

บทความวิจัย

ผลของความเป็นกรดต่างเริ่มต้นต่อการผลิตไบโอไฮโดรเจนจากเปลือกสับปะรด
โดยจุลินทรีย์ในมูลวัว

**EFFECT OF INITIAL pH ON BIOHYDROGEN PRODUCTION FROM
PINEAPPLE PEEL BY MICROBIAL CONSORTIUM IN COW DUNG**

เขมณิจจรรย์ สารีพันธ์

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

Khamanitjaree Saripan

Program of Environmental Science, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University

E-mail: fangkum.a@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอไฮโดรเจนจากเปลือกสับปะรดโดยจุลินทรีย์จากมูลวัว การทดลองทำการเติมหัวเชื้อจากมูลวัว อาหารเสริม น้ำปั้นจากเปลือกสับปะรด และปรับค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 และ 8.0 ตามลำดับ ทำการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 168 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นมีผลต่อการผลิตไฮโดรเจน โดยค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่ 5.5 มีความเหมาะสมสำหรับใช้ผลิตไฮโดรเจนจากน้ำปั้นเปลือกสับปะรด เนื่องจากให้ค่าผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 2.60 ± 0.01 โมลไฮโดรเจนต่อโมลน้ำตาล ในระหว่างกระบวนการหมักไฮโดรเจนระบบมีการใช้น้ำตาลไป 96-98% และสร้างกรดไขมันระเหยง่ายขึ้น โดยพบว่าค่ากรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลงแล้วมีผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจน ทำให้จุลินทรีย์ที่ผลิตไฮโดรเจนสามารถผลิตไฮโดรเจนได้น้อยลง

คำสำคัญ: ไฮโดรเจน ความเป็นกรดต่าง เปลือกสับปะรด มูลวัว

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the optimum initial pH on biohydrogen production from pineapple peel by microbial consortium in cow dung. The experiments by adding cow dung inoculum, supplement medium into homogenized pineapple peel and adjusted to pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 and 8.0. The samples were then incubated at room temperature (30-35°C) under anaerobic condition for 168 h. The result showed that the initial pH effected hydrogen production. The optimum initial pH to produce hydrogen from pineapple peel was 5.5 which gave maximum hydrogen yield of 2.60 ± 0.01 mol H₂/mol sugar. During the hydrogen fermentation, microbials in cow dung fermented sugar about 96-98% and created volatile fatty acid in fermentation broth leading to an decrease of pH. The activity of hydrogen producer fell to produce hydrogen.

Keywords: hydrogen, initial pH, pineapple peel, cow dung

บทนำ

ในปัจจุบันการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากไฮโดรเจนเป็นพลังงานสะอาด เมื่อเกิดการเผาไหม้จะเกิดเป็นน้ำและไฮโดรเจน และยังให้พลังงานที่สูงถึง 33.3-39.4 kWh/kg เมื่อเปรียบเทียบกับพลังงานอื่น (Edwards et al., 2008) ไฮโดรเจนเป็นพลังงานทางเลือกที่สามารถใช้ทดแทนพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ดีสามารถผลิตได้หลากหลายวิธี ได้แก่ กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้อุณหภูมิสูง (thermo processes) กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้ไฟฟ้าเคมี (electrochemical processes) และกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีทางชีวภาพ (biological processes) เป็นต้น กระบวนการในการผลิตไฮโดรเจนโดยวิธีทางชีวภาพแบบไม่ใช้แสง (dark fermentation) เกิดขึ้นโดยการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศ ซึ่งจะทำให้เกิดกรดอินทรีย์และไฮโดรเจนขึ้นดังสมการ (Ghimire et al., 2015)



การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีทางชีวภาพแบบไม่ใช้แสงเป็นวิธีการผลิตที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีข้อดีหลายประการได้แก่ วิธีการผลิตไม่ซับซ้อน ใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ ระบบการหมักง่ายต่อการควบคุม และสามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลาย (Ramos et al., 2012; La Licata et al., 2011; Fangkum & Reungsang, 2011)

มูลวัวเป็นแหล่งของจุลินทรีย์กลุ่มผสมที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้โดย Fan et al. (2003) พบว่ามูลวัวที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อนสามารถเปลี่ยนน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนได้นอกจากนี้ Girija et al. (2013) ยังพบว่ามีจุลินทรีย์กลุ่ม *Clostridium* sp. ในมูลซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ (Girija et al., 2013)

เปลือกสับปะรดเป็นส่วนที่เหลือจากการรับประทานเนื้อสับปะรด โดยพบว่ามีส่วนที่เป็นเศษสับปะรดเหลือทิ้งประมาณร้อยละ 35 ของผลสับปะรด (Siti Roha et al., 2012) ซึ่งเศษเหลือทิ้งเหล่านี้จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกปีโดยเฉพาะในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายนและเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม (Phojan, 2015) เปลือกสับปะรดเป็นของเสียเหลือทิ้งที่มีน้ำตาลและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไฮโดรเจนได้ง่าย การผลิตไฮโดรเจนโดยวิธีการทางชีวภาพมีปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น ซึ่งค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์และสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากค่า pH เริ่มต้นมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสและวิธีการผลิตไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ (Ramos et al., 2012) จึงทำให้การผลิตไฮโดรเจนที่ค่า pH เริ่มต้นที่ต่างกันมีผลได้ของไฮโดรเจนที่ต่างกัน จากการศึกษาของ Saraphirom & Reungsang (2010) รายงานว่าค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำข้าวฟ่างหวานโดยจุลินทรีย์ในระบบ Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) เท่ากับ 4.75 ให้ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 2.22 mol H₂/mol sugar ส่วนการศึกษาของ Lee et al. (2002) พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 9.0 และงานวิจัยของ Fangkum & Reungsang (2011) พบว่า ค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากไฮโดรไลสเสทชานอ้อยโดยกลุ่มจุลินทรีย์ในมูลช้างเท่ากับ 6.5 ให้ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 0.84 mol H₂/mol sugar จากผลการทดลองของงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นได้ว่า ค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากสารตั้งต้นแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากเปลือกสับปะรดโดยกลุ่มจุลินทรีย์ในมูลวัว ซึ่งนอกจากจะได้พลังงานไฮโดรเจนที่เป็นพลังงานสะอาดแล้วยังช่วยลดปัญหาจากขยะอินทรีย์ที่มาจากสับปะรดได้อีกทางหนึ่งด้วย

วิธีการ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่ใช้ในงานวิจัยการเตรียมวัตถุดิบ การเตรียมวัตถุดิบตั้งต้น การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ การเตรียมอาหารเสริม การทดลองเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนและการวิเคราะห์ข้อมูลดังต่อไปนี้

- วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

1) จุลินทรีย์จากมูลวัว (cow dung microbial) ทำการเก็บมูลวัวจากบ้านเลขที่ 58 หมู่ที่ 6 ตำบลจี้วราย อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี โดยทำการเก็บในคอกเดียวกันหรือกองมูลเดียวกัน

2) เปลือกสับปะรดพันธุ์ศรีราชา เก็บมาจากร้านขายผลไม้ในตลาดบนเมือง อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี แล้วนำมาทำการคัดแยกเอาส่วนใบและก้านออกให้เหลือเฉพาะเปลือกเพื่อนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอไฮโดรเจน

- การเตรียมวัตถุดิบตั้งต้น

การเตรียมน้ำปั่นเปลือกสับปะรดพันธุ์ศรีราชา ทำโดยหั่นเปลือกสับปะรดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดโดยผสมกับน้ำประปาในอัตราส่วน เปลือกสับปะรด 1 kg ต่อน้ำ 2 L ทำการปั่นให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นผลไม้ยี่ห้อ Philips เป็นเวลา 2 min นำน้ำปั่นเปลือกสับปะรดที่ได้ปั่นแล้วไปใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตไบโอไฮโดรเจน

- การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

นำมูลวัวซึ่งมีจุลินทรีย์อยู่หลากหลายชนิดมาทำการปรับสภาพโดยการอบด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 25 min เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตมีเทน เมื่อทำการปรับสภาพเชื้อแล้วให้ทำการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์โดยเติมมูลวัวที่ผ่านการปรับสภาพแล้วลงในขวดดูแรนขนาด 500 mL (50% v/v) โดยมีกลูโคสความเข้มข้น 10 g/L เป็นแหล่งคาร์บอนแล้วนำไปปรับความเป็นกรดต่างเป็น 5.5 จากนั้นทำการเลี้ยงในสภาพไร้อากาศเป็นเวลา 24 h ก่อนนำไปใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน (ดัดแปลงจาก Fangkum & Reungsang, 2011)

- การเตรียมอาหารเสริม

เตรียมอาหารเสริมสำหรับการผลิตไบโอไฮโดรเจนโดยชั่ง NH_4HCO_3 5240 mg, K_2HPO_4 125 mg, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 15 mg, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 5 mg, $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.125 mg, และ NaHCO_3 5600 mg ละลายในน้ำกลั่นกวนผสมให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L (Endo et al., 1982)

- วิธีการทดลองเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

นำน้ำปั่นเปลือกสับปะรดที่ปั่นละเอียดมาใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจน โดยทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดของน้ำปั่นเปลือกสับปะรด เมื่อทราบความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดแล้วเตรียมน้ำปั่นเปลือกสับปะรดให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ 10.0 g/L โดยทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น เติมหัวเชื้อจากมูลวัว ในอัตราส่วน 20% v/v และเติมอาหารเสริมในอัตราส่วน 1.5 mL/L ใส่ลงในขวดทดลองขนาด 60 mL ทำการปรับ pH ของน้ำปั่นเปลือกสับปะรด เป็น 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 และ 8.0 ด้วย 1N HCl หรือ 1N NaOH ใส่อากาศภายในขวดออกด้วยการพ่นก๊าซไนโตรเจนเข้าไปแทนที่ เพื่อให้ขวดอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน ปิดฝาขวดทดลองด้วยจุกยางแล้วปิดด้วยอะลูมิเนียมแคป นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °C) นาน 168 h วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ทำการทดลองทริทเมนต์ละ 4 ซ้ำ ติดตามผลการทดลอง โดยวัดปริมาตรของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยใช้หลอดชนิดยาแล้ววิเคราะห์หาความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง gas chromatography (GC) นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาตรไฮโดรเจนสะสมโดยใช้สมการ mass balance equation รายงานผลในหน่วย mL/L (Zhang & Shen, 2006)

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

เมื่อ $V_{H,i}$ และ $V_{H,i-1}$ คือ ปริมาตรไฮโดรเจนสะสมที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านมา ($i-1$) ตามลำดับ
 $V_{G,i}$ และ $V_{G,i-1}$ คือ ปริมาตรก๊าซชีวภาพทั้งหมดที่เวลาปัจจุบันและเวลาที่ผ่านมา ตามลำดับ
 $C_{H,i}$ และ $C_{H,i-1}$ คือ สัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนใน headspace ที่เวลาปัจจุบันและเวลาที่ผ่านมา ตามลำดับ
 V_H คือ ปริมาตร headspace ในถังหมัก

นำปริมาตรก๊าซสะสมที่ได้มาคำนวณหาผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนรายงานผลในหน่วยโมลไฮโดรเจน ต่อโมลน้ำตาลโดยคำนวณได้จากสูตรดังนี้

ติดตามการเกิดกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid; VFA) ด้วยวิธีการไทเทรต รายงานผล ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (DiLallo & Albertson, 1961) ติดตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงไป ด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (phenol sulfuric method) และรายงานผลในหน่วยกรัมต่อลิตร (Onsoy, 2008)

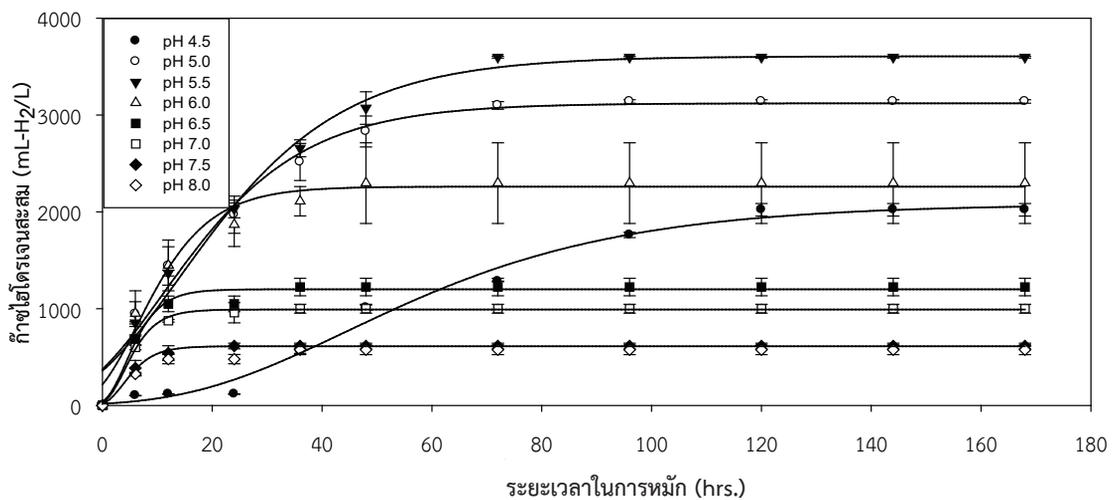
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

- ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสม

ผลของ pH เริ่มต้นที่มีต่อปริมาตรไฮโดรเจนสะสมแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า pH เริ่มต้นเพิ่มขึ้นในช่วง 4.5-5.5 และก๊าซไฮโดรเจนสะสมจะลดลงเมื่อค่า pH เริ่มต้นเพิ่มขึ้นเป็น 6.0-8.0 จากปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมดังกล่าวพบว่าค่า pH เริ่มต้น 5.5 มีปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงที่สุดเท่ากับ 3597.53 ± 9.53 mL-H₂/L รองลงมาคือค่า pH เริ่มต้น 5.0 6.0 4.5 6.5 7.0 7.5 และ 8.0 มีปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมเท่ากับ 3139.46 ± 17.89 2296.62 ± 416.49 2020.87 ± 64.60 1222.72 ± 90.38 998.72 ± 45.90 614.11 ± 28.59 และ 575.18 ± 49.73 mL-H₂/L ตามลำดับ (รูปที่ 1) ดังนั้นค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 เป็นค่า pH เริ่มต้นที่ทำให้จุลินทรีย์ผลิตก๊าซไฮโดรเจนสะสมได้สูงสุด หากค่า pH เริ่มต้นสูงหรือต่ำมากเกินไปจะทำให้ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมที่ได้ลดลง เนื่องจากค่า pH เริ่มต้นไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการผลิตไฮโดรเจน (Nigam, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pattra et al. (2008) ที่มีการศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากไฮโดรไลสเสทชานอ้อยพบว่าค่า pH ที่เหมาะสมคือ 5.5 โดยสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุด

- ปริมาณน้ำตาลและกรดไขมันระเหยง่าย

องค์ประกอบของเปลือกสับปะรดมีน้ำตาลซูโครส กลูโคส และฟรุคโตสเป็นส่วนประกอบ (Siti Roha et al., 2012) ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำน้ำตาลดังกล่าวมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ เมื่อนำเปลือกสับปะรดบดที่เตรียมแล้วมาวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้น พบว่า มีค่า pH เริ่มต้น ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณกรด เท่ากับ 4.20 9.8 g/L และ 380 mg/L ตามลำดับ จากการติดตามปริมาณน้ำตาลในน้ำปั่นเปลือกสับปะรดที่ผ่านการหมักเพื่อผลิตไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์จากมูลวัว พบว่าปริมาณการนำน้ำตาลไปใช้จะเพิ่มขึ้นตามค่า pH เริ่มต้นที่เพิ่มขึ้น จากค่า pH เริ่มต้น 4.5-5.5 (96-98%) หลังจากค่า pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 5.5 ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปจะคงที่ (98%) (ตารางที่ 1) การลดลงของปริมาณน้ำตาลเนื่องมาจากในระหว่างการหมักจุลินทรีย์ได้นำน้ำตาลในน้ำปั่นเปลือกสับปะรดมาใช้ในกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและผลิตภัณฑ์อื่น จึงทำให้เมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณน้ำตาลในระบบลดลง และจากความสัมพันธ์ดังกล่าว แสดงให้เห็นได้ว่าจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเพื่อนำไปผลิตก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามที่ค่า pH เริ่มต้นที่มากกว่า 5.5 พบว่าปริมาณก๊าซไฮโดรเจนสะสมที่ได้ลดลงในขณะที่มีปริมาณการใช้น้ำตาลสูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำตาลที่ถูกใช้ไปนั้นไม่ได้ถูกนำไปสร้างก๊าซไฮโดรเจนเพียงอย่างเดียว แต่ถูกนำไปสร้างเป็นผลิตภัณฑ์อื่นร่วมด้วย เช่น กรดไขมันระเหยง่าย แอลกอฮอล์ เป็นต้น (รูปที่ 2)

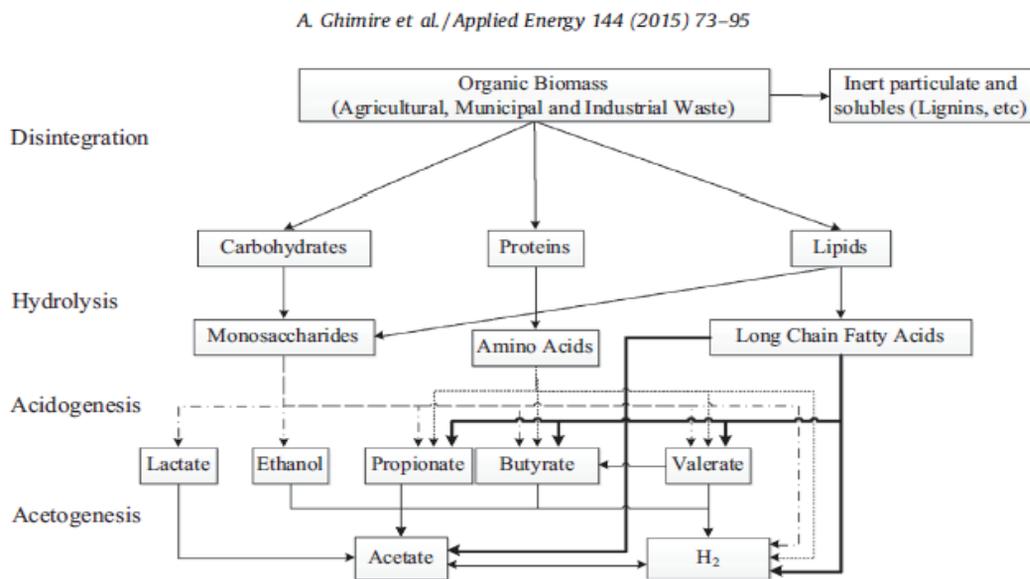


รูปที่ 1 ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนสะสมเมื่อมีการแปรผันค่า pH เริ่มต้น

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปเมื่อมีการแปรผันค่า pH

pH	น้ำตาลเริ่มต้น (g/L)	น้ำตาลสุดท้าย (g/L)	น้ำตาลที่ถูกใช้ไป (g/L)	น้ำตาลที่ถูกใช้ไป (%)
4.5	10.02	0.31	9.71	96.88 ^a
5.0	10.00	0.37	9.63	96.32 ^a
5.5	10.15	0.13	10.02	98.73 ^a
6.0	10.44	0.15	10.29	98.54 ^a
6.5	10.20	0.19	10.01	98.15 ^a
7.0	10.32	0.16	10.16	98.42 ^a
7.5	10.20	0.14	10.06	98.68 ^a
8.0	10.14	0.18	9.96	98.23 ^a

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันเมื่อทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 2 วิธีในการผลิตไฮโดรเจนจากสารอินทรีย์ (Ghimire et al., 2015)

กรดไขมันระเหย เป็นกรดไขมันระเหยง่ายที่สามารถถูกสร้างขึ้นได้ในกระบวนการผลิตไฮโดรเจน ผลของการผลิตกรดไขมันระเหยที่ค่า pH เริ่มต้นต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าที่ค่า pH เริ่มต้นที่เพิ่มขึ้นจุลินทรีย์จะมีการสร้างกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้นทำให้ค่า pH ลดลงจากเริ่มต้น เมื่อค่า pH ลดลงจะส่งผลให้ไฮโดรเจนไอออนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเข้าไปในไซโทพลาสซึมของเซลล์มีผลทำลายกิจกรรมของ

เอนไซม์ โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ดีเอ็นเอ โปรตีน และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในที่สุด (Ferchichi et al., 2005)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเมื่อมีการแปรผันค่า pH

pH	กรดไขมันระเหยง่ายสุดท้าย (mg/L)	กรดไขมันระเหยง่าย เริ่มต้น (mg/L)	กรดไขมันระเหยที่เกิดขึ้น (mg/L)
4.5	2841.67	500.00	2341.67 ^a
5.0	3062.50	508.33	2554.17 ^b
5.5	3208.33	558.33	2649.99 ^b
6.0	3479.17	433.33	3045.83 ^c
6.5	3645.83	466.67	3179.17 ^d
7.0	3795.83	416.67	3379.17 ^e
7.5	3900.00	500.00	3400.00 ^e
8.0	4133.33	483.33	3649.99 ^f

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันเมื่อทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจน

ผลของค่า pH เริ่มต้นต่อผลได้ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำป่นเปลือกสับประรดพบว่าผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า pH เริ่มต้นเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 5.5 โดยมีผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นจาก 1.51 ± 0.05 mol H₂/mol sugar เป็น 2.60 ± 0.01 mol H₂/mol sugar หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มค่า pH เริ่มต้นที่มากกว่า 5.5 ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนจะลดลงเป็น 0.42 ± 0.04 mol H₂/mol sugar (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เนื่องมาจากค่า pH เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อผลได้ของก๊าซไฮโดรเจน เพราะค่า pH ที่ต่ำหรือสูงเกินไปจะมีผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในการผลิตไฮโดรเจน (Nigam, 2000) จากการเปรียบเทียบผลได้ของการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำป่นเปลือกสับประรดกับงานวิจัยอื่น ๆ (ตารางที่ 4) พบว่าจุลินทรีย์กลุ่มผสมในมูลวัวสามารถผลิตไฮโดรเจนได้และให้ผลได้ที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นที่ผ่านมา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายอย่าง เช่น แหล่งของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน สารตั้งต้นที่ใช้ต่างกัน และช่วงค่า pH ที่ศึกษาต่างกัน รวมทั้งวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ เป็นต้น

จากผลการศึกษาในงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าค่า pH เริ่มต้นมีผลต่อการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำป่นเปลือกสับประรด โดยเมื่อค่า pH ต่ำหรือสูงเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์ผลิตไฮโดรเจนได้น้อยลง เมื่อเปรียบเทียบการผลิตไฮโดรเจนต่อหนึ่งหน่วยของสารตั้งต้นจะพบว่าค่า pH เริ่มต้นที่ 5.5 มีความเหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจน เนื่องจากให้ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนและปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมสูงสุดเท่ากับ $2.60 \pm 0.01 \text{ mol H}_2/\text{mol sugar}$ และ $3597.53 \pm 9.53 \text{ mL-H}_2/\text{L}$

ตารางที่ 3 ผลของค่า pH ต่างต่อผลได้ไฮโดรเจน

pH	ผลได้ของก๊าซไฮโดรเจน ($\text{mol H}_2/\text{mol sugar}$)
4.5	1.51 ± 0.05^c
5.0	2.36 ± 0.01^d
5.5	2.60 ± 0.01^d
6.0	1.62 ± 0.29^c
6.5	0.88 ± 0.06^b
7.0	0.71 ± 0.03^b
7.5	0.44 ± 0.02^a
8.0	0.42 ± 0.04^a

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันเมื่อทดสอบแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สรุป

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของค่า pH เริ่มต้นต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำป่นเปลือกสับประรดโดยจุลินทรีย์จากมูลวัว ผลการทดลองพบว่าค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนคือค่า pH เริ่มต้นที่ 5.5 เนื่องจากให้ค่าผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุดเท่ากับ $2.60 \pm 0.01 \text{ mol H}_2/\text{mol sugar}$ ในระหว่างกระบวนการผลิตไฮโดรเจนระบบมีการสร้างกรดไขมันระเหยง่ายขึ้น โดยพบว่าค่ากรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นนั้นส่งผลให้ค่า pH ลดลงซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตไฮโดรเจน นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้กับงานวิจัยอื่นแล้วจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ในมูลวัวสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มาก มีความเหมาะสมในการพัฒนาหรือขยายขนาดในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบผลได้ของก๊าซไฮโดรเจนกับงานวิจัยที่ผ่านมา

สารตั้งต้น	จุลินทรีย์	pH ที่ เหมาะสม	เครื่องมือวิเคราะห์	ผลได้ของก๊าซ ไฮโดรเจน (molH ₂ / mol sugar)	อ้างอิง
ไฮโดรไลเสท ชานอ้อย	<i>Clostridium butyricum</i>	5.5	GC, HPLC	1.73	Pattra et al., 2008
ไฮโดรไลเสท ชานอ้อย	มูลช้าง	6.5	GC, HPLC	0.84	Fangkum & Reungsang, 2011
น้ำเปลือก สับประรด	กลุ่มจุลินทรีย์ ผสม	5.56	GC, HPLC	1.83	Reungsang & Sreela-or, 2013
น้ำปั่นเปลือก สับประรด	มูลวัว	5.5	GC, Spectrophotometer	2.60	งานวิจัยนี้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยสร้างองค์ความรู้ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

REFERENCES

- DiLallo, R. & Albertson, DE. (1961). Volatile acids by direct titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, 33 (4), 356-365.
- Edwards, P.P., Kuznetsov, V.L., David, W.I.F. & Brandon, N.P. (2008). Hydrogen and fuel cells: towards a sustainable energy future. **Energy Policy**, 36 (12), 4356-4362.
- Endo, G., Noike, T. & Matsumoto, T. (1982). Characteristics of cellulose and glucose decomposition in acidogenic phase of anaerobic digestion. **Proceedings of the American Society of Civil Engineers**, 325 (9), 61-68.
- Fan, Y.T., Liao, X.Ch., Lu, H.J. & Hou, H.W. (2003). Study on biohydrogen production by anaerobic biological fermentation of organic wasters. **Environmental Science**, 24 (3), 152-155.
- Fangkum, A. & Reungsang, A. (2011). Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration. **International Journal of Hydrogen Energy**, 36 (14), 8687-8696.

- Ferchichi, M., Crabbe, E., Gil, G.H., Hintz, W. & Almadidy, A. (2005). Influence of initial pH on hydrogen production from cheese whey. **Journal of Biotechnology**, 120 (4), 402-409.
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P.N.L. & Esposito, G. (2015). A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. **Applied Energy**, 144, 73-95.
- Girija, D., Deepa, K., Xavier, F., Antony, I. & Shidhi, P.R. (2013). Analysis of cow dung microbiota - A metagenomic approach. **Indian Journal of Biotechnology**, 12, 372-378.
- La Licata, B., Sagnelli, F., Boulanger, A., Lanzini, A., Leone, P. & Zitella, P. (2011). Bio-hydrogen production from organic wastes in a pilot plant reactor and its use in a SOFC. **International Journal of Hydrogen Energy**, 36 (13), 7861-7865.
- Lee, Y.J., Miyahara, T. & Noike, T. (2002). Effect of pH on microbial hydrogen fermentation. **Journal of Chemistry Technology Biotechnology**, 77 (6), 694-698.
- Nigam, J.N. (2000). Cultivation of *Candida lusitana* in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate for the production of single cell protein. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, 16(4), 367-372.
- Onsoy, T. (2008). **Factors effecting ethanol production from Jerusalem artichoke juice by Zymomonas mobilis TISTR 548 using batch fermentation**. M.D. Thesis, Faculty of Technology, Khonkean University. (in Thai)
- Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. & Reungsang, A. (2008). Bio-hydrogen production from the fermentation sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*. **International Journal of Hydrogen Energy**, 33 (19), 5256-5265.
- Phojan, S. (2015). **The use of pineapple by-product to a beef-dairy diet**. Retrieved July5, 2558, from http://expert.dld.go.th/attachments/article/166/pine_ap.pdf (in Thai)
- Ramos, C., Buitron, G., Moreno-Andrade, I. & Chamy, R. (2012). Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. **International Journal of Hydrogen Energy**, 37(18), 13288-13295.
- Saraphirom, P. & Reungsang, A. (2010). Optimization of biohydrogen production from sweet sorghum syrup using statistical methods. **International Journal of Hydrogen Energy**, 35(24), 13435-13444.
- Siti Roha, A.M., Zainal, S., Noriham, A. & Nadzirah, K.Z. (2013). Determination of sugar content in pineapple waste variety N36. **International Food Research Journal**, 20 (4), 1941-1943.
- Zhang, Y. & Shen, J. (2006). Effect of temperature and iron concentration on growth and hydrogen production of mixed bacteria. **International Journal of Hydrogen Energy**, 31(4), 441-446.