 ml
17	6.47	0.04	76.80	Brewery wastewater 500 ml
18	6.54	-	-	Brewery wastewater 500 ml
19	6.54	0.03	75.05	Brewery wastewater 500 ml
20	6.52	-	-	Brewery wastewater 500 ml
21	6.58	0.04	75.61	Brewery wastewater 500 ml
22	6.57	-	-	Brewery wastewater 500 ml
23	6.51	0.04	76.80	Brewery wastewater 500 ml
24	6.64	-	-	Brewery wastewater 500 ml
25	6.36	0.03	75.05	Brewery wastewater 500 ml
28	6.78	0.02	76.80	Brewery wastewater 500 ml
29	6.51	0.00	75.61	Brewery wastewater 500 ml
30	6.61	-	-	Brewery wastewater 500 ml

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

วิธีการคำนวณค่าต่างๆ ในการศึกษา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ตัวอย่างการคำนวณที่ใช้งานวิจัยนี้

การคำนวณก๊าซที่สภาวะมาตรฐาน โดยแสดงการคำนวณการเปลี่ยนปริมาตรก๊าซที่สภาวะการทดลอง (room condition) เป็นปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐาน (standard temperature and pressure, STP)

สภาวะมาตรฐาน (STP) คือสภาวะที่อุณหภูมิ 0° C (273.15 K) และที่ความดัน1 บรรยากาศ (1.013×10^5 $\frac{N}{m^2}$)

สภาวะการทดลอง คือ สภาวะที่อุณหภูมิห้อง 30-31° C เฉลี่ย 30° C และที่ความดันของก๊าซในระบบเก็บก๊าซ ซึ่งใช้สมการ (1) ในการคำนวณ

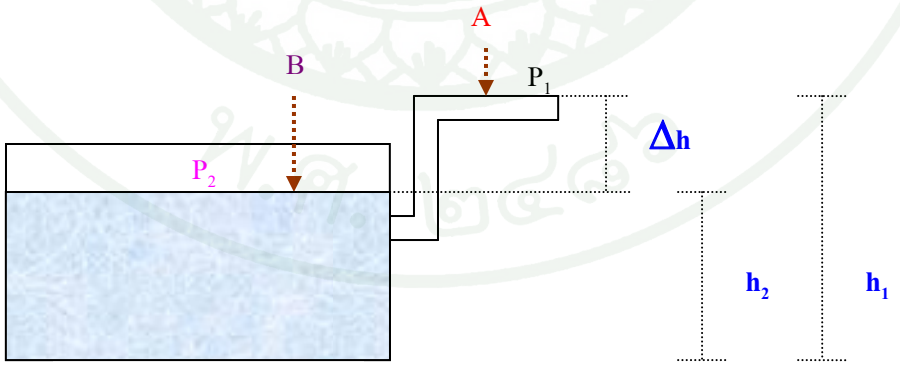
จาก $\frac{P_1V_1}{T_1} = \frac{P_2V_2}{T_2}$ (1)

เมื่อ P_1 , P_2 = ความดันก๊าซที่ STP และที่สภาวะการทดลอง ตามลำดับ

T_1 , T_2 = อุณหภูมิ (K) ที่ STP และที่สภาวะการทดลอง ตามลำดับ

V_1 , V_2 = ปริมาตรก๊าซที่ STP และที่สภาวะการทดลอง ตามลำดับ

สามารถคำนวณเปลี่ยนปริมาตรก๊าซที่สภาวะทดลอง เป็นปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐาน ดังนี้



Gas collection system

ภาพผนวกที่ ข1 ความดันของก๊าซในระบบเก็บก๊าซของการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากภาพสามารถหา P_2 ได้ดังนี้

ความดันที่จุด A = ความดันที่จุด B

$$P_1 + \rho g h_1 = P_2 + \rho g h_2$$

$$P_2 = P_1 + \rho g (h_1 - h_2) \quad (2)$$

โดยที่ P_1 = 1.013×10^5 N / m^2 หรือ 1 atm.

ρ = 1,000 Kg/m^3

g = 9.8 m/s^2

$(h_1 - h_2)$ = ความสูงของก๊าซที่อยู่ในระบบเก็บก๊าซ (m.) ได้จากการทดลอง

การคำนวณ โดยค่า $(h_1 - h_2)$ ความสูงของก๊าซที่อยู่ในระบบเก็บก๊าซวัดได้ 1.6 cm. หรือ 1.6×10^{-2} m. และอุณหภูมิเฉลี่ย 30° C หาความดันที่จุด B โดยการ แทนค่าใน (2) จะได้

$$P_2 = (1.013 \times 10^5) + (1{,}000 \times 9.8 \times 1.6 \times 10^{-2})$$

$$= 101{,}456.8 \text{ N / } m^2$$

หาค่าความสัมพันธ์ระหว่าง V_1 และ V_2 จากสมการที่ (1)

$$\frac{P_1 V_1}{T_1} = \frac{P_2 V_2}{T_2} \quad (1)$$

โดยที่ P_1 = ความดันที่ STP (101,300.0 N / m^2)

P_2 = ความดันที่สภาวะการทดลอง (101,456.8 N / m^2)

T_1 = อุณหภูมิ (K) ที่ STP (273.15 K)

T_2 = อุณหภูมิ (K) ที่สภาวะการทดลอง (273.15 + 30 K)

V_2 = ปริมาตรก๊าซที่สภาวะการทดลอง (V_2 ml)

แทนค่าหา V_1 ปริมาตรก๊าซที่ STP

$$V_1 = \frac{P_2 V_2 T_1}{P_1 T_2}$$

$$V_1 = \frac{101{,}456.8 \times V_2 \times 273.15}{101{,}300 \times (273.15 + 30)}$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

V_1 = 0.8878 V_2 ml

เพราะฉะนั้นในการเปลี่ยนปริมาตรก๊าซที่สภาวะการทดลอง เป็นปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐานนั้นทำได้โดยคูณค่า 0.8878 กับปริมาตรก๊าซที่สภาวะทดลองในหน่วย ml

1.1 การคำนวณก๊าซที่สภาวะมาตรฐาน

สมมติให้ข้อมูลที่บันทึกได้จากการทดลองมีค่าดังตารางผนวกที่ ข1

ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาตรก๊าซทั้งหมดที่ได้จากการทดลอง (total gas, ml) และปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐานที่ได้จากการคำนวณ (total gas, ml at STP)

Time (hr)	Total gas (ml)	Total gas (ml at STP)
0	0.0	0.00
3	10.6	9.41
6	15.6	13.86

Total gas (ml at STP) ได้จากการเก็บก๊าซโดยการแทนที่น้ำ (water displacement)

เป็นการเปลี่ยนปริมาตรก๊าซที่สภาวะการทดลอง (ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30°C) ให้เป็นปริมาตรก๊าซที่สภาวะมาตรฐาน (STP) ทำได้โดยคูณค่า 0.8878 (ที่ได้จากการพิจารณาระบบที่อธิบายไว้ข้างต้น) กับปริมาตรก๊าซที่สภาวะทดลอง

ตัวอย่างการคำนวณ Total gas (ml at STP) ที่ชั่วโมงที่ 3, 6

3 hour: Total gas ที่สภาวะการทดลอง 10.6 ml Total gas at STP =10.6 x 0.8878
= 9.41 ml

6 hour: Total gas ที่สภาวะการทดลอง 15.6 ml Total gas at STP =15.6 x 0.8878
= 13.86 ml

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การคำนวณ H_2 (ml at STP)

คำนวณได้จาก $\%H_2$ เทียบกับ Total gas (ml at STP) ทั้งหมดที่ระบบผลิตได้ ($\%H_2$ ได้มาจากการเก็บตัวอย่างก๊าซในระบบแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC/TCD) ผลการวิเคราะห์จากเครื่อง GC แสดงผลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้นี้ไปเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของก๊าซมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ก๊าซไฮโดรเจนที่มีอยู่ในก๊าซชีวภาพที่ระบบผลิตได้ ในการศึกษานี้ใช้ก๊าซไฮโดรเจน 30% เป็นก๊าซมาตรฐาน มีพื้นที่ใต้กราฟเท่ากับ 1,790,801)

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาตร H_2 ที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

Time (hr)	Total gas (ml at STP)	$\%H_2$	H_2 (ml at STP)
0	0.00	0	0.00
3	9.41	0.32	0.03
6	13.86	0.25	0.03

ตัวอย่างการคำนวณ H_2 (ml at STP) ที่ชั่วโมงที่ 3, 6

3 hour: Total gas (at STP) 9.41 ml H_2 (at STP) $\frac{9.41 \times 0.32}{100} = 0.03$ ml

6 hour: Total gas (at STP) 13.86 ml H_2 (at STP) $\frac{13.86 \times 0.25}{100} = 0.03$ ml

1.3 การคำนวณ Accumulative H_2 (ml at STP)

คำนวณได้จากผลรวมของ H_2 (ml at STP) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่เก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างการคำนวณ Accumulative H_2 (ml at STP) ชั่วโมงที่ 3, 6

3 hour: ผลรวมของ H_2 (ml at STP) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 3

Accumulative H_2 (ml at STP) = 0.00 + 0.03

= 0.03 ml

6 hour: ผลรวมของ H_2 (ml at STP) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6

Accumulative H_2 (ml at STP) = 0.00 + 0.03 + 0.03 = 0.06 ml

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ข3 ปริมาตร H_2 สะสมที่สภาวะมาตรฐาน (STP)

Time (hr)	Total gas (ml at STP)	$\%H_2$	H_2 (ml at STP)	Accumulative H_2 (ml at STP)
0	0.00	0	0.00	0.00
3	9.41	0.32	0.03	0.03
6	13.86	0.25	0.03	0.06

1.4 การคำนวณการลดลงของของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย COD degraded (mg/l))

COD degraded (mg/l) คำนวณได้จากผลต่างระหว่าง Initial COD (mg/l) และ Final COD (mg/l) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตัวอย่างการคำนวณ COD degraded (mg/l) ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4

Initial COD (mg/l) = 6050

Final COD (mg/l) = 1210

COD degraded (mg/l) = 6050 – 1210

= 4840 mg/l

1.5 การคำนวณความสามารถของระบบในการกำจัดของเสียอินทรีย์ในน้ำเสีย

% COD removal คำนวณได้จาก COD degraded (mg/l) เมื่อสมมติให้ Initial COD มีค่า 100 mg/l

ตัวอย่างการคำนวณ % COD removal ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4

Initial COD 6050 mg/l COD degraded 4840 mg/l

ถ้า Initial COD 100 mg/l COD removal $\frac{100 \times 4840}{6050} = 80.0\%$

ดังนั้น %COD removal มีค่าเท่ากับ 80.0%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.6 การคำนวณผลผลิตก๊าซชีวภาพที่ระบบผลิตได้ (Biogas yield, ml STP/g COD degraded)

H_2 yield, ml STP/g COD degraded คำนวณได้จากสัดส่วนระหว่าง accumulative biogas (ml at STP) เมื่อสิ้นสุดการทดลองกับ COD degraded (g)

ตัวอย่างการคำนวณ H_2 yield, ml STP/g COD degraded ของแบคทีเรียที่ผ่านการคัดกรองด้วยวิธี heat treatment ที่ pH เริ่มต้นของน้ำเสีย 4

Accumulative H_2 (ml at STP) = 0.25 (serum 100 ml)

COD degraded (mg/l) = 4840

$$H_2 \text{ yield} = \frac{(1000 \times 0.25)}{100} \times \frac{1000}{4840}$$

= 0.51 ml STP/g COD degraded

2. การวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซไฮโดรเจนโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ (Gas chromatography; GC/TCD)

2.1 เก็บตัวอย่างก๊าซโดยบรรจุในหลอด venoject ขนาด 10 ml

2.2 ดูดตัวอย่างก๊าซปริมาตร 1 ml จากหลอด venoject มาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC Gas chromatography (GC/TCD) Model Shimadzu รุ่น GC-14B ที่มีเครื่องตรวจวัด (detector) แบบ Thermal Conductivity Detector (TCD)

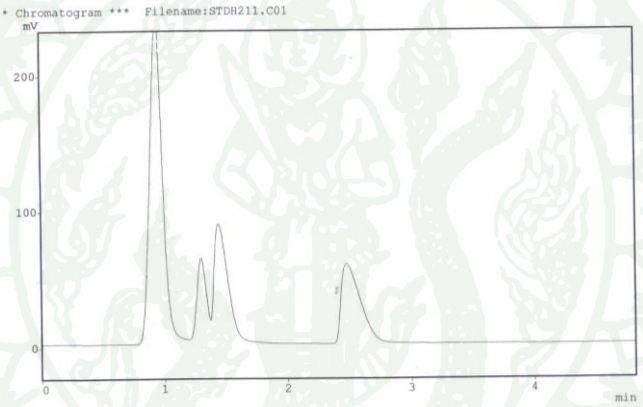
- Column oven 40 °C
- Injection port 60 °C
- Detector 70 °C
- Current 70
- ก๊าซอาร์กอน (Ar) เป็นก๊าซตัวพา (carrier gas)
- ใช้ standard gas เป็นไฮโดรเจน (hydrogen, H_2) 30%, (methane, CH_4) 30% และ balance ด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide, CO_2)

2.3 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบก๊าซ โดยเปรียบเทียบจากพื้นที่ใต้กราฟ standard gas และพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างก๊าซที่วิเคราะห์ได้

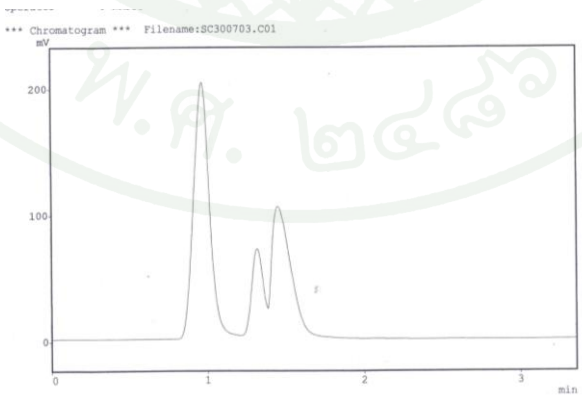
2.4 รายงานผลการวิเคราะห์องค์ประกอบก๊าซในหน่วยเปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ ข2 เครื่อง Gas chromatography (GC/TCD) Model Shimadzu รุ่น GC-14



ภาพผนวกที่ ข3 chromatogram ของ standard gas (H_2 และ CH_4)



ภาพผนวกที่ ข4 chromatogram ของ H_2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การวิเคราะห์ปริมาณความสกปรกสารอินทรีย์ในรูป COD โดย Dichromate reflux's method

1. เครื่องมือ

1.1 Reflux apparatus ประกอบด้วย round bottom flask ขนาด 250 ml มีคอทำด้วย Ground joint รับกับ Condenser ซึ่งมีข้อต่อ Ground joint เช่นกัน

1.2 Hot plate

1.3 Burette

2. สารเคมี

2.1 Standard potassium dichromate solution 0.25 N ละลาย $K_2Cr_2O_7$ (primary standard grade) 12.259 กรัม (ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 103°c เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ในน้ำกลั่นและเจือจางจนได้ปริมาตร 1000 ml

2.2 Sulfuric acid reagent เติม $AgSO_4$ 22 กรัม ลงในกรด H_2SO_4 เข้มข้น 4 กิโลกรัมหรือ 2.71 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 ถึง 2 วัน เพื่อให้ละลายและผสมจนเข้ากัน

2.3 Standard ferrous ammonium sulfate titrant (FAS) 0.1 N ละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 39 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 20 ml ปล่อยให้เย็นแล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 1000 ml ให้ทำ Standardize สารละลายนี้ทุกวันที่ใช้ โดยนำไปไทเทรตกับสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ดังนี้

เจือจาง 10 ml สารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ จนเป็น 100 ml เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 30 ml ปล่อยให้เย็นและไทเทรตด้วยไทแทรนท์ FAS โดยใช้ Ferroin indicator solution 2-3 หยด

$$\text{โมลาร์ของ FAS} = \frac{\text{ml } K_2Cr_2O_7 \times 0.25}{\text{ml FAS ที่ใช้}}$$

2.4 Ferroin indicator solution ละลาย 1 – 10 Phenanthroline monohydrate 1.485 กรัม และ $FeSO_4.7H_2O$ 98 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางจนมีปริมาตรเป็น 100 ml

2.5 Mercuric sulfate $HgSO_4$ crystals

3. วิธีการทดลอง

3.1 นำสารละลายตัวอย่างมา 20 ml หรือ สารละลายตัวอย่างที่น้อยกว่า 20 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 20 ml ใส่ลงใน round bottom flask

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 เติม Ag_2SO_4 . H_2SO_4 30 ml ลงใน round bottom flask

3.3 เติม $HgSO_4$ 0.4 g ลงใน round bottom flask

3.4 เติม glass bead ลงใน round bottom flask

3.5 เติม สารละลาย0.25 N $K_2Cr_2O_7$ 10.00 ml แล้วนำ round bottom flask ไปต่อกับ condenser เปิดน้ำเย็นให้ไหลผ่าน condenser แล้วรีฟลักซ์นาน 2 ชั่วโมง

3.6 ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรประมาณ 2 เท่าของปริมาตรเดิม หยด Ferroin indicator 2-3 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลาย FAS จนเมื่อถึงจุด end point เมื่อมีการเปลี่ยนจากสีฟ้าอมเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง

3.7 blank ทำเหมือนเดิมแต่เปลี่ยนจากสารละลายตัวอย่างเป็นน้ำกลั่น 20 ml

3.4 การคำนวณ

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

เมื่อ COD คือค่า Chemical Oxygen Demand ในหน่วย mg/l

a = ml FAS ที่ใช้ในการ Titrate blank

b = ml FAS ที่ใช้ในการ Titrate ตัวอย่าง

N = Normality FAS

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ–นามสกุล	นางสาวชไมพร สมจิตต์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	7 พฤษภาคม พ.ศ. 2530
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ.(วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์