



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การใช้ประโยชน์ของเสียจากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋องเพื่อผลิตไฮโดรเจน

Utilization of Waste from a Canned Fruit Mill to Produce Hydrogen

นามผู้วิจัย นางสาวจุฑาทิพย์ สังขทิม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประไพพิศ ชัยรัตน์มโนกร, D.Eng. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

สิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้ประโยชน์ของเสียจากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋องเพื่อผลิตไฮโดรเจน

Utilization of Waste from a Canned Fruit Mill to Produce Hydrogen

โดย

นางสาวจุฑาทิพย์ สังขทิม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จุฬาทิพย์ สังขติม 2554: การใช้ประโยชน์ของเสียจากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋องเพื่อผลิตไฮโดรเจน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม) สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประไพพิศ ชัยรัตนมโนกร, D.Eng. 104 หน้า

ไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากมีค่าความร้อนสูงและไม่ปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกหลังจากการเผาไหม้ ในการศึกษาที่ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากกากสับปะรดที่นำมาจากกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ การปรับสภาพกากสับปะรดซึ่งเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนได้เนื่องจากของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสละลาย ทำให้โครงสร้างของชีวมวลพองตัวส่งผลให้เอนไซม์เซลลูเลสสามารถเข้าถึงเซลลูโลสได้ง่ายขึ้นระหว่างการไฮโดรไลซิส วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากตะกอนที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนและศึกษาสภาวะการระเบิดไอน้ำที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีการตอบสนองที่พื้นผิวก่อนการหมักที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากการศึกษาการปรับสภาพกากตะกอนพบว่า การปรับสภาพกากตะกอนด้วยค่าที่อุณหภูมิห้องให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด จากการศึกษาความดันและเวลาในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำ พบว่าการปรับสภาพกากสับปะรดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสม นอกจากนี้กากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยค่าที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีสามารถเพิ่มผลผลิตไฮโดรเจน 2254.62 มิลลิลิตรต่อลิตร การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในการไฮโดรไลซิส พบว่าการหมักกากสับปะรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพที่ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟพียูต่อกรัมกากสับปะรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด การศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากสับปะรดที่เหมาะสมด้วยสถิติวิธีการตอบสนองที่พื้นผิว (RSM) พบว่าการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยค่าที่ความเข้มข้น 2.99 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 7.72 บาร์เป็นเวลา 1 นาที 10.8 วินาที ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2446.98 มิลลิลิตรต่อลิตร

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Juthatip Sangkhatim 2011: Utilization of Waste from a Canned Fruit Mill to Produce Hydrogen. Master of Science (Environmental Technology and Management), Major Field: Environmental Technology and Management, Department of Environmental Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Prapaipid Chairattanamanokorn, D.Eng. 104 pages.

Hydrogen is an effective renewable fuel because of high heating value and no greenhouse gases emission after burning. In this study, hydrogen was produced from pineapple waste taken from juice production. Pineapple waste is lignocellulose that can be utilized as a substrate for hydrogen production. Pretreatment of the waste could enhance efficiency of hydrogen production. Lignin and hemicellulose are dissolved and structures of the lignocellulose are swollen. Consequently, cellulase could be easily penetrated to cellulose during hydrolysis process. The objective of this study is to optimize pretreatment sludge conditions for hydrogen production and to optimize steam explosion condition to pretreat the waste by response surface methodology (RSM) prior to anaerobic fermentation at initial pH 5.5 and 35°C for hydrogen production. From the study of pretreatment sludge, the fermentation of sludge pretreated with NaOH at room temperature gave the highest cumulative hydrogen production. From the study of the steam explosion in pressure and time, the explosion of the pineapple at pressure 5 bar for 1 minute was optimal. Additionally, pineapple soaked in NaOH at concentration of 3% before steam explosion enhanced the cumulative hydrogen production (2254.62 ml/L). From the study of cellulase activity and time of hydrolysis, the fermentation of the raw pineapple waste hydrolyzed with cellulase 5 FPU/g substrate for 24 hr gave the highest cumulative hydrogen production. Subsequently, the optimization of the pretreatment condition was investigated by response surface methodology (RSM) by 3 factors (steam pressure and time of steam explosion and concentration of NaOH). The optimal pretreatment of the pineapple waste was previous immersion with NaOH at concentration of 2.99% and steam explosion at 7.72 bar for 1 min 10.8 second providing the highest cumulative hydrogen production at 2446.98 ml/L.

---

Student's signature

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ได้โดยการอุปการะและช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ประไพพิศ ชัยรัตน์มโนกร ท่านอาจารย์ที่ปรึกษาหลักที่ให้คำปรึกษาในการค้นคว้าวิจัยและคำแนะนำด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับงานวิจัย รวมไปถึงการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ให้ความรู้และกำลังใจแก่ข้าพเจ้าอย่างดีเสมอมา

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยมหัศจรรย์ สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว.-อุตสาหกรรม ประจำปี 2552 ขอขอบพระคุณบริษัท มาลีสามพราน จำกัดและ บริษัทอีสต์ เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ในการอนุเคราะห์ภาคสัปดาห์และเอนไซม์เซลลูเลส ความเห็นในรายงานการวิจัยนี้ สกว. และความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้รับทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อไพศาล คุณแม่น้ำฝน สังขทิม และคณาจารย์ที่ได้อบรมสั่งสอนและให้คำแนะนำแก่ข้าพเจ้าตลอดมา ขอขอบคุณรุ่นพี่และเพื่อนๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่ไม่อาจกล่าวนามได้ทั้งหมด ที่คอยให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีเสมอมา

จุฑาทิพย์ สังขทิม

กรกฎาคม 2554

## สารบัญ

|                            | หน้า |
|----------------------------|------|
| สารบัญ                     | (1)  |
| สารบัญตาราง                | (2)  |
| สารบัญภาพ                  | (5)  |
| คำนำ                       | 1    |
| วัตถุประสงค์               | 3    |
| การตรวจเอกสาร              | 4    |
| อุปกรณ์และวิธีการ          | 34   |
| อุปกรณ์                    | 34   |
| วิธีการ                    | 35   |
| ผลและวิจารณ์               | 42   |
| สรุปและข้อเสนอแนะ          | 71   |
| สรุป                       | 71   |
| ข้อเสนอแนะ                 | 71   |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง       | 72   |
| ภาคผนวก                    | 80   |
| ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์    | 81   |
| ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลอง   | 87   |
| ประวัติการศึกษาและการทำงาน | 104  |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่            |   | หน้า |
|---------------------|---|------|
| 1                   | คุณค่าทางโภชนาการของสับปะรดหวานหนัก 100 กรัม  | 14   |
| 2                   | ส่วนประกอบทางเคมีแยกวิเคราะห์ตามส่วนต่างๆของสับปะรด (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)  | 15   |
| 3                   | รูปแบบการใช้สัญลักษณ์ของแผนแบบ CCD สำหรับ $k = 2$   | 32   |
| 4                   | คุณสมบัติของกากสับปะรดที่ใช้ในการศึกษา  | 43   |
| 5                   | ผลของความดันและเวลาในการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น   | 47   |
| 6                   | ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากสับปะรดก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น            | 55   |
| 7                   | ผลของกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น   | 60   |
| 8                   | แผนการทดลองทางสถิติของสภาวะการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำโดยวิธีทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิว (RSM)  | 64   |
| 9                   | สัดส่วนของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินของกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพและไม่ผ่านการปรับสภาพ  | 70   |
| <br>                |   |      |
| <b>ตารางผนวกที่</b> |   |      |
| ข1                  | ปริมาณกรดไขมันระเหยในการหมักกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง | 88   |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่   | หน้า |
|--|------|
| ข2 ปริมาณกรดไขมันระเหยในการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี<br>ระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที หมักที่พีเอช 5.5<br>อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง  | 89   |
| ข3 ปริมาณกรดไขมันระเหยในการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วย<br>โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดด้วย<br>ไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศา<br>เซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง | 90   |
| ข4 ปริมาณกรดไขมันระเหยในการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอก<br>ไซด์จากนั้นทำการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติแบบคอบสนองที่<br>พื้นผิว หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง  | 91   |
| ข5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีการระเบิดด้วยไ<br>อน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ<br>35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง   | 92   |
| ข6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีการระเบิดด้วยไ<br>อน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35<br>องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง  | 93   |
| ข7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอก<br>ไซด์ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความ<br>ดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส<br>ระยะเวลา 216 ชั่วโมง           | 94   |
| ข8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการไฮโดรไลซิสกากสับประรดที่ความเข้มข้นของ<br>เอนไซม์เซลลูเลส 2.5 5 และ 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดหมัก ที่พีเอช 5.0<br>อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง  | 95   |
| ข9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการไฮโดรไลซิสกากสับประรดที่ความเข้มข้นของ<br>เอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด บ่มเป็นเวลา 12 24 และ 36<br>ชั่วโมงหมักที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง                                  | 96   |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่   | หน้า |
|--|------|
| ข10 ปริมาณน้ำคาลรีคิวซึ่งในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติแบบคอบสนองที่พื้นผิวหมักที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 168 ชั่วโมง  | 97   |
| ข11 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง  | 98   |
| ข12 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง   | 99   |
| ข13 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง | 100  |
| ข14 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 5 และ 7.5 FPU/g substrate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 264 ชั่วโมง                             | 101  |
| ข15 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 FPU/g substrate เป็นเวลา 12 24 และ 36 ชั่วโมง หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 264 ชั่วโมง                               | 102  |
| ข16 พีเอชของการหมักกากสับปะรดแบบไร้อากาศที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติแบบคอบสนองที่พื้นผิว (RSM) หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 168 ชั่วโมง                                  | 103  |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่   | หน้า |
|--|------|
| 1 คุณสมบัติของแก๊สไฮโดรเจน   | 4    |
| 2 ความสัมพันธ์ของการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกในรูปของคาร์บอนจากยานพาหนะที่ใช้เชื้อเพลิงจากแหล่งต่างๆ                                      | 5    |
| 3 กระบวนการหมักโดย <i>Escherichia coli</i>   | 9    |
| 4 กระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยคลอสทีเดียม   | 10   |
| 5 วิธีทางการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการหมักแบบมีด  | 11   |
| 6 แผนภาพกระบวนการผลิตผลไม้และน้ำผลไม้กระป๋อง   | 12   |
| 7 โครงสร้างของเซลล์โอส   | 17   |
| 8 โครงสร้างของลิกนิน   | 18   |
| 9 ส่วนประกอบของแผนแบบ CCD ที่มี 2 ปัจจัย ( $k = 2$ )   | 31   |
| 10 ส่วนประกอบของแผนแบบ CCD ที่มี 3 ปัจจัย ( $k = 3$ )  | 31   |
| 11 การปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยกรด ต่าง ความร้อน กรดร่วมกับความร้อน และต่างร่วมกับความร้อนที่มีต่อการผลิตไฮโดรเจน                     | 44   |
| 12 ผลของความดันในการระเบิดไอน้ำในเวลา 5 นาทีของการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน  | 46   |
| 13 ผลของเวลาในการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ของการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน   | 46   |
| 14 ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นจากการศึกษาการปรับสภาพกากสับปะรดที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที | 49   |
| 15 ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นจากการศึกษาการปรับสภาพกากสับปะรดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที    | 50   |
| 16 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการไฮโดรไลซิสของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส   | 51   |

## สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 17     | ความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำตาเล็ดที่ผิวซึ่งและกรดไขมันระเหยได้ต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมที่ความดันในการระเบิดไอน้ำ 5 บาร์ในเวลา 5 นาทีของการปรับสภาพกากสับปะรด | 52   |
| 18     | ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีต่อผลผลิตไฮโดรเจน  | 54   |
| 19     | ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสกากสับปะรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงต่อผลผลิตไฮโดรเจน   | 58   |
| 20     | เวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน                           | 59   |
| 21     | โครงสร้างของกากสับปะรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ  | 62   |
| 22     | โครงสร้างของกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 5 นาที  | 62   |
| 23     | โครงสร้างของกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที                     | 63   |
| 24     | ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และเวลาในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM               | 66   |
| 25     | ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และความดันในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM            | 66   |
| 26     | ความสัมพันธ์ของความดันและเวลาในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับปะรดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM                                       | 67   |
| 27     | ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและผลผลิตไฮโดรเจนในการปรับสภาพกากสับปะรดจากการศึกษาด้วยวิธี RSM   | 68   |
| 28     | ความเข้มข้นของเอทานอลและกรดไขมันระเหยได้จากการศึกษาด้วยวิธี RSM  | 69   |

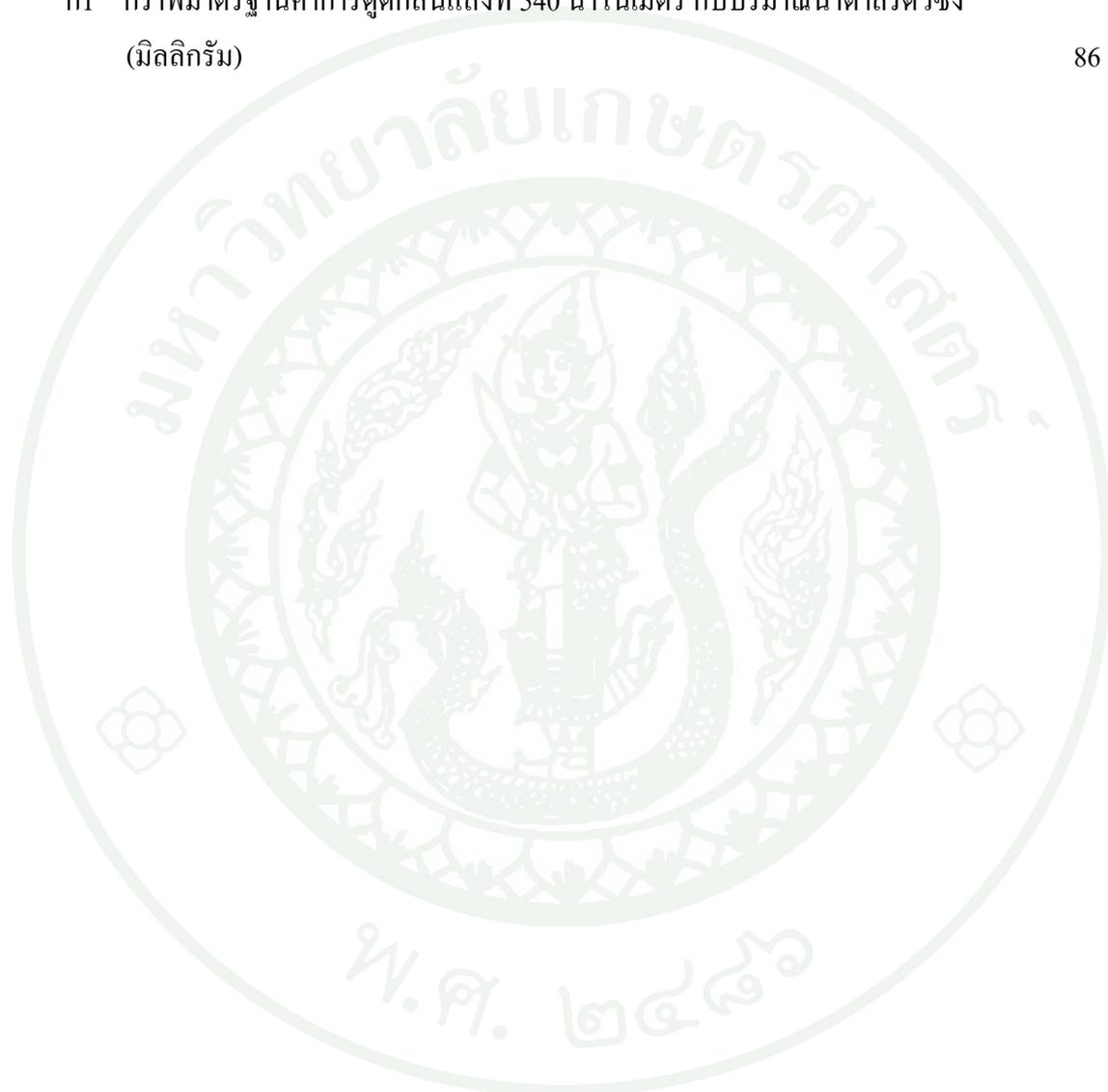
## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่

หน้า

- ก1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์  
(มิลลิกรัม)

86



## การใช้ประโยชน์ของเสียจากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋องเพื่อผลิตไฮโดรเจน

### Utilization of Waste from a Canned Fruit Mill to Produce Hydrogen

#### คำนำ

ประเทศไทยพัฒนาระบบเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง จากระบบเศรษฐกิจที่ต้องพึ่งพาผลผลิตจากภาคการเกษตรเป็นหลัก เป็นผลผลิตส่วนใหญ่มาจากภาคอุตสาหกรรม ในปัจจุบันผลจากการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมและการเพิ่มขึ้นของประชากรในประเทศทำให้ความต้องการด้านพลังงานในภาคเศรษฐกิจ สังคมรวมถึงการใช้งานในชีวิตประจำวันเพิ่มสูงขึ้น โดยใช้น้ำมันปิโตรเลียมเป็นแหล่งพลังงานหลักซึ่งนับวันราคาน้ำมันดิบในตลาดโลกยิ่งเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นการศึกษาแหล่งพลังงานเสริมในประเทศจึงมีความจำเป็น รวมทั้งมีการเร่งรัดนโยบายการประหยัดพลังงานควบคู่กัน

ไฮโดรเจน (Hydrogen,  $H_2$ ) ถือได้ว่าเป็นเชื้อเพลิงสำหรับการเผาไหม้ที่มีประสิทธิภาพสูง สะอาด และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเกิดการเผาไหม้กับแก๊สออกซิเจน โดยจะมีเพียงไอน้ำเป็นผลพลอยได้ ซึ่งแตกต่างจากเชื้อเพลิงอื่นๆที่ให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นแก๊สเรือนกระจก (Greenhouse gas) ส่งผลกระทบต่อภาวะโลกร้อนหรือปรากฏการณ์เรือนกระจก (Global warming) ไฮโดรเจนได้รับการคาดหมายและยอมรับว่าจะเป็นแหล่งของพลังงานเชื้อเพลิงที่สำคัญอย่างมากในอนาคต ในปัจจุบันกระบวนการเปลี่ยนรูปสารไฮโดรคาร์บอนด้วยไอน้ำ (Steam reforming of hydrocarbons) เป็นกระบวนการที่นิยมใช้สำหรับการผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจน แต่ปัญหาหลักที่สำคัญของกระบวนการนี้คือ การปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณมากซึ่งเป็นสาเหตุของภาวะโลกร้อนหรือปรากฏการณ์เรือนกระจก รวมทั้งปัญหาการขาดแคลนแหล่งของไฮโดรคาร์บอนที่นำมาใช้ในกระบวนการ อีกทั้งไฮโดรเจนยังผลิตจากแหล่งพลังงานที่สามารถนำมาใช้ใหม่ได้ เช่น แสงอาทิตย์ ลมและชีวมวล เป็นต้น ซึ่งไฮโดรเจนสามารถผลิตจากกระบวนการทางความร้อน (Electrolytic process) การแยกสลายด้วยไฟฟ้า หรือการแยกสลายด้วยแสง (Photolytic process) โดยใช้เชื้อเพลิงฟอสซิล ชีวมวล หรือน้ำเป็นวัตถุดิบ อาจใช้พลังงานหมุนเวียน (Renewable energy) และนิวเคลียร์ (ศิริจันทร์ และมานิจ, 2010) นอกจากนี้ไฮโดรเจนยังสามารถผลิตได้โดยวิธีทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งเป็นการผลิตที่มีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าวิธีอื่น เพราะไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการลงทุนสร้างเครื่องมือ ดังนั้นกระบวนการอื่นซึ่งเป็น

ทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัยและสามารถผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรได้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อรองรับความต้องการเชื้อเพลิงไฮโดรเจนในอนาคต (Anon, 2010)

กากสับประรดเป็นของเสียจากกระบวนการผลิตน้ำสับประรดเข้มข้น ปัจจุบันกากสับประรดจะขายให้เกษตรกรเพื่อนำไปทำเป็นอาหารสัตว์ เพื่อเพิ่มทางเลือกของการใช้ประโยชน์กากสับประรด จึงมีการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากกากสับประรด กากสับประรดเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulosic biomass) ที่มีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก จึงสามารถนำมาผลิตเป็นแก๊สไฮโดรเจน โดยนำเซลลูโลสในกากสับประรดผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส ด้วยการไฮโดรไลซิส โครงสร้างหลักของเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา-1,4 ไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1,4 glycosidic) การย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสทำได้หลายวิธีเช่น การใช้กรดหรือด่างและการย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลส เป็นต้น น้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส นำมาหมักร่วมกับจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนให้ผลผลิตเป็นแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งสามารถนำมาเป็นเชื้อเพลิงหลักหรือเชื้อเพลิงเสริมภายในโรงงาน เนื่องจากไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงที่ให้ค่าความร้อนสูงและเป็นแก๊สที่สะอาด จึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในด้านพลังงานให้กับโรงงาน และช่วยลดการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกอีกทั้งเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่

โครงการวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับประรดก่อนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยใช้วิธีทางสถิติแบบการตอบสนองที่พื้นผิว (Response surface methodology, RSM)

## วัตถุประสงค์

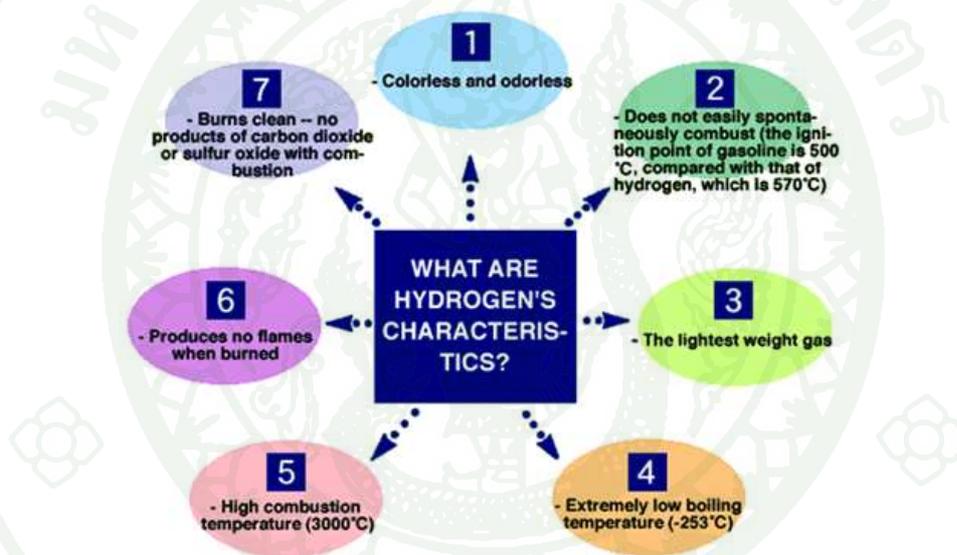
1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพเชื้อจุลินทรีย์ (Pretreatment) ก่อนนำไปใช้ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน
2. เพื่อประเมินสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดที่เหมาะสมเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยใช้สถิติวิธีการตอบสนองที่พื้นผิว



## การตรวจเอกสาร

### 1. คุณสมบัติของไฮโดรเจน

ไฮโดรเจน (Hydrogen,  $H_2$ ) เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการเผาไหม้ที่มีประสิทธิภาพสูง สะอาดและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ได้รับการคาดหมาย และยอมรับว่าจะเป็นส่วนหนึ่งของพลังงานเชื้อเพลิงที่สำคัญอย่างมากในอนาคต จากภาพที่ 1 คุณสมบัติทั่วไปของแก๊สไฮโดรเจน คือ ไม่มีสีและไม่มีกลิ่น ไม่ติดไฟง่าย เป็นแก๊สที่มีน้ำหนักเบาที่สุด มีจุดเดือดต่ำ มีอุณหภูมิการเผาไหม้สูง ไม่เกิดประกายไฟเมื่อเผาไหม้และไม่ปลดปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) หรือแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ( $SO_2$ ) จากการเผาไหม้



ภาพที่ 1 คุณสมบัติของแก๊สไฮโดรเจน

ที่มา: Arnon (2010)

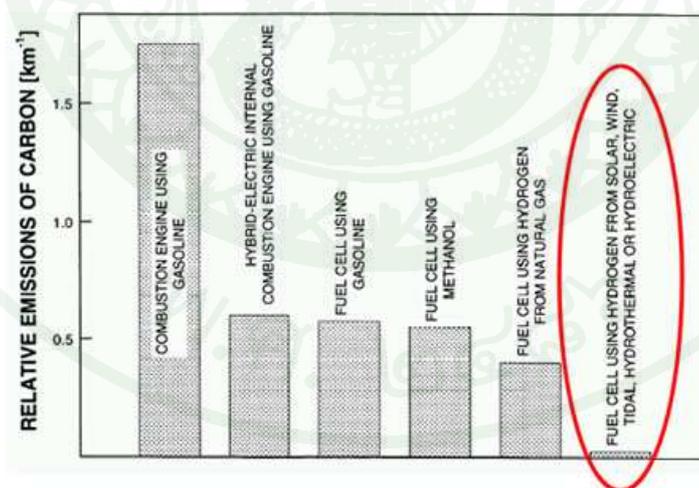
นอกจากนี้ไฮโดรเจนมีค่าพลังงานสูงทำให้ไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพสูงเมื่อเทียบกับเชื้อเพลิงชนิดอื่น ดังนั้นเชื้อเพลิงไฮโดรเจนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนเชื้อเพลิงดั้งเดิมได้ เนื่องจากคุณสมบัติประโยชน์ในด้านต่างๆ โดยสรุปดังนี้

1. ค่าพลังงานที่ได้จากไฮโดรเจนจะมากกว่าค่าพลังงานที่ได้จากเชื้อเพลิงไฮโดรคาร์บอน และแอลกอฮอล์ กล่าวคือค่าพลังงานที่ได้จากเชื้อเพลิงไฮโดรเจนเปรียบเทียบกับเมทานอลและเอทานอล คือ 2.5 และ 5 เท่า ตามลำดับ

2. เชื้อเพลิงไฮโดรเจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับงานที่ต้องใช้เชื้อเพลิงดั้งเดิมได้ เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องบิน เครื่องยนต์สันดาปภายใน เครื่องกังหันและเครื่องไอพ่น

3. ไฮโดรเจนสามารถนำไปใช้กับเซลล์เชื้อเพลิง (Fuel cell) ในการผลิตไฟฟ้า ซึ่งอยู่ระหว่างการพัฒนาและคาดว่าจะนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอนาคต

การสันดาป (Combustion) ของเชื้อเพลิงดั้งเดิมจะก่อให้เกิดแก๊สเรือนกระจก เช่น แก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของโลก แต่เชื้อเพลิงไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิงสะอาด ไม่ก่อให้เกิดแก๊สเรือนกระจกเนื่องจากได้น้ำเป็นผลิตภัณฑ์จากการสันดาป ดังนั้นจึงไม่ส่งผลให้เกิดภาวะเรือนกระจก จากภาพที่ 2 การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงดั้งเดิมไม่ว่าจะมาจากยานพาหนะหรือแหล่งอุตสาหกรรมต่าง ๆ จะก่อให้เกิดกลุ่มควันและฝุ่นละออง แต่เชื้อเพลิงไฮโดรเจนไม่ก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศเหล่านี้



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ของการปลดปล่อยแก๊สเรือนกระจกในรูปของคาร์บอนจากยานพาหนะที่ใช้เชื้อเพลิงจากแหล่งต่างๆ

ที่มา: Bak et al. (2002)

## 2. กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจน

การผลิตไฮโดรเจนเชิงอุตสาหกรรม ในปัจจุบันนิยมใช้กระบวนการเปลี่ยนรูปสารไฮโดรคาร์บอนด้วยไอน้ำ (Steam reforming of hydrocarbons) เป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนสูงและเสียค่าใช้จ่ายน้อย โดยหลักการของกระบวนการนี้คือ การป้อนไอน้ำ (Steam) เข้าสู่ระบบเพื่อทำปฏิกิริยากับสารไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในสถานะแก๊ส เช่น แก๊สธรรมชาติ แก๊สชีวภาพและเอทานอล เป็นต้น โดยไฮโดรเจนจะถูกดึงออกจากไอน้ำ ( $H_2O$ ) และสารไฮโดรคาร์บอน ส่วนออกซิเจนที่เหลือน้ำและคาร์บอนที่เหลือน้ำจากไฮโดรคาร์บอนจะรวมตัวกันเป็นแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) (นวดล, 2550)

นอกจากนี้ไฮโดรเจนเป็นผลิตภัณฑ์ร่วม (By products) จากกระบวนการอื่น จึงมีการค้นพบและพัฒนาวิธีการผลิตไฮโดรเจนที่มีราคาถูกลง ปัจจุบันวิธีการในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนมีหลายวิธี เช่น

### 1. กระบวนการอิเล็กโทรไลต์ (Electrolytic process)

เป็นกระบวนการผ่านกระแสไฟฟ้าจากภายนอกเข้าไปในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ แล้วทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมี เพื่อแยกน้ำเป็นไฮโดรเจนและออกซิเจน เครื่องมือที่ใช้แยกสารละลายด้วยไฟฟ้าเรียกว่า เซลล์อิเล็กโทรไลต์หรืออิเล็กโทรลิติกเซลล์ ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า ภาชนะบรรจุสารละลายอิเล็กโทรไลต์ และเครื่องกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรง

### 2. กระบวนการทางความร้อน (Thermal process)

เป็นการใช้ความร้อนกับแหล่งพลังงาน เช่น แก๊สธรรมชาติ ถ่านหิน ชีวมวล เชื้อเพลิงเหลว เป็นต้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ไฮโดรเจน

### 3. กระบวนการออกซิเดชันบางส่วน (Partial oxidation)

ซึ่งเป็นกระบวนการระหว่างสารไฮโดรคาร์บอนกับออกซิเจนกระบวนการนี้มีข้อดีคือ ไม่จำเป็นต้องป้อนพลังงานจากภายนอก เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบคายความร้อน ทำให้เกิดพลังงานขึ้นภายในระบบ แต่ข้อจำกัดของกระบวนการนี้คือ ปริมาณออกซิเจนที่ป้อนเข้าสู่ระบบต้องไม่

สูงจนเกินไปเนื่องจากออกซิเจนที่เหลือจากกระบวนการจะกลับมาทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนที่ผลิตได้ กลายเป็นน้ำทำให้สูญเสียผลผลิตไฮโดรเจน

#### 4. วิธีทางชีวภาพ (Biological treatment)

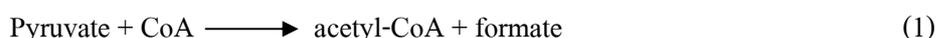
เป็นการใช้จุลินทรีย์ที่ได้จากกากตะกอนระบบบำบัดน้ำเสียมาใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยจุลินทรีย์จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ การผลิตแก๊สไฮโดรเจนสามารถผลิตจากกระบวนการหมักโดยใช้แสง (Photo fermentation) ที่ใช้จุลินทรีย์กลุ่มสังเคราะห์แสง (Photosynthetic) และใช้แสงในกระบวนการหมัก ส่วนกระบวนการหมักแบบมืด (Dark fermentation) เป็นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยไม่ต้องใช้แสง ซึ่งเป็นข้อดีในเรื่องของการประหยัดพลังงาน นอกจากนี้ยังสามารถใช้ของเสียที่เป็นชีวมวล (Biomass) เป็นวัตถุดิบได้ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ อีกทั้งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดของเสียด้วย (Wikipedia, 2554)

จากที่กล่าวมาข้างต้นมีการพัฒนาปรับปรุงตัวเร่งปฏิกิริยาหรือแคตตาไลสที่ช่วยการผลิตแก๊สไฮโดรเจนเร็วขึ้น ซึ่งแคตตาไลสที่ใช้กันแพร่หลาย ได้แก่ โลหะทองและทองคำขาว เมื่อพิจารณาในด้านเศรษฐศาสตร์ตัวเร่งปฏิกิริยามีราคาสูง ไม่คุ้มทุน จึงใช้วิธีทางชีวภาพ (Biological treatment) ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยกากตะกอนจุลินทรีย์และกากของเสียที่เป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบ ซึ่งเป็นการช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและเป็นการนำของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์

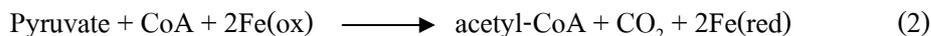
#### 3. กลไกการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนแบบมืด

ในระบบทางชีววิทยาส่วนใหญ่ไฮโดรเจนผลิตจากเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้อากาศของไพรูเวทที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการแคแทบอลิซึมของสารอินทรีย์หลายชนิด น้ำตาลที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กลูโคสจะถูกเมแทบอลิซึมเป็นไพรูเวทผ่านวิถีทางหลากหลายซึ่งรวมไปถึงปฏิกิริยาไกลโคไลซิส ไพรูเวทจะแตกออกเป็นอะซิเตลโคเอนไซม์เอทีพีที่ได้มาซึ่งเอทีพี (ATP) โดยไฮโดรเจนเกิดจากเฟอร์เรดอกซินที่ถูกรีดิวซ์ (Fe(red)) และขึ้นกับชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ปรากฏในระบบจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ได้ ไฮโดรเจนจากเฟอร์เรดในขณะที่จุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ (เช่น คลอสทริเดียม) ได้ไฮโดรเจนจาก (Fe(red)) ระบบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายไพรูเวท (Khanal, 2008) แสดงดังสมการที่ 1 และ 2

##### (a) Pyruvate:formate lyase (PFL)



(b) Pyruvate:ferredoxin (flavodoxin) oxidoreductase (PFOR)



ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดจากจุลินทรีย์ในลำไส้และคลอสทีเดียมคือ 2 และ 4 โมลต่อโมลของกลูโคส ตามลำดับ

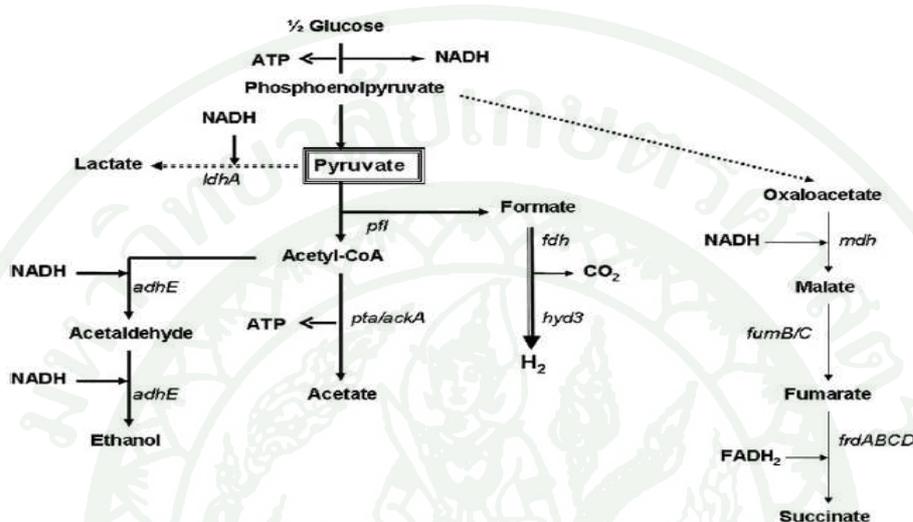
### 3.1 กระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ในลำไส้

วิธีการการผลิตไฮโดรเจนของกระบวนการหมักแบบมีดโดยจุลินทรีย์ในลำไส้แสดงในภาพที่ 3 กลูโคสจะเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวทผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส ไพรูเวทจะถูกย่อยสลายเป็นอะซิติลโคเอนไซม์เอ (CoA) และฟอร์มेटด้วยเอนไซม์ไพรูเวทฟอร์มेटไลเอส (PFL) จากนั้นฟอร์มेटจะเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซม์ฟอร์มेटไฮโดรเจนไลเอส (FHL) ในสภาวะที่เป็นกรดจะเพิ่มการเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นกรดแลคติกส่งผลให้เกิดผลผลิตไฮโดรเจนต่ำ เพราะฉะนั้นกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ผลผลิตไฮโดรเจน 2 โมลต่อโมลกลูโคสเนื่องจากกลูโคสหนึ่งโมลจะผลิตฟอร์มेटได้ 2 โมล จุลินทรีย์ในลำไส้ยังสามารถผลิตผลิตภัณฑ์จากการหมักอื่นๆ ได้ เช่น แลคเตท เอทานอล อะซิเตท ฟอร์มेट คาร์บอนไดออกไซด์ ซักซิเนทและบิวเทนไดออล

### 3.2 กระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยคลอสทีเดียม

วิธีการของการผลิตไฮโดรเจนโดยคลอสทีเดียมที่ใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักแสดงในภาพที่ 4 กลูโคสถูกเมทาบอลิซ์เป็นไพรูเวทผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส โดยคลอสทีเดียมย่อยสลายไพรูเวทเป็นอะซิติลโคเอนไซม์เอและมีการเกิดขึ้นของเฟอร์เรดอกซินที่ถูกรีดิวซ์ (Fe(red)) โดยใช้เอนไซม์ไพรูเวทเฟอร์เรดอกซินออกซิโดรีดักเตส (PFOR) และผลิตไฮโดรเจนผ่านกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส กิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสและเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบของเหล็กเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญที่สุดในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยคลอสทีเดียมเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่หลากหลาย เช่น เอทานอล อะซิเตท อะซิโตน บิวทีเรท บิวทานอล โพรไพอเนทและโพรพานอล ดังแสดงในภาพที่ 5 ที่เกิดจากการย่อยสลายอะซิติลโคเอนไซม์เอ ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะในกระบวนการหมัก การเปลี่ยนอะซิติลโคเอนไซม์เอไปเป็นเอทานอลหรือบิวทีเรทต้องการอิเล็กตรอนที่ได้จากเอ็นเอดีเอช (NADH) และถูกออกซิไดส์เป็น  $\text{NAD}^+$

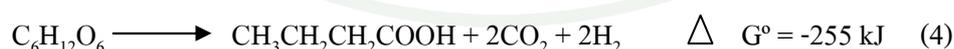
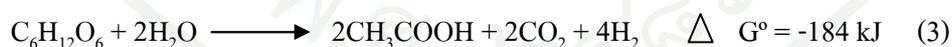
สำหรับการเกิด NADH ไฮโดรเจนเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ดังนั้นจึงเกิดไฮโดรเจนน้อยมากระหว่างระยะการผลิตตัวทำละลาย (เอทานอลหรือบิวทานอล) การผลิตไฮโดรเจนส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างระยะการเกิดกรด (อะซิติกและบิวทีริก) อย่างไรก็ตาม ผลผลิตไฮโดรเจนจะลดลงเมื่อบิวทีเรทเป็นผลิตภัณฑ์หลักในการหมักเนื่องจากการสูญเสียไฮโดรเจน วิธีทางในการหมักส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช



ภาพที่ 3 กระบวนการหมักโดย *Escherichia coli*

ที่มา: Hallenbeck (2009)

การใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น การผลิตไฮโดรเจนและการเกิดอะซิติกและบิวทีเรทแสดงในสมการที่ 3 และ 4

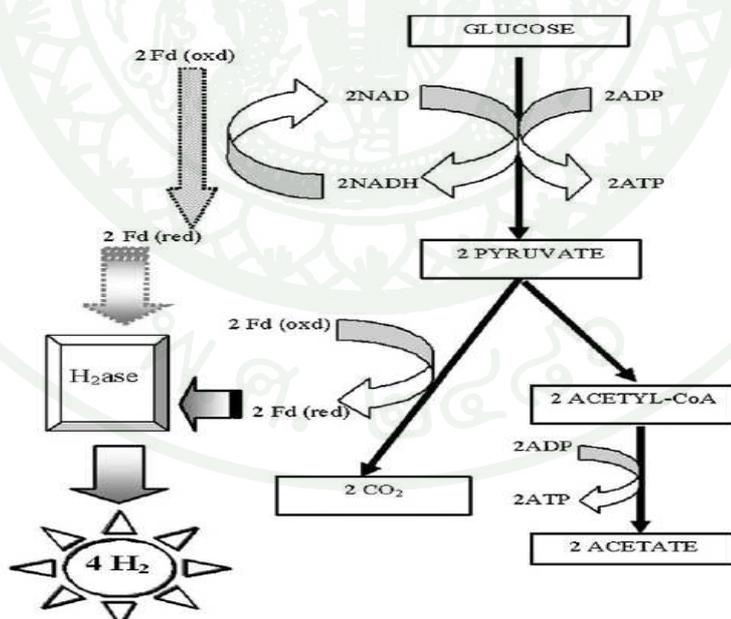


จากสมการ 2 โมลสูงสุดของไฮโดรเจนผลิตจากการหมักแบบบิวทีเรท ในขณะที่ 4 โมลของไฮโดรเจนสามารถผลิตจากการหมักแบบอะซิติก สำหรับการหมักแบบอะซิติก การทำลายของไพรูเวทให้ผลผลิต 2 โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคสและอีก 2 โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคสได้มาจากกิจกรรมเอ็นเอดีเอส:เฟอร์เรอ็อกซิน

ถ้าดูจากการเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระกิบส์ การหมักแบบบิวทีเรทจะเกิดขึ้นได้ดีกว่า ดังนั้น NADH มักจะใช้ในการหมักแบบบิวทีเรท อย่างไรก็ตาม การหมักแบบอะซิเตทและบิวทีเรทจะเกิดขึ้นพร้อมกันระหว่างการผลิตไฮโดรเจนทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดจะเกิดขึ้นไม่เกิน 2.5 โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคส แสดงดังสมการที่ 5

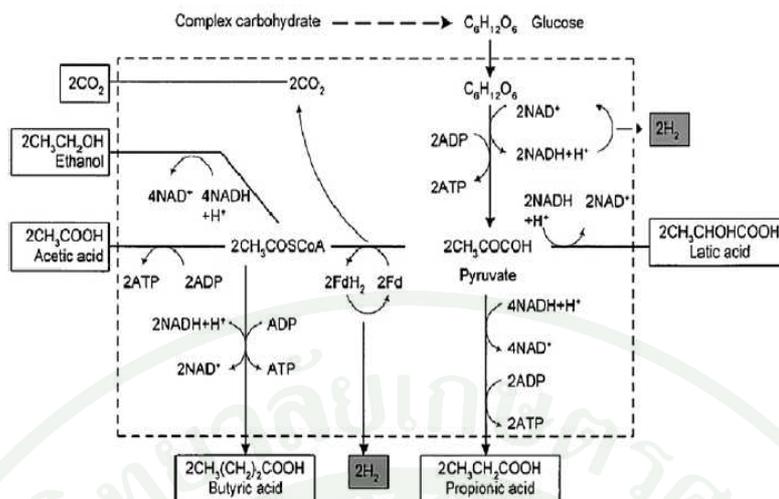


ดังนั้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน หากเป็นกระบวนการหมักโดยผ่านกระบวนการการเกิดกรดบิวทาริกและกรดอะซิติก จะทำให้ได้ผลผลิตไฮโดรเจนที่สูง และกระบวนการหมักโดยผ่านกระบวนการการเกิดกรดโฟสไฟโอนิกที่เกิดขึ้นทำให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลง เนื่องจากการหมักที่เกิดกรดโฟสไฟโอนิก 2 โมลใช้ NADH 4 โมล ขณะที่กระบวนการหมักกรดโฟสไฟโอนิกสามารถผลิต NADH ได้ 2 โมล ดังนั้นต้องมีการนำไฮโดรเจนจากส่วนอื่นมาใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดโฟสไฟโอนิก ดังแสดงในสมการที่ 6



ภาพที่ 4 กระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยคลอสทีเดียม

ที่มา: Hallenbeck (2009)

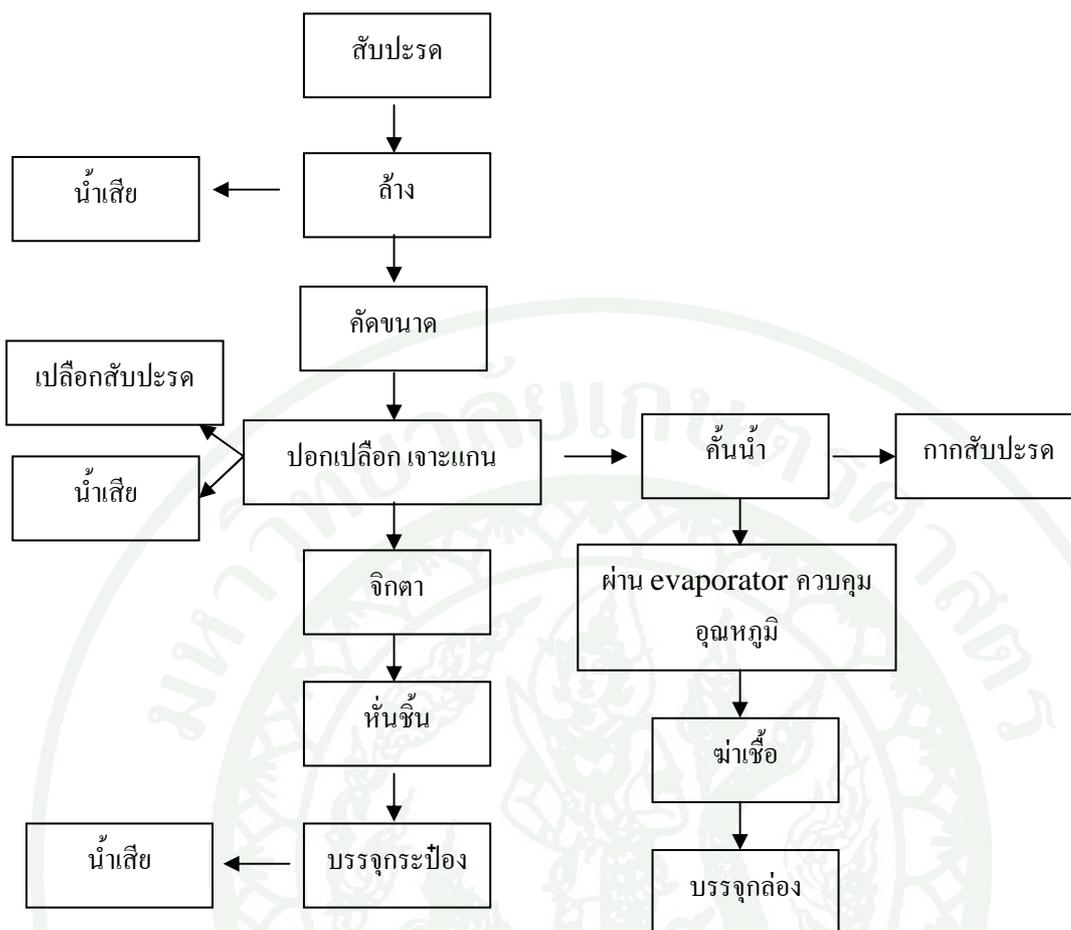


ภาพที่ 5 วิธีทางการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในกระบวนการหมักแบบมีด

ที่มา: Guo *et al.* (2008)

#### 4. กระบวนการผลิตผลไม้กระป๋องในโรงงานอุตสาหกรรม

กระบวนการผลิตจะเริ่มจากผลสับปะรดถูกลำเลียงเข้าสู่แผนกรับวัตถุดิบและส่งเข้าระบบโดย Screw grader เพื่อทำการคัดแยกขนาด รวมทั้งตรวจสอบทางกายภาพและจะถูกลำเลียงผ่านบ่อน้ำร้อนที่มีคลอรีนผสมอยู่เพื่อชะล้างทำความสะอาด จากนั้นสับปะรดจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการตัดหัวท้ายแล้วปอกเปลือกด้วยเครื่อง Ginaca ที่สามารถปรับแต่งระยะของใบมีดให้พอเหมาะกับขนาดของผลสับปะรดไม่หนาหรือบางเกินไปและนำไปล้างทำความสะอาดอีกครั้ง จากนั้นสับปะรดจะถูกตัดออกเป็นแว่นตามความหนาที่กำหนด ซึ่งขึ้นอยู่กับขนาดกระป๋องที่บรรจุมีขนาด 20 30 และ 108 ออนซ์ เมื่อสับปะรดถูกตัดเป็นแว่นแล้วจะถูกเจาะแกน เสร็จแล้วจึงนำเข้าสู่ระบบบรรจุกระป๋องด้วยเครื่อง Can loader และเติมน้ำเชื่อม (Syruping) ลงในกระป๋องเพื่อควบคุมคุณภาพรสชาติ กระบวนการบรรจุเนื้อสับปะรดและเติมน้ำเชื่อมนี้จะอยู่ภายใต้การควบคุมน้ำหนักและสัดส่วนตามที่ลูกค้าต้องการ หลังจากเติมน้ำเชื่อมจะต้องผ่านกรรมวิธีทางความร้อนเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากกระป๋องโดยเครื่อง Exhaust box และถูกส่งผ่านระบบสายพานลำเลียงไปยังเครื่อง Seamer เพื่อทำการปิดฝา จากนั้นจึงส่งไปยังเครื่องอบฆ่าเชื้อ (Cooker) (พรเทพ และคณะ, 2548) โดยกากสับปะรดที่ใช้ในการศึกษาเกิดจากกระบวนการผลิตผลไม้กระป๋อง ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แผนภาพกระบวนการผลิตผลไม้และน้ำผลไม้กระป๋อง

การผลิตน้ำผลไม้เป็นการแยกส่วนของเหลวในผลไม้พร้อมกับสารประกอบที่ให้กลิ่นรส รวมทั้งสารอาหารที่ละลายได้ในของเหลวนั้นออกจากผลไม้ คุณภาพของน้ำผลไม้ที่ดีจะต้องมีลักษณะที่เหมือนผลไม้สด ทั้งในแง่ของกลิ่นรส สารอาหาร วิตามินและเกลือแร่ต่างๆ ที่ต้องยังคงเหมือนเดิมหรือมีความใกล้เคียง ซึ่งกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ใหญ่ๆ ดังนี้

1. ขั้นตอนการสกัดของเหลว

ขั้นตอนนี้มีจุดประสงค์เพื่อแยกของเหลว รวมไปถึงสารละลายได้ที่มีอยู่ในผลไม้ น้ำผลไม้ที่สกัดใหม่ๆ ยังคงมีเอนไซม์แขวนลอยหลายชนิด ล้วนแล้วแต่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ดังนั้นในขั้นตอนการสกัดนี้จึงต้องเลือกวิธีที่ให้น้ำผลไม้ในปริมาณมากและมีองค์ประกอบของสารที่มีคุณค่าครบถ้วน ซึ่งวิธีการสกัดมี 2 วิธี คือ วิธีทางกล (Mechanical extraction) โดยใช้แรงไปทำให้เซลล์เนื้อผลไม้แตกและให้ส่วนของน้ำผลไม้ไหลซึมออกมาพร้อมสารอาหาร กลิ่นและรส และวิธีทางชีวภาพ (Biological

extraction) ซึ่งจะใช้สารชีวภาพ เช่น เอนไซม์ไปย่อยสลายเซลล์เนื้อผลไม้ให้มีขนาดเล็กเพียงพอที่จะปลดปล่อยของเหลวที่มีส่วนของสารอาหาร กลิ่นและรสของผลไม้ต่างๆ

## 2. ขั้นตอนการปรับปรุงคุณภาพ

ขั้นตอนนี้เป็นการทำให้น้ำผลไม้ที่สกัดได้ มีลักษณะคุณภาพตามความต้องการขึ้นกับชนิดของน้ำผลไม้ แบ่งออกเป็นการปรับปรุงคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ อาทิเช่น การทำน้ำผลไม้ชนิดใส หรือการทำน้ำผลไม้แบบขุ่นและการปรับปรุงคุณภาพด้านรสชาติ เช่น รสเปรี้ยว รสหวานและการเสริมรสหรือเน้นรสน้ำผลไม้ เป็นต้น

## 3. ขั้นตอนการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

การให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มีวัตถุประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บของน้ำผลไม้ที่บรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

3.1 การให้ความร้อนก่อนบรรจุในภาชนะปิดสนิท สำหรับน้ำผลไม้ที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 3.5 สามารถฆ่าเชื้อได้ที่อุณหภูมิ 70-72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เรียกว่า ระบบพาสเจอร์ไรซ์แบบเร็ว อุณหภูมิสูง (LTLT:- pasteurization) จากนั้นบรรจุในภาชนะสะอาดขณะที่น้ำผลไม้ยังร้อนอยู่ที่อุณหภูมิ การบรรจุประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วให้ความเย็นทันที โดยน้ำเย็นต้องมีอุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากกระบวนการให้ความร้อน ทั้งนี้ในขั้นตอนการบรรจุต้องทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

3.2 การให้ความร้อนหลังการบรรจุในภาชนะปิดสนิท วิธีนี้นิยมใช้กับน้ำผลไม้ที่บรรจุในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ ซึ่งจะบรรจุน้ำผลไม้ที่เตรียมไว้ในกระป๋อง โดยเว้นช่องว่างเหนือกระป๋องตามสัดส่วนขนาดกระป๋อง จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนการไล่อากาศแล้วปิดฝากระป๋อง หลังจากนั้นจึงนำไปฆ่าเชื้อ ซึ่งระยะเวลาในการฆ่าเชื้อขึ้นกับคุณสมบัติของน้ำผลไม้ต่างๆ เช่น ถ้าน้ำผลไม้ที่มีสภาพเป็นกรดหรือมีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.6 สามารถใช้ความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดปกติ 100 องศาเซลเซียสในการฆ่าเชื้อได้ แต่ถ้า น้ำผลไม้ที่มีสภาพเป็นกรดต่ำหรือมีค่าพีเอชสูงกว่า 4.6 ต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิร้อนสูงถึง 116-121 องศาเซลเซียสในการฆ่าเชื้อ (ศรีศักดิ์, 2552)

## 5. สับปะรด

สับปะรดเป็นพืชจำพวกไม้ผลที่ขึ้นได้ดีในภูมิประเทศที่มีอากาศร้อนแห้งแล้ง โดยเฉพาะเขตพื้นดินปนทราย สับปะรดมีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในประเทศทางอเมริกาใต้ แต่ได้นำเข้ามาปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยและประเทศอื่นๆทั่วไปที่มีอากาศร้อน สับปะรดนั้นจะมีขนาดของลำต้นไม่สูงใหญ่มากนักแต่มีขนาดของผลใหญ่ ใบของสับปะรดมีลักษณะเรียวยาวและแข็งเพื่อให้สามารถที่จะเก็บกักน้ำเอาไว้ได้ สับปะรดเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงเนื่องจากมีปริมาณของวิตามิน เกลือแร่และเส้นใยไฟเบอร์ที่มีอยู่มากมายในผลสับปะรด นอกจากนี้สับปะรดยังมีสรรพคุณในทางยามากมายหลายอย่าง อาทิเช่น เสริมสร้างการดูดซึมอาหารของร่างกาย การลดความร้อนของร่างกาย และพบว่าผู้ที่รับประทานสับปะรดเป็นประจำจะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคไตอักเสบ โรคความดันสูง ลดอาการบวม น้ำของร่างกาย ช่วยในการขับปัสสาวะ ช่วยลดความร้อนของร่างกายและช่วยลดอาการกระสับกระส่ายได้เป็นอย่างดี ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของสับปะรดหวานหนัก 100 กรัม

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของสับปะรดหวานหนัก 100 กรัม

| ดัชนี                       | พลังงาน (แคลอรี) |
|-----------------------------|------------------|
| ไขมัน (Fat)                 | 0.3              |
| คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) | 14               |
| เส้นใย (Fiber)              | 0.5              |
| โปรตีน (Protein)            | 0.4              |
| แคลเซียม (Calcium)          | 22               |
| ฟอสฟอรัส (Phosphorus)       | 8                |
| เหล็ก (Iron)                | 0.4              |
| ไนอาซิน (Niacin)            | 0.2              |
| วิตามินเอ (Vitamin A )      | 15               |
| วิตามินบี 1 (Vitamin B1)    | 0.09             |
| วิตามินบี 2 (Vitamin B2)    | 0.04             |
| วิตามินซี (Vitamin C)       | 1                |

ที่มา: จินดา (2547)

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบทางเคมีแยกวิเคราะห์ตามส่วนต่างๆของสับปะรด (เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง)

| ส่วนประกอบ    | เปลือกด้านข้าง | ส่วนหัว | ส่วนล่าง | แกน (ไส้) | เศษเนื้อ |
|---------------|----------------|---------|----------|-----------|----------|
| ความชื้น      | 85.8           | 84.9    | 85.9     | 88.6      | 84.5     |
| โปรตีน        | 4.4            | 4.1     | 5.4      | 3.2       | 3.6      |
| ไขมัน         | 1.5            | 1.2     | 1.4      | 1.3       | 1.2      |
| เยื่อใย       | 8.1            | 11.6    | 13.4     | 8.9       | 4.7      |
| เถ้า          | 4.9            | 5.4     | 7.6      | 3.8       | 4.2      |
| NDS           | 72.9           | 61.2    | 53.1     | 73.1      | 85.5     |
| NDF           | 27.1           | 38.8    | 45.9     | 26.3      | 14.5     |
| ADF           | 12.1           | 17.1    | 20.4     | 12.2      | 5.8      |
| Cellulose     | 10.4           | 15.2    | 17.6     | 11.5      | 5.2      |
| Hemicellulose | 15.0           | 21.7    | 26.5     | 14.1      | 8.7      |

หมายเหตุ NDS (Neutral detergent soluble) คือ ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์พืชทั้งหมดสามารถละลายได้ในสารละลาย Detergent ที่เป็นกลาง ประกอบด้วยกรดอะมิโน ไขมัน แป้ง น้ำตาล เพคติน วัตถุแห้งส่วนนี้สัตว์ทุกชนิดสามารถใช้ประโยชน์ได้เกือบทั้งหมด

NDF (Neutral detergent fiber) คือ ส่วนประกอบของผนังเซลล์ ซึ่งไม่สามารถละลายในสารละลาย Detergent ที่เป็นกลาง ประกอบด้วยพวกเยื่อใยทั้งหมดคือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน คิวติน ซิลิกา เคราติน วัตถุแห้งส่วนนี้เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องเท่านั้นเพราะในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสได้

ADF (Acid detergent fiber) คือ เซลลูโลส ลิกนินและคิวติน ไม่รวมส่วนของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: จินดา (2547)

เศษเหลือของสับปะรดจากโรงงานจะมีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันไปเรียกว่าเปลือกสับปะรดหรือกากสับปะรดจะประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ มีเปลือกด้านข้าง ส่วนหัว ส่วนล่าง ไส้ (แกนกลาง) และเศษเนื้อ อาจจะมีส่วนใดส่วนหนึ่งเล็กน้อยแล้วแต่โรงงาน ซึ่งจะทำให้ส่วนประกอบทาง

เคมีจากเศษเหลือของสับประรดหรือเปลือกสับประรดมีค่าแตกต่างกัน โดยทั่วไปเปลือกสับประรดสดจากโรงงานทำสับประรดกระป๋องจะมีปริมาณน้ำอยู่สูง มีวัตถุแห้งประมาณ 10-12 เปอร์เซ็นต์ มีความเป็นกรดต่ำ (pH) อยู่ระหว่าง 3.2-3.4 มีเยื่อโภชนะย่อยได้ (TDN) 65-74 เปอร์เซ็นต์ มีโปรตีนปริมาณแร่ธาตุต่างๆ และวิตามินอีต่ำ ปริมาณน้ำตาลที่พบมากส่วนใหญ่เป็นพวกซูโครส (70 %) กลูโคส (20 %) และฟรุกโตส (10 %) ได้แสดงผลวิเคราะห์แยกตามส่วนต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ผนังเซลล์ของพืชประกอบด้วยโปรตีน ได้แก่ เอนไซม์และโปรตีนที่เป็นโครงสร้าง (Structural protein) มีไขมันเพียงเล็กน้อยในรูปของไข (Wax) และคิวติน (Cutin) อยู่ร่วมกับพอลิแซ็กคาไรด์ 3 ชนิด คือ เพกทิน (Pectin) เซลลูโลส (Cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (Hemicelluloses) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก เซลลูโลสเป็นลูกโซ่สายตรง (Linear chain) ของเบตา-ดี-กลูโคไพราโนส ( $\beta$ -D-glucopyranose) แต่ละสายลูกโซ่ของเซลลูโลสประกอบด้วยกลูโคสจำนวน 3,000 หน่วยโดยเฉลี่ย แต่ละคู่ของโมเลกุลที่อยู่ติดกันในลูกโซ่ของเซลลูโลสเรียกว่าเซลโลไบโอส (Cellobiose) เซลลูโลสแต่ละสายลูกโซ่เกาะกันเป็นคู่ด้วยพันธะไฮโดรเจนและรวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ 40 คู่ เรียกการรวมตัวในลักษณะนี้ว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) เฮมิเซลลูโลสเป็นกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งอยู่ในรูปของเมทริกซ์ (Matrix) ร่วมกับเพกทินและลิกนิน ซึ่งเป็นที่ฝังตัวของไมโครไฟบริล ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของน้ำตาลต่างชนิดกัน เช่น ไชแลน แมนแนน กลูโคแมนแนน โดยมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก พอลิแซ็กคาไรด์ในส่วนนี้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของส่วนที่มีความอ่อนนุ่มของเนื้อเยื่อพืช (ธีรา, 2538)

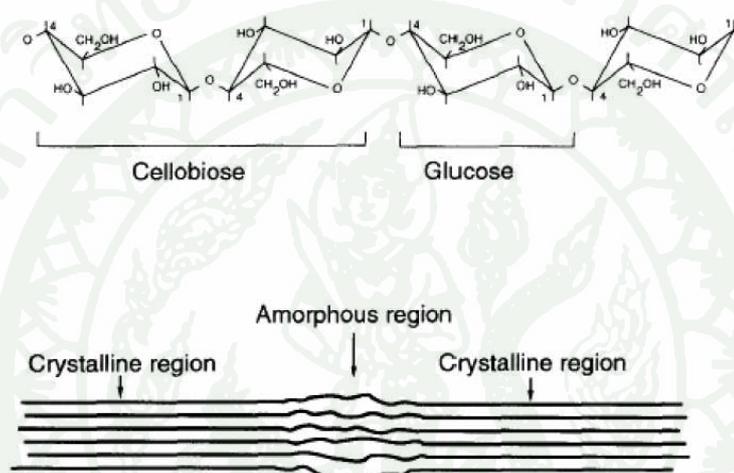
จากองค์ประกอบทางเคมีของสับประรดที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสับประรดสามารถเปลี่ยนเป็นเชื้อเพลิงไฮโดรเจนได้เนื่องจากเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสชนิดหนึ่งซึ่งประกอบไปด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ที่ประกอบกับเป็นโครงสร้างแข็งแรงจึงต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสก่อนกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน เพื่อทำลายโครงสร้างและเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาในการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

## 6. ชีวมวลลิกโนเซลลูโลส

ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสประกอบด้วยโพลีเมอร์ 3 ชนิดที่เชื่อมโยงกัน คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Hendriks and Zeeman, 2009)

1. เซลลูโลส ประกอบด้วยหน่วยของดี-กลูโคส (D-glucose) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ

เบตา-1,4 ไกลโคสิติก เซลลูโลสในพืชประกอบไปด้วยโครงสร้างที่เป็น โครงผลึกและโครงสร้างที่มีรูปร่างไม่แน่นอน เส้นใยเซลลูโลสเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นอิสระต่อกันและเชื่อมกันอย่างอ่อนด้วยพันธะไฮโดรเจน เป็นสารอินทรีย์ที่ปรากฏตามธรรมชาติมากที่สุด กล่าวคือ ในส่วนที่เป็นเนื้อฝักนั้นจะประกอบด้วยเซลลูโลสถึงร้อยละ 30 โดยประมาณ นอกจากนี้ยังพบเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ของพืชอีกด้วย ในจำนวน โพลีแซคคาไรด์ด้วยกันนั้น เซลลูโลสนับว่ามีน้ำหนักโมเลกุลมากที่สุด ทำให้มีความต้านทานต่อสารเคมีและจุลินทรีย์ นอกจากนี้โมเลกุลของเซลลูโลสยังทนต่อการบิดหรือการหมุน (วรัญญา, 2526)



ภาพที่ 7 โครงสร้างของเซลลูโลส

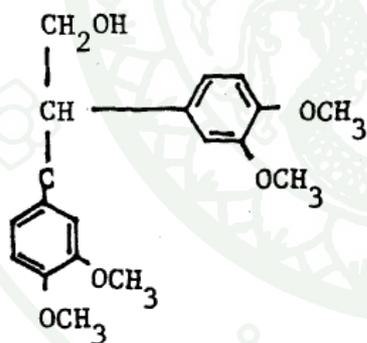
ที่มา: จารุวรรณ (2548)

2. เฮมิเซลลูโลส เป็นโครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อนประกอบด้วยโพลีเมอร์ที่หลากหลายจำพวกเพนโทส (เช่น ไซโลสและอะราบิโนส) เฮกโซส (เช่น แมนโนส กลูโคสและกาแลคโตส) และกรดน้ำตาล ส่วนประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสจากไม้เนื้อแข็งและพืชทางการเกษตร เช่น หนุ้าและฟาง คือไซแลน ขณะที่ไม้เนื้ออ่อนคือกลูโคแมนแนน เฮมิเซลลูโลสมีมวลโมเลกุลต่ำกว่าเซลลูโลสและมีกิ่งก้านสั้นที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดซึ่งง่ายต่อการไฮโดรไลซิส โพลีเมอร์ เฮมิเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างลิกนินและเส้นใยเซลลูโลสทำให้เกิดความแข็งแรงของเครือข่ายเซลลูโลส-เฮมิเซลลูโลส-ลิกนิน การละลายของสารประกอบเฮมิเซลลูโลสเรียงตามลำดับดังนี้ แมนโนส ไซโลส กลูโคส อะราบิโนสและกาแลคโตส การละลายเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ โดยการละลายของสารประกอบเฮมิเซลลูโลสเริ่มที่ประมาณ 180 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง อย่างไรก็ตามมี

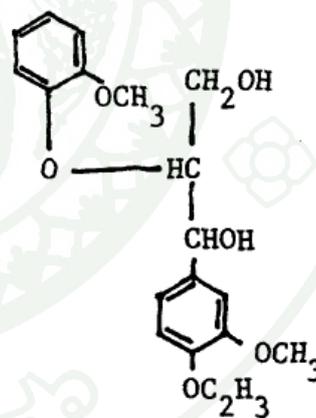
การกล่าวว่่าประมาณ 150 องศาเซลเซียสจะเกิดการละลายเฮมิเซลลูโลสส่วนหนึ่งแล้ว การละลายของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสยังขึ้นกับความชื้นและค่าความเป็นกรดต่าง เฮมิเซลลูโลสอ่อนไหวต่อความร้อนและสารเคมีมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเซลลูโลสและลิกนิน

3. ลิกนิน เป็นโพลีเมอร์ที่มีมากในธรรมชาติและเป็นผนังเซลล์ของพืช เป็นโพลีเมอร์หลายชนิดที่มีรูปร่างไม่แน่นอนประกอบด้วยหน่วยฟีนิล โพรเพน 3 หน่วยที่แตกต่างกันคือ p-coumaryl Coniferyl และ Sinapyl alcohol เชื่อมต่อกันด้วยพันธะหลายชนิด ลิกนินทำให้โครงสร้างพืชแข็งแรง ความไม่สามารถซึมผ่านได้และทนทานต่อการทำลายของจุลินทรีย์ โพลีเมอร์หลายชนิดที่มีรูปร่างไม่แน่นอนไม่ละลายน้ำและไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาซึ่งทำให้การย่อยสลายลิกนินเป็นไปได้ยาก ลิกนินจะเริ่มละลายน้ำที่ประมาณ 180 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะที่เป็นกลาง การละลายของลิกนินในสภาวะกรด กลางหรือด่างขึ้นกับสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยาของลิกนิน

นอกจากนี้โมเลกุลของลิกนินยังเชื่อมต่อกับสารประกอบอะโรมาติกอื่นมากมาย เช่น Vanillin และ Syringaldehyde โดยสูตรโมเลกุลที่มักพบในลิกนินแสดงดังภาพที่ 8



1,2-diarylp propane structure



arylglycerol-β-aryl ether type

ภาพที่ 8 โครงสร้างของลิกนิน

ที่มา: พนิดา (2530)

ลิกนินไม่ละลายในน้ำและสารละลายอินทรีย์หลายชนิด แต่ละลายได้ดีในไดออกเซน (Dioxane) โดยทั่วไปทำให้ลิกนินเปียกน้ำได้ยาก ไม่ละลายในกรดแต่ละลายได้ในสภาพที่เป็นด่าง และอาจถูกออกซิไดซ์ได้ในบรรยากาศ น้ำหนักโมเลกุลของลิกนินที่สร้างขึ้นโดยขบวนการต่างๆกันในพีชชนิดต่างๆ เช่น ไม้เนื้ออ่อน ไม้เนื้อแข็ง ชานอ้อนและฟาง จะแตกต่างกัน (พนิดา, 2530)

## 7. การปรับสภาพกากสับประรด

โครงสร้างของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสจำเป็นต้องผ่านการปรับสภาพโดยเป้าหมายของการปรับสภาพเพื่อกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลสและเพิ่มความพรุนของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส การปรับสภาพทำเพื่อปรับปรุงการเกิดน้ำตาลหรือความสามารถในการเกิดน้ำตาลจากการไฮโดรไลซิส หลีกเลี่ยงการย่อยสลายหรือสูญเสียคาร์โบไฮเดรตและการเกิดผลิตภัณฑ์ร่วมที่ยับยั้งกระบวนการไฮโดรไลซิสและกระบวนการหมักและมีความคุ้มค่า การปรับสภาพสามารถทำได้หลายวิธีคือ ทางกายภาพ (บดและบั่น) ทางกายภาพและเคมี (ระเบิดไอน้ำและการออกซิเดชันแบบเปียก) ทางเคมี (ด่าง กรดอ่อน สารออกซิไดซ์และสารอินทรีย์) ทางชีวภาพ ทางไฟฟ้า หรือใช้หลายวิธีประกอบกัน (Kumar *et al.*, 2009)

### 7.1 การปรับสภาพทางกายภาพ (Physical pretreatment)

#### 7.1.1 การลดขนาดทางกล (Mechanical comminution)

การลดขนาดชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยการตัด บดหรือโม่เพื่อลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสจนมีขนาด 10 ถึง 30 มิลลิเมตรหลังการตัดและ 0.2 ถึง 2 มิลลิเมตรหลังการบดหรือโม่ ทำให้มีพื้นที่ผิวเพิ่มมากขึ้นและลดความเป็นโครงสร้างผลึกลง อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังมีราคาแพงเกินไป

#### 7.1.2 ไพโรไลซิส (Pyrolysis)

เซลลูโลสย่อยสลายเป็นแก๊สและซาร์เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 300 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็ว ที่อุณหภูมิต่ำกว่าการย่อยสลายจะช้าลงและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นน้อยลง มีการรายงานว่า การไฮโดรไลซิสของกรดอ่อน (1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง) ของผลิตภัณฑ์จากการปรับสภาพด้วยวิธีไพโรไลซิสส่งผลให้ 80 ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ของเซลลูโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซิงซึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคสมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

## 7.2 การปรับสภาพทางกายภาพและเคมี (Physicochemical pretreatment)

### 7.2.1 ระเบิดไอน้ำ (Steam explosion)

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลส โดยชีวมวลลิกโนเซลลูโลสกระทำด้วยไอน้ำอันทันทีความดันสูงจากนั้นลดความดันลงทันทีซึ่งทำให้ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสระเบิด มักจะเริ่มตันที่อุณหภูมิ 160 ถึง 260 องศาเซลเซียส (0.69 ถึง 4.83 เมกะพาสคา) เป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนที่จะปล่อยสู่ความดันบรรยากาศ ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสจะคงไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่งเพื่อการไฮโดรไลซิสเอมิเซลลูโลส กระบวนการทำให้เกิดการย่อยสลายเอมิเซลลูโลสและการแปลงสภาพลิกนินเนื่องจากอุณหภูมิสูง ดังนั้นจึงเพิ่มศักยภาพในการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส เอมิเซลลูโลสไฮโดรไลซ์ด้วยกรดอะซิดิกและกรดอื่นที่เกิดขึ้นระหว่างการระเบิดไอน้ำ ปัจจัยที่มีผลต่อการระเบิดไอน้ำคือเวลาที่อยู่ในระบบ อุณหภูมิ ขนาดอนุภาคและความชื้น การละลายและไฮโดรไลซิสที่เหมาะสมของเอมิเซลลูโลสกระทำที่อุณหภูมิสูงและระยะเวลาในระบบสั้น (270 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที) หรืออุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน (190 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที) ข้อดีของวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำคือ ใช้พลังงานต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการลดขนาดทางกลที่ต้องใช้พลังงานมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ในการลดขนาดอนุภาคที่เท่ากัน

### 7.2.2 Ammonia Fiber Explosion (AFEX)

เป็นการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสด้วยแอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิและความดันสูงช่วงระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นลดความดันลงอย่างรวดเร็ว วิธีนี้คล้ายคลึงกับวิธีระเบิดไอน้ำในกระบวนการ โดยทั่วไปปริมาณของแอมโมเนียเหลวคือ 1 ถึง 2 กิโลกรัมแอมโมเนียต่อกิโลกรัมของชีวมวลแห้ง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เป็นกระบวนการปรับสภาพที่ไม่มีของเหลวเกิดขึ้นทำให้มีความคุ้มค่ากว่าวิธีการปรับสภาพอื่น (Li *et al.*, 2010)

## 7.3 การปรับสภาพทางเคมี (Chemical pretreatment)

### 7.3.1 การไฮโดรไลซิสด้วยกรด (Acid hydrolysis)

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรด ได้กระทำกันมานานแล้วด้วยวัตถุประสงค์ที่จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือน้ำตาล แต่จากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดจะได้สารประกอบเฟอร์ฟูรัลและ

อนุพันธ์ของเพอร์ฟูลเรตซึ่งไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น วิธีการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดกระทำกันเป็น 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกการใช้กรดเข้าไปทำลายโครงสร้างของเซลลูโลส โดยทำให้เซลลูโลสพองตัว ขั้นตอนที่ 2 เป็นการเติมน้ำเพื่อลดความเป็นกรด จากนั้นใช้ความร้อนซึ่งทำให้เซลลูโลสถูกตัดเป็น โมเลกุลเล็กๆ คือ น้ำตาล ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดคือ ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ จะต้องมีความเข้มข้นสูงและใช้อุณหภูมิที่สูง ทั้งนี้เพื่อให้โครงสร้างประเภท โครงผลึก (Crystalline) ซึ่งทนต่อการย่อยด้วยกรดเกิดการแตกตัวให้หมดด้วย กรดที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดซัลฟูริก กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดฟอสฟอริก การย่อยสลายด้วยกรดไม่เป็นที่นิยมเนื่องจาก ปฏิบัติการย่อยสลายด้วยกรดไม่ จำเพาะเจาะจง บางครั้งก่อให้เกิดปฏิกิริยาอื่นๆ เช่น ปฏิบัติการคั่งน้ำ (Dehydration) และปฏิบัติการย่อยสลายน้ำตาลที่เป็นผลิตภัณฑ์ เป็นต้น นอกจากนี้กรดที่ใช้มีผลกัดกร่อนอุปกรณ์ต่างๆ การปรับสภาพ ให้เป็นกลางมีผลให้เสียเวลาและค่าใช้จ่าย (สุภาวีนี, 2550)

### 7.3.2 การไฮโดรไลซิสด้วยด่าง (Alkaline hydrolysis)

การปรับสภาพด้วยด่างสามารถกำจัดลิกนินจากชีวมวลโดยทำลายพันธะเอสเทอร์ที่ เชื่อมต่อระหว่างลิกนินและไซเลนทำให้เหลือองค์ประกอบของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส กระบวนการปรับสภาพด้วยด่างโดยทั่วไปดำเนินการที่อุณหภูมิ ความดันและเวลาในการปรับสภาพต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการปรับสภาพอื่น สารเคมีที่ใช้ในการปรับสภาพมากที่สุดคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ แอมโมเนียและปูนขาว (Mcintosh and Vancov, 2010)

### 7.4 การปรับสภาพทางชีววิทยา (Biological pretreatment)

เทคโนโลยีการปรับสภาพส่วนใหญ่ต้องการเครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่มีราคาแพงและมีการใช้ พลังงานสูงขึ้นอยู่กับกระบวนการ การปรับสภาพทางชีววิทยาใช้เชื้อราแบบแท่งหลายชนิด ซึ่งเป็นวิธีที่ ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นกระบวนการที่ไม่ต้องใช้พลังงานสูงในการกำจัดลิกนิน ใน การปรับสภาพโพลีลินทรีย์จำพวกเชื้อราแบบแท่งสีน้ำตาล ขาวที่นุ่มเพื่อย่อยสลายลิกนินและเฮมิ เซลลูโลส สีน้ำตาลแบบแท่งส่วนใหญ่ทำลายเซลลูโลสในขณะที่แบบแท่งสีขาวและนุ่มทำลายทั้ง เซลลูโลสและลิกนิน การย่อยสลายลิกนินโดยเชื้อราแบบแท่งสีขาวเกิดผ่านเอนไซม์ย่อยลิกนิน เช่น เพอร์ร็อกซิเดสและแลคเคส

## 8. กากตะกอน (Sewage sludge)

กระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนเป็นกระบวนการทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศได้ผลผลิตเป็นแก๊สชีวภาพ ซึ่งแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมัก ได้แก่ (มันสิน, 2546)

### 8.1 แบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenic bacteria)

ในขั้นตอนการสร้างกรดไขมันระเหยของกระบวนการไม่ใช้อากาศ กรดจะผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาด (Obligate anaerobes) มากกว่าแบคทีเรียชนิดที่อยู่ได้ทั้งสภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ (Facultative anaerobes) ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาดมีจำนวนมากกว่า แบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาดที่มีบทบาทในการสร้างกรดไขมันระเหยก็คือกลุ่มคลอสทริเดียม (*Clostridium*) ซึ่งมีเมตาบอลิซึมหลายแบบจึงสามารถใช้สารอาหารทั้งที่เป็นพวกแป้งหรือโปรตีนได้ ผลผลิตจากปฏิกิริยาที่ได้มีหลากหลายชนิดเช่น กรดบิวทิริก กรดอะซิติก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สไฮโดรเจน เอทานอล บิวทานอล อะซีโตน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียในกลุ่ม *Propionibacterium* ที่ผลิตกรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) และกรดอะซิติกจากกรดแลคติก

### 8.2 แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic bacteria)

ผลผลิตจากแบคทีเรียสร้างกรดมีหลายชนิดและบางชนิดเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่แบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารได้ ดังนั้นจึงต้องมีการเปลี่ยนสารเหล่านั้นให้กลายเป็นสารอาหารอย่างง่ายสำหรับแบคทีเรียสร้างมีเทน ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนกรดไขมันระเหยโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นกรดอะซิติก แก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้นั้น สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้

#### 8.2.1. โฮโมอะซิโตเจน (Homoacetogenic bacteria)

แบคทีเรียชนิดนี้ใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็กตรอนและผลิตกรดอะซิติกขึ้นมา (เป็นกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้อากาศ) ผ่านวิถีทางอะซิติกโคเอนไซม์เอ (Acetyl-CoA pathway) แบคทีเรียชนิดนี้ เช่น *Acetobacterium woodii* และ *Clostridium aceticum* สามารถเจริญเติบโตทั้งในแบบออโทโทรฟิก (Autotrophic) คือ ใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็ก

ตรอนและแหล่งคาร์บอนและใช้แก๊สไฮโดรเจนเป็นสารให้อิเล็กตรอนเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและสามารถเจริญเติบโตในแบบเฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic) โดยการหมักน้ำตาลดังสมการที่ 7 และ 8



จะเห็นว่าแบคทีเรียพวกคลอสทริเดียมมีอยู่ทั้งในกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดทั่วไป (Acidogenic bacteria) และกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก (Acetogenic bacteria) ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้มีเมตาบอลิซึมหลายแบบ

### 8.2.2. อะซิโตเจน (H<sub>2</sub>-producing acetogenic bacteria)

แบคทีเรียชนิดนี้จะใช้กรดไขมันระเหย (ที่ไม่ใช่กรดอะซิติก) หรือแอลกอฮอล์เป็นสารอาหาร แล้วสร้างกรดอะซิติกและแก๊สไฮโดรเจนซึ่งเป็นสารอาหารของแบคทีเรียสร้างมีเทน ดังนั้นแบคทีเรียชนิดนี้จึงมีบทบาทสำคัญ เพราะเป็นตัวเชื่อมระหว่างแบคทีเรียสร้างกรดกับแบคทีเรียสร้างมีเทน อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้จะเจริญเติบโตได้ไม่ดีเมื่ออยู่ตามลำพัง ทั้งนี้เพราะถ้ามีการสะสมของแก๊สไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นมาจะทำให้ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก ทำให้ปฏิกิริยาสร้างกรดอะซิติกไม่เกิดขึ้น ดังนั้นการอยู่ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกและแบคทีเรียสร้างมีเทนให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน (Syntrophy) เพราะแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกจะสร้างอาหารให้แก่แบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนก็ช่วยทำลายแก๊สไฮโดรเจนให้กับแบคทีเรียที่สร้างกรด

### 8.3 แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenesis bacteria)

ในขั้นตอนการเกิดมีเทน แบคทีเรียที่ผลิตแก๊สมีเทนจะเป็นแบคทีเรียประเภทเด็ดยืด (ที่ไม่อาจทนต่อออกซิเจนได้แม้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย) แบคทีเรียพวกนี้จะเจริญเติบโตช้าและเลือกชนิดของอาหารมาก สารอาหารสำหรับแบคทีเรียสร้างมีเทนมีอยู่ประมาณ 10 ชนิด โดยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารอาหารที่มีเกือบทั่วไปในธรรมชาติและเมื่อแหล่งให้อิเล็กตรอนเป็นแก๊สไฮโดรเจนแบคทีเรียสร้างมีเทนพวกนี้จะจัดเป็นจุลินทรีย์เฮเทอโรโทรฟิกที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ทำหน้าที่เป็นทั้งสารรับอิเล็กตรอน

และแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังมีสารอาหารอีกหลายตัวที่เป็นแหล่งคาร์บอนเช่นเดียวกับคาร์บอน-ไดออกไซด์ได้อีก

เพราะฉะนั้น การใช้ประโยชน์กากตะกอนในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจำเป็นต้องมีการปรับสภาพกากตะกอนเพื่อยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทนในขณะที่รักษากิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตไฮโดรเจนไว้ โดยการปรับสภาพกากตะกอนน้ำเสียช่วยลดปริมาตรของกากตะกอน ทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค และส่งผลกระทบต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ ระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิส ผนังเซลล์แตกออกและสารโพลีเมอร์ภายนอกเซลล์ (Extracellular polymeric substances, EPS) ถูกย่อยสลายส่งผลให้สารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ง่ายปลดปล่อยออกมาให้กับจุลินทรีย์ในขั้นการเกิดกรด (Acidogenic micro-organisms) กลไกนี้เป็นกลไกที่สำคัญในการย่อยสลายของกากตะกอน เมื่อเซลล์ที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบหลักเป็นสารตั้งต้นที่ไม่พึงประสงค์สำหรับการย่อยสลายของจุลินทรีย์ เซลล์ที่ห่อหุ้มจุลินทรีย์คือโครงสร้างกึ่งแข็งที่มีความแข็งแรงเพียงพอที่จะปกป้องเซลล์จากการแตกตัวจากแรงดันออสโมซิส (Osmotic lysis) ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ประกอบไปด้วยกึ่งก้านไกลแคนเชื่อมกันด้วยสายโซ่เปปไทด์ทำให้ทนทานต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ มีการศึกษาการสลายตัวของกากตะกอนมากมายที่เรียกว่าการปรับสภาพ (Pretreatment) วิธีเหล่านี้ทำให้ผนังเซลล์แตกส่งผลให้เกิดการแตกตัวหรือการสลายตัวของเซลล์จุลินทรีย์ วิธีการปรับสภาพสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การปรับสภาพทางกล ความร้อน สารเคมีและชีววิทยา เป็นต้น

### 1. การปรับสภาพด้วยความร้อน (Thermal pretreatment)

การปรับสภาพกากตะกอนด้วยความร้อนเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ กากตะกอนอยู่ภายใต้ช่วงอุณหภูมิ 150-200 องศาเซลเซียส การเพิ่มความดันกับช่วงอุณหภูมิเหล่านี้ในช่วง 600-2500 กิโลปาสกาล ความร้อนที่มีระหว่างการปรับสภาพจะทำลายพันธะเคมีของผนังเซลล์และเยื่อเลือกผ่านทำให้เกิดการละลายขององค์ประกอบของเซลล์ อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการปรับสภาพขึ้นอยู่กับธรรมชาติของกากตะกอน (Appels *et al.*, 2008)

### 2. การปรับสภาพทางกล (Mechanical pretreatment)

เป็นวิธีการปรับสภาพทางกายภาพวิธีหนึ่ง โดยลำดับประสิทธิภาพของวิธีการปรับสภาพกากตะกอนเพื่อเพิ่มปริมาณแก๊สชีวภาพคือ วิธีอัลตราโซนิค (Ultrasonic) (20 วัตต์ 9 กิโลเฮิร์ตเป็นเวลา 30 นาที) > การปรับสภาพด้วยความร้อนโดยอโตคลฟ (120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที) > การปรับสภาพด้วยความร้อนโดยน้ำร้อน (60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที) > การแช่แข็ง (-10 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 15 ชั่วโมง) โดยวิธีอัลตราโซนิกเป็นวิธีทางกลสำหรับการสลายตัวของกากตะกอนเนื่องจากสามารถทำให้กากตะกอนสลายตัวมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ เพิ่มคุณภาพของกากตะกอนชีวภาพและเพิ่มเปอร์เซ็นต์แก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพ ไม่ต้องใช้สารเคมี ใช้เวลาในการปรับสภาพน้อย (Pilli *et al.*, 2011)

### 3. การปรับสภาพด้วยด่าง (Alkaline pretreatment)

การปรับสภาพกากตะกอนด้วยด่างขึ้นอยู่กับกระบวนการละลายหรือการทำลายโครงสร้างของสารแขวนลอยตกตะกอน (Floc) และผนังเซลล์โดยไฮดรอกซิดเรดิคอลล ค่าพีเอชที่สูงเป็นสาเหตุให้รูปร่างของโปรตีนหลวม เกิดปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) ของโปรตีนและไฮโดรไลซิสของอาร์เอ็นเอ (Li *et al.*, 2008)

## 9. เอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบตามธรรมชาติ เอนไซม์เซลลูเลสจะย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลส ( $\beta$ -1,4- glucosidic linkage) ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งละลายน้ำ เอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ผสม (Multicomponent enzyme) ประกอบด้วยเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิดทำงานร่วมกัน ดังนี้ (สุควาดี, 2543)

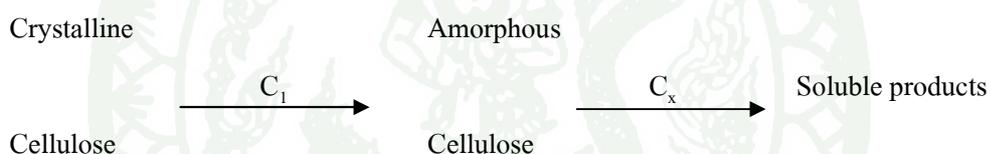
1. เอนไซม์  $C_1$  หรือไฮโดรเจนบอนเดส (Hydrogen bondase) ทำหน้าที่กระตุ้นหรือย่อยเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติให้เป็นสายโพลีแซคคาไรด์สั้นๆทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลงมีสภาพที่เหมาะสมสำหรับเป็นสับสเตรทของเอนไซม์เซลลูเลสในลำดับต่อไป

2. เอนไซม์  $C_x$  หรือเบตา-1,4-กลูคาเนส ( $\beta$ -1,4- glucanases) ทำหน้าที่ย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์สั้นๆจนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆจะสามารถย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้จำพวกเบตา-1,4 ของสับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose, CMC) ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลส แต่ไม่สามารถย่อยสลายสับสเตรทที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ เอนไซม์กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

2.1 เอนโด-เบตา-1,4-กลูคาเนส (Endo- $\beta$ -1,4-glucanases) จะทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสในรูปที่เป็นระเบียบและไม่เป็นระเบียบ ตัดพันธะที่ตำแหน่งเบตา-1,4 ไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1,4- glycosidic) ภายในสายเซลลูโลสบริเวณที่ไม่เป็นรูปร่างหรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและเซลโลโอลิโกเมอร์ (Cellooligomers) แบบสุ่ม (Random) ทำให้ได้กลูโคสและโอลิโกเมอร์ชนิดเซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก

2.2 เอกซ์โซ-เบตา-1,4-กลูคาเนส (Exo-  $\beta$ -1,4- glucanases) จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารโพลีเมอร์ของเบตา-1,4 ไกลโคซิดิกจากปลายด้านที่ไม่รีดิวซ์ (Non-reducing) ที่ละโมเลกุลอย่างมีระเบียบและมีการเปลี่ยนโครงร่าง (Configuration) ของผลผลิตคือ เปลี่ยนเบตาเป็นแอลฟา ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอสและกลูโคส

#### กลไกการทำงานร่วมกันของ $C_1$ และ $C_x$



3. เบตา-กลูโคซิเดส ( $\beta$ -Glucosidase) ทำหน้าที่ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก  $C_x$  ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ เช่น ย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอส (Cellobiose) และเซลโลเฮกโซส (Cellohexose) (น้ำตาลกลูโคสจาก 2-6 หน่วย) ได้เป็นกลูโคสและย่อยสลายกรดเซลโลไบโอนิก (Cellobionic acid) ให้เป็นกลูโคนแลกโตน (Gluconolactone) และกลูโคส เป็นต้น เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการทำงานร่วมกับเอนไซม์เอนโด- และเอกซ์โซ-เบตา-1,4-กลูคาเนสที่จะย่อยสลายเซลลูโลสเป็นกลูโคส

### 9.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

#### 9.1.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าในทุกๆอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน (Optimal temperature) เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลงเพราะเอนไซม์

เสียสภาพ (Denaturation) หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์จะเสถียรและเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส (อิสรี, 2550)

### 9.1.2 พีเอช (pH)

ความเป็นกรดค่า (pH) มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เพราะเอนไซม์จะคงสภาพอยู่ได้ในช่วง pH ที่จำกัดเท่านั้น เอนไซม์โดยทั่วไปทำงานได้ดีที่ pH ประมาณ 6-7.5 ยกเว้นเพปซินทำงานได้ดีที่ pH ประมาณ 2 (โรงเรียนองครักษ์, 2554)

### 9.1.3 ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Inhibitors)

ตัวยับยั้งคือ สารที่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งลดลง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เป็นวิธีสำคัญวิธีหนึ่งที่มีชีวิตใช้ควบคุมอัตราเร็วของปฏิกิริยาต่างๆภายในเซลล์ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ (พัชรา, 2543)

#### 1. การยับยั้งแบบทวนกลับได้ (Reversible inhibition) แบ่งออกเป็น 5 ประเภท ดังนี้

1.1 การยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) ตัวยับยั้งแบบแข่งขันเป็นสารที่จับกับเอนไซม์อิสระ (Free enzyme) แล้วทำให้เอนไซม์นั้นไม่สามารถจับกับสเตรตได้ หรือในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ที่มีสเตรตจับอยู่แล้ว (ES complex) จะไม่สามารถจับกับตัวยับยั้งได้เช่นกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตัวยับยั้งไปจับกับเอนไซม์ตรงบริเวณเดียวกันกับที่สเตรตจับ แต่การจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์จะมีผลทำให้เอนไซม์ไม่สามารถจับกับสเตรตได้ ตัวยับยั้งแบบแข่งขันนี้อาจเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายสเตรต (Substrate analogue) หรือเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา

1.2 การยับยั้งไม่แข่งขันแบบ Noncompetitive (Noncompetitive inhibition) ตัวยับยั้งประเภทนี้ไม่มีอิทธิพลต่อการจับของสเตรตกับเอนไซม์ ทั้งสเตรตและตัวยับยั้งสามารถจับกับเอนไซม์ได้โดยไม่มีอิทธิพลต่อกัน ตัวยับยั้งสามารถจับได้ทั้งกับเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สเตรต (ES) และสเตรตสามารถจับได้ทั้งกับเอนไซม์อิสระ (E) และสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-ตัวยับยั้ง (EI) แต่สารประกอบเชิงซ้อน ESI ที่เกิดขึ้นไม่สามารถสลายให้ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์จะทำให้หมู่เร่ง (Catalytic group) ไม่อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยา

1.3 การยับยั้งไม่แข่งขันแบบ Uncompetitive (Uncompetitive inhibition) ตัวยับยั้งชนิดนี้จะจับกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สับสเตรตแบบทวนกลับได้เกิดเป็น ESI ซึ่งไม่สามารถเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้ ตัวยับยั้งจะไม่สามารถจับกับเอนไซม์อิสระได้ การจับของสับสเตรตกับเอนไซม์อาจทำให้เอนไซม์เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างไปจนทำให้ตัวยับยั้งเข้าจับด้วยได้ ตัวยับยั้งชนิดนี้จะไม่แข่งขันกับสับสเตรตในการเข้าจับกับบริเวณแอกทีฟ

1.4 การยับยั้งแบบผสม (Mixed inhibition) คือการยับยั้งประเภทที่ตัวยับยั้งสามารถจับได้ทั้งเอนไซม์อิสระและสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สับสเตรต ดังนั้นการยับยั้งแบบ Noncompetitive จัดเป็นพวกหนึ่งของการยับยั้งแบบผสม

1.5 การยับยั้งเพียงบางส่วน (Partial inhibition) การยับยั้งที่กล่าวมาข้างต้นเป็นการยับยั้งที่เกิดโดยสมบูรณ์ นั่นคือสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-ตัวยับยั้งไม่สามารถให้ผลิตภัณฑ์

2. การยับยั้งแบบถาวร (Irreversible inhibition) ตัวยับยั้งแบบถาวร (Irreversible inhibitor) จะจับกับเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์ทำให้ไม่สามารถแตกตัวออกจากเอนไซม์ได้ โดยตัวยับยั้งเมื่อจับกับเอนไซม์แล้วอาจทำให้สับสเตรตจับกับเอนไซม์ไม่ได้ หรือตัวยับยั้งอาจไปทำลายบางส่วนของบริเวณเร่งบนเอนไซม์

## 10. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน

### 10.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่สำคัญที่สุดที่ส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนและกระบวนการเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในเชื้อผสม เนื่องจากความซับซ้อนของของเสียทางการเกษตรและสภาวะในการปฏิบัติที่หลากหลายจึงไม่สามารถบอกอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนได้ เมื่อพิจารณาของเสียที่เป็นเศษอาหาร ช่วงอุณหภูมิสูง (Thermophilic temperatures) เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนมากกว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสได้อะซิเตดเป็นผลิตภัณฑ์หลักในขณะที่วิถีทางการผลิตไฮโดรเจนเอนดที่เกิดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามข้อเสียเปรียบของการหมักที่อุณหภูมิสูงคือพลังงานที่ต้องการสำหรับการให้ความร้อนและการบำรุงรักษา (Guo *et al.*, 2010)

## 10.2 พีเอช (pH) สภาพที่เป็นด่าง (Alkalinity)

จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มมีช่วงค่าพีเอชที่เหมาะสมแตกต่างกัน จุลินทรีย์ผลิตมีเทนตอบสนองต่อค่าพีเอชอย่างมากเนื่องจากมีค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงระหว่าง 6.5 และ 7.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักบางส่วนจะตอบสนองต่อค่าพีเอชน้อยกว่าและสามารถทำงานในช่วงค่าพีเอชที่กว้างกว่าระหว่าง 4.0 ถึง 8.5 ที่ค่าพีเอชต่ำผลิตภัณฑ์หลักคือ กรดอะซิติกและกรดบิวทริก ในขณะที่ค่าพีเอช 8.0 จะมีกรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิกเป็นส่วนใหญ่ การผลิตกรดไขมันระเหยได้ (VFAs) ระหว่างกระบวนการหมักทำให้ค่าพีเอชลดลง การลดลงนี้มักจะถูกต่อต้านโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทนที่สามารถผลิตสภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และไบคาร์บอเนต ระบบพีเอชจะถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะแก๊ส และไบคาร์บอเนตในสถานะของเหลว ถ้าความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ในสถานะแก๊สสูงที่การเติมไบคาร์บอเนตจะสามารถเพิ่มค่าพีเอช (Appels *et al.*, 2008)

## 10.3 โลหะหนัก (Heavy metal)

แมกนีเซียม โซเดียม สังกะสีและเหล็กเป็นโลหะหนักปริมาณน้อยที่สำคัญที่สุดที่ส่งผลต่อการผลิตไฮโดรเจน โดยแมกนีเซียมเป็นโคแฟกเตอร์ที่สำคัญที่สุดที่กระตุ้นเอนไซม์ 10 ชนิดรวมทั้งเฮกโซโคเนส ฟอสโฟฟริกโคโคเนสและฟอสโฟกลีเซอเรสโคเนสระหว่างกระบวนการไกลโคไลซิส (Chong *et al.*, 2009)

## 10.4 ระยะเวลาในการกักเก็บในระบบ (Hydraulic retention time, HRT)

ระยะเวลาในการกักเก็บในระบบเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ไร้ออกซิเจน อัตราการย่อยสลายจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการกักเก็บส่งผลให้มีปริมาณแก๊สไฮโดรเจนที่เพิ่มมากขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง แล้วเกิดการลดลง ทั้งนี้เกิดจากจุลินทรีย์กลุ่มผลิตแก๊สมีเทน (Methanogen) ที่ใช้ไฮโดรเจนเกิดการเจริญขึ้นทำให้ปริมาณไฮโดรเจนลดลง (มงคล, 2547)

## 11. วิธีการตอบสนองที่พื้นผิว (Response surface methodology, RSM)

แผนแบบพื้นผิวตอบสนอง โดยทั่วไปจะไม่ทราบรูปแบบความสัมพันธ์ที่แท้จริงจึงนิยมประมาณรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตอบสนองกับตัวแปรอิสระด้วยสมการโพลีโนเมียลอันดับสอง ซึ่งแผนแบบที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาสมการโพลีโนเมียลอันดับสองจะใช้แผนแบบเซ็นทรัลคอมโพสิต (Central Composite Design, CCD) ซึ่งนำเสนอโดย Box and Wilson (1951) และแผนแบบ CCD เป็นแผนแบบพื้นผิวตอบสนองที่ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือ (อุดมทรัพย์, 2551)

1. ส่วนแฟกทอเรียลพอยท์ (Factorial point;  $n_f$ ) เป็นส่วนที่ประกอบด้วยแผนแบบแฟกทอเรียลที่มี  $k$  ปัจจัย แต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ ซึ่งใช้สัญลักษณ์  $-1$  แทนระดับต่ำและ  $+1$  แทนระดับสูง หรือเป็นแผนแบบแฟกทอเรียลแฟกทอเรียลที่มีคุณสมบัติ Resolution V ดังนั้นในส่วนแฟกทอเรียลพอยท์นั้น  $n_f$  เท่ากับ  $2^k$  โดยในส่วนของแฟกทอเรียลพอยท์นั้นถูกนำไปใช้ในการประมาณค่าอิทธิพลเชิงเส้นและอิทธิพลปฏิสัมพันธ์ และสามารถเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(x_1, x_2, \dots, x_k) = (\pm 1, \pm 1, \dots, \pm 1)$$

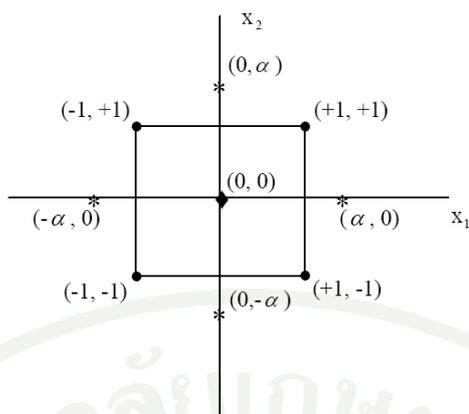
2. ส่วนสตาร์พอยท์หรือแอกเซียลพอยท์ (Star or Axial points;  $n_s$ ) ประกอบด้วยข้อมูลที่แต่ละจุดอยู่ห่างจากจุดศูนย์กลางด้วยระยะทางที่เท่ากันคือระยะแอลฟา โดย  $n_s$  เท่ากับ  $2k$  โดยในส่วนของสตาร์พอยท์นั้นถูกนำไปใช้ในการประมาณค่าอิทธิพลกำลังสองและสามารถเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(\pm \alpha, 0, 0, \dots, 0), (0, \pm \alpha, 0, \dots, 0), \dots, (0, 0, 0, \dots, \pm \alpha)$$

3. ส่วนจุดศูนย์กลาง (Central points;  $n_c$ ) เป็นส่วนที่ใช้เพื่อช่วยในการคำนวณ Pure error สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของรูปแบบ (Lack-of-fit test) และสามารถเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ได้ดังนี้

$$(x_1, x_2, \dots, x_k) = (0, 0, \dots, 0)$$

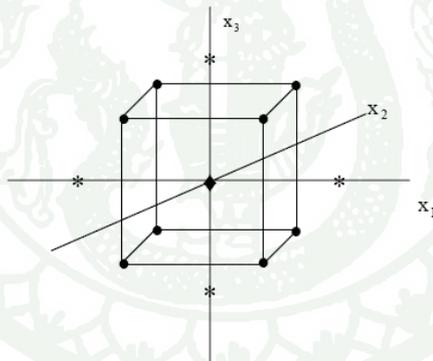
ดังนั้นแผนแบบ CCD มีจำนวนหน่วยทดลองหรือขนาดของแผนแบบ (Design size;  $N$ ) ทั้งหมดเท่ากับ  $N = n_f + n_s + n_c = 2^k + 2k + n_c$  ซึ่งการทดลองตามส่วนประกอบดังกล่าวสำหรับแผนแบบ CCD ที่มี 2 และ 3 ปัจจัยสามารถแสดงตำแหน่งของข้อมูลได้ดังภาพที่ 9 และ 10 ตามลำดับ



- แทนแฟกทอเรียลพอยท์ ( $n_r$ ) \* แทนสตาร์พอยท์ ( $n_s$ ) ◆ แทนจุดศูนย์กลาง ( $n_c$ )

ภาพที่ 9 ส่วนประกอบของแผนแบบ CCD ที่มี 2 ปัจจัย ( $k=2$ )

ที่มา: อุดมทรัพย์ (2551)



- แทนแฟกทอเรียลพอยท์ ( $n_r$ ) \* แทนสตาร์พอยท์ ( $n_s$ ) ◆ แทนจุดศูนย์กลาง ( $n_c$ )

ภาพที่ 10 ส่วนประกอบของแผนแบบ CCD ที่มี 3 ปัจจัย ( $k=3$ )

ที่มา: อุดมทรัพย์ (2551)

โดยรูปแบบการใช้สัญลักษณ์ของแผนแบบ CCD สำหรับ  $k=2$  แสดงได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รูปแบบการใช้สัญลักษณ์ของแผนแบบ CCD สำหรับ  $k = 2$

| จุดของแผนการทดลอง CCD            | $x_1$                      | $x_2$       |
|----------------------------------|----------------------------|-------------|
| Factorial Points ( $n_f = 2^2$ ) | -1                         | -1          |
|                                  | +1                         | -1          |
|                                  | -1                         | +1          |
|                                  | +1                         | +1          |
| Star Points ( $n_s = 2(2)$ )     | $-\sqrt{2}$                | 0           |
|                                  | $\sqrt{2}$                 | 0           |
|                                  | 0                          | $-\sqrt{2}$ |
|                                  | 0                          | $\sqrt{2}$  |
|                                  | Center Point ( $n_c = 1$ ) | 0           |

ที่มา: อุดมทรัพย์ (2551)

ดังนั้นการศึกษาพื้นผิวตอบสนองจึงเป็นการสร้างพื้นผิวตอบสนองเพื่อแสดงให้เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนองที่มีต่อปัจจัยเชิงปริมาณที่เหมาะสมให้ได้ผลการตอบสนองที่ดีที่สุด วิธีการหาพื้นผิวการตอบสนองจึงเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ได้จริงในการวิเคราะห์ผลการทดลอง (มลินพรชัย, 2551)

โดยทั่วไปรูปแบบของพื้นผิวตอบสนองนั้นมักจะพิจารณาในรูปแบบของสมการเส้นถดถอย (Regression equation) ในการกะประมาณค่าพารามิเตอร์หรือสัมประสิทธิ์เส้นถดถอย (Regression coefficient) โดยทั่วไปมักจะแสดงในรูปแบบสมการลำดับที่สอง (Second order model) สำหรับแผนการทดลองที่รู้จักกันดี ได้แก่  $2k$  เซนทรัลคอมโพสิต (Central composite design) หรือ  $2k$  แฟกทอเรียล (Factorial design) โดยพิจารณารูปแบบสมการลำดับที่สองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัว ซึ่งสามารถจะแสดงได้ดังสมการที่ 9

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon \quad (9)$$

$Y$  คือ ตัวแปรตอบสนอง (Dependent variable)  $X_i$  คือ ตัวแปรอิสระตัวที่  $i$   $\beta_i$  คือ พารามิเตอร์  $n$  คือ จำนวนข้อมูลหรือขนาดตัวอย่างและ  $\varepsilon$  คือ ความคลาดเคลื่อน

บางครั้งในการวางแผนการทดลองจะต้องทำการทดลองเบื้องต้น เพื่อที่ช่วยในการกำหนดตัวแปรเริ่มต้นและช่วงที่เหมาะสมสำหรับแบบการทดลองที่สุด โดยช่วงของแต่ละตัวแปรเริ่มต้นในการออกแบบจะต้องทำการคัดเลือกอย่างระมัดระวัง และช่วงเหล่านี้ควรกว้างเพียงพอที่จะกำหนดผลการทดลองจริง ๆ ของแต่ละตัวแปรเริ่มต้นที่เหมาะสม การศึกษาตัวแปรตอบสนองต้องมีลักษณะของค่าตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงโดยมีสาเหตุจากตัวแปรอิสระ (Independent variable) จากนั้นจึงวางแผนการทดลองให้ครอบคลุมช่วงของระดับปัจจัย ส่วนใหญ่การวางแผนการทดลองที่นำมาใช้กันจะวางตัวอย่างที่สำคัญให้ใกล้กับจุดกึ่งกลางของช่วง เพื่อที่ลดจำนวนของตัวอย่างที่จะต้องทดสอบ การวางแผนการทดลองจะขึ้นกับลักษณะของสมการที่ใช้ในการ Fit ข้อมูลของการทดลองอีกด้วย ถ้าหากว่าเป็นการวางแผนเพียง First-degree factorial ค่าของตัวแปรเริ่มต้นจะเกิดขึ้นเพียง 2 ระดับ แต่ถ้าหากว่าพิจารณาเป็น Quadratic effect การวางแผนการทดลองจะขยายไปรวมเอาจุดที่เรียกว่า  $\alpha$ -point ( $\pm\alpha$ ) และจุดกึ่งกลางของตัวอย่างและจำนวนของระดับของปัจจัยต่อตัวแปรที่เพิ่มขึ้นจนถึง 5 ซึ่งในการทดลองนี้จะมีพิจารณาในรูปแบบของ Quadratic effect เนื่องจากปัจจัยที่ต้องการศึกษามีถึง 3 ปัจจัย

ดังที่ได้กล่าวมาวิธีการหาพื้นผิวการตอบสนอง (Response surface methodology) มักจะนำมาใช้ในการกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อสถานะของการผลิตให้ได้การตอบสนองที่ดีที่สุดและมีความเฉพาะต่อกระบวนการผลิตหรือต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังใช้ในการหาปัจจัยใหม่ ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนากระบวนการผลิตให้คุณภาพของการผลิตหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีคุณภาพมากกว่าแบบเดิม ดังนั้นวิธีการหาพื้นผิวการตอบสนอง จึงเป็นวิธีการออกแบบการทดลองที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้หาสถานะที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพภาคสัประรด เนื่องจากมีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสถานะการปรับสภาพหลายปัจจัยร่วมกัน

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. เครื่องมือ

- 1.1 เครื่องยูวี/วิติเบิลสเปกโตรโฟมิเตอร์ ยี่ห้อรุ่น GBC 932
- 1.2 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดงานเดียว
- 1.4 ตู้อบ (Oven)
- 1.5 เครื่อง gas chromatography (Shimadzu GC 2014)
- 1.6 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.7 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 1.8 ขวดหมัก ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 1.9 ปีเปตต์ ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 1.10 บีกเกอร์ ขนาด 50 100 250 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 1.11 กระจกตวง
- 1.12 หลอดทดลอง
- 1.13 เข็มฉีดยา (Syringe)

#### 2. สารเคมี

- 2.1 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- 2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- 2.3 โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO<sub>3</sub>)
- 2.4 โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)
- 2.5 กรดซิตริก (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>(OH)(COOH)<sub>3</sub>)
- 2.6 ไตรโซเดียมซีเตรต (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na<sub>3</sub>)
- 2.7 ยีสต์สกัด (yeast extract)
- 2.8 โซเดียมไบซัลไฟต์ (NaHSO<sub>3</sub>)
- 2.9 3,5-dinitrosalicylic acid (C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)
- 2.10 โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต (COOK(CHOH)<sub>2</sub>COONa)
- 2.11 ฟีนอล (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O)

### 3. วัสดุอื่นๆ

3.1 กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตผลไม้มักering

3.2 กากสับปะรด

### วิธีการ

การศึกษาการปรับสภาพกากตะกอน คือการศึกษาการปรับสภาพที่สภาวะกรดที่ค่าพีเอช 3 ปรับสภาพด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ ที่สภาวะด่างที่ค่าพีเอช 10 ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การปรับสภาพด้วยความร้อน โดยต้มกากตะกอนที่สภาวะเป็นกลางที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 60 และ 90 นาทีและการใช้ความร้อนที่พีเอช 3 และ 10 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที ในการปรับค่าพีเอชของกากตะกอนใช้กรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ หลังจากนั้นปรับค่าพีเอชเป็น 7 เพื่อใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศต่อไป การศึกษาการผลิตแก๊สไฮโดรเจนจากของเสียโรงงานผลิตผลไม้มักeringแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับปะรดด้วยวิธีการระบิดด้วยไอน้ำ โดยศึกษาผลของความดันและเวลาในการระบิดด้วยไอน้ำ ศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากสับปะรดก่อนการระบิดด้วยไอน้ำและศึกษาการปรับสภาพกากสับปะรดที่เหมาะสมด้วยสถิติวิธีตอบสนองที่พื้นผิว ขั้นตอนที่ 2 เป็นการศึกษาสภาวะในการไฮโดรไลซิสกากสับปะรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส โดยศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสและศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสกากสับปะรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสต่อผลผลิตไฮโดรเจน และขั้นตอนที่ 3 เป็นขั้นตอนการหมักกากสับปะรด โดยใช้กากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) หมักที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 5.5 คาร์บอนต่อไนโตรเจน 40 หมักตัวอย่าง 70 มิลลิลิตรในขวดขนาด 100 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

#### 1. การวิเคราะห์คุณสมบัติของกากสับปะรด

กากสับปะรดนำมาจากของเสียโรงงานผลิตผลไม้มักeringที่เกิดจากขั้นตอนการผลิตน้ำสับปะรดเข้มข้น โดยนำมาวิเคราะห์หองค์ประกอบของกากสับปะรด ดังนี้ ปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจนรวม ความชื้น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน

## 2. การศึกษาวิธีการปรับสภาพเชื้อจุลินทรีย์ (Pretreatment) ที่เหมาะสมก่อนนำไปใช้ในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน

ศึกษาวิธีการปรับสภาพกากตะกอนที่เหมาะสม โดยทำการปรับสภาพด้วยวิธี

2.1 การปรับสภาพกากตะกอนด้วยด่าง โดยปรับกากตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็น 10 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ บ่มไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่าพีเอชให้เป็น 7 แล้วนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนต่อไป

2.2 การปรับสภาพกากตะกอนด้วยกรด โดยปรับกากตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็น 3 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ บ่มไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับค่าพีเอชให้เป็น 7 แล้วนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนต่อไป

2.3 การปรับสภาพกากตะกอนด้วยความร้อน โดยทำการต้มกากตะกอนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 60 และ 90 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนต่อไป

2.4 การปรับสภาพกากตะกอนด้วยด่างร่วมกับความร้อน โดยปรับกากตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็น 10 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์และต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนต่อไป

2.5 การปรับสภาพกากตะกอนด้วยกรดร่วมกับความร้อน โดยปรับกากตะกอนให้มีค่าพีเอชเป็น 3 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์และต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนต่อไป

นอกจากนี้ ศึกษาชุดการทดลองควบคุม โดยใช้กากตะกอนที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน

## 3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับปะรด

กากสับปะรดเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่ต้องผ่านการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพใน

การผลิตไฮโดรเจน โดยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นวิธีการปรับสภาพที่มีคุณภาพและคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ โดยศึกษาสถานะในการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำ ดังนี้

3.1 ศึกษาความดันในการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำ โดยปรับสภาพที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์ ระยะเวลาในการระเบิดไอน้ำ 5 นาที โดยมีกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นชุดการทดลองควบคุม

3.2 ศึกษาเวลาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำ โดยระเบิดกากสับประรดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ ที่ระยะเวลาในการระเบิดไอน้ำ 1 3 5 และ 7 นาที โดยมีกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นชุดการทดลองควบคุม

3.3 ศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยต่างก่อนการระเบิดไอน้ำ โดยปรับสภาพกากสับประรดด้วยต่างที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง บ่มไว้ 24 ชั่วโมง นำมาล้างจนมีค่าพีเอชเป็นกลาง จากนั้นทำการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที โดยมีกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยต่างก่อนการระเบิดไอน้ำและกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นชุดการทดลองควบคุม

จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส วัดปริมาณน้ำตาลที่ผลิตได้ และนำไปหมักด้วยกากตะกอนจากบ่อบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศที่ปรับสภาพจากข้อ 2.1 ในการผลิตไฮโดรเจน

#### 4. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสกากสับประรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสดิบ

ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสในการไฮโดรไลซิสกากสับประรด โดยใช้กากสับประรด 0.4 กรัมแห้งในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 5.0 และ 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดใน 0.05 โมลสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสไม่เขย่า โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์เซลลูเลส

หลังจากการไฮโดรไลซิสวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และหมักตัวอย่างกากสับประรดด้วยกากตะกอนจากบ่อบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศที่ปรับสภาพจากข้อ 2.1 ในการผลิตไฮโดรเจนและ

วัดปริมาณน้ำตาลที่ผลิตได้ โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงเวลาทุก 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะไม่เกิดการ  
ผลิตแก๊ส

## 5. การศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดที่เหมาะสมที่สุดเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยใช้สถิติวิธีการ ตอบสนองที่พื้นผิว

จากผลการศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดก่อนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนในหัวข้อ 3  
นำมาศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยในการปรับสภาพกากสับประรดที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้สถิติวิธีการ  
ตอบสนองที่พื้นผิว โดยใช้ปัจจัย 3 ปัจจัย ดังนี้

- 5.1 ความดันในการทำระเบิดไอน้ำ
- 5.2 เวลาในการทำระเบิดไอน้ำ
- 5.3 ความเข้มข้นของด่างที่ใช้ในการปรับสภาพกากสับประรดก่อนทำการระเบิดไอน้ำ

ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5.0 เอฟพียูต่อกรัมกากสับประรดใน 0.05 โมล  
สารละลายซิริทริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสไม่เขย่า

## 6. ขั้นตอนการหมัก

เป็นการทดลองแบบ batch ที่ดำเนินการในขวดแก้ว 100 มิลลิลิตร โดยใช้กากตะกอนที่ปรับ  
สภาพจากข้อ 2.1 ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และกากสับประรดปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ใส่  
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ตามสัดส่วนเท่ากับ 200:5:1 โดยเติมยีสต์สกัด  
(yeast extract) และโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) เป็นแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส  
ตามลำดับ กำหนดให้ปริมาตรรวมในขวดแก้วเป็น 70 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของสาร  
ที่ผสมในขวดเป็น 5.5 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1  
โมลาร์ แต่ละขวดจะ flush ด้วยแก๊สอาร์กอนเป็นเวลา 5 นาที เพื่อสภาพไร้ออกซิเจน จากนั้นปิดด้วยแผ่น  
ยางและฝาอะลูมิเนียม หมักที่ 35 องศาเซลเซียส แต่ละสภาวะการหมักทำ 3 ซ้ำ

## 7. ขั้นตอนการวิเคราะห์

### 7.1 การคำนวณปริมาณแก๊สไฮโดรเจน

เก็บตัวอย่างแก๊สชีวภาพจากพื้นที่ที่เหลือในขวดหมักเหนือสารละลาย (Head space) โดยคำนวณปริมาณแก๊สไฮโดรเจนในแต่ละช่วงเวลาตามสมการที่ 10

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_H(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (10)$$

$V_{H,i}$  และ  $V_{H,i-1}$  คือปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมที่เวลานั้นๆ (i) และเวลาก่อนหน้า (i-1)  $V_{G,i}$  และ  $V_{G,i-1}$  คือปริมาณแก๊สชีวภาพทั้งหมดที่เวลานั้นๆและเวลาก่อนหน้า  $C_{H,i}$  และ  $C_{H,i-1}$  คือสัดส่วนของแก๊สไฮโดรเจนที่เวลานั้นๆและเวลาก่อนหน้า และ  $V_H$  คือปริมาตรทั้งหมดของพื้นที่ที่เหลือในขวดหมักเหนือสารละลาย (Chong *et al.*, 2009)

### 7.2 การคำนวณค่าผลผลิตไฮโดรเจน

ข้อมูลผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุด และค่าระยะเวลาในการเกิดไฮโดรเจน (Lag time) คำนวณโดยใช้สมการของ Gompertz ดังสมการที่ 11

$$H = H_{max} \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_{max, H_2} \times e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (11)$$

$H$  คือผลผลิตไฮโดรเจนสะสมโดยแสดงหน่วยเป็นมิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตร ( $\text{mlH}_2/\text{L}$ )  $H_{max}$  คือผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดแสดงหน่วยเป็นมิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตร ( $\text{mlH}_2/\text{L}$ )  $R_{max}$  คือผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดแสดงหน่วยเป็นมิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตรต่อชั่วโมง ( $\text{mlH}_2/\text{L}\cdot\text{hr}$ )  $\lambda$  คือระยะเวลาในการเกิดไฮโดรเจน (Lag time) และค่า  $e$  คือ 2.718281828 (Li and Chen, 2007)

### 7.3 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Filter paper analysis (FPA) โดยวิเคราะห์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งที่ได้จากการไฮโดรไลซิสกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งมีหน่วยเป็นเอฟพียู (FPU) โดย 1 FPU เท่ากับ 1 ไมโครโมลของน้ำตาลกลูโคสที่ผลิตต่อนาที สำหรับ 1 มิลลิลิตรของเอนไซม์ โดยวิธีการวิเคราะห์ดำเนินการดังนี้ เติมสารละลายเอนไซม์ดิบ 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายซิริคบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมล พีเอช 4.8 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีกระดาษกรองเบอร์ 1 ปริมาณ 50 มิลลิกรัม แช่หลอดทดลองในน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างแล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ (Ghose, 1987)

#### 7.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารมาตรฐาน ใส่สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรในหลอดทดลองที่มีสารละลาย DNS ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต้มสารละลายในหลอดทดลองในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายด้วยเครื่องยูวี/วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น GBC 932 ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (Miller, 1959)

#### 7.5 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วิเคราะห์ในหลอดทดลองที่มีตัวอย่าง 2.5 มิลลิลิตรและ Folin-Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 นาที จากนั้นเติม 7 เปอร์เซ็นต์ของสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 5 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร

#### 7.6 การวิเคราะห์แก๊สชีวภาพ

วิเคราะห์ความเข้มข้นของไฮโดรเจนในแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นโดยใช้ Gas chromatograph รุ่น GC-2014 (Shimadzu) ด้วย Thermal conductivity detector (TCD) แก๊สอาร์กอนใช้เป็นตัวพา (Carrier gas) ที่อัตราการไหล 50 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ Activated carbon และ Porapak Q column อุณหภูมิการดำเนินการของคอลัมน์ (Column) หัววัด (Detector) และตัวฉีด (Injector) คือ 60 70 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

## 7.7 การวิเคราะห์กรดอินทรีย์ระเหยได้

วิเคราะห์กรดอินทรีย์ระเหยได้ (Volatile fatty acids, VFAs) ได้แก่ กรดอะซิติก กรด โพรพิอิก และกรดบิวทิริก โดย Gas chromatograph (GC) รุ่น GC-2014 (Shimadzu) ด้วย Flame ionization detector (FID) แก๊สฮีเลียมใช้เป็นตัวพา (Carrier gas) ที่อัตราการไหล 40 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ Unisole F-200 30/60 mesh อุณหภูมิการดำเนินการของคอลัมน์ (Column) หัววัด (Detector) และตัวฉีด (Injector) คือ 80 260 และ 260 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

## 7.8 การวิเคราะห์แอลกอฮอล์

วิเคราะห์แอลกอฮอล์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล โพรพานอล และบิวทานอล โดย Gas chromatograph (GC) รุ่น GC-2014 (Shimadzu) ด้วย Flame ionization detector (FID) แก๊สฮีเลียมใช้เป็น ตัวพา (Carrier gas) ที่อัตราการไหล 40 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ Gaskuropack 54 60/80 อุณหภูมิ การดำเนินการของคอลัมน์ (Column) หัววัด (Detector) และตัวฉีด (Injector) คือ 110 200 และ 200 องศา เซลเซียส ตามลำดับ

## 7.9 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างกากสับปะรดไปทำให้แห้งด้วยความเย็นด้วยเครื่อง Freeze dryer รุ่น Beijing FD-1-50 อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียสที่ความดัน <20 พาสคาล จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการทำให้แห้งไป วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) รุ่น JSM-6400 กำลังขยาย 500x และ 2000x

## 8. ระยะเวลาในการทำวิจัย

เริ่มตั้งแต่ เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2553

## 9. สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

## ผลและวิจารณ์

### 1. คุณสมบัติของกากสับประรดที่ใช้ในการผลิตไฮโดรเจน

กากสับประรดที่ใช้ในการศึกษานี้ นำมาจากโรงงานผลิตผลไม้กระป๋อง โดยวิเคราะห์คุณสมบัติของกากสับประรด ซึ่งได้แก่ ปริมาณความชื้น คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จากตารางที่ 4 ผลการศึกษากากสับประรดที่ใช้ในการศึกษานี้ มีปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนคือ 55.06 และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Shi *et al.* (2010) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักข้าวฟ่างหวานที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เปรียบเทียบกับการหมักข้าวฟ่างหวานที่ไม่ผ่านการปรับสภาพหมักที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส โดยเชื้อจุลินทรีย์ผสม พบว่าการหมักข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 127.26 มิลลิลิตรต่อกรัมข้าวฟ่างหวาน ในขณะที่การหมักข้าวฟ่างหวานที่ไม่ผ่านการปรับสภาพให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม 52.1 มิลลิลิตรต่อกรัมข้าวฟ่างหวาน Fan *et al.* (2006) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากการหมักฟางข้าวที่ปรับสภาพด้วยกรดเปรียบเทียบกับการหมักฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ โดยทำการหมักที่ 36 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ 90 รอบต่อนาที (Revolutions per minute, RPM) พบว่าการปรับสภาพฟางข้าวด้วยกรดให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมมากกว่าถึง 136 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักฟางข้าวที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าชีวมวลลิกโนเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไฮโดรเจนได้ โดยคุณสมบัติของกากสับประรดที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงในตารางที่ 4

### 2. การปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพเพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรเจน

ตัวอย่างกากตะกอนชีวภาพนำมาจากบ่อหมักแบบไร้อากาศเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม รวมไปถึงจุลินทรีย์ที่บริโภคไฮโดรเจน ได้แก่ เมทาโนเจน ไฮโดรอะซิโตเจน และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่สามารถส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้ได้พลังงานจากการใช้โมเลกุลของไฮโดรเจน จึงจำเป็นต้องปรับสภาพกากตะกอนก่อนนำมาใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนเพื่อยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่บริโภคไฮโดรเจน ในขณะที่ยังรักษากิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตไฮโดรเจนไว้ จากการศึกษาการปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยกรด ต่าง ความร้อน กรดร่วมกับความร้อน และต่างร่วมกับความร้อน โดยมีการศึกษาการปรับสภาพกากตะกอนที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นการทดลองควบคุมผลการทดลองพบว่าการปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยต่างให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเมื่อเปรียบ

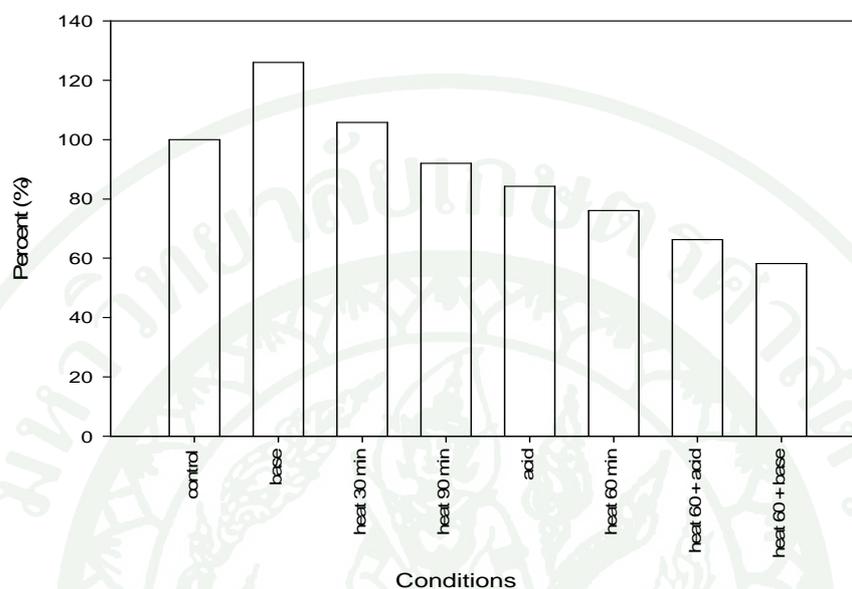
เทียบกับวิธีการปรับสภาพวิธีอื่นที่ศึกษา รองลงมาคือ การปรับสภาพภาคตะกอนด้วยความร้อนเป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในภาพที่ 11

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของกากสับปะรดที่ใช้ในการศึกษา

| ดัชนี        | ร้อยละ |
|--------------|--------|
| ความชื้น     | 80.85  |
| คาร์บอน      | 55.06  |
| ไนโตรเจน     | 0.85   |
| ฟอสฟอรัส     | 0.10   |
| ซีลีเนียม    | 0.90   |
| เซลลูโลส     | 14.08  |
| เฮมิเซลลูโลส | 76.50  |
| ลิกนิน       | 7.95   |

การศึกษาของ Wang and Wan (2008) ศึกษาการปรับสภาพภาคตะกอนด้วยกรด ต่าง ความร้อน การให้อากาศและคลอโรฟอร์ม ในการหมักกลูโคสที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 7.0 พบว่าการปรับสภาพภาคตะกอนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาทีได้อัตราการผลิตไฮโดรเจน ผลผลิตไฮโดรเจนและประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารตั้งต้นสูงสุดคือ 120.4 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง 221.5 มิลลิลิตรต่อกรัมกลูโคสและ 97.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เหตุผลในการอธิบายผลผลิตไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากการหมักภาคตะกอนที่ปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณน้อยกว่าการปรับสภาพภาคตะกอนด้วยต่างในการศึกษานี้คือ การปรับสภาพภาคตะกอนด้วยความร้อนในการศึกษานี้ใช้เวลาในการปรับสภาพนานกว่า 15 นาที ทำให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ผลิตไฮโดรเจนบางตัวได้นอกจากนี้ จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองควบคุมให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงกว่าการปรับสภาพภาคตะกอนที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนเป็นเวลา 90 นาที การปรับสภาพด้วยกรด การปรับสภาพด้วยความร้อนเป็นเวลา 60 นาที การปรับสภาพด้วยความร้อน 60 นาทีที่สภาวะกรดและการปรับสภาพด้วยความร้อน 60 นาทีที่สภาวะต่าง เนื่องจากสภาวะที่ได้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำกว่าชุดการทดลองควบคุมเป็นสภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงยิ่งขึ้น ยกตัวอย่างเช่นการปรับสภาพด้วยความร้อนจะใช้เวลาในการปรับสภาพที่นานขึ้นหรือมีการใช้สารเคมีในการปรับสภาพร่วมกับความร้อน แสดงให้

เห็นว่าการปรับสภาพกากตะกอนควรทำการปรับสภาพในสภาวะที่เหมาะสม มิฉะนั้นจะก่อให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ผลิตไฮโดรเจนได้เช่นกัน (Wang and Wan, 2008)



ภาพที่ 11 การปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยกรด ต่าง ความร้อน กรดร่วมกับความร้อน และต่างร่วมกับความร้อนที่มีต่อการผลิตไฮโดรเจน

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจนระหว่างกระบวนการหมักส่วนใหญ่คือ คลอสทริเดียม และเอนเทอโรแบคเตอร์ คลอสทริเดียมมีความสามารถในการสร้างสปอร์เพื่อปกป้องตัวเองเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีความรุนแรง เช่น อุณหภูมิสูง มีความเป็นกรดและด่างสูงและเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีสารเคมีในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ แต่จุลินทรีย์ประเภทไฮโมอะซิโตเจนไม่มีความสามารถดังกล่าวนี้ ดังนั้นเมื่อทำการปรับสภาพกากตะกอน จุลินทรีย์จำพวกคลอสทริเดียมหรือเอนเทอโรแบคเตอร์จะมีโอกาสในการรอดชีวิตมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มไฮโมอะซิโตเจน เพราะฉะนั้นการปรับสภาพกากตะกอนที่เหมาะสมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจน

### 3. การปรับสภาพกากสับประรดเพื่อใช้ในการผลิตไฮโดรเจน

กากสับประรดเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสชนิดหนึ่งที่เป็นของเสียจากกระบวนการผลิตน้ำสับประรดเข้มข้น ซึ่งชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นวัตถุดิบที่มีโครงสร้างแข็งแรงทำให้ยากต่อการย่อยสลาย จากข้อจำกัดดังกล่าวจำเป็นต้องปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเพื่อทำลายโครงสร้างของ

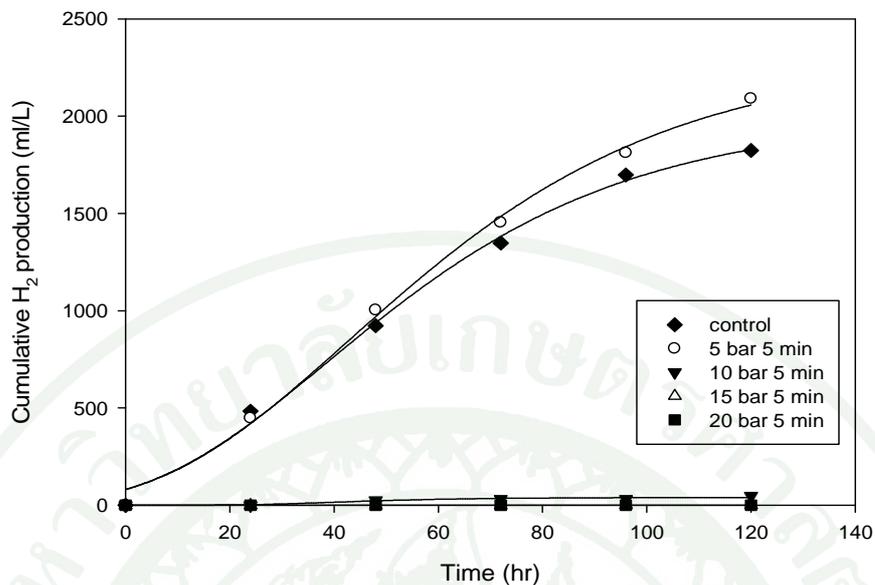
กากสับประรด ส่งผลในการเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสต่อเส้นใยเซลลูโลสที่อยู่ภายใน เมื่อปรับสภาพกากสับประรดแล้วทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด ที่พีเอช 4.8 จากนั้นหมักในขวดแก้วโดยใช้กากตะกอนที่ปรับสภาพจากข้อ 2 ปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) เท่ากับ 200:5:1 เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) 1 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของสารละลายกากสับประรดเป็น 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ในการศึกษานี้ศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำ โดยศึกษาปัจจัยในการระเบิดด้วยไอน้ำคือ ความดันและเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำ ดังนี้

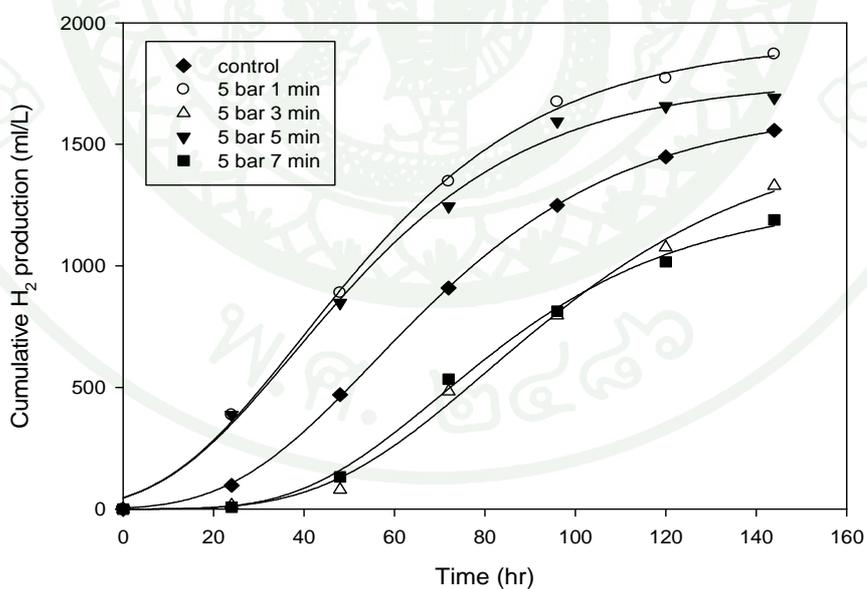
### 3.1 การศึกษาความดันและเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำต่อการปรับสภาพกากสับประรด

จากการศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ พบว่าการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2089.97 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามด้วยชุดการทดลองควบคุม 1823.59 มิลลิลิตรต่อลิตร การปรับสภาพกากสับประรดที่ความดันในการระเบิดไอน้ำ 10 และ 15 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจน 47.6 และ 0.043 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่วนการปรับสภาพกากสับประรดที่ความดันในการระเบิดไอน้ำ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีไม่เกิดผลผลิตไฮโดรเจน ดังแสดงในภาพที่ 12 จากผลการศึกษารื่องความดันในการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นเวลา 5 นาที ได้นำมาใช้ในการศึกษาเรื่องเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำในการศึกษาต่อไป

การศึกษการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ พบว่าการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 1871.25 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามด้วยการปรับสภาพกากสับประรดด้วยการระเบิดไอน้ำเป็นเวลา 5 นาที ชุดการทดลองควบคุม การปรับสภาพด้วยการระเบิดไอน้ำเป็นเวลา 3 นาทีและ 7 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจน 1691.75 1557.79 1330.04 และ 1189.11 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 13



ภาพที่ 12 ผลของความดันในการระเบิดไอน้ำในเวลา 5 นาทีของการปรับสภาพกากสับประรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน



ภาพที่ 13 ผลของเวลาในการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ของการปรับสภาพกากสับประรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน

ตารางที่ 5 ผลของความดันและเวลาในการปรับสภาพกากสับประดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม  
ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น

| ปัจจัย                | ผลผลิตไฮโดรเจน<br>สะสม (มิลลิลิตร<br>ต่อลิตร) | ผลผลิตไฮโดรเจน<br>จำเพาะสูงสุด<br>(มิลลิลิตรต่อลิตร<br>ต่อชั่วโมง) | ระยะเวลาเริ่มต้น<br>(ชั่วโมง) | r <sup>2</sup> |
|-----------------------|---|--|-------------------------------|----------------|
| <b>ความดัน (บาร์)</b> |   |  |                               |                |
| ชุดควบคุม             | 1992.96 <sup>a</sup>                          | 22.07 <sup>a</sup>   | 5.41                          | 0.9917         |
| 5                     | 2304.18 <sup>a</sup>                          | 23.91 <sup>a</sup>   | 7.42                          | 0.9941         |
| 10                    | 40.02 <sup>b</sup>                            | 0.94 <sup>b</sup>  | 23.41                         | 0.8777         |
| 15                    | 0.04 <sup>b</sup>                             | 0.02 <sup>b</sup>  | 73.75                         | 1              |
| 20                    | 0 <sup>b</sup>                                | 0 <sup>b</sup>   | 0                             | 1              |
| <b>เวลา (นาที)</b>    |   |  |                               |                |
| ชุดควบคุม             | 1649.56 <sup>n</sup>                          | 19.33 <sup>n</sup>   | 24.19                         | 0.9999         |
| 1                     | 1924.77 <sup>n</sup>                          | 23.37 <sup>n</sup>   | 9.41                          | 0.9978         |
| 3                     | 1554.03 <sup>n</sup>                          | 15.88 <sup>n</sup>   | 44.80                         | 0.9943         |
| 5                     | 1762.65 <sup>n</sup>                          | 22.03 <sup>n</sup>   | 8.67                          | 0.9947         |
| 7                     | 1272.81 <sup>n</sup>                          | 15.36 <sup>n</sup>   | 39.76                         | 0.9958         |

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกัน (a และ b) แสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ n คือค่าเฉลี่ย  
แต่ละค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

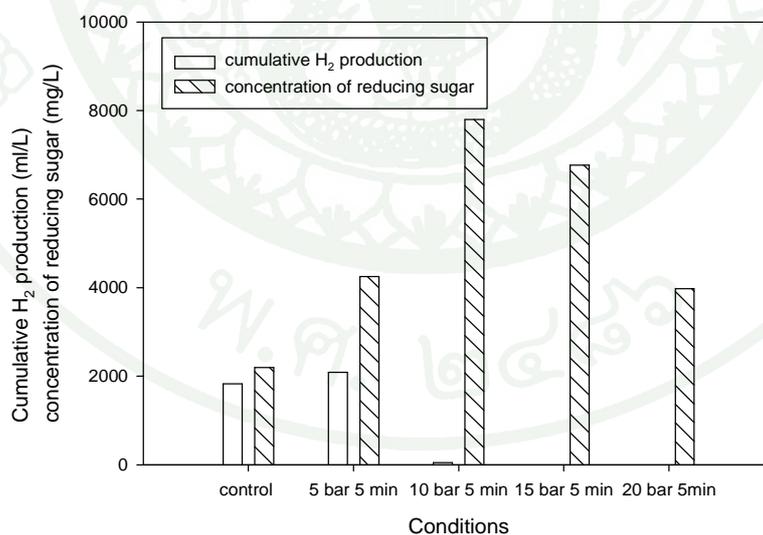
ตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่าความดันในการระเบิดไอน้ำส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม  
และผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการ  
ทดลองควบคุมและการปรับสภาพกากสับประดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีที่มีค่าผลผลิต  
ไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ  
เชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะการปรับสภาพกากสับประดที่ความดัน 10 15 และ 20 บาร์เป็น  
เวลา 5 นาทีที่มีค่าผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกันที่ระดับ  
ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเวลาในการระเบิดไอน้ำไม่ส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและ  
ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะการ

ระเบิดไอน้ำเป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 นาทีที่ความดัน 5 บาร์ มีค่าผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากสับประคี่ระยะเวลาในการระเบิดไอน้ำมีระยะห่างในแต่ละสภาวะการทดลองน้อย จึงทำให้ผลการทดลองที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกัน

การปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำเป็นการให้ความร้อนด้วยไอน้ำที่ความดันสูง การปรับสภาพจะคงรักษาไว้ระยะเวลาหนึ่งเพื่อการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสและยุดึงด้วยการระเบิด เฮมิเซลลูโลสถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดอะซิติกและกรดอื่นๆที่ปล่อยมาระหว่างการระเบิดไอน้ำ (Mosier *et al.*, 2005) โดยระหว่างการปรับสภาพกากสับประคี่ด้วยวิธีระเบิดไอน้ำโพลีเมอร์ของเฮมิเซลลูโลสจะแตกออกอย่างรวดเร็ว เหลือเพียงเซลลูโลสและลิกนินกับเฮมิเซลลูโลสที่ยังคงเหลืออยู่ในปริมาณน้อย เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสหลวมมากขึ้นหลังจากการไฮโดรไลซิส เป็นผลดีต่อการแทรกซึมของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส เมื่อเพิ่มสภาวะในการปรับสภาพให้รุนแรงขึ้นคือ 10 15 และ 20 บาร์จะให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลง เนื่องจากการย่อยสลายของน้ำตาลที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสกลายเป็นสารเฟอร์ฟูรัล (Furfural) และอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัล ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ และไม่สามารถเพิ่มการละลายของลิกนินได้อีกเนื่องจากปฏิกิริยาการกลับเป็นโพลีเมอร์ใหม่ (Repolymerization) ระหว่างลิกนินและน้ำตาลไซโลส (Wang *et al.*, 2009a) Cara *et al.* (2006) ศึกษาการปรับสภาพต้นมะกอกด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 190 210 230 และ 240 องศาเซลเซียสจากนั้นปรับสภาพด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่พีเอช 11.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 15 เอฟพียูต่อกรัมต้นมะกอก พบว่าเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัลที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายน้ำตาลเพนโทสและเฮกโซสจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น โดยมีปริมาณมากที่สุดที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียสส่งผลให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดต่ำลง เช่นเดียวกับ การเพิ่มระยะเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ไฮโดรไลซิสจากเฮมิเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายเป็นเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัล เวลาในการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ยาวนานขึ้นส่งผลต่อการละลายเฮมิเซลลูโลสมากขึ้น (Wang *et al.*, 2009b) จากการศึกษาเมื่อเพิ่มสภาวะในการปรับสภาพให้ยาวนานขึ้นคือ 3 5 และ 7 บาร์จะให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลง เนื่องจากการย่อยสลายของน้ำตาลที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสกลายเป็นสารเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัล ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ การศึกษาของ Datar *et al.* (2007) ที่ศึกษาการปรับสภาพซังข้าวโพดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่อุณหภูมิ 190 200 210 และ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาทีและที่ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที โดยที่สภาวะการปรับสภาพ 220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุด ในขณะที่สภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงที่สุด (220 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที) ให้ผลผลิตไฮโดรเจนลดลงและมีระยะ

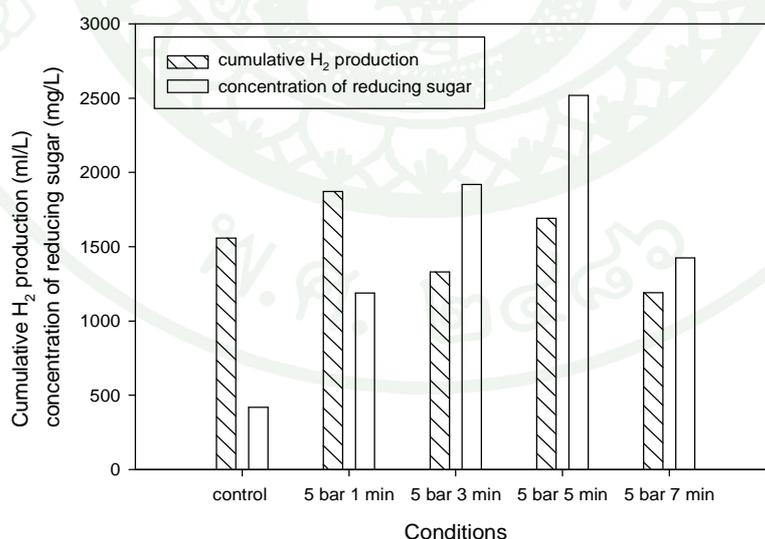
เริ่มต้น (Lag phase) ยาวนานกว่าเนื่องจากการสูญเสียน้ำตาลและการเปลี่ยนจากน้ำตาลไปเป็นสารยับยั้งจำพวกเฟอร์ฟูรัล อนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัลและสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆที่เกิดจากกลินิน สภาพการปรับสภาพที่ 190 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาทีเป็นสภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงน้อยที่สุดให้ผลผลิตไฮโดรเจนน้อยเช่นกันเนื่องจากสภาวะการระเบิดไอน้ำมีความรุนแรงน้อยส่งผลต่อปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เกิดขึ้น

กากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเพิ่มขึ้นโดยที่ความดันในการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 10 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งสูงสุดแต่ให้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำกว่าการปรับสภาพกากสับประดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 5 นาที เนื่องจากการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 10 บาร์เป็นเวลา 5 นาทีเป็นสภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงมากกว่าการปรับสภาพที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 5 นาที ส่งผลให้เกิดสารยับยั้งจำพวกเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัลมากกว่าที่ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการผลิตไฮโดรเจน เมื่อเพิ่มความดันในการปรับสภาพเป็น 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที ปริมาณน้ำตาลมีแนวโน้มลดลงเพราะน้ำตาลถูกย่อยสลายไปเป็นสารยับยั้งมากขึ้นตามสภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงขึ้น ส่งผลต่อปริมาณไฮโดรเจนที่ผลิตได้ลดลง ดังแสดงในภาพที่ 14



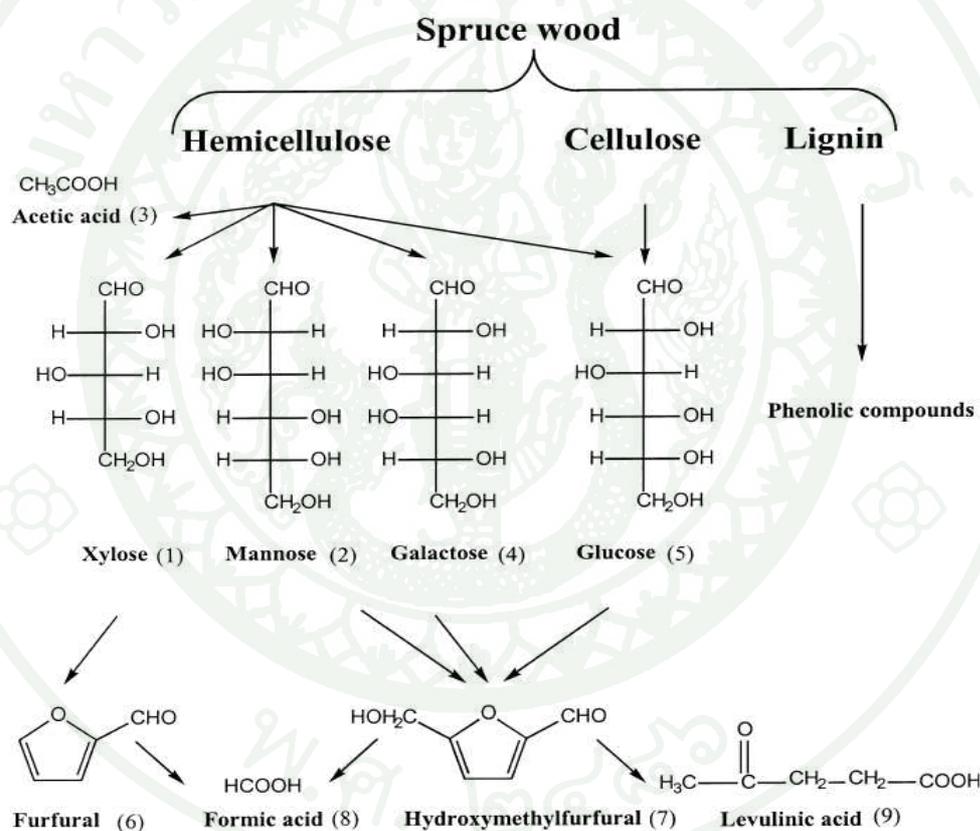
ภาพที่ 14 ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเริ่มต้นจากการศึกษาการปรับสภาพกากสับประดที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที

เช่นเดียวกับการปรับสภาพกากสับประรดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการปรับสภาพเป็น 7 นาทีจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งลดลง โดยเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำ 5 นาทีที่ความดัน 5 บาร์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งสูงสุดแต่ให้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำกว่าการปรับสภาพกากสับประรดเป็นเวลา 1 นาทีที่ความดัน 5 บาร์ เนื่องจากการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นเวลา 5 นาทีเป็นสภาวะการปรับสภาพที่รุนแรงมากกว่าการปรับสภาพเป็นเวลา 1 นาที ส่งผลให้เกิดสารยับยั้งจำพวกเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัลมากกว่า และกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพที่ความดัน 5 บาร์ 3 นาทีที่มีปริมาณน้ำตาลมากกว่าชุดการทดลองควบคุม แต่ให้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำกว่าชุดการทดลองควบคุม เนื่องจากชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจึงไม่เกิดสารยับยั้งที่เกิดจากการปรับสภาพ แต่การหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพที่ความดัน 5 บาร์ 3 นาทีจะเกิดสารยับยั้งที่ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยเมื่อเพิ่มสภาวะในการปรับสภาพให้รุนแรงขึ้นส่งผลให้เกิดการย่อยสลายน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งไปเป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลต่ำและอัลดีไฮด์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งลดลง (Cheng *et al.*, 2011) ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่สูงเกิดจากการลดโครงสร้างความเป็นผลึกของกากสับประรดและเพิ่มพื้นที่ผิวในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลส เมื่อเริ่มกระบวนการไฮโดรไลซิสจะมีพื้นที่ในการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เพียงพอ ดังแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นจากการศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที

การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสที่อุณหภูมิสูงนำไปสู่การเกิดสารยับยั้งหลายชนิด โดยวิธีหลักในการย่อยสลายชีวมวลลิกโนเซลลูโลสแสดงในภาพที่ 16 เมื่อเฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลาย ก่อให้เกิดไซโลส แมนโนส กรดอะซิติก กาแลคโตสและกลูโคส เซลลูโลสถูกไฮโดรไลซิสเป็นกลูโคส ที่อุณหภูมิและความดันสูงไซโลสถูกย่อยสลายต่อไปเป็นเฟอร์ฟูรัล ในขณะที่กลูโคสถูกย่อยสลายเป็นไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (HMF) กรดฟอร์มิก (Formic acid) เกิดขึ้นเมื่อมีการทำลายเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัล กรดเลวูลินิก (Levulinic acid) เกิดจากการย่อยสลาย HMF สารประกอบฟีนอลิกเกิดจากการทำลายลิกนินบางส่วนและเกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต

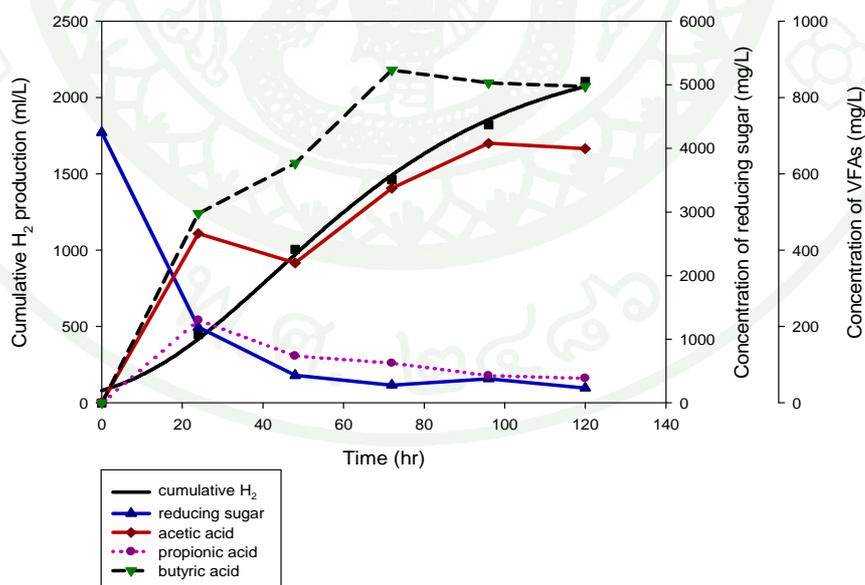


ภาพที่ 16 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการไฮโดรไลซิสของชีวมวลลิกโนเซลลูโลส

ที่มา: Palmqvist and Hagerdal (2000)

จากผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดที่ผลิตได้สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น กล่าวคือ เริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งมากจากนั้นลดปริมาณลงเรื่อยๆตามผลิตผลแก๊สที่เพิ่มมา

ขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 17 ซึ่งแก๊สไฮโดรเจนจะเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ร่วม (By product) ในขั้นตอนการเกิดกรดไขมันระเหยได้ (Acidogenesis) โดยเกิดกรดอะซิติกและกรดบิวทริกเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่สอดคล้องกับปริมาณแก๊สไฮโดรเจนที่สามารถผลิตได้ทางทฤษฎี กล่าวคือ การหมักน้ำตาลกลูโคสในสภาวะไร้อากาศ 1 โมลที่เกิดเป็นกรดอะซิติก 2 โมลจะได้ผลผลิตเป็นไฮโดรเจน 4 โมล การหมักน้ำตาลกลูโคสในสภาวะไร้อากาศ 1 โมลที่เกิดเป็นกรดบิวทริก 1 โมลจะได้ผลผลิตเป็นไฮโดรเจน 2 โมลและการหมักน้ำตาลกลูโคสในสภาวะไร้อากาศ 1 โมลที่เกิดเป็นกรดโพรพิโอนิก 2 โมลจะใช้ไฮโดรเจน 2 โมลเป็นสารตั้งต้นในการผลิต ดังแสดงในสมการที่ 12 13 และ 14 เพราะฉะนั้นการเกิดกรดอะซิติกและกรดบิวทริกในปริมาณมากจะให้ผลผลิตไฮโดรเจนในปริมาณที่มากกว่าการเกิดกรดโพรพิโอนิก



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งและกรดไขมันระเหยได้ต่อผลผลิตไฮโดรเจน สะสมที่ความดันในการระเบิดไอน้ำ 5 บาร์ในเวลา 5 นาทีของการปรับสภาพกาก สับปะรด

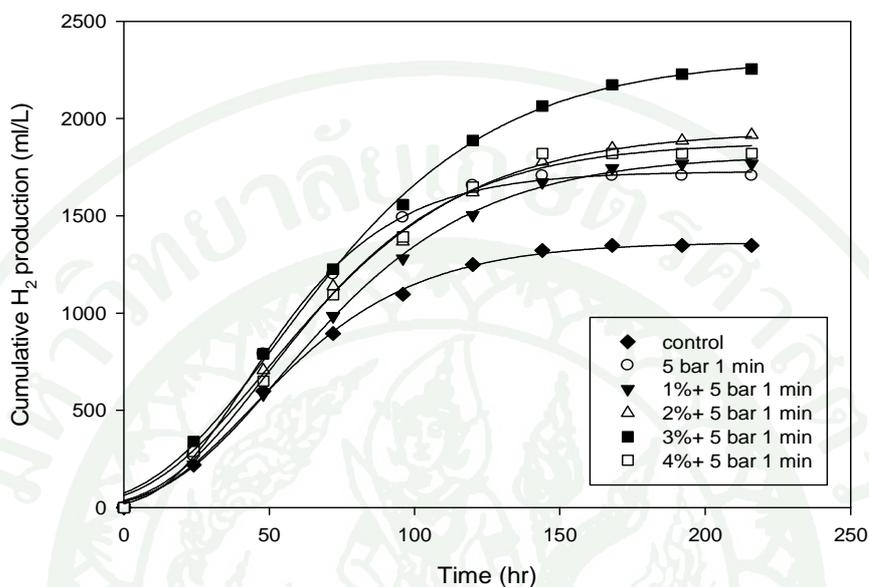
การปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนได้ แต่วิธีการปรับสภาพวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถกำจัดกลิ่นหรือนำไปใช้ในการปรับสภาพกับสารตั้งต้นที่มีกลิ่นเป็นองค์ประกอบสูงได้ จึงทำการศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน เมื่อปรับสภาพกากสับประรดแล้วทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด ใน 0.05 โมลสารละลายซิริทริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นหมักในขวดแก้ว 100 มิลลิลิตร โดย กำหนดให้ปริมาตรรวมในขวดแก้วเป็น 70 มิลลิลิตร ใช้กากตะกอนที่ปรับสภาพจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และกากสับประรดที่ปรับสภาพแล้วปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ใส่อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ตามสัดส่วนเท่ากับ 200:5:1 เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) 1 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของสารที่ผสมในขวดเป็น 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

### 3.2 การศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที ในการปรับสภาพกากสับประรด

จากการศึกษาผลจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยค่าความเข้มข้น 1 2 3 4 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ จากการศึกษาพบว่าการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2254.62 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามด้วยการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 2 4 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตไฮโดรเจน 1915.11 1820.44 และ 1768.41 ตามลำดับ โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับ การปรับสภาพด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำเพียงวิธีเดียวที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีและชุดการทดลองควบคุมให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม 1706.59 และ 1347.84 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 18

ตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการปรับสภาพกากสับประรดก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีไม่ส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม และผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่า

ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 18 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีต่อผลผลิตไฮโดรเจน

การปรับสภาพกากสับประดด้วยต่างทำให้เกิดการละลาย (Solubilization) และการควบแน่น (Condensation) ของลิกนิน โครงสร้างผลึกของเซลลูโลสเปลี่ยนแปลงและส่งผลต่อการกำจัดลิกนิน และทำให้เซลลูโลสฟองตัว (Hendriks and Zeeman, 2009) เป็นวิธีทางเคมีที่มีประสิทธิภาพมากสำหรับการกำจัดหมู่อะซีทิล (Deacetylation) โดยเป็นปฏิกิริยาที่ไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการปรับสภาพ ในขณะที่ลิกนินจะค่อยๆ ถูกกำจัดออกตลอดช่วงเวลาในการปรับสภาพการละลายของเฮมิเซลลูโลสระหว่างการปรับสภาพมีความสัมพันธ์กับการกำจัดลิกนิน (Delignification) (Kim and Holzapple, 2005) กล่าวคือ เฮมิเซลลูโลสจะละลายมากขึ้นเมื่อลิกนินถูกกำจัดออกมากขึ้น การปรับสภาพด้วยต่างทำลายโครงสร้างของลิกนินและทำลายพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างลิกนินและโพลีเมอร์คาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ในชีวมวลลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นจึงทำให้โพลีเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตสามารถเข้าถึงได้ง่ายขึ้น (Agbor *et al.*, 2011) ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 เปอร์เซ็นต์ในการปรับสภาพกากสับประดให้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำกว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากสับประดที่สูงเกินไปจะส่งผลให้เกิดการละลายของลิกนินมากขึ้น ทำให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้นส่งผล

ต่อการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายและความเป็นพิษที่เกิดจากโซเดียมไอออน ( $\text{Na}^+$ ) ที่หลงเหลือจากกระบวนการล้างกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วจะส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์เช่นกัน เนื่องจากไอออนบวกทำหน้าที่สำคัญในการสังเคราะห์เอทีพี (ATP) การให้และรับอิเล็กตรอน (Oxidation-reduction) ของเอ็นเอดี (NAD) และกิจกรรมของเอนไซม์ จึงช่วยส่งเสริมการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ถ้ามีอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่มากเกินไปเป็นสาเหตุให้เซลล์จุลินทรีย์สูญเสียน้ำ (Plasmolysis) และกิจกรรมของเซลล์ทำให้เซลล์เหี่ยวเพราะแรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) ที่สูง (Kim *et al.*, 2009)

**ตารางที่ 6** ผลของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากสับประรดก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น

| ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์) | ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม (มิลลิลิตรต่อลิตร) | ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุด (มิลลิลิตรต่อลิตรต่อชั่วโมง) | ระยะเวลาเริ่มต้น (ชั่วโมง) | $r^2$  |
|---|---------------------------------------|---|----------------------------|--------|
| ชุดควบคุม                                     | 1365.07                               | 15.52   | 10.92                      | 0.9984 |
| 0   | 1728.21 <sup>n</sup>                  | 22.67 <sup>n</sup>                                      | 13.77                      | 0.9988 |
| 1   | 1816.61 <sup>n</sup>                  | 17.28 <sup>n</sup>                                      | 14.81                      | 0.9989 |
| 2   | 1937.27 <sup>n</sup>                  | 17.85 <sup>n</sup>                                      | 9.32                       | 0.9974 |
| 3   | 2312.72 <sup>n</sup>                  | 19.89 <sup>n</sup>                                      | 9.99                       | 0.9979 |
| 4   | 1878.51 <sup>n</sup>                  | 19.16 <sup>n</sup>                                      | 13.35                      | 0.9963 |

**หมายเหตุ** <sup>n</sup> คือค่าเฉลี่ยแต่ละค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นสูงเกินไปจะส่งผลให้น้ำตาลที่เกิดจากการไฮโดรไลซิสเฮมิเซลลูโลสย่อยสลายเป็นสารเฟอร์ฟูรัลและอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรัลได้เช่นเดียวกับการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำ

สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนจากการปรับสภาพด้วยวิธีการระบิดด้วยไอน้ำเพียงวิธีเดียวได้ จากการศึกษาของ Cao *et al.* (2010) ศึกษาการหมักซึ่งข้าวโพดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด พบว่าความเข้มข้นเริ่มต้น 1 กรัมต่อลิตรของเฟอร์ฟูรัลและไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (HMF) ลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 17.9 และ 50.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นมาก ถึง 2 กรัมต่อลิตรจะไม่พบการเจริญของเชื้อ ในขณะที่ปริมาณผลผลิตไฮโดรเจนเกิดขึ้นน้อยหรือไม่เกิดขึ้นเลยที่ความเข้มข้นของเฟอร์ฟูรัล 1.8 กรัมต่อลิตรและความเข้มข้นของ HMF 1.5 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารยับยั้งเหล่านี้ไม่ควรมีมากเกินไป 1.5-2.0 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้วานิลลิน (Vanillin) และไซลีนัลดีไฮด์ (Syringaldehyde) ที่เกิดขึ้นจากการทำลายลิกนินยังส่งผลต่อการยับยั้งกระบวนการหมักชีวมวลลิกโนเซลลูโลส โดยวานิลลินไม่มีการยับยั้งที่รุนแรงต่อการเจริญและการผลิตไฮโดรเจนที่ความเข้มข้น 0-2.0 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ปรากฏในแต่ละความเข้มข้น ไม่มีผลยับยั้งต่อการเจริญของจุลินทรีย์ การปรากฏของสารประกอบเฟอร์ฟูรัลทำให้เกิดผลการยับยั้งแบบเสริมกันกับสารประกอบฟีนอลิกได้

Zhao *et al.* (2009) ปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 3 5 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ โดยการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 9 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งสูงที่สุด การปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส สำหรับการปรับสภาพด้วยค่าร่วมกับความร้อนที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งสูงที่สุดคือ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

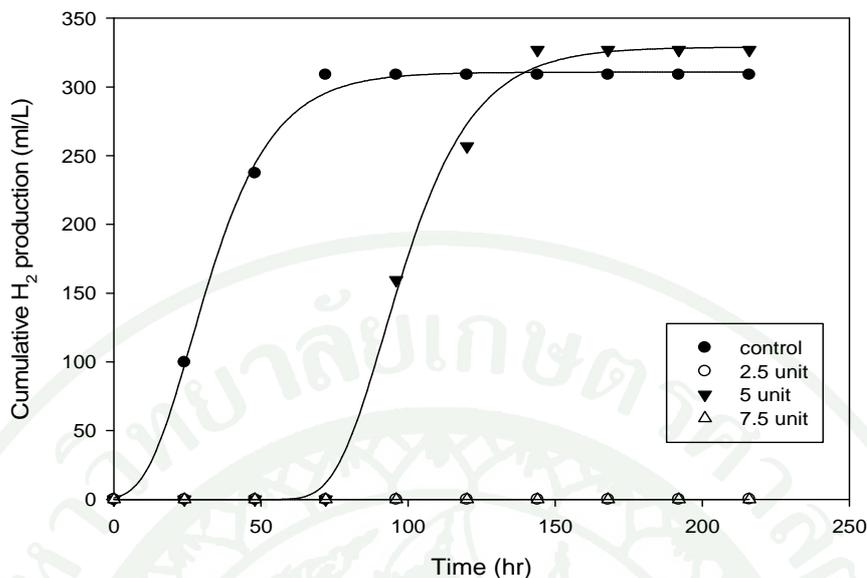
#### 4. การไฮโดรไลซิสกากสับประดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

การไฮโดรไลซิสเป็นกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถนำผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากขั้นตอนการไฮโดรไลซิสไปใช้ได้มากขึ้น โดยศึกษานี้ใช้กากสับประดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประด ที่พีเอช 4.8 จากนั้นหมักในขวดแก้วโดยใช้กากตะกอนที่ปรับสภาพจากข้อ 2 ปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) เท่ากับ 200:5:1 ปรับค่าความเป็นกรด่างเริ่มต้นของสารละลายกากสับประดเป็น 5.0 ปมที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยศึกษาปัจจัยในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสดังนี้

#### 4.1 ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสต่อผลผลิตไฮโดรเจน

จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสกากสับประรด 2.5 5 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประรดที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส จากการศึกษพบว่า การหมักกากสับประรดที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 326.8 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามด้วยชุดการทดลองควบคุมให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม 308.75 มิลลิลิตรต่อลิตร ส่วนการหมักกากสับประรดที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 และ 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดไม่เกิดผลผลิตไฮโดรเจน ดังแสดงในภาพที่ 19 เหตุผลที่ชุดการทดลองควบคุมให้ผลผลิตไฮโดรเจนมากกว่าการไฮโดรไลซิสกากสับประรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 และ 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด เนื่องจากการไฮโดรไลซิสกากสับประรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด ทำให้เกิดการยับยั้งของกลูโคส (Product inhibition) ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในขณะที่การไฮโดรไลซิสกากสับประรดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดให้ผลผลิตไฮโดรเจนต่ำเช่นกัน เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการดูดซับลดลง เพราะพื้นผิวของเซลลูโลสอิมตัวเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น (Xu *et al.*, 2007) ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นน้อยกว่า แต่จุลินทรีย์สามารถนำน้ำตาลไปใช้ได้ดีกว่า

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการไฮโดรไลซิสชีวมวล ลิกโนเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส โมเลกุลเดี่ยวซึ่งเป็นน้ำตาลที่ใช้ในกระบวนการหมัก เซลลูโลสคือโพลีเมอร์ของกลูโคสที่สามารถไฮโดรไลซิสโดยการกระทำของเบตาไกลูโคซิเดส ( $\beta$ -glucosidase) เซลโลไบโอไฮโดรเลส (Cellobiohydrolase) และเอนโดกลูคาเนส (Endoglucanase) (Ahamed and Vermette, 2008) จากการศึกษาของ Chen *et al.* (2009) ศึกษาการไฮโดรไลซิสซังข้าวโพดที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส 7 10 13 17 และ 20 เอฟฟิยูต่อกรัมซังข้าวโพด พบว่าการใช้เอนไซม์ 7 เอฟฟิยูต่อกรัมซังข้าวโพด ให้ผลผลิตไฮโดรเจนน้อยที่สุดเนื่องจากมีกิจกรรมของเอนไซม์ไม่เพียงพอ โดยผลผลิตไฮโดรเจนจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณของเอนไซม์เป็น 20 เอฟฟิยูต่อกรัมซังข้าวโพด แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ที่มากเกินไปกว่านี้จะไม่เพิ่มผลผลิตไฮโดรเจน



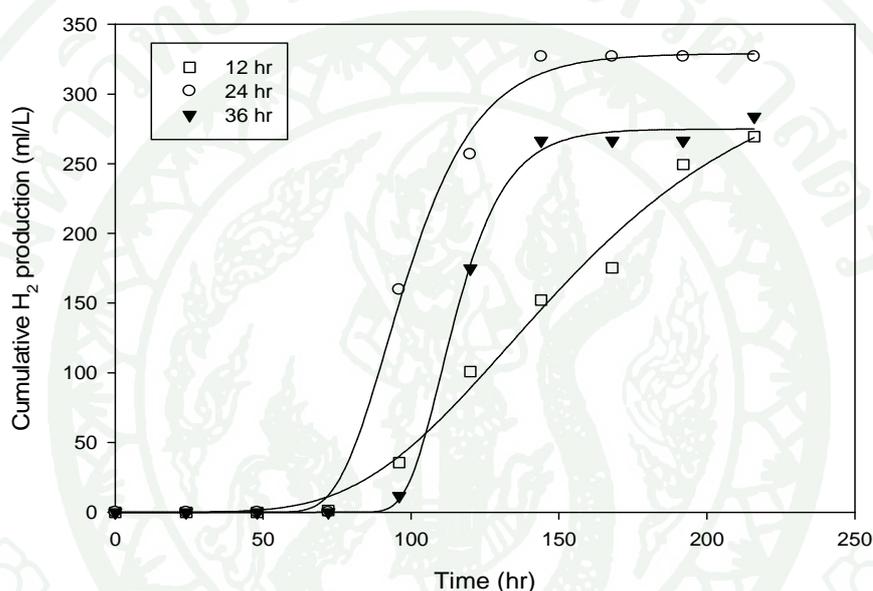
ภาพที่ 19 ความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสกากสับประดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงต่อผลผลิตไฮโดรเจน

Li and Chen (2007) ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยเปลือกข้าวโพด โดยการปรับสภาพเบื้องต้น (ใช้วิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 1.5 MPa เป็นเวลา 10 นาที) และไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์เซลลูเลส (10-50 ใยู่ต่อกรัมเปลือกข้าวโพด) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ การปรับสภาพเบื้องต้นโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส 30 ใยู่ต่อกรัมเปลือกข้าวโพด ได้แก๊สไฮโดรเจนสูงสุด 67 มิลลิตรต่อกรัมเปลือกข้าวโพด

#### 4.2 ผลของเวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับประดต่อผลผลิตไฮโดรเจน

จากการศึกษาเวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับประดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่เวลา 12 24 36 ชั่วโมง โดยมีชุดการทดลองควบคุมเป็นการหมักกากสับประดที่ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากการศึกษพบว่าชุดการทดลองควบคุมให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 326.8 มิลลิตรต่อลิตร ตามด้วยการหมักกากสับประดที่ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประดเป็นเวลา 36 ชั่วโมงและ 12 ชั่วโมง ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม 283.72 และ 269.3 มิลลิตรต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่

ตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสไม่ส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยสภาวะกิจกรรมของเอนไซม์ 0 2.5 5 และ 7.5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดและสภาวะเวลาในการไฮโดรไลซิส 12 24 และ 36 ชั่วโมง มีค่าผลผลิตไฮโดรเจนสะสมและผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 20 เวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรดต่อผลผลิตไฮโดรเจน

เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสที่ 12 ชั่วโมงให้ผลผลิตไฮโดรเจนน้อยที่สุด เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสสั้นเกินไปส่งผลต่อปริมาณน้ำตาลที่เกิดจากการย่อยสลายเซลลูโลสของเอนไซม์เซลลูเลสน้อยตามไปด้วยทำให้ได้ผลผลิตไฮโดรเจนน้อยที่สุด ในขณะที่เวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสที่ 36 ชั่วโมง ให้ผลผลิตไฮโดรเจนน้อยกว่าเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสที่ 24 ชั่วโมง เนื่องจากการไฮโดรไลซิสเป็นเวลา 36 ชั่วโมงทำให้เกิดการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ จึงเกิดผลผลิตไฮโดรเจนต่ำ การศึกษาของ Wang *et al.* (2010) ศึกษาการหมักกากแอปเปิ้ลเพื่อผลิตแก๊สไฮโดรเจน โดยทำการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 10 มิลลิกรัมต่อกรัมกากแอปเปิ้ล บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 24 36 48 60 และ 72 ชั่วโมง หมักที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าที่เวลาใน

การไฮโดรไลซิส 48 ชั่วโมงให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดและอัตราการผลิตไฮโดรเจนเฉลี่ยสูงสุดคือ 95.78 มิลลิลิตรต่อกรัมกากแอปเปิ้ลและ 5.61 มิลลิลิตรต่อกรัมกากแอปเปิ้ลต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มเวลาในการไฮโดรไลซิส เนื่องจากการเพิ่มเวลาในการไฮโดรไลซิสทำให้น้ำตาลกลูโคสย่อยสลายเป็นเฟอร์ฟูรัลและน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวความเข้มข้นเป็นโพลีแซคคาไรด์ได้

ตารางที่ 7 ผลของกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและเวลาในการไฮโดรไลซิสกากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสม ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุดและระยะเวลาเริ่มต้น

| ปัจจัย  | ผลผลิตไฮโดรเจนสะสม (มิลลิลิตรต่อลิตร) | ผลผลิตไฮโดรเจนจำเพาะสูงสุด (มิลลิลิตรต่อลิตรต่อชั่วโมง) | ระยะเวลาเริ่มต้น (ชั่วโมง) | r <sup>2</sup> |
|---|---------------------------------------|---|----------------------------|----------------|
| กิจกรรมของเอนไซม์ (เอฟฟิยู่ต่อกรัมกากสับประด) |                                       |   |                            |                |
| 0   | 310.72 <sup>n</sup>                   | 7.47 <sup>n</sup>                                       | 10.94                      | 0.9971         |
| 2.5   | 0.01 <sup>n</sup>                     | 0.007 <sup>n</sup>                                      | 96.75                      | 0              |
| 5.0   | 328.98 <sup>n</sup>                   | 7.25 <sup>n</sup>                                       | 75.27                      | 0.9962         |
| 7.5   | 0 <sup>n</sup>                        | 0 <sup>n</sup>  | 0                          | 1              |
| เวลาในการไฮโดรไลซิส (ชั่วโมง)                 |                                       |   |                            |                |
| 12  | 325.83 <sup>n</sup>                   | 2.38 <sup>n</sup>                                       | 82.86                      | 0.9886         |
| 24  | 328.98 <sup>n</sup>                   | 7.25 <sup>n</sup>                                       | 75.27                      | 0.9962         |
| 36  | 274.88 <sup>n</sup>                   | 8.60 <sup>n</sup>                                       | 98.61                      | 0.9981         |

หมายเหตุ <sup>n</sup> คือค่าเฉลี่ยแต่ละค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

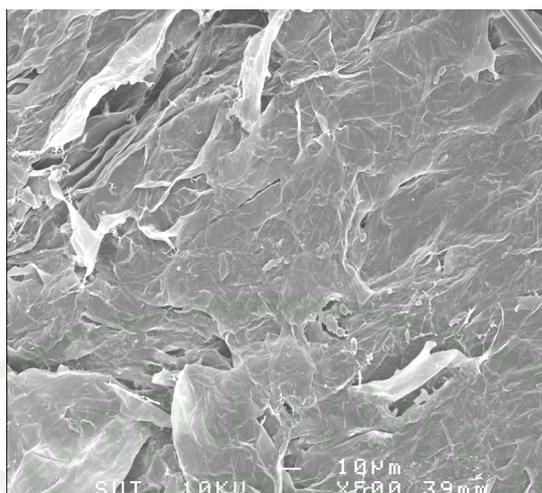
จากการศึกษาการไฮโดรไลซิสกากสับประดจะเห็นได้ว่าเกิดผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนในปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในข้อ 3 เหตุผลเนื่องจาก

1. การศึกษาในหัวข้อนี้มีการใช้กากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเป็นสารตั้งต้น ทำให้ยากต่อการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์และส่งผลไปถึงปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยผลผลิตไฮโดรเจนที่ผลิตได้จากการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพเปรียบเทียบกับกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพในการศึกษาหัวข้อนี้คือ 719.59 และ 384.50 มิลลิลิตรต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ตามลำดับ

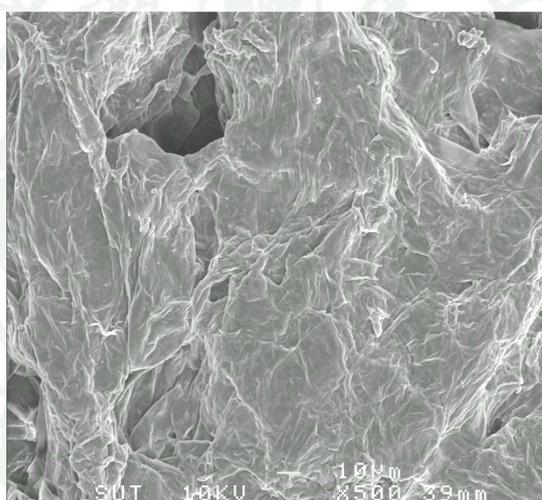
2. การศึกษานี้ใช้ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นคือ 5.0 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาในข้อ 3 และไม่มีการเติมบัฟเฟอร์ ( $\text{NaHCO}_3$ ) ในขั้นตอนการหมักทำให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงอย่างมาก (ลดลงถึง 3.2) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเป็นกรดต่างในการศึกษาข้อ 3 ค่าความเป็นกรดต่างที่ลดลงอย่างมากนี้ ส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนได้ Fang and Liu (2002) ศึกษาการหมักน้ำตาลกลูโคสด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส โดยทำการศึกษาที่ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นจาก 4 ถึง 7 พบว่าที่ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 ให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 2.1 โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคส แสดงให้เห็นค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน

## 5. โครงสร้างของกากสับประรดหลังผ่านการปรับสภาพ

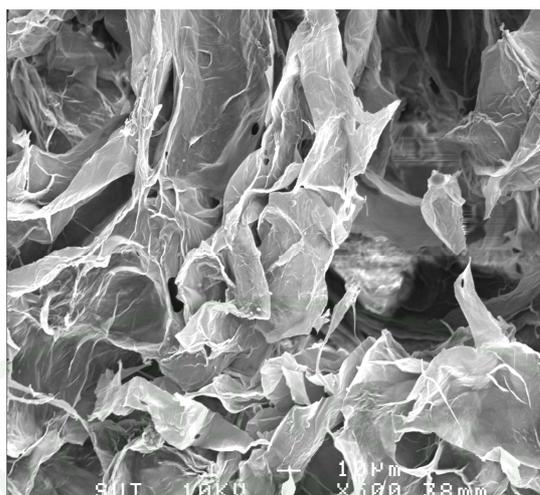
ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลสอยู่รวมกันตรงกลางโดยมีเฮมิเซลลูโลสที่เชื่อมต่อกับลิกนินห่อหุ้มอยู่ภายนอก ชีวมวลลิกโนเซลลูโลสเป็นโพลีเมอร์หลักของคาร์โบไฮเดรตสามชนิดที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแก๊สชีวภาพได้ เซลลูโลสเป็นโพลีเมอร์โครงสร้างหลักของกลูโคสและเฮมิเซลลูโลสเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลหลายชนิดที่ส่วนใหญ่เป็นเพนโทส จากโครงสร้างของชีวมวลลิกโนเซลลูโลสทำให้ยากต่อการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์จึงจำเป็นอย่างยิ่งในขั้นตอนการปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสก่อนกระบวนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน การปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำเป็นการปรับสภาพทางกายภาพและเคมี โดยการปรับสภาพทางกายภาพคือการลดขนาดอนุภาคและขยายขนาดรูพรุน (Micropores) ซึ่งเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาของจุลินทรีย์และการเข้าถึงของเอนไซม์ได้ง่ายขึ้น การปรับสภาพทางเคมีเป็นการทำลายเฮมิเซลลูโลส ทำให้เหลือเพียงเซลลูโลสที่สามารถย่อยสลายโดยเอนไซม์ได้ (Kun *et al.*, 2007) การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope, SEM) สามารถมองเห็นโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงของกากสับประรดหลังผ่านการปรับสภาพดังแสดงในภาพที่ 21 22 และ 23



ภาพที่ 21 โครงสร้างของกากสับปะรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ



ภาพที่ 22 โครงสร้างของกากสับปะรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ เป็นเวลา 5 นาที



ภาพที่ 23 โครงสร้างของกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที

โครงสร้างของกากสับประรดหลังผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำเพียงอย่างเดียวมีการเปลี่ยนแปลงจากกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพเลย เริ่มต้นกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจะมีโครงสร้างที่อัดแน่น มีความเป็นรูพรุนน้อยเมื่อผ่านการปรับสภาพด้วยการระเบิดไอน้ำจะเห็นได้ว่ากากสับประรดเริ่มมีโครงสร้างที่หลวมและเกิดรูพรุน เมื่อทำการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำจะเห็นได้ว่าเส้นใยกากสับประรดมีความหลวมและมีรูพรุนมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีรอยแตกแยกที่เห็นได้ชัด สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งที่เพิ่มขึ้นจากการปรับสภาพและการไฮโดรไลซิสเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยคือ กากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที กากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ เป็นเวลา 5 นาทีและกากสับประรดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ 3543.75 2518.75 และ 418.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำสามารถเพิ่มผลผลิตไฮโดรเจนได้ และการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดไอน้ำจะยิ่งให้ผลผลิตไฮโดรเจนได้มากขึ้น

## 6. การศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดที่เหมาะสมที่สุดด้วยวิธีการตอบสนองที่พื้นผิว

6.1 สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับประรดโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำด้วยวิธีการตอบสนองที่พื้นผิว

จากผลการศึกษการปรับสภาพกากสับประรดในข้อ 3 ได้ผลจากการศึกษาปัจจัยในการปรับสภาพกากสับประรดในแต่ละปัจจัยคือ ความดันในการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์ เวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำ 1 นาทีและใช้ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำ จึงทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการปรับสภาพกากสับประรดก่อนการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยศึกษาความสัมพันธ์ของ 3 ปัจจัยในการปรับสภาพกากสับประรดคือ ความดันและเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำและความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำ ทำโดยการออกแบบการทดลองแบบองค์ประกอบส่วนกลาง (Central composition design, CCD) ดังแสดงในตารางที่ 8

**ตารางที่ 8** แผนการทดลองทางสถิติของสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำโดยวิธีทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิว (RSM)

| ลำดับที่ | ความดันในการระเบิดไอน้ำ (บาร์) | เวลาในการระเบิดไอน้ำ (วินาที) | ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์) |
|----------|--------------------------------|-------------------------------|---|
| 1        | 5.5                            | 30                            | 2.5   |
| 2        | 5.5                            | 90                            | 2.5   |
| 3        | 5.5                            | 30                            | 3.5   |
| 4        | 5.5                            | 90                            | 3.5   |
| 5        | 7.5                            | 30                            | 2.5   |
| 6        | 7.5                            | 90                            | 2.5   |
| 7        | 7.5                            | 30                            | 3.5   |
| 8        | 7.5                            | 90                            | 3.5   |
| 9        | 6.5                            | 12                            | 3.0   |
| 10       | 6.5                            | 108                           | 3.0   |
| 11       | 6.5                            | 60                            | 2.2   |
| 12       | 6.5                            | 60                            | 3.8   |
| 13       | 4.8                            | 60                            | 3.0   |
| 14       | 8.2                            | 60                            | 3.0   |
| 15-20    | 6.5                            | 60                            | 3.0   |

จากการศึกษาการปรับสภาพกากสับประดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จากนั้นปรับสภาพกากสับประดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับประดด้วยวิธีทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิว คือ สภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับประดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.99 เปอร์เซ็นต์จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 7.72 บาร์เป็นเวลา 1 นาที 10.8 วินาที ( $r^2 = 0.813$ ) ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2446.98 มิลลิลิตรต่อลิตร ความสัมพันธ์ของทั้ง 3 ปัจจัยต่อผลผลิตไฮโดรเจนตามสมการถดถอยเชิงพหุนามกำลัง 2 ดังสมการที่ 15

$$Y = -16101.21 + 1719.70X_1 + 9764.31X_2 + 761.29X_3 - 865.28X_1X_2 + 377.12X_1X_3 + 95.84X_2X_3 - 867.58X_1^2 - 1586.33X_2^2 - 96.62X_3^2 \quad (15)$$

จากสมการ Y คือผลผลิตไฮโดรเจนสะสม (มิลลิลิตรต่อลิตร)

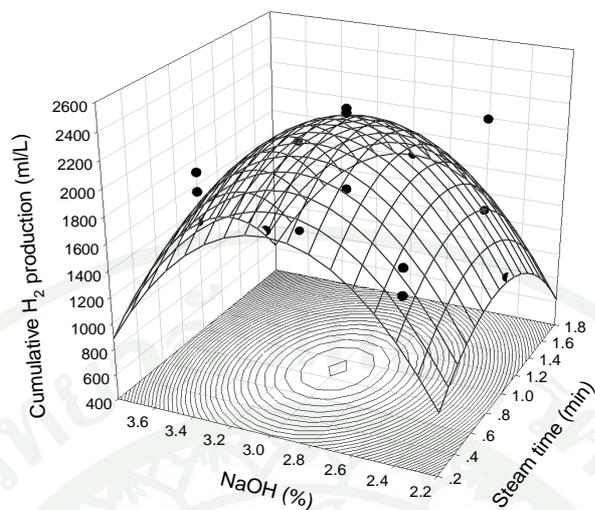
$X_1$  คือเวลาในการระเบิดไอน้ำ (นาที)

$X_2$  คือความเข้มข้น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)

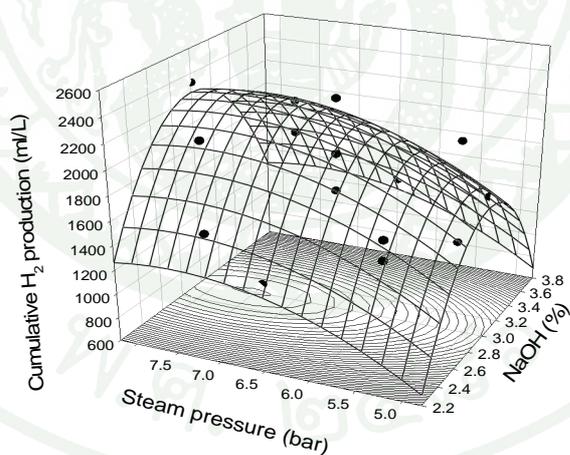
$X_3$  คือความดันในการระเบิดไอน้ำ (บาร์)

ความสัมพันธ์ระหว่างความดันและเวลาในการระเบิดไอน้ำและความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับสภาพกากสับประดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมแสดงในภาพที่ 24 25 และ 26

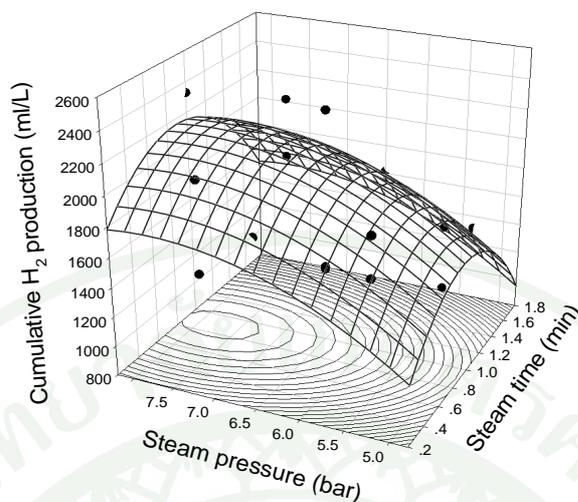
จากผลการศึกษาการปรับสภาพกากสับประดด้วยวิธีทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิวพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพกากสับประดคือ การปรับสภาพกากสับประดในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.99 เปอร์เซ็นต์จากนั้นทำการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 7.72 บาร์เป็นเวลา 1 นาที 10.8 วินาที ( $r^2 = 0.813$ ) ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2446.98 มิลลิลิตรต่อลิตร จึงนำผลที่ได้จากการศึกษามาทำการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน พบว่าได้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 1854.08 มิลลิลิตรต่อลิตร เนื่องจากการศึกษาด้วยสถิติวิธีการตอบสนองที่พื้นผิวจะออกแบบการทดลองออกมาซึ่งผลการทดลองที่ได้จะเป็นการคาดการณ์เท่านั้น ทำให้ในการทดลองจริงค่าผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จึงมีความคาดเคลื่อนบ้าง



ภาพที่ 24 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และเวลาในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับประดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM



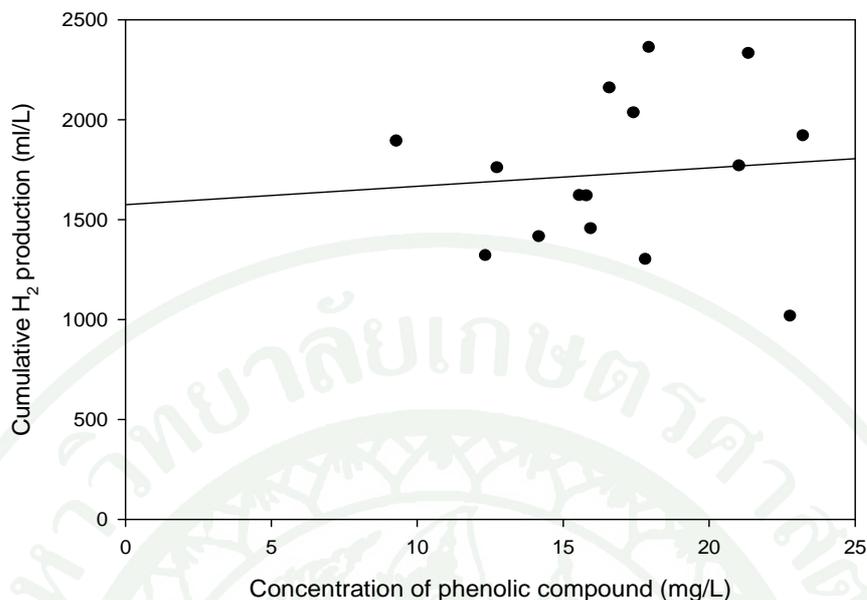
ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และความดันในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับประดต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM



ภาพที่ 26 ความสัมพันธ์ของความดันและเวลาในการระเบิดไอน้ำในการปรับสภาพกากสับประรด ต่อผลผลิตไฮโดรเจนสะสมจากการศึกษาด้วยวิธี RSM

## 6.2 การเกิดสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน

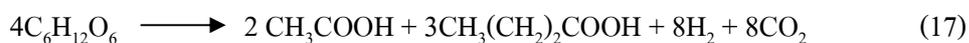
การปรับสภาพชีวมวลลิกโนเซลลูโลสทำให้เกิดสารยับยั้งพวกสารประกอบฟีนอลิกจากการทำลายลิกนินบางส่วนและเกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต สารประกอบฟีนอลิกสามารถเข้าสู่เยื่อหุ้มของสิ่งมีชีวิตส่งผลต่อความสามารถในการเลือกผ่านของเยื่อเลือกผ่านสารประกอบฟีนอลิกยับยั้งจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักชีวมวลลิกโนเซลลูโลส โดยสารประกอบฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีความเป็นพิษมากที่สุด (Palmqvist and Hagerdal, 2000) ภาพที่ 27 แสดงถึงความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกและผลผลิตไฮโดรเจนจากการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพโดยสถิติวิธีการตอบสนองที่พื้นผิวที่ทำการศึกษาปัจจัยในการปรับสภาพคือความดันและเวลาในการระเบิดด้วยไอน้ำและความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการระเบิดไอน้ำ โดยการทดลองด้วยวิธีทางสถิติแบบการตอบสนองที่พื้นผิวเป็นการออกแบบการทดลองที่มีระยะห่างในแต่ละชุดการทดลองน้อย จึงส่งผลให้เห็นความแตกต่างจากผลการทดลองในแต่ละชุดการทดลองไม่ชัดเจน จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 9.3 ถึง 23.23 มิลลิกรัมต่อลิตรและได้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ในช่วง 1016.63 ถึง 2360.99 มิลลิลิตรต่อลิตร



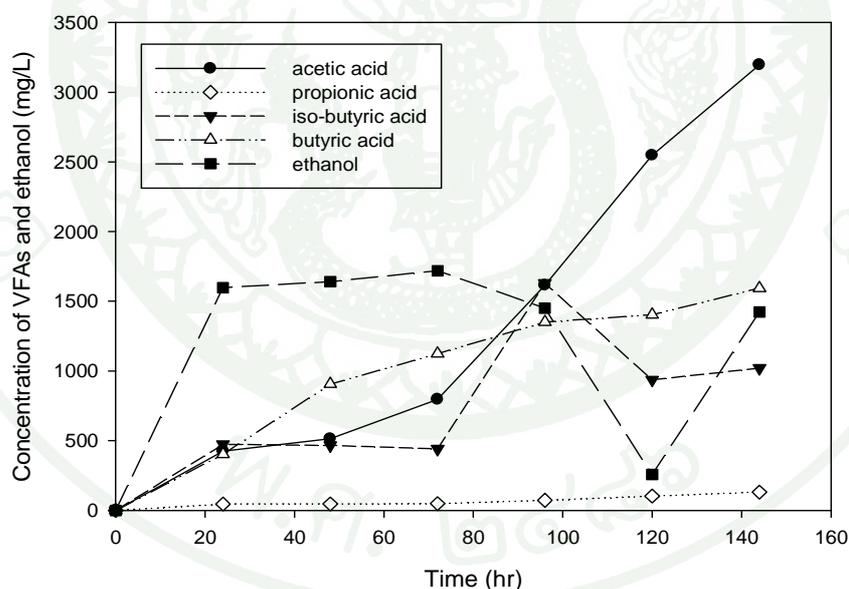
ภาพที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกและผลผลิตไฮโดรเจนในการปรับสภาพกากสับปรดจากการศึกษาด้วยวิธี RSM

### 6.3 การเกิดแอลกอฮอล์ระหว่างการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน

เอทานอลเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ร่วมกับกรดอะซิติกและกรดบิวทริกในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากเมื่อน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท ไพรูเวทถูกออกซิไดซ์เป็นอะซิติกโคเอนไซม์เอ ไฮโดรเจนจะเกิดขึ้นจากกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส 1 โมลกลูโคสเกิดเป็น 1 โมลไพรูเวท จะมีการใช้ 2 โมลของ  $\text{NAD}^+$  ในการที่จะรักษาการเกิดไฮโดรเจนได้อย่างต่อเนื่องนั้น  $\text{NAD}^+$  จะต้องเกิดขึ้นใหม่โดยปฏิกิริยาของวิถีทางเอทานอลอะซิเตต (Ethanol-acetate pathway) หรือโดยวิถีทางบิวทีเรตอะซิเตต (Butyrate-acetate partway) โดยวิถีทางหลักในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนคือ การหมักแบบเอทานอลและการหมักแบบกรดบิวทริกที่สามารถชดเชยความสมดุลของ  $\text{NADH}+\text{H}^+$  และ  $\text{NAD}^+$  ได้ ดังสมการที่ 16 และ 17



จากสมการจะเห็นได้ว่าไฮโดรเจนที่ผลิตได้ทางทฤษฎีของการหมักทั้งสองแบบ จาก 1 โมลกลูโคสได้ไฮโดรเจน 2 โมล (Guo *et al.*, 2008) จากภาพที่ 28 ปริมาณรวมของเอทานอลและกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมักคิดเป็น 58.50 เปอร์เซ็นต์ บ่งชี้ว่าเกิดวิถีทางเอทานอลอะซิเตต (Ethanol-acetate pathway) เป็นวิถีทางหลักในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน การศึกษาของ Li *et al.* (2009) ศึกษาการหมักกากน้ำตาลเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยศึกษาอัตราการผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก 3 แบบคือ การหมักแบบเอทานอล การหมักแบบกรดบิวทริกและการหมักแบบกรดโพรพิโอนิก พบว่าการหมักแบบเอทานอลให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 2.96 โมลต่อกิโลกรัม MLVSS ต่อวัน ที่มีเอทานอล กรดอะซิติกและกรดบิวทริกเป็นองค์ประกอบในของเหลวจากการหมักแบบเอทานอลถึง 94.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรหมักแบบกรดบิวทริก 84.1 เปอร์เซ็นต์ และการหมักแบบกรดโพรพิโอนิกเพียง 37.4 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าปริมาณเอทานอล กรดอะซิติกหรือกรดบิวทริกที่ผลิตได้มากขึ้น ส่งผลต่อผลผลิตไฮโดรเจนที่เพิ่มมากขึ้นด้วย



ภาพที่ 28 ความเข้มข้นของเอทานอลและกรดไขมันระเหยได้จากการศึกษาด้วยวิธี RSM

## 7. ปริมาณเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลสและลิกนินของกากสับประดหลังจากผ่านการปรับสภาพ

กากสับประดเป็นชีวมวลลิกโนเซลลูโลสชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยโครงสร้างของเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลสและลิกนิน กากสับประดเริ่มต้นที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจะมีเซลล์โลสและลิกนินใน ปริมาณน้อย แต่มีเฮมิเซลล์โลสในปริมาณมาก เมื่อกากสับประดผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.99 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดไอน้ำที่ความดัน 7.72 บาร์เป็นเวลา 1.18 นาที ส่งผลให้เฮมิ เซลล์โลสถูกทำลายทำให้มีปริมาณลดลง ในขณะที่เซลล์โลสและลิกนินจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากการคำนวณปริมาณเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลสและลิกนินเป็นการคำนวณตามสัดส่วนทั้งหมด 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเฮมิเซลล์โลสส่วนใหญ่ถูกทำลายไป ทำให้เซลล์โลสและลิกนินมีปริมาณเพิ่มขึ้น ปริมาณเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลสและลิกนินของกากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพและไม่ผ่านการ ปรับสภาพ ดังแสดงในตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** สัดส่วนของเซลล์โลส เฮมิเซลล์โลสและลิกนินของกากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพ และไม่ผ่านการปรับสภาพ

| กากสับประด  | เซลล์โลส<br>(ร้อยละ) | เฮมิเซลล์โลส<br>(ร้อยละ) | ลิกนิน<br>(ร้อยละ) |
|---|----------------------|--------------------------|--------------------|
| ไม่ผ่านการปรับสภาพ  | 14.08 ± 1.95         | 76.50 ± 2.86             | 7.95 ± 0.85        |
| ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์<br>2.99 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดไอน้ำ<br>ที่ความดัน 7.72 บาร์เป็นเวลา 1.18 นาที | 35.12 ± 2.76         | 39.03 ± 5.38             | 24.35 ± 2.14       |

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

การศึกษาสภาวะการปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยกรด ต่าง ความร้อน กรดร่วมกับ ความร้อน และต่างร่วมกับความร้อน พบว่าการปรับสภาพกากตะกอนชีวภาพด้วยต่างให้ผลผลิต ไฮโดรเจนสะสมสูงสุด การศึกษาการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำก่อนการหมักเพื่อ ผลิตไฮโดรเจนด้วยวิธีทางสถิติแบบการตอบสนองที่พื้นผิว (RSM) โดยหมักที่ค่าความเป็นกรดเป็น ต่างเริ่มต้น 5.5 หมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสด้วยจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ พบว่าการปรับ สภาพกากสับประรดด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์และเวลาในการระเบิดไอน้ำ 1 นาทีให้ ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2089.97 และ 1871.25 มิลลิลิตรต่อลิตร ตามลำดับ และผลของการ ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ก่อนการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็น เวลา 1 นาที พบว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความ ดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาทีให้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2254.62 มิลลิลิตรต่อลิตร และการปรับ สภาพกากสับประรดด้วยต่างที่ความเข้มข้น 2.99 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดไอน้ำที่ความดัน 7.72 บาร์ เป็นเวลา 1 นาที 10.8 วินาที เป็นสภาวะการปรับสภาพกากสับประรดที่เหมาะสมที่สุดในการผลิต ไฮโดรเจน ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุด 2446.98 มิลลิลิตรต่อลิตร

### ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียและการใช้ ประโยชน์ของเสียประเภทชีวมวลลิกโนเซลลูโลสมาผลิตแก๊สไฮโดรเจน โดยของเสียที่เป็นกาก สับประรดดังเช่นการศึกษานี้มีค่าในโตรเจนรวมสูงที่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิต ไฮโดรเจนได้โดยไม่ต้องมีการเติมแหล่งไนโตรเจนเพิ่มเติม หากมีการนำไปประยุกต์ใช้ควรร ศึกษาระดับที่ใหญ่ขึ้นเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมด้านอื่นต่อไป หรือดำเนินการหมักในช่วง อุณหภูมิสูงจะทำให้ได้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงขึ้น

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จารุวรรณ สนมวัฒนวงค์. 2548. เอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบลิโนเชลลูโลสในเห็ดนางรม, **Pleurotus ostreatus 10**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา. 2547. การใช้เศษเหลือและผลพลอยได้จากสับประรดเป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)
- ธีรา แดงกนิษฐ์. 2538. ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ **Polygalacturonase, pectin methylestrease, cellulase** และ **B-Galactosidase** และการอ่อนตัวของเนื้อทุเรียนสุก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นวดล เหล่าศิริพจน์. 2550. การผลิตเชื้อเพลิงไฮโดรเจน (Hydrogen). บัณฑิตวิทยาลัยร่วมด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม (JGSEE), กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)
- นรินาม. 2011. การผลิตไฮโดรเจน. แหล่งที่มา: <http://www.rodchainam.com>, 1 กรกฎาคม 2554.
- พนิดา วงศ์เกียรติขจร. 2530. การคัดพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายลิโนเชลลูโลสในสภาวะแอนแอโรบิก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรเทพ กลิ่นรอด และคณะ. 2548. การประหยัดไอน้ำในกระบวนการผลิตผลไม้กระป๋อง, น. 1-5. ใน การประชุมวิชาการเครือข่ายวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทยครั้งที่ 19. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีปทุม, กรุงเทพฯ.
- พัชรา วีระกะลัส. 2543. เอนไซม์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

- มงคล งามเจริญวงศ์. 2547. การใช้แป้งดิบเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนสำหรับการผลิตแก๊สไฮโดรเจน โดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มันสิน ตัณฑุเลศม์. 2546. คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ เล่มที่ 1. กรมควบคุมมลพิษ. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ. (อัคราเนนา)
- มลินพรพรย แสงพิมพ์. 2551. การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เพคเตทไลเอสจากเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* สายพันธุ์ N10 ด้วยวิธีการหาพื้นที่ผิวการตอบสนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรัญญา เจียรนัย. 2526. การศึกษากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในแมลงสาปอเมริกัน (*Periplaneta Americana* (Linn.)). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิริจันทร์ ทองประเสริฐ และมานิจ ทองประเสริฐ. 2010. ไฮโดรเจน: เชื้อเพลิงสำหรับอนาคต. แหล่งที่มา: <http://www.navy22.com/smf/index.php?topic=14691.0>, 24 มกราคม 2554.
- ศรีศักดิ์ ตรังวัชรกุล. 2552. กระบวนการผลิตน้ำผักและน้ำผลไม้บรรจุในภาชนะปิดสนิท. โรงพิมพ์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี.
- สุดาวดี ใสสกุล. 2543. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุภาวีณี นิลเขต. 2550. การใช้กากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตกลูโคสและเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อรา *Trichoderma ssp.* ในปฏิกรณ์กึ่งต่อเนื่องขนาดระดับห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อุดมทรัพย์ ใจดี. 2551. การเปรียบเทียบเกณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับแผนแบบพื้นผิวตอบสนองแถวหลัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อิสรี รอดทัศนาศ. 2550. การปรับสภาพกากตะกอนเยื่อกระดาษเหลือทิ้งขั้นต้นเพื่อผลิตเอทานอลจากกระบวนการย่อยให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์และการหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โรงเรียนองครักษ์. 2554. สารชีวโมเลกุล.

แหล่งที่มา: <http://www.ictor.net/biomolecule.orh2o.com>, 1 กรกฎาคม 2554.

Agbor, V.B., N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin and D.B. Levin. 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advanced Inpress**.

Ahamed, A. and P. Vermette. 2008. Culture-based strategies to enhance cellulase enzyme production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in bioreactor culture conditions. **Biochemical Engineering Journal** 40: 399-407.

Impreriam, A. 2010. **Hydrogen energy**.

แหล่งที่มา: <http://www.jobpub.com/articles/showarticle.asp?id=1699>, 16 ธันวาคม 2553.

Appels, L., J. Baeyens, J. Degreve and R. Dewil. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science** 34: 755-781.

Bak, T., J. Nowotny, M. Rekas and C.C. Sorrell. 2002. Photo-electrochemical hydrogen generation from water using solar energy. Materials-related aspects. **International Journal of Hydrogen Energy** 27(10): 991-1022.

Cao, G.L., N.Q. Ren, A.J. Wang, W.Q. Guo, J.F. Xu and B.F. Liu. 2010. Effect of lignocelluloses-derived inhibitors on growth and hydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **International Journal of Hydrogen Energy** Inpress.

- Cara, C., E. Ruiz, I. Ballesteros, M.J. Negro and E. Castro. 2006. Enhance enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. **Process Biochemistry** 41: 423-429.
- Cara, C., M. Moya, I. Ballesteros, M.J. Negro, A. Gonzalez and E. Ruiz. 2007. Influence of solid loading on enzymatic hydrolysis of steam exploded or liquid hot water pretreated olive tree biomass. **Process Biochemistry** 42: 1003-1009.
- Chen, M., J. Zhao and L. Xia. 2009. Comparison of four different chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Biomass and Bioenergy** 33: 1381-1385.
- Cheng, J., H. Su, J. Zhou, W. Song and K. Cen. 2011. Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw to promote enzymatic hydrolysis and hydrogen production in dark- and photo-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy** 36: 2093-2101.
- Chong, M.L., R.A. Rahim, Y. Shirai and M.A. Hassan. 2009. Biohydrogen production by *Clostridium butyricum* EB6 from palm oil mill effluent. **International Journal of Hydrogen Energy** 34: 764-771.
- Chong, M.L., V. Sabaratnam, Y. Shirai and M.A. Hassan. 2009. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy** 34: 3277-3287.
- Datar, R., J. Huang, P.C. Maness, A. Mohagheghi, S. Czernik and E. Chornet. 2007. Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. **International Journal of Hydrogen Energy** 32: 932-939.
- Fan, Y.T., Y.H. Zhang, S.F. Zhang, H.W. Hou and B.Z. Ren. 2006. Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost. **Bioresource Technology** 97: 500-505.

- Fang, H.H.P. and H. Liu. 2002. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. **Bioresource Technology** 82: 87-93.
- Ghose, T.K. 1987. Measurement of cellulose activities. **International Union of Pure and Applied Chemistry** 59: 257-268.
- Guo, W.Q., N.Q. Ren, X.J. Wang, W.S. Xiang, Z.H. Meng, J. Ding, Y.Y. Qu and L.S. Zhang. 2008. Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. **International Journal of Hydrogen Energy** 33: 4981-4988.
- Guo, X.M., E. Trably, E. Latrille, H. Carrere and J.P. Steyer. 2010. Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. **International Journal of Hydrogen Energy** 35: 10660-10673.
- Hallenbeck, P.C. 2009. Fermentative hydrogen production: Principles, progress, and prognosis. **International Journal of Hydrogen Energy** 34: 7379-7389.
- Hendriks, A .T. W. M. and G. Zeeman. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology** 100: 10-18.
- Khanal, K.S. 2008. **Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Application**. Blackwell Publishing, USA.
- Kim, D.H., S.H. Kim and H.S. Shin. 2009. Sodium inhibition of fermentative hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy** 34: 3295-3304.
- \_\_\_\_\_, S. and M.T. Holtzaple. 2005. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. **Bioresource Technology** 96: 1994-2006.

- Kumar, P., D.M. Barrett, M.J. Delwiche and P. Stroeve. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial and Engineering Chemistry Research** 48: 3713-3729.
- Kun, W., W. Fang, J.J. Xin, Z. Li-wei and F. Hong-zhuai. 2007. Structure, composition and enzymatic hydrolysis of steam-exploded lespedeza stalks. **Forestry Study in China** 9(2): 137-141.
- Li, B.Z., V. Balan, Y.J. Yuan and B.E. Dale. 2010. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. **Bioresource Technology** 101: 1285-1292.
- \_\_\_\_\_, D. and H. Chen. 2007. Biological hydrogen production from steam-exploded straw by simultaneous saccharification and fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy** 32: 1742-1748.
- \_\_\_\_\_, H., Y. Jin, R. Mahar, Z. Wang and Y. Nie. 2008. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresource Technology** 99: 5140-5144.
- \_\_\_\_\_, J., G. Zheng, J. He, S. Chang and Z. Qin. 2009. Hydrogen-producing capability of anaerobic activated sludge in three types of fermentations in a continuous stirred-tank reactor. **Biotechnology Advances** 27: 573-577.
- Mcintosh, S. and T. vancov. 2010. Enhanced enzyme saccharification of Sorghum bicolor straw using dilute alkali pretreatment. **Bioresource Technology** 101: 6718-6727.
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** 31: 426-428.

- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple and M. Ladisch. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology** 96: 673-686.
- Palmqvist, E. and B.H. Hagerdal. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology** 74: 25-33.
- Pilli, S., P. Bhunia, S. Yan, R.J. Leblanc, R.D. Tyagi and R.Y. Surampalli. 2011. Ultrasonic pretreatment of sludge: A review. **Ultrasonics Sonochemistry** 18: 1-18.
- Shi, X.X., H.C. Song, C.R. Wang, R.S. Tang, Z.X. Huang, T.R. Gao and J. Xie. 2010. Enhanced bio-hydrogen production from sweet sorghum stalk with alkalization pretreatment by mixed anaerobic cultures. **International Journal of Energy Research** 34(8): 662-672.
- Wang, H., J. Wang, Z. Fang, X. Wang and H. Bu. 2010. Enhanced bio-hydrogen production by anaerobic fermentation of apple pomace with enzyme hydrolysis. **International Journal of Hydrogen Energy** 35: 8303-8309.
- \_\_\_\_\_, K., J.X. Jiang, F. Xu and R.C. Sun. 2009a. Influence of steaming pressure on steam explosion pretreatment of Lespedeza stalks (*Lespedeza crytobotrya*): Part 1. Characteristics of degraded cellulose. **Polymer Degradation and Stability** 94: 1379-1388.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2009b. Influence of steaming explosion time on the physic-chemical properties of cellulose from Lespedeza stalks (*Lespedeza crytobotrya*). **Bioresource Technology** 100: 5288-5294.
- \_\_\_\_\_, J. and W. Wan. 2008. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge. **International Journal of Hydrogen Energy** 33: 2934-2941.

\_\_\_\_\_, Z.B. Yue, T.H. Chen, S.C. Peng, H.Q. Yu and H.Z. Chen. 2010. Anaerobic digestibility and fiber composition of bulrush in response to steam explosion. **Bioresource Technology** 101: 6610-6614.

Wikipedia. 2554. **Photo and dark fermentation.**

แหล่งที่มา: <http://www.wikipedia.org>, 1 กรกฎาคม 2554.

Xu, Z., Q. Wang, Z.H. Jiang, X.X. Yang and Y. Ji. 2007. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw. **Biomass and Bioenergy** 31: 162-167.

Zabihi, S., R. Alinia, F. Esmailzadeh and J.F. Kalajahi. 2010. Pretreatment of wheat straw using steam, steam/acetic acid and steam/ethanol and its enzymatic hydrolysis for sugar production. **Biosystems Engineering** 105: 288-297.

Zhou, J., Y.H. Wang, J. Chu, L.Z. Luo, Y.P. Zhuang and S.L. Zhang. 2009. Optimization of cellulase mixture for efficient hydrolysis of steam-exploded corn stover by statistically designed experiments. **Bioresource Technology** 100: 819-825.



ภาคผนวก



## 1. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน

1.1 เผาครุชชีเบิ้ลพร้อมฝานในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 30 นาที นำออกจากเตาเผาแล้วนำไปไว้ในเดสทิเคเตอร์จนเย็น นำไปชั่งเพื่อบันทึกน้ำหนักครุชชีเบิ้ล

1.2 ชั่งน้ำหนักแห้งพร้อมครุชชีเบิ้ลและฝาน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส โดยปิดฝาครุชชีเบิ้ลเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเปิดฝานที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.3 หลังการเผาน้ำหนักครุชชีเบิ้ลและตัวอย่างไปไว้ในเดสทิเคเตอร์จนเย็น นำไปชั่ง พร้อมฝาครุชชีเบิ้ลเพื่อบันทึกน้ำหนัก

การคำนวณปริมาณเถ้า

$$\%ash = (W1 - W2)/W \times 100$$

%ash = ปริมาณเถ้า (%)

W1 = น้ำหนักครุชชีเบิ้ลพร้อมฝานปิดและตัวอย่างแห้งก่อนเผา (g)

W2 = น้ำหนักครุชชีเบิ้ลพร้อมฝานปิดและตัวอย่างหลังการเผา (g)

W = น้ำหนักแห้งของสารตัวอย่าง (g)

การคำนวณปริมาณคาร์บอน

$$\%C = (100 - \%ash)/1.8$$

%C = ปริมาณคาร์บอน (%)

%ash = ปริมาณเถ้า (%)

## 2. การวิเคราะห์ไนโตรเจนรวม ( total kjeldahl nitrogen; TKN)

วิเคราะห์โดยวิธี kjeldahl และ titration สามารถหาปริมาณรวมของ ammonia และ nitrogen ในรูปสารอินทรีย์โดยเรียกรวมตามวิธีการวิเคราะห์ว่า kjeldahl nitrogen ปริมาณไนโตรเจนที่หาได้โดยวิธี kjeldahl นี้ไม่รวมถึง azide azine azo Hydrazone nitrate nitrite nitro nitroso oxime และ semi-carbazone

### 2.1 สารเคมี

สารละลาย NaOH เข้มข้น 40 % เตรียมโดยละลาย NaOH 400 กรัม ในน้ำกลั่น 10 ลิตร

สารละลาย bromocresol green เตรียมโดยละลาย bromocresol green 0.2 กรัม ใน ethyl alcohol 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

สารละลาย methy red โดยละลาย methy red 0.1 กรัมใน ethyl alcohol 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

สารละลาย boric acid เข้มข้น 4 % ละลาย boric acid 400 กรัมในน้ำกลั่น 6 ลิตร แล้วนำไปตั้งบน hot plate จนละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นได้ปริมาตร 9 ลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลาย bromocresol green และสารละลาย methy red ที่ได้เตรียมไว้ ปริมาตร 100 และ 70 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรให้เป็น 10 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นและเขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

เตรียมสารละลาย HCl 0.02 โมล โดยคูณสารละลาย HCl เข้มข้นปริมาตร 1.64 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### 2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 การย่อยตัวอย่าง : โดยนำตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน digestion tube เติม  $K_2SO_4$  2 กรัม  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0.8 กรัม และ ซัลฟูริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร ย่อยนาน 60 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้เย็น ประมาณ 15 นาที

2.2.2 การกลั่น : โดยเติมน้ำ 70 มิลลิตรใน digestion tube ที่ได้จากการย่อย เติม 40 % NaOH ปริมาตร 60 มิลลิตร (จากเครื่อง) และเติม 4 % boric acid ปริมาตร 30 มิลลิตร ในขวดรูปชมพูนขนาดปริมาตร 250 มิลลิตร (erlenmeyer flask) กลั่นนาน 4 นาที และไตเตรทด้วยสารละลาย HCl 0.02 โมล

การคำนวณ

$$\text{Total kjeldahl nitrogen (TKN) (\%)} = \frac{(T-B) \times 14.007 \times [\text{HCl}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (มิลลิกรัม)}}$$

T = ปริมาตรสารละลายที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิตร)

B = ปริมาตรสารละลายที่ใช้ไตเตรทแบลคค์ (มิลลิตร)

### 3. การวิเคราะห์หองค์ประกอบเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

#### 3.1 ขั้นตอนที่ 1

นำตัวอย่างมาผ่านการอบที่ 60°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแห้ง โดยน้ำหนักที่ชั่งได้เป็น (A)

#### 3.2 ขั้นตอนที่ 2

นำตัวอย่างแห้งจากขั้นตอนที่ 1 มาแช่ใน 24% KOH เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำ ดึงตัวอย่าง และนำไปอบที่ 80°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแห้ง (B)

#### 3.3 ขั้นตอนที่ 3

นำตัวอย่างหลังการย่อยในขั้นตอนที่ 2 มาแช่ใน 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และนำมาต้มเคี่ยวใน 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำตัวอย่างมาล้าง จากนั้นนำไปอบที่ 80°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งน้ำหนักที่ชั่งได้เป็น (C)

#### 3.4 ขั้นตอนที่ 4

นำตัวอย่างแห้งจากการทดลองในขั้นตอนที่ 3 ไปเผาที่ 600°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นและชั่งน้ำหนักส่วนเถ้าที่เหลืออยู่ (ash) น้ำหนักที่ชั่งได้เป็น (D)

## การคำนวณ

การคำนวณปริมาณสัดส่วนของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน คัดจากน้ำหนักที่หายไปจากการย่อยในแต่ละขั้นตอนคือ

$$\% \text{ Cellulose} = \frac{(B) - (C)}{(A)} \times 100$$

$$\% \text{ Hemicelluloses} = \frac{(A) - (B)}{(A)} \times 100$$

$$\% \text{ Lignin} = \frac{(C) - (D)}{(A)} \times 100$$

## 4. การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

4.1 นำ crude enzyme ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

4.2 เติม 0.05 sodium citrate buffer pH 4.8 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร. และกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 1.0x6.0 ซม. (50 มก.) เขย่าให้เข้ากัน

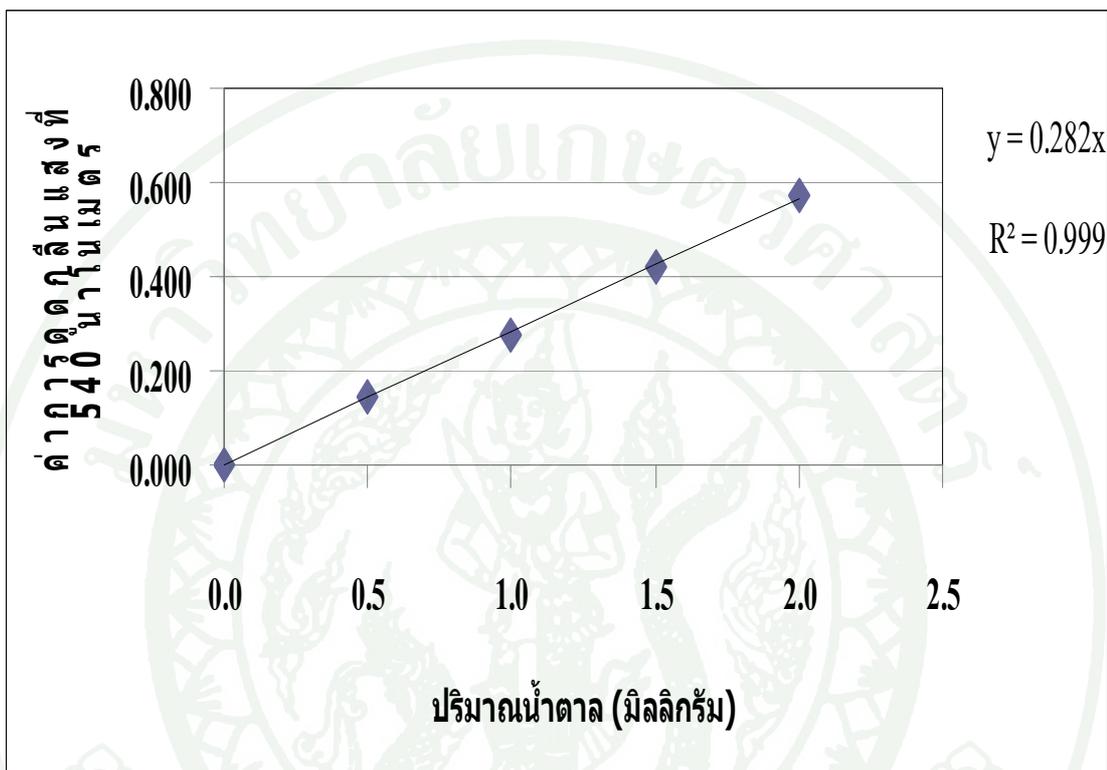
4.3 นำไปป้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 1 ชั่วโมง

4.4 เติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร. เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้ม ในน้ำเดือด นาน 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

a. เติมน้ำกลั่นหลอดละ 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร โดยใช้ 0.05 M sodium citrate buffer เป็นหลอดควบคุม (blank)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปใช้คำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากสูตรมาตรฐานการคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูเลส

$$\begin{aligned}
 1 \text{ หน่วยของเอนไซม์} &= 1\mu\text{M} \text{ ของสารตั้งต้นที่ถูกย่อยใน 1 นาที} \\
 &= \frac{(\text{มิลลิกรัมกลูโคส}) \times (0.093)}{\text{มิลลิลิตรของเอนไซม์}}
 \end{aligned}$$



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม)



ตารางผนวกที่ ข1 ปริมาณกรดไขมันระเหยชนิด acetic acid (HAC) propionic acid (HPR) butyric acid (N-HBU) และ iso-butyric acid (I-HBU) ในการหมักกากสับประดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

|                |       | VFAs (มิลลิกรัมต่อลิตร) |       |       |       |       |       |     |
|----------------|-------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
|                |       | ชั่วโมง                 | 0     | 24    | 48    | 72    | 96    | 120 |
| 5 บาร์ 5 นาที  | HAC   | 0.0                     | 443.9 | 366.8 | 562.1 | 680.0 | 666.3 |     |
|                | HPR   | 0.0                     | 216.2 | 122.6 | 104.0 | 70.9  | 63.9  |     |
|                | N-HBU | 0.0                     | 496.1 | 627.3 | 871.7 | 838.3 | 828.8 |     |
|                | I-HBU | 0.0                     | 891.5 | 823.9 | 621.3 | 627.5 | 557.6 |     |
| 20 บาร์ 5 นาที | HAC   | 0.0                     | 146.5 | 0.0   | 211.9 | 325.6 | 331.5 |     |
|                | HPR   | 0.0                     | 38.8  | 0.0   | 28.4  | 16.3  | 13.2  |     |
|                | N-HBU | 0.0                     | 69.9  | 0.0   | 42.7  | 15.5  | 6.4   |     |
|                | I-HBU | 0.0                     | 637.0 | 0.0   | 359.7 | 404.4 | 415.9 |     |

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณกรดไขมันระเหยชนิด acetic acid (HAC) propionic acid (HPR) butyric acid (N-HBU) และ iso-butyric acid (I-HBU) ในการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง

|               |       | VFAs (มิลลิกรัมต่อลิตร) |       |       |       |        |        |        |     |
|---------------|-------|-------------------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-----|
|               |       | ชั่วโมง                 | 0     | 24    | 48    | 72     | 96     | 120    | 144 |
| 5 บาร์ 1 นาที | HAC   | 0.0                     | 137.4 | 320.4 | 574.8 | 1077.5 | 1276.7 | 2506.2 |     |
|               | HPR   | 0.0                     | 24.1  | 18.9  | 16.8  | 13.7   | 16.1   | 137.5  |     |
|               | N-HBU | 0.0                     | 171.7 | 467.9 | 542.7 | 677.0  | 801.2  | 2248.6 |     |
|               | I-HBU | 0.0                     | 781.4 | 460.5 | 515.5 | 443.9  | 404.9  | 602.2  |     |
| 5 บาร์ 7 นาที | HAC   | 0.0                     | 437.3 | 335.4 | 784.4 | 1418.1 | 2843.8 | 2866.8 |     |
|               | HPR   | 0.0                     | 64.1  | 38.8  | 40.1  | 58.1   | 64.3   | 66.6   |     |
|               | N-HBU | 0.0                     | 516.2 | 766.6 | 950.5 | 1158.3 | 1726.0 | 1611.6 |     |
|               | I-HBU | 0.0                     | 544.2 | 345.4 | 334.8 | 376.3  | 525.2  | 746.7  |     |

**ตารางผนวกที่ ข3** ปริมาณกรดไขมันระเหยชนิด acetic acid (HAC) propionic acid (HPR) butyric acid (N-HBU) และ iso-butyric acid (I-HBU) ในการหมักกากสับประรดที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง

|           |       | VFAs (มิลลิกรัมต่อลิตร) |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|-----------|-------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ชั่วโมง   |       | 0                       | 24     | 48     | 72     | 96     | 120    | 144    | 168    | 192    | 216    |
| Raw       | HAC   | 0.0                     | 425.9  | 470.7  | 1387.2 | 2417.0 | 3769.5 | 4707.8 | 3568.4 | na     | na     |
|           | HPR   | 0.0                     | 95.1   | 62.8   | 59.8   | 116.2  | 87.1   | 107.9  | 104.6  | na     | na     |
|           | N-HBU | 0.0                     | 114.5  | 454.9  | 745.4  | 1270.8 | 1483.6 | 1584.0 | 1229.6 | na     | na     |
|           | I-HBU | 0.0                     | 1463.4 | 864.9  | 584.8  | 750.8  | 770.0  | 1138.0 | 1068.1 | na     | na     |
| 3% + 5(1) | HAC   | 0.0                     | 408.0  | 286.13 | 287.0  | 487.9  | 775.7  | 1399.4 | 1605.1 | 2228.6 | 2307.2 |
|           | HPR   | 0.0                     | 26.6   | 14.9   | 13.1   | 18.2   | 17.3   | 32.8   | 30.0   | 74.0   | 131.9  |
|           | N-HBU | 0.0                     | 401.3  | 1079.6 | 1111.6 | 1813.6 | 1974.2 | 1979.4 | 1781.7 | 2300.8 | 2336.9 |
|           | I-HBU | 0.0                     | 496.5  | 288.5  | 425.5  | 349.6  | 329.3  | 436.0  | 425.7  | 423.3  | 484.4  |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข4 ปริมาณกรดไขมันระเหยชนิด acetic acid (HAC) propionic acid (HPR) butyric acid (N-HBU) และ iso-butyric acid (I-HBU) ในการปรับสภาพกากสับประรด ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จากนั้นทำการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติ แบบตอบสนองที่พื้นผิว หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง

|                |       | VFAs (มิลลิกรัมต่อลิตร) |       |       |        |        |        |        |     |
|----------------|-------|-------------------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|-----|
|                |       | ชั่วโมง                 | 0     | 24    | 48     | 72     | 96     | 120    | 144 |
| สภาวะที่ 4     | HAC   | 0.0                     | 137.4 | 320.4 | 574.8  | 1077.5 | 1276.7 | 2506.2 |     |
|                | HPR   | 0.0                     | 24.1  | 18.9  | 16.8   | 13.7   | 16.1   | 137.5  |     |
|                | N-HBU | 0.0                     | 171.7 | 467.9 | 542.7  | 677.0  | 801.2  | 2248.6 |     |
|                | I-HBU | 0.0                     | 781.4 | 460.5 | 515.5  | 443.9  | 404.9  | 602.2  |     |
| สภาวะที่ 15-20 | HAC   | 0.0                     | 425.6 | 512.8 | 795.5  | 1614.7 | 2546.7 | 3196.7 |     |
|                | HPR   | 0.0                     | 45.4  | 45.5  | 48.4   | 71.9   | 102.6  | 131.2  |     |
|                | N-HBU | 0.0                     | 402.2 | 905.1 | 1123.6 | 1349.8 | 1403.3 | 1594.0 |     |
|                | I-HBU | 0.0                     | 472.5 | 465.7 | 440.4  | 1629.8 | 936.0  | 1019.7 |     |

ตารางผนวกที่ ๗5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประรด ใน 0.05 โมลสารละลายซิริทริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

| น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |         |             |              |              |              |
|----------------------------------|---------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| เวลา (hr)                        | control | 5 bar 5 min | 10 bar 5 min | 15 bar 5 min | 20 bar 5 min |
| 0                                | 2193.75 | 4250        | 7800         | 6768.75      | 3975         |
| 24                               | 883.75  | 1187.50     | 5350         | 3650         | 2625         |
| 48                               | 549.38  | 431.25      | 5300         | na           | na           |
| 72                               | 462.50  | 275.63      | 5275         | 4781.25      | 2696.88      |
| 96                               | 478.13  | 378.75      | na           | 5662.50      | 3812.50      |
| 120                              | 330.63  | 230.63      | 5656.25      | na           | 3368.75      |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูดอร์มกากสับประรด ใน 0.05 โมลสารละลายซดริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง

| น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |         |             |             |             |             |
|----------------------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| เวลา (hr)                        | control | 5 bar 1 min | 5 bar 3 min | 5 bar 5 min | 5 bar 7 min |
| 0                                | 418.75  | 1187.50     | 1918.75     | 2518.75     | 1425        |
| 24                               | 446.88  | 865.63      | 1143.75     | 1371.88     | 825         |
| 48                               | 496.25  | 590         | 959.38      | 912.50      | 487.50      |
| 72                               | 293.13  | 343.75      | 915.63      | 453.13      | 384.38      |
| 96                               | 247.50  | 54.38       | 1323.75     | 331.25      | 538.75      |
| 120                              | 273.13  | 420         | 547.50      | 131.25      | 151.88      |
| 144                              | 236.88  | 379.38      | 185.63      | 204.38      | 469.38      |

ตารางผนวกที่ ข7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งจากการปรับสภาพกากสับประรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ก่อนการระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยู่ต่อกรัมกาก สับประรด ใน 0.05 โมลสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง

| น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |         |             |          |          |          |          |
|----------------------------------|---------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| เวลา (hr)                        | control | 5 bar 1 min | 1%+ 5(1) | 2%+ 5(1) | 3%+ 5(1) | 4%+ 5(1) |
| 0                                | 1818.75 | 2218.75     | 2800     | 2193.75  | 3543.75  | 3506.25  |
| 24                               | 321.88  | 484.38      | 1306.25  | 1253.13  | 1418.75  | 693.75   |
| 48                               | 459.38  | 678.13      | 341.25   | 697.50   | 1531.25  | 791.25   |
| 72                               | 435.00  | 243.75      | 452.50   | 558.75   | 864.25   | 238.75   |
| 96                               | 631.88  | 388.75      | 308.75   | 347.50   | 282.50   | 90.00    |
| 120                              | 578.75  | 364.38      | 283.75   | 921.25   | 586.25   | 106.25   |
| 144                              | 597.50  | 299.38      | 230.63   | 112.50   | 1338.75  | 68.75    |
| 168                              | 418.75  | na          | 97.5     | 108.13   | 402.50   | na       |
| 192                              | na      | na          | 125.63   | 166.25   | 40.00    | na       |
| 216                              | na      | na          | na       | 53.75    | 36.25    | na       |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสกากสับประดที่ความเข้มข้นของ เอนไซม์เซลลูเลส 2.5 5 และ 7.5 เอฟฟิยู่ต่อกรัมกากสับประดใน 0.05 โมล สารละลายซดริกบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหมักที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |         |         |         |
|-----------|----------------------------------|---------|---------|---------|
|           | control                          | 2.5     | 5       | 7.5     |
| 0         | 862.50                           | 2825.00 | 2440.63 | 3800.00 |
| 24        | 1158.75                          | 634.38  | 1571.88 | 1875.00 |
| 48        | 991.25                           | 681.25  | 1005.00 | 771.88  |
| 72        | 864.38                           | 393.75  | 1212.50 | 906.25  |
| 96        | na                               | na      | 812.50  | 815.63  |
| 120       | na                               | na      | 406.25  | 703.13  |
| 144       | na                               | na      | 676.88  | na      |
| 168       | na                               | na      | na      | na      |
| 192       | na                               | na      | na      | na      |
| 216       | na                               | 965.63  | na      | na      |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลซิสกากสับประดที่ความเข้มข้นของ เอนไซม์เซลลูเลส 5 เอฟฟิยูต่อกรัมกากสับประดใน 0.05 โมลสารละลายซิดริก บัฟเฟอร์ที่พีเอช 4.8 ปริมาตรรวม 40 มิลลิลิตร บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 24 และ 36 ชั่วโมงหมักที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 216 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |            |            |
|-----------|----------------------------------|------------|------------|
|           | 12 ชั่วโมง                       | 24 ชั่วโมง | 36 ชั่วโมง |
| 0         | 2800                             | 2440.63    | 2753.13    |
| 24        | 2503.13                          | 1571.88    | 1753.13    |
| 48        | 587.50                           | 1005       | 1543.75    |
| 72        | 1018.75                          | 1212.50    | 909.38     |
| 96        | 621.88                           | 812.50     | 446.88     |
| 120       | 434.38                           | 406.25     | 996.88     |
| 144       | 976.88                           | 676.88     | 830.63     |
| 168       | 729.38                           | na         | na         |
| 192       | 611.25                           | na         | na         |
| 216       | 746.25                           | na         | 1239.38    |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข10 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการปรับสภาพกากสับประคด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์  
จากนั้นทำการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิว  
หมักที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 168 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |         |        |        |         |         |        |       |
|-----------|----------------------------------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|-------|
|           | 0                                | 24      | 48     | 72     | 96      | 120     | 144    | 168   |
| 1         | 5374.44                          | 787.01  | 606.77 | 349.30 | 929.52  | 939.38  | 159.87 | 37.91 |
| 2         | 3988.55                          | 780.85  | 601.84 | 750.90 | 203.93  | 203.60  | na     | na    |
| 3         | 4117.90                          | 1024.15 | 966.48 | 440.46 | 561.18  | 811.26  | 229.47 | na    |
| 4         | 4025.51                          | 750.05  | 786.62 | 228.57 | 37.29   | 106.28  | na     | na    |
| 5         | 2824.40                          | 916.36  | 750.90 | 543.94 | 599.37  | 647.42  | 314.80 | na    |
| 6         | 3138.54                          | 666.90  | 876.55 | 349.30 | 468.79  | 191.61  | na     | na    |
| 7         | 3951.59                          | 660.74  | 801.41 | 384.69 | 148.16  | 43.45   | 54.54  | na    |
| 8         | 3255.57                          | 1070.35 | 777.99 | 260.60 | 832.48  | 837.41  | 694.23 | na    |
| 9         | 2984.55                          | 1510.75 | 863.00 | 518.07 | 1046.55 | 976.34  | 89.37  | na    |
| 10        | 3754.49                          | 2767.29 | 795.25 | 325.56 | 129.68  | na      | na     | na    |
| 11        | 2374.76                          | 380.48  | 410.89 | 366.83 | 77.94   | 37.29   | na     | na    |
| 12        | 3951.59                          | 1141.18 | 513.14 | 206.40 | 511.57  | 171.57  | 69.94  | na    |
| 13        | 4154.85                          | 568.35  | 489.73 | 164.51 | 85.34   | na      | na     | na    |
| 14        | 2473.31                          | 1039.55 | 776.77 | 235.96 | 603.35  | 1021.92 | 364.08 | na    |
| 15-20     | 3157.02                          | 1030.31 | 705.32 | 202.70 | 161.10  | 294.76  | 97.66  | na    |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข11 พีเอชของการหมักกากสับประรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี  
ระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 10 15 และ 20 บาร์เป็นเวลา 5 นาที หมักที่พีเอช  
เริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | พีเอช   |             |              |              |              |
|-----------|---------|-------------|--------------|--------------|--------------|
|           | control | 5 bar 5 min | 10 bar 5 min | 15 bar 5 min | 20 bar 5 min |
| 0         | 5.5     | 5.5         | 5.5          | 5.5          | 5.5          |
| 24        | 5.54    | 5.46        | 6.37         | 6.39         | 6.25         |
| 48        | 5.37    | 5.29        | 4.69         | 4.87         | 5.09         |
| 72        | 5.52    | 5.28        | 4.53         | 4.74         | 4.95         |
| 96        | 5.58    | 5.38        | 4.53         | 4.74         | 5.01         |
| 120       | 5.5     | 5.51        | 4.53         | 4.78         | 5.04         |

ตารางผนวกที่ ข12 พีเอชของการหมักกากสับประรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี  
ระเบิดด้วยไอน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 นาที หมักที่พีเอชเริ่มต้น  
5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 144 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | พีเอช   |             |             |             |             |
|-----------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|           | control | 5 bar 1 min | 5 bar 3 min | 5 bar 5 min | 5 bar 7 min |
| 0         | 5.5     | 5.5         | 5.5         | 5.5         | 5.5         |
| 24        | 5.05    | 5.08        | 5.29        | 5.11        | 5.27        |
| 48        | 5.44    | 5.25        | 5.16        | 5.05        | 5.52        |
| 72        | 5.80    | 5.54        | 5.33        | 5.29        | 5.51        |
| 96        | 5.73    | 5.60        | 5.79        | 5.30        | 5.58        |
| 120       | 5.77    | 5.73        | 5.81        | 5.57        | 5.75        |
| 144       | 5.70    | 5.70        | 5.77        | 5.60        | 5.76        |

ตารางผนวกที่ ข13 พีเอชของการหมักกากสับประรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการปรับสภาพด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์จากนั้นระเบิดด้วย ไออน้ำที่ความดัน 5 บาร์เป็นเวลา 1 นาที หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสระยะเวลา 216 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | พีเอช   |             |          |          |          |          |
|-----------|---------|-------------|----------|----------|----------|----------|
|           | control | 5 bar 1 min | 1%+ 5(1) | 2%+ 5(1) | 3%+ 5(1) | 4%+ 5(1) |
| 0         | 5.5     | 5.5         | 5.5      | 5.5      | 5.5      | 5.5      |
| 24        | 5.44    | 5.25        | 5.13     | 5.09     | 4.94     | 5.19     |
| 48        | 5.41    | 5.33        | 5.17     | 5.08     | 4.96     | 5.22     |
| 72        | 5.33    | 5.35        | 5.24     | 5.11     | 4.89     | 5.17     |
| 96        | 5.22    | 5.54        | 5.32     | 5.23     | 4.85     | 5.15     |
| 120       | 5.24    | 5.69        | 5.45     | 5.52     | 4.95     | 5.26     |
| 144       | 5.28    | 5.59        | 5.63     | 5.72     | 5.37     | 5.67     |
| 168       | 5.16    | na          | 5.59     | 5.87     | 5.49     | na       |
| 192       | na      | na          | 5.52     | 5.65     | 5.44     | na       |
| 216       | na      | na          | na       | 5.55     | 5.43     | na       |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตารางผนวกที่ ข14 ฟีเอชของการหมักกากสับประรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วย  
เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 2.5 5 และ 7.5 FPU/g substrate เป็นเวลา 24  
ชั่วโมง หมักที่ฟีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 264  
ชั่วโมง

| เวลา (hr) | ฟีเอช   |                     |                   |                     |
|-----------|---------|---------------------|-------------------|---------------------|
|           | control | 2.5 FPU/g substrate | 5 FPU/g substrate | 7.5 FPU/g substrate |
| 0         | 5.5     | 5.5                 | 5.5               | 5.5                 |
| 24        | 3.41    | 4.34                | 4.74              | 4.30                |
| 48        | 3.40    | 4.29                | 4.42              | 4.08                |
| 72        | 3.28    | 4.44                | 4.62              | 4.20                |
| 96        | 3.28    | 4.50                | 4.65              | 4.25                |
| 120       | 3.51    | 4.52                | 4.63              | 4.29                |
| 144       | 3.31    | 4.49                | 4.61              | 4.29                |
| 168       | 3.48    | 4.46                | 4.63              | 4.31                |
| 192       | 3.51    | 4.47                | 4.64              | 4.28                |
| 216       | 3.44    | 4.45                | 4.83              | 4.28                |
| 240       | 3.47    | 4.45                | 4.98              | 4.28                |
| 264       | 3.46    | 4.45                | 5.17              | 4.27                |

ตารางผนวกที่ ข15 ฟีเอชของการหมักกากสับประรดแบบไร้อากาศที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วย  
เอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 FPU/g substrate เป็นเวลา 12 24 และ 36  
ชั่วโมง หมักที่ฟีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 264  
ชั่วโมง

| เวลา (hr) | ฟีเอช   |       |       |       |
|-----------|---------|-------|-------|-------|
|           | control | 12 hr | 24 hr | 36 hr |
| 0         | 5.5     | 5.5   | 5.5   | 5.5   |
| 24        | 3.41    | 4.75  | 4.74  | 4.2   |
| 48        | 3.40    | 4.51  | 4.42  | 4.01  |
| 72        | 3.28    | 4.62  | 4.62  | 3.94  |
| 96        | 3.28    | 4.62  | 4.65  | 4.10  |
| 120       | 3.51    | 4.65  | 4.63  | 4.20  |
| 144       | 3.31    | 4.65  | 4.61  | 4.29  |
| 168       | 3.48    | 4.68  | 4.63  | 4.30  |
| 192       | 3.51    | 4.86  | 4.64  | 4.30  |
| 216       | 3.44    | 5.13  | 4.83  | 4.26  |
| 240       | 3.47    | 5.09  | 4.98  | 4.29  |
| 264       | 3.46    | 5.06  | 5.17  | 4.29  |

**ตารางผนวกที่ ข16** พีเอชของการหมักกากสับประดแบบไร้อากาศที่ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จากนั้นทำการระเบิดด้วยไอน้ำในการทดลองทางสถิติแบบตอบสนองที่พื้นผิว (RSM) ไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสที่ความเข้มข้น 5 FPU/g substrate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 168 ชั่วโมง

| เวลา (hr) | พีเอช |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|           | 1     | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   | 15   |
| 0         | 5.5   | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  | 5.5  |
| 24        | 4.97  | 4.86 | 5.03 | 4.97 | 4.79 | 4.84 | 4.92 | 4.99 | 4.97 | 4.92 | 5.02 | 5.05 | 4.81 | 4.83 | 4.90 |
| 48        | 4.93  | 4.99 | 4.88 | 5.19 | 4.74 | 4.81 | 4.93 | 4.89 | 4.88 | 5.26 | 4.95 | 4.93 | 4.89 | 4.76 | 4.93 |
| 72        | 4.92  | 5.17 | 4.89 | 5.35 | 4.94 | 4.74 | 4.89 | 4.89 | 4.79 | 5.42 | 5.08 | 4.86 | 4.97 | 4.74 | 4.78 |
| 96        | 5.21  | 5.49 | 5.02 | 5.35 | 5.04 | 4.94 | 5.12 | 5.29 | 5.19 | 5.43 | 5.19 | 5.05 | 5.06 | 4.94 | 4.83 |
| 120       | 5.40  | 5.44 | 5.28 | 5.24 | 5.14 | 5.29 | 5.11 | 5.60 | 5.48 | na   | 5.20 | 5.32 | na   | 5.24 | 4.92 |
| 144       | 5.61  | na   | 5.31 | na   | 5.37 | na   | 5.11 | 5.57 | 5.47 | na   | na   | 5.32 | na   | 5.24 | 5.06 |

หมายเหตุ na คือไม่ได้ทำการวิเคราะห์

## ประวัติการศึกษาและการทำงาน

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| ชื่อ-นามสกุล                   | นางสาวจุฑาทิพย์ สังขติม  |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด           | 24 พฤศจิกายน 2530  |
| สถานที่เกิด                    | จังหวัดกรุงเทพมหานคร   |
| ประวัติการศึกษา                | วท.บ. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)<br>มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์   |
| ตำแหน่งปัจจุบัน                | -  |
| สถานที่ทำงานปัจจุบัน           | -  |
| ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ | นำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมทางวิชาการ<br>วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมและการจัดการสิ่งแวดล้อม<br>(Conference in Environment Science, Engineering and<br>Management, CESEM) 14-15 มีนาคม 2554<br>นำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการนานาชาติ The<br>4 <sup>th</sup> International Conference on Fermentation<br>Technology for Value Added Agricultural Products with<br>Joint Sessions from Asian Core Program, Khon Kaen,<br>Thailand 29-31 August 2011 |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ           | ได้รับทุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัย<br>มหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี<br>ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน<br>สกว.- อุตสาหกรรม   |