

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเปลือกสับประดเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจน โดยการหมักแบบไม่ใช้อากาศ

Optimal Pretreatment of Pineapple Waste for Hydrogen Production by Anaerobic Fermentation

สิริพร เชนเจริญ¹ ประไพพิศ ชัยรัตนมโนกร¹ และ สมเกียรติ เชนกาญจนารักษ์²

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

²ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บทคัดย่อ

ของเสียจากสับประดเป็นชีวมวลชนิดลิกโนเซลลูโลสซึ่งยากต่อการที่จุลินทรีย์จะย่อยเพื่อผลิตเป็นแก๊สไฮโดรเจนโดยตรง ดังนั้นจึงต้องมีการปรับสภาพเพื่อกำจัดลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเปลือกสับประดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและหมักแบบไม่ใช้อากาศเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยปมที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และเติมกากตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการต้ม นาน 60 นาที ออกแบบการวิจัยด้วยแผนการทดลองทางกึ่งและการตอบสนองที่พื้นผิวพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดของแผนการทดลองทางกึ่ง ได้แก่ การปรับสภาพเปลือกสับประดที่ปริมาณของแข็งร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และไฮโดรไลซิสที่ปริมาณของแข็งร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 FPUต่อกรัมเปลือกสับประดแห้ง ซึ่งประเมินปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดได้เท่ากับ 2,639.8 มิลลิลิตรต่อลิตร และการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเปลือกสับประดโดยการตอบสนองที่พื้นผิว ประเมินปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ 2,303 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยปรับสภาพเปลือกสับประดที่ปริมาณของแข็งร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักและไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 7 FPUต่อกรัมเปลือกสับประดแห้ง และกรดไขมันอินทรีย์ระเหยง่ายที่เกิดขึ้นหลังจากการหมักชนิดหลัก ได้แก่ กรดบิวทีริกและกรดอะซิติก

คำสำคัญ : การปรับสภาพ แก๊สไฮโดรเจน การหมัก เปลือกสับประด

Abstract

Pineapple waste (PW) is a lignocellulosic biomass that is difficult to use directly for hydrogen production. Therefore, the pineapple waste should be pretreated to remove lignin and hemicellulose, as well as to reduce cellulose crystallinity. The research objective was to investigate the optimal pretreatment with NaOH and enzymatic hydrolysis by Taguchi experimental design and response surface methodology (RSM). The PW pretreated with various conditions was fermented at 55°C with seed sludge pretreated at 100°C for 60 min. The optimal pretreatment estimated from the design was the PW at solid content of 30% (w/v) soaked in 5% (w/v) NaOH solution at 100°C for 15 minutes, and then the pretreated PW at solid content of 5% (w/v) was hydrolyzed with cellulase at 5 FPU/gPW. This maximum cumulative H₂ production estimated by the design at 2,639.8 ml/L was achieved. Optimization of pretreatment condition from Taguchi experimental design was further investigated by RSM. The maximum cumulative H₂ production of 2,303 ml/L was estimated at solid content 30% (w/v) of PW soaked in 5% (w/v) NaOH solution and hydrolyzed with cellulase at 7 FPU/gPW. Moreover, the main volatile fatty acids (VFAs) were butyric acid and acetic acid in the metabolic solution.

Keywords : pretreatment, hydrogen, fermentation, pineapple waste

1. บทนำ

พลังงานหลักที่ทั่วโลกใช้ในปัจจุบันมาจากเชื้อเพลิงฟอสซิลซึ่งเป็นเชื้อเพลิงที่ใช้แล้วหมดไป ส่งผลให้เกิดการขาดแคลนพลังงานในอนาคต อีกทั้งการสันดาปของเชื้อเพลิงฟอสซิลเกิดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจก (คาร์บอนไดออกไซด์) ซึ่งก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน ปัจจุบันจึงมีแนวคิดในการศึกษาการผลิตเชื้อเพลิงทดแทนที่เป็นพลังงานสะอาดขึ้น ได้แก่เชื้อเพลิงไฮโดรเจน เนื่องจากการสันดาปไฮโดรเจนให้ผลผลิตเป็นน้ำเท่านั้น โดยเชื้อเพลิงไฮโดรเจนสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบสองแหล่งหลัก คือ เชื้อเพลิงฟอสซิล จำพวกก๊าซธรรมชาติ ถ่านหิน น้ำมัน และเชื้อเพลิงหมุนเวียน เช่น ชีวมวล และน้ำ เป็นต้น การผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่น่าสนใจแบบหนึ่งคือการใช้ชีวมวลเป็นวัตถุดิบในการผลิต เนื่องจากชีวมวลมีองค์ประกอบหลักคือเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วยหน่วย

ของน้ำตาลกลูโคสเรียงต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 ไกลโคซิดิก จึงสามารถใช้เป็นวัตถุดิบให้จุลินทรีย์ย่อยเป็นอาหารเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้ (Urbaniec and Grabarczyk, 2009) แต่เนื่องจากเซลลูโลสมีโครงสร้างในลักษณะผลึกที่เป็นระเบียบ (crystalline) อีกทั้งชีวมวลมีองค์ประกอบของลิกนินที่มีความแข็งแรง ทำให้จุลินทรีย์ย่อยชีวมวลเป็นแก๊สไฮโดรเจนค่อนข้างยากจึงต้องมีการปรับสภาพก่อนเพื่อละลายลิกนินและทำให้เซลลูโลสบวมตัวง่ายต่อการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (Mosier, 2005) การปรับสภาพชีวมวลด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถละลายลิกนินและทำให้เซลลูโลสบวมตัวได้ (Hendriks and Zeeman, 2009) เช่น การศึกษาของ (Ozkan, 2011) พบว่าเมื่อปรับสภาพหัวบีทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับความ

ร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 12 นาน 30 นาที ส่งผลให้ค่าความต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ละลายได้ (sCOD ; soluble chemical oxygen demand) เพิ่มขึ้น และให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ 115.6 มิลลิลิตรต่อกรัม ความต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ละลายได้

นอกจากนี้การออกแบบการทดลองยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการประเมินค่าที่เหมาะสมของปัจจัยการทดลองต่างๆ เช่น การออกแบบการทดลองโดยการตอบสนองที่พื้นผิว (RSM ; Response Surface Methodology) ซึ่งสามารถหาระดับของปัจจัยเชิงปริมาณที่เหมาะสม (optimum value) ที่จะทำให้ได้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด หรือสามารถเลือกจุดที่เหมาะสมจากผลตอบสนองหลายๆค่าได้ โดยจากการศึกษาของ Xing, 2011 พบว่าสามารถประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสใบและก้านข้าวโพดด้วยเอนไซม์โดยการตอบสนองที่พื้นผิวเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด โดยมีอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 205.5 มิลลิลิตรต่อกรัม สารอินทรีย์ระเหยง่ายทั้งหมด

งานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้ประโยชน์เปลือกสับปะรดซึ่งเป็นชีวมวลเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำผลไม้และผลไม้กระป๋อง โดยการหมักแบบไม่ใช้อากาศเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจน โดยมุ่งเน้นที่การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกสับปะรดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

2. วัตถุประสงค์

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเปลือกสับปะรดเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยการหมักแบบ

ไม่ใช้อากาศด้วยแผนการทดลองทางสถิติและการตอบสนองที่พื้นผิว

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์คุณสมบัติของเปลือกสับปะรด

3.1.1 เก็บตัวอย่างเปลือกสับปะรดซึ่งเป็นของเสียจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้และผลไม้กระป๋อง (บริษัท มาลีสามพราน จำกัด) นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C นาน 48 ชั่วโมง และบดให้ละเอียด

3.1.2 วิเคราะห์คุณสมบัติของเปลือกสับปะรด ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน (TKN: Total Kjeldahl Nitrogen) และปริมาณฟอสฟอรัส

3.2 สภาวะการหมักในขั้นตอนการปรับสภาพเปลือกสับปะรด

หมักโดยใช้เปลือกสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพแล้วน้ำหนักแห้งร้อยละ 1 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 40 ต่อ 1 ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นในการหมักเท่ากับ 5.5 ปริมาณของแข็งระเหยง่ายของตะกอนจุลินทรีย์ 10 กรัมต่อลิตร ตะกอนจุลินทรีย์ปรับสภาพก่อนการใช้หมักโดยต้มเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0 ใส่ในขวดแก้วขนาด 125 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวอย่าง 85 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยจุกยาง (septum) และฟาลูมิเนียม ฟันแก๊สอาร์กอน นาน 5 นาที และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เก็บตัวอย่างแก๊สเพื่อวัดองค์ประกอบของแก๊สด้วยเครื่อง Gas Chromatograph และวัดปริมาตรด้วยเข็มฉีดยาตามช่วงเวลาการศึกษา

เก็บตัวอย่างสารละลายเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดย DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) วิเคราะห์กรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile fatty acid) ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวทีริก โดยเครื่อง gas chromatograph ตามช่วงเวลาที่ศึกษา

3.3 ศึกษาการปรับสภาพเปลือกสับปะรดและการไฮโดรไลซิสที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

3.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกสับปะรดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนด้วยแผนการทดลองทางสถิติ เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเบื้องต้น

3.3.2 จากผลการศึกษาสภาวะการปรับสภาพเปลือกสับปะรดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่มีผลต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดต่างๆ โดยแผนการทดลองทางสถิติแล้ว ศึกษาการประเมินจุดที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยวิธีตอบสนองที่พื้นที่ผิว (RSM : Response surface methodology) เพื่อค่าในแต่ละปัจจัยที่เลือกมีความละเอียดและเหมาะสมมากขึ้นโดยพิจารณาจากจุดสูงสุดที่ได้

4. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของเปลือกสับปะรดที่ผ่านการอบแห้งและบดแล้วแสดงดังตารางที่ 1

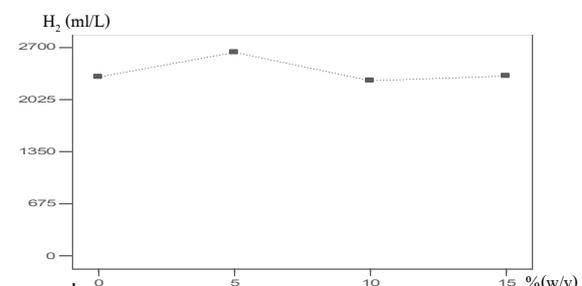
ตารางที่ 1 คุณสมบัติเบื้องต้นของเปลือกสับปะรด

คุณสมบัติ	(%)
ปริมาณความชื้น	5.90
ปริมาณเถ้า	6.00
ปริมาณคาร์บอน	52.26
ปริมาณไนโตรเจน	0.62
ปริมาณฟอสฟอรัส	0.18

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการปรับสภาพเปลือกสับปะรดโดยแผนการทดลองทางสถิติ

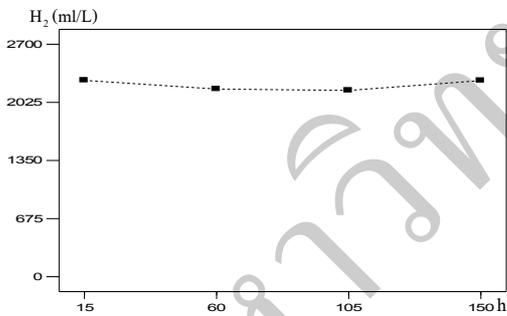
ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ (0.5 10 และ 15 โดยน้ำหนัก) เวลาในการปรับสภาพ (15 60 105 และ 150 นาที) ปริมาณของแข็งในการปรับสภาพร้อยละ (10 20 30 และ 40 โดยน้ำหนัก) ปริมาณเอนไซม์ (0 5 10 และ 15 FPUต่อกรัมเปลือกสับปะรดแห้ง) และปริมาณเปลือกสับปะรดในการไฮโดรไลซิสร้อยละ (5 10 15 และ 20 โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิการปรับสภาพ 100 องศาเซลเซียส และเวลาในการไฮโดรไลซิส 24 ชม.

จากการปรับสภาพและไฮโดรไลซิสเปลือกสับปะรดและหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนตามแผนการทดลองทางสถิติ ส่งผลให้ผลของปัจจัยและค่าต่างๆที่มีต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเป็นดังนี้



รูปภาพที่ 1 ผลของความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

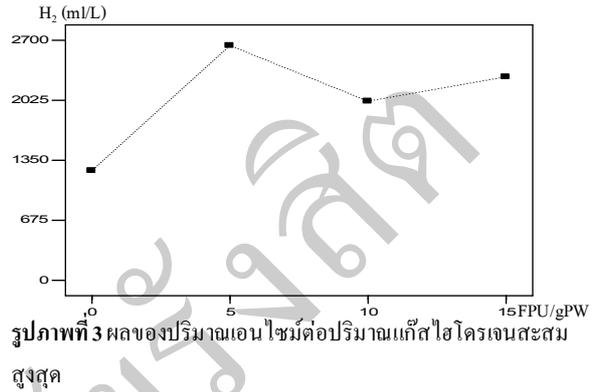
จากรูปภาพที่ 1 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ถึงร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ส่งผลให้เกิดแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนถึงร้อยละ 15 โดยน้ำหนักพบว่าปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดลดลง เนื่องจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีในปริมาณมากจะส่งผลต่อการสังเคราะห์ ATP NAD ปฏิกริยา redox ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และทำให้เกิดแรงดันออกซิเจนในเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้ตายได้ (Kim, 2009) แต่หากใช้ในปริมาณที่เหมาะสมไฮดรอกไซด์ไฮดรอกไซด์จะช่วยละลายลิกนินและทำให้เซลลูโลสสลายตัวง่ายต่อการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคสให้เป็นอาหารของจุลินทรีย์ (Ozkan, 2011)



รูปภาพที่ 2 ผลของเวลาในการปรับสภาพต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

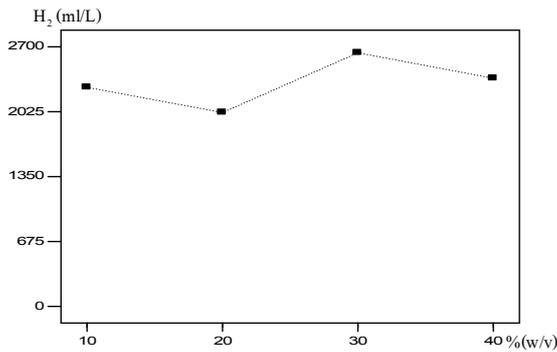
จากรูปภาพที่ 2 พบว่าเวลาในการปรับสภาพไม่ได้ส่งผลต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด เนื่องจากในการวิจัยมีการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่างๆและยังปรับสภาพโดยการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจมีความรุนแรงที่

เพียงพอต่อการละลายลิกนินและการทำให้เซลลูโลสสลายตัวแล้ว

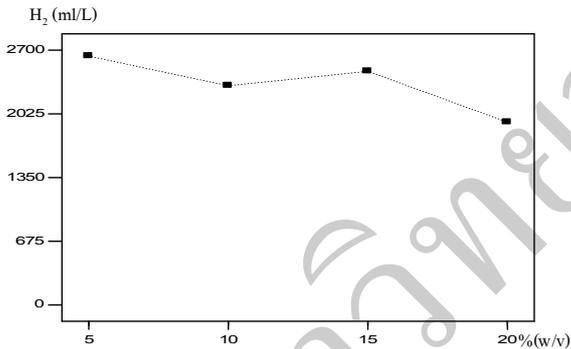


รูปภาพที่ 3 ผลของปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

จากรูปภาพที่ 3 พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสมีผลต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนอย่างมาก โดยชุดการทดลองที่ไม่ได้ใส่เอนไซม์ส่งผลให้มีปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดต่ำ เนื่องจากเอนไซม์เป็นตัวที่จะย่อยเซลลูโลสให้เกิดเป็นน้ำตาลกลูโคส เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 5 FPU/กรัมเปลือกสับประดะแห้ง ส่งผลให้เกิดผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด แต่เมื่อเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นกลับส่งผลให้ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนต่ำลง เนื่องจาก เมื่อปริมาณเอนไซม์สูงทำให้เกิดการย่อยเซลลูโลสได้ดีขึ้นและส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นสูงขึ้นแต่ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ส่งผลให้ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากอาจเกิดการยับยั้งจากการสะสมของกรดไขมันอินทรีย์ระเหยง่ายที่สูงกว่าจึงทำให้ค่าความเป็นกรดเบสต่ำ ซึ่งส่งผลให้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นยังส่งผลให้ความดันของแก๊สไฮโดรเจนสูงขึ้น (Hydrogen partial pressure) เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่สูง จึงส่งผลให้เกิดปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมต่ำ (Fan, 2004)



รูปภาพที่ 4 ผลของปริมาณของแข็งในการปรับสภาพต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด



รูปภาพที่ 5 ผลของปริมาณของแข็งในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

จากรูปภาพที่ 4 และ 5 แสดงถึงผลของปริมาณของแข็งในการปรับสภาพและการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด เนื่องจากปริมาณของแข็งในสารละลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของไฮดรอกไซด์ไอออนและเอนไซม์เซลลูเลส หากมีปริมาณของแข็งที่มากเกินไปจะส่งผลให้การเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายและเซลลูโลสต่ำ เนื่องจากปริมาณน้ำมีผลต่อการละลายและการเคลื่อนที่ของสาร

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติตามแผนการทดลองทางสถิติ

ปัจจัย	Sum of Squares	df	Mean Square	F-Value	p-value
model	8.141E+006	15	5.427E+005	3.77	0.0072
NaOH	7.587E+005	3	2.529E+005	1.76	0.1984
เวลาปรับสภาพ	5.822E+005	3	1.941E+005	1.35	0.2963
ของแข็งปรับสภาพ	1.185E+006	3	3.949E+005	2.74	0.0797
เอนไซม์	4.087E+006	3	1.362E+006	9.47	0.0009
ของแข็งไฮโดรไลซิส	1.528E+006	3	5.094E+005	3.54	0.0406

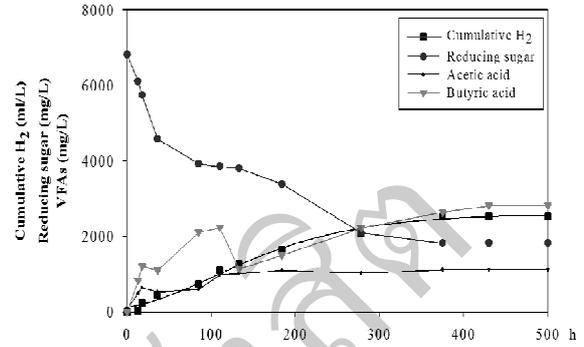
หมายเหตุ ค่า p น้อยกว่า 0.0500 แสดงว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

$$R^2 = 0.7904$$

สำหรับปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดที่ได้จากการออกแบบการทดลองด้วยทฤษฎีเท่ากับ 2,636.70 มิลลิลิตรต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 6.82 กรัมต่อลิตร และผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดต่อน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 386.62 มิลลิลิตรต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยมีสภาวะการปรับสภาพเปลือกสับประดัดนี้ ปริมาณเปลือกสับประดที่ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก เวลา 150 นาที หลังจากนั้นไฮโดรไลซิสที่ปริมาณเอนไซม์ 5 FPU ที่เปลือกสับประดร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก

จากผลการทดลองนำปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดที่ได้ประเมินด้วยแผนการทดลองทากูจิ เพื่อคาดการณ์สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเปลือกสับประดเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจน พบว่าสภาวะการปรับสภาพที่เหมาะสมได้แก่ การปรับสภาพที่ปริมาณเปลือกสับประดร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก เวลาการปรับสภาพ 15 นาที ปริมาณเอนไซม์ 5 FPU ในการไฮโดรไลซิสเปลือกสับประดร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะให้แก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ 2,639.80 มิลลิลิตรต่อลิตร และสามารถให้ผลผลิตน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 6.97 กรัมต่อลิตร โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ และปริมาณของแข็งในการไฮโดรไลซิส

กระบวนการหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจน จุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน น้ำตาลรีดิวซ์ เป็นแหล่งอาหารและผลิตภัณฑ์ไขมันอินทรีย์ระเหยง่าย (VFAs : กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิกและกรดบิวทีริก) จึงแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และ VFAs ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักกับปริมาณแก๊สไฮโดรเจนที่ผลิตได้สูงสุดดังรูปภาพที่ 6



รูปภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสม น้ำตาลรีดิวซ์ กรดอะซิติก และกรดบิวทีริก

จากรูปภาพที่ 6 ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมเพิ่มสูงขึ้นและน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน อีกทั้งกลไกการผลิตแก๊สไฮโดรเจนเกิด acetyl-CoA ซึ่งจะถูกลดเปลี่ยนเป็น VFAs โดยส่วนใหญ่จะเป็นกรดบิวทีริก ซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 2,819.40 มิลลิกรัมต่อลิตร

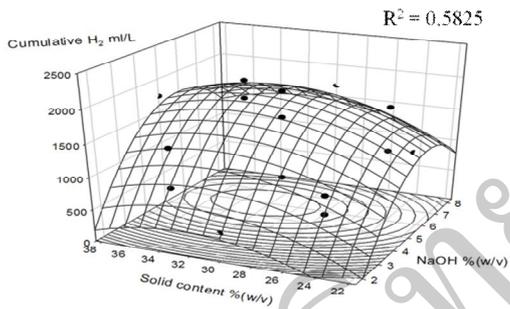
ผลการวิเคราะห์โดยแผนการทดลองทากูจิที่ได้ข้างต้น พิจารณาแนวโน้มของค่าที่เหมาะสมจากค่าแต่ละปัจจัยที่ให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด เพื่อเลือกปัจจัยและค่าที่เหมาะสมในการดำเนินการทดลองตามแผนการตอบสนองที่พื้นผิว (RSM : Response surface methodology) เพื่อให้ค่าที่ได้มีความละเอียดมากขึ้น ดังนี้

1. ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 3.5 และ 7 โดยน้ำหนัก
2. ปริมาณของแข็งในการปรับสภาพร้อยละ 25 30 และ 35 โดยน้ำหนัก
3. ปริมาณเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิส 3 7 และ 11 FPU

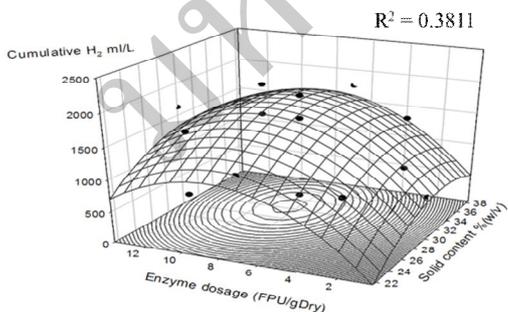
อุณหภูมิการปรับสภาพ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปริมาณของแข็งในการไฮโดรไลซิสร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก นาน 24 ชม.

นำค่าที่กำหนดวิเคราะห์ด้วยแผนการตอบสนองที่พื้นผิว ดำเนินการปรับสภาพและหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนผลการทดลองแสดงดังรูปภาพที่ 7 8 และ 9

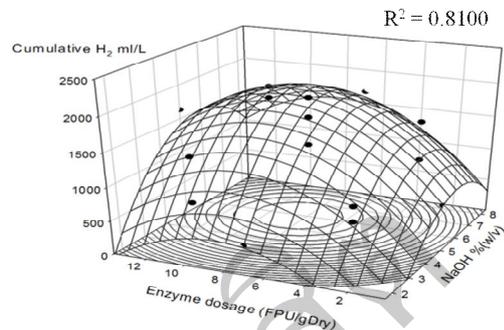
เมื่อนำปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดที่ได้แต่ละชุดการทดลองไปวิเคราะห์ด้วยแผนการทดลอง RSM เพื่อประเมินจุดที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน แสดงดังนี้



รูปภาพที่ 7 ผลของความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์และปริมาณของแข็งในการปรับสภาพเปลือกสับปะรดต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด



รูปภาพที่ 8 ผลของปริมาณของแข็งในการปรับสภาพเปลือกสับปะรดและปริมาณเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด



รูปภาพที่ 9 ผลของปริมาณเอนไซม์ในการไฮโดรไลซิสและความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด

จากการทดลองพบว่าปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ 2,019.9 มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งปรับสภาพโดยใช้ปริมาณของแข็งในการปรับสภาพร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และปริมาณเอนไซม์ 5 FPU ซึ่งสอดคล้องกับการคาดการณ์ด้วยแผนการทดลอง RSM คือปรับสภาพโดยใช้ปริมาณของแข็งในการปรับสภาพร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และปริมาณเอนไซม์ 5 FPU เช่นกัน แต่ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดจากการคาดการณ์เท่ากับ 2,303 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยแต่ละปัจจัยส่งผลให้เกิดปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติตามแผนการตอบสนองที่พื้นผิว

ปัจจัย	Sum of Squares	df	Mean Square	F-Value	p-value
model	4.013E+006	9	4.459E+005	21.30	< 0.0001
NaOH	1.841E+006	1	1.841E+006	87.93	< 0.0001

ปริมาณของแข็ง	2.755E+005	1	2.755E+005	13.16	0.0046
ปริมาณเอนไซม์	9.183E+005	1	9.183E+005	43.87	< 0.0001

หมายเหตุ ค่า p น้อยกว่า 0.0500 แสดงว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ
 $R^2 = 0.9504$

5. การอภิปรายผล

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพเปลือกสับประดก่อนการหมักเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนสามารถเพิ่มผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้ โดยมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (ไม่ผ่านการปรับสภาพ) โดยประมาณ 7 เท่า หรือ 263.70 มิลลิลิตรต่อกรัมเปลือกสับประดแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Xing, 2011 พบว่า สามารถประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสและกั้นข้าวโพดด้วยเอนไซม์โดยการตอบสนองที่พื้นผิวเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุด โดยมีอัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 205.50 มิลลิลิตรต่อกรัมสารอินทรีย์ระเหยง่ายทั้งหมด อีกทั้งการออกแบบการทดลองยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สามารถประเมินค่าที่เหมาะสมในการปรับสภาพและไฮโดรไลซิสได้

6. บทสรุป

การปรับสภาพเปลือกสับประดแห้งที่ปริมาณของแข็งร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นไฮโดรไลซิสที่ปริมาณของแข็งร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 FPUต่อกรัมเปลือกสับประดแห้ง นาน 24 ชม พบว่าเหมาะสมต่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนสูงที่สุด โดยจากการคาดการณ์ของแผนการทดลองทางอุทกศาสตร์และการตอบสนองที่

พื้นผิว หรือ RSM พบว่าจะส่งผลให้เกิดผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ 2,639.80 และ 2,3030 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับโดยแต่ละปัจจัยส่งผลให้เกิดปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการความร่วมมือในการผลิตนักวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) สัญญาเลขที่ MN 01-52-31/2552

8. เอกสารอ้างอิง

- Fan, Y.T., Li, C.L., Lay, J.J., Hou, H.W., and Zhang, G.S. (2004). "Optimization of initial substrate and pH levels for germination of sporing hydrogen production anaerobes in cow dung compost". *Bioresource Technology*. 91:189-193.
- Hendricks, A.T.W.M., and Zeeman, G. (2009). "Pretreatment to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass". *Bioresource Technology*. 100: 10-18.
- Kim, D.H., Kim, S.H., and Shin, H.S. (2009). "Sodium inhibition of fermentative hydrogen production". *International journal of hydrogen energy*. 34: 3295-3304.

Ozkan, L., Erguder, T.H., and Demirer, G.N. (2011).

“Effects of pretreatment methods on solubilization of beet-pulp and bio-hydrogen production yield”. *International journal of hydrogen energy*. 36: 382-389.

Moseir, N. *et al.* (2005). “Features of Promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass”. *Bioresource Technology*. (96): 673-686.

Urbaniec, K., and Grabarczyk, R. (2009). “Raw materials for fermentative hydrogen production”. *Journal of Cleaner Production*. 17: 959-962.

Xing, Y., Fan, S.Q., Zhang, J.N., Fan, Y.T., and Hou, H.W. (2011). “Enhanced bio-hydrogen production from corn stalk by anaerobic fermentation using response surface methodology”. *International journal of hydrogen energy*. 36: 12770-12779.