

การผลิตก๊าซไบโอไฮโดรเจนจากขานอ้อย โดยกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก Biohythane Production from Sugarcane Bagasse by Two-stage Thermophilic Fermentation Process

วัฒนณรงค์ มากพันธ์*

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตำบลท่าจี้ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 80280

สมพงศ์ โอทอง

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ตำบลบ้านพร้าว อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93110

Wattananarong Markphan*

Program in Environmental Science, Faculty of Science and Technology,

Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tha Ngio, Mueang, Nakhon Si Thammarat 80280

Sompong O-Thong

Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung Campus,

Ban Phrao, Pa Payom, Phatthalung 93110

บทคัดย่อ

การผลิตก๊าซไบโอไฮโดรเจนจากขานอ้อยโดยกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก โดยใช้ขานอ้อยเป็นสารตั้งต้นในการผลิต พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนสูงสุด 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 28.54 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ขณะที่การผลิตก๊าซมีเทนแบบขั้นตอนเดียวให้ผลผลิตมีเทนสูงสุดจากขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนัก) ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร สำหรับการปรับสภาพขานอ้อยเพื่อเพิ่มผลผลิตก๊าซมีเทน พบว่าการปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก ไอออนไนต์แรงดันสูง และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ ให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้นร้อยละ 30, 160 และ 200 ตามลำดับ ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 7.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตร การปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยปริมาตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิต

ก๊าซมีเทน 17.10 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ส่วนขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ที่ปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูง อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 35.75 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) ที่ปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ (microwave) เป็นเวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 39.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตร การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 (โดยน้ำหนัก) ด้วยกระบวนการย่อยสลายไร้อากาศสองขั้นตอนให้ก๊าซชีวภาพผสมไฮโดรเจนและ มีเทน 33.4 ลิตร มีอัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิตเชื้อเพลิงไบโอไฮเทน ($H_2 = 6.0 \%$, $CO_2 = 35 \%$ and $CH_4 = 58.9 \%$) และให้พลังงาน 1,384 กิโลจูลต่อลิตร

คำสำคัญ : ขานอ้อย; ไบโอไฮเทน; การหมัก

Abstract

Biohythane production from sugarcane bagasse by two-stage thermophilic fermentation process consisting of hydrogen production as first stage and methane production as second stage was investigated. Maximum hydrogen and methane productions from two-stage thermophilic fermentation process obtaining at 15 % w/v sugarcane bagasse were 4.87 L H_2 /L-waste and 28.54 L CH_4 /L-waste, respectively. Whereas, single stage gave maximum methane production of 10.35 L CH_4 /L-waste at 20 % w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 1 % (v/v) H_2SO_4 , steam explosion and microwave with subsequent methane production by two-stage thermophilic fermentation process improved methane production in second stage of 30, 160 and 200 % comparing with that of without pretreatment. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 5 % NaOH for 24 hours gave maximum methane production of 7.28 L CH_4 /L-waste at 10% w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 1 % (v/v) H_2SO_4 for 24 hours gave maximum methane production of 17.10 L CH_4 /L-waste at 15 % w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by steam explosion at 121 °C for 1 hour gave maximum methane production of 35.75 L CH_4 /L-waste at 15 % w/v sugarcane bagasse. Pretreatment of solid fraction after hydrogen production by 700-watt microwave for 3 min gave maximum methane production of 39.28 L CH_4 /L-waste at 30 % w/v sugarcane bagasse. Hydrogen and methane productions from sugarcane bagasse at 15 % by two-stage thermophilic fermentation process gave 33.41 L of mixed biogas that was a suitable composition ($H_2 = 6.0 \%$, $CO_2 = 35 \%$ and $CH_4 = 58.9 \%$) as biohythane fuels with total energy of 1,384 KJ/L.

Keywords: sugarcane bagasse; biohythane; fermentation

1. บทนำ

พลังงานเป็นสิ่งที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของทุกคนและเป็นปัจจัยพื้นฐานสำหรับการผลิตทั้งในภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรรมเพื่อสร้างความเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจของประเทศต่าง ๆ ในโลก พลังงานที่เราใช้ส่วนใหญ่ในปัจจุบัน คือ เชื้อเพลิงฟอสซิล ซึ่งประกอบด้วย น้ำมัน ถ่านหิน และก๊าซธรรมชาติ แหล่งพลังงานเหล่านี้ใช้แล้วหมดไปหรือจัดเป็นพลังงานประเภทสิ้นเปลือง (non-renewable energy) และสถานการณ์ราคาน้ำมันมีการปรับตัวสูงขึ้นและมีแนวโน้มการขาดแคลนในอนาคตอันใกล้ กระทรวงพลังงานจึงได้จัดทำแผนพัฒนาพลังงานทดแทนและพลังงานทางเลือก ระยะ 10 ปี (พ.ศ. 2555-2564) โดยได้กำหนดให้มีสัดส่วนการใช้พลังงานทดแทนเป็นร้อยละ 25 ของการใช้พลังงานรวมทั้งหมดในปี พ.ศ. 2564 [1] ดังนั้นประเทศไทยจำเป็นต้องมีการกระจายแหล่งเชื้อเพลิงอย่างเหมาะสม โดยคำนึงถึงหลักด้านความมั่นคง เศรษฐศาสตร์ และสิ่งแวดล้อม

ทั้งนี้ปัญหามลพิษที่เกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงจำพวกน้ำมันและถ่านหินที่ไม่สมบูรณ์ ทำให้นานาประเทศรวมทั้งประเทศไทยมีการส่งเสริมและสนับสนุนให้นำก๊าซธรรมชาติมาใช้เป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ก๊าซธรรมชาติซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นก๊าซมีเทนร้อยละ 70 ยังมีข้อด้อย คือ มีช่วงการติดไฟ (flammability range) แคบ และมีความเร็วในการติดไฟต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อเพลิงต่ำ และกระบวนการเผาไหม้ยังคงมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสาเหตุของภาวะเรือนกระจก (greenhouse effect) จึงทำให้นักวิจัยด้านพลังงานมีแนวคิดที่จะเติมก๊าซไฮโดรเจนลงในก๊าซธรรมชาติ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่เรียกว่าไฮเทน (hythane) เพื่อช่วยเพิ่มช่วงและความเร็วในการติดไฟ และยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ภายใน

เครื่องยนต์ ส่งผลให้สามารถลดการปลดปล่อยมลพิษสู่สิ่งแวดล้อมอีกด้วย [2] ถึงแม้จะสามารถลดข้อด้อยของก๊าซธรรมชาติลงไปได้ด้วยวิธีดังกล่าว แต่ก๊าซธรรมชาติยังถือว่าเป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป ซึ่งการสำรวจของกรมเชื้อเพลิงธรรมชาติ กระทรวงพลังงาน พบว่าปริมาณสำรองก๊าซธรรมชาติที่พิสูจน์แล้วของประเทศ ไทย ณ สิ้นปี พ.ศ. 2554 เท่ากับ 10.06 ล้านล้านลูกบาศก์ฟุต ประกอบด้วยก๊าซจากอ่าวไทย บนบก และพื้นที่พัฒนาร่วมไทย-มาเลเซีย จำนวน 7.5, 0.5, และ 2.1 ล้านล้านลูกบาศก์ฟุต ตามลำดับ ปริมาณสำรองก๊าซธรรมชาติที่พิสูจน์แล้วของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เพราะประเทศไทยผลิตก๊าซธรรมชาติขึ้นมาใช้เป็นระยะเวลานานแล้ว ทำให้ปริมาณก๊าซธรรมชาติในแต่ละแหล่งลดน้อยลง และปัจจุบันยังไม่พบแหล่งใหม่ที่มีปริมาณก๊าซธรรมชาติมากพอที่จะทดแทนปริมาณที่ผลิตไปในแต่ละปีได้อย่างเพียงพอ [3] และในระยะยาวจะไม่สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาการขาดแคลนก๊าซธรรมชาติเช่นเดียวกับปัญหาการขาดแคลนน้ำมันในปัจจุบันได้ ดังนั้นจึงต้องมีการหาแหล่งพลังงานทางเลือก (alternative energy) ใหม่ โดยจะต้องเป็นแหล่งพลังงานที่ยั่งยืน เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ให้พลังงานสูง และราคาไม่แพง ก๊าซชีวภาพจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่กำลังได้รับความสนใจ

ก๊าซชีวภาพ (biogas) ประกอบด้วยก๊าซหลายชนิด โดยมีก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนก๊าซอื่น ๆ เช่น ก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย ก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ให้ค่าความร้อนประมาณ 35,800 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ก๊าซชีวภาพที่มีสัดส่วนก๊าซมีเทนร้อยละ 65 ให้ค่าความร้อนประมาณ 22,400 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ปริมาณความร้อนของก๊าซชีวภาพขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนได

ออกไซด์ (CO_2) หรือระดับความบริสุทธิ์ของก๊าซชีวภาพ [4] ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) เป็นพลังงานสะอาดเมื่อเผาไหม้จะได้ น้ำ เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่จะนำไปสู่บรรยากาศ จึงเป็นมิตรกับสภาพแวดล้อม [5] ก๊าซไฮโดรเจนมีค่าความหนาแน่นของพลังงานสูงถึง 122 กิโลจูลต่อกรัม [6] การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยทั่วไปแบ่งเป็น 3 วิธี คือ (1) กระบวนการใช้อุณหภูมิสูง (thermo processes) (2) กระบวนการทางไฟฟ้าเคมี (electrochemical processes) (3) กระบวนการทางชีวภาพ (biological processes) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กระบวนการทางชีวภาพสามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม (waste streams) [7,8] เศษเหลือทิ้งทางการเกษตร (agricultural residue) เช่น ชังข้าวโพด (corn stover) เส้นใยข้าวโพด (corn fibre) ชานอ้อย (sugarcane bagasse) [9] และพืชผลทางการเกษตร (agricultural crop) [10] ซึ่งต้นทุนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธี thermo processes และ electrochemical processes มีราคาสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้พลังงานจากถ่านหินและน้ำมัน [11] การผลิตไฮโดรเจนโดยใช้จุลินทรีย์จึงได้รับความสนใจ เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่มีความเป็นไปได้ โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการหมัก

ไบโอไฮเทน (biohythane) เป็นก๊าซผสมระหว่างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ได้จากกระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งได้รับความสนใจมากเนื่องจากเป็นเชื้อเพลิงที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นพลังงานสะอาด นอกจากไฮเทนจะผลิตได้จากกระบวนการ steam reforming ของก๊าซธรรมชาติแล้ว ไบโอไฮเทนยังสามารถผลิตได้จากมวลชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบ 2 ขั้นตอน ด้วยการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในถังแรก โดยการแยกจุลินทรีย์กลุ่มผลิตก๊าซมีเทนออกจากถังปฏิกรณ์ และในขั้นตอนที่ 2 กรดอินทรีย์ที่เป็นผลผลิตจากกระบวนการผลิต

ก๊าซไฮโดรเจนจะเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทน ในกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ 2 ขั้นตอน จะได้ก๊าซผสมระหว่างก๊าซมีเทน (CH_4) ร้อยละ 58 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละ 36 และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ร้อยละ 6.9 ก๊าซผสมนี้เรียกว่าไบโอไฮเทน [12] กระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน แบบไม่ใช้อากาศได้พัฒนาใช้ในการผลิตก๊าซมีเทนจากของเสียมวลชีวภาพ โดยการแยกกระบวนการ hydrolysis และ acidogenesis ในถังปฏิกรณ์แรกเพื่อย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงและตามด้วย methanogenesis ในถังที่ 2 เพื่อผลิตก๊าซมีเทน [13] ส่งผลให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพและประสิทธิภาพการลดมลพิษสูงกว่าระบบแบบขั้นตอนเดียว

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยและปลูกได้เกือบทุกภาค ในฤดูการผลิต 2555/56 มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยรวม 48 จังหวัด จำนวน 9,487,320 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงาน 8,342,228 ไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยทำพันธุ์ 645,092 ไร่ [14] ซึ่งถ้านำอ้อยที่ปลูกได้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แล้วจะเหลือชานอ้อย (sugarcane bagasse) ในปริมาณสูงตามไปด้วย ถึงแม้ว่าโรงงานน้ำตาลจะนำชานอ้อยที่ได้ไปเป็นเชื้อเพลิง แต่ก็ไม่ได้ก่อให้เกิดมูลค่าที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นถ้านำชานอ้อยมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานทดแทนก็จะเพิ่มมูลค่าได้อีกทางหนึ่งและเป็นการลดปริมาณของเสียที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวดังนี้

Pattra และคณะ [6] ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากชานอ้อยโดยใช้ *C. butyricum* ซึ่งมีการปรับสภาพชานอ้อยด้วย H_2SO_4 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ร้อยละ 0.25-7.0 โดยปริมาตร) และให้ความร้อนโดยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-240 นาที สภาวะที่เหมาะสมได้เป็น H_2SO_4 ร้อยละ 0.5 และใช้เวลา 60 นาที ซึ่งได้น้ำตาลทั้งหมด 24.5 กรัม-ซีโอดีต่อลิตร โดยชานอ้อยหลังการปรับสภาพ

สามารถให้ผลผลิตไฮโดรเจนที่ดีที่สุดที่ 1.73 โมล ไฮโดรเจนต่อโมลน้ำตาลทั้งหมด และมีอัตราการผลิตไฮโดรเจน 1,611 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อลิตรต่อวัน Fonseca และคณะ [15] ศึกษาการผลิตเอทานอลจากชานอ้อย โดยการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 7.35 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และย่อยด้วยเอนไซม์ β -glucosidase พบว่าได้ผลผลิตน้ำตาลสูงที่ 691 มิลลิกรัมต่อกรัมกลูโคส

ดังนั้นจึงสนใจพัฒนากระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนโดยกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก โดยแยกออกเป็นขั้นตอนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน (acid fermentation) และขั้นตอนการผลิตก๊าซมีเทน (methane fermentation) ออกจากกันโดยอิสระ โดยใช้ชานอ้อยเป็นสับสเตรทต้นแบบ เพื่อนำไปสู่การผลิตก๊าซผสมระหว่างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน (ไบโอไฮเทน) ซึ่งมุ่งหวังให้พลังงานที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้แทนก๊าซธรรมชาติ อันจะส่งผลให้ลดหรือบรรเทาปัญหาการขาดแคลนพลังงานได้

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา (1) การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ ในระดับห้องปฏิบัติการ (2) เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและชานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนในระดับห้องปฏิบัติการ (3) เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพโดยการปรับสภาพชานอ้อยด้วยวิธีการทางเคมีและทางกายภาพ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากชานอ้อยโดยกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน ที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก แบ่งการดำเนินการวิจัยเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

2.1 ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ชานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ชานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาลโดยใช้อัตราส่วนชานอ้อย : BA medium เท่ากับ 1 : 10 โดยมวลต่อปริมาตร [16] วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

2.2 ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากชานอ้อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

อัตราส่วนของชานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้ปริมาณชานอ้อยร้อยละ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และใช้ BA medium สารละลายซูโครส (sucrose) ร้อยละ 1 สารละลายอไวเซล (Avicel®) ร้อยละ 1 และสารละลายซูโครสร้อยละ 0.5 ผสมกับสารละลายอไวเซลร้อยละ 0.5 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนเป็นระบบแบบกะ (batch fermentation) ภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทดลอง 3 ข้าง โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) นำชานอ้อยตามอัตราส่วนที่กำหนด ใส่ในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (2) ปิดขวดด้วยจุกยางและอลูมิเนียม แล้วปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน (3) ผสมกับ *T. thermosaccharolyticum* 112YL ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BA medium อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในปริมาณร้อยละ 20 โดยปริมาตร (4) นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ (5) เก็บตัวอย่างก๊าซและตัวอย่างน้ำทุก 12 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซชีวภาพทั้งหมดและก๊าซไฮโดรเจนในก๊าซชีวภาพ ปริมาณน้ำตาล ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

2.3 ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

อัตราส่วนของขานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้ปริมาณขานอ้อยร้อยละ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และใช้ BA medium สารละลายอวเชลร้อยละ 1 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซมีเทนเป็นระบบแบบกะภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) นำขานอ้อยตามอัตราส่วนที่กำหนดใส่ในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร (2) เติมน้ำเชื้อผลิตมีเทนปริมาตร 200 มิลลิลิตร (3) ปิดขวดด้วยจุกยางและฝาอลูมิเนียม แล้วปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน (4) นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ (5) เก็บตัวอย่างก๊าซและตัวอย่างน้ำเป็นเวลา 45 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณชีวภาพทั้งหมดและก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

2.4 ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

การผลิตอัตราส่วนของขานอ้อยที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้ปริมาณขานอ้อยร้อยละ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก และใช้ BA medium สารละลายซูโครสร้อยละ 1 สารละลายอวเชลร้อยละ 1 และสารละลายซูโครสร้อยละ 0.5 ผสมกับสารละลายอวเชลร้อยละ 0.5 เป็นตัวควบคุม

การผลิตก๊าซมีเทนเป็นระบบแบบกะภายในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรบรรจุ 250 มิลลิลิตร ทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) นำน้ำหมักและขานอ้อยจากขั้นตอนที่ 2.2 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร บรรจุลงในขวดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร (2) ผสมกับเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร (3) ปิดขวดด้วย

จุกยางและฝาอลูมิเนียม แล้วปรับสภาพภายในขวดให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน (4) นำขวดไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ (5) เก็บตัวอย่างก๊าซและตัวอย่างน้ำเป็นเวลา 45 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณชีวภาพทั้งหมดและก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยได้

2.5 ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาการก๊าซมีเทนจากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ

ปรับสภาพขานอ้อยที่ผ่านการหมักในขั้นตอนที่ 2 โดยแยกส่วนที่เป็นขานอ้อยออกจากร้าน้ำหมัก และอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับสภาพด้วยวิธีการเคมีและทางกายภาพดังนี้

2.5.1 การปรับสภาพทางเคมี ได้แก่ (1) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง [17] และ (2) สารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (โดยปริมาตร) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง [9]

2.5.2 การปรับสภาพทางกายภาพ ได้แก่ (1) ปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง [6] และ (2) ปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง (microwave) 700 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที [18] แล้วรวมกับน้ำหมักที่แยกไว้ และนำไปผลิตก๊าซมีเทนตามขั้นตอนที่ 2.4

3. วิธีการวิเคราะห์

3.1 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) วิเคราะห์ด้วยวิธี phenol-sulfuric method มีขั้นตอนดังนี้ (1) นำตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง (2) เติมน้ำ phenol solution ร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่า (3) เติมน้ำ sulfuric acid

2.5 มิลลิลิตร ที่ไว้ประมาณ 10 นาที (4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ OD₄₉₀ นาโนเมตร และ (5) หา standard curve โดยใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมน้ำ penol solution ร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าแล้วเติมน้ำ sulfuric acid 2.5 มิลลิลิตร ที่ไว้ประมาณ 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ OD₄₉₀

3.2 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ใช้วิธี electrometric method APHA [20] มีขั้นตอนดังนี้ (1) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาด ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง (2) ใส่อิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน (pH buffer ที่มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 4, 7 และ 9) (3) ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือการใช้ (4) ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง (5) จุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่าง (ตัวอย่างที่วัดจะต้องมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือเท่ากับอุณหภูมิของสารละลาย pH buffer ในข้อ (2) และ (6) อ่านค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากเครื่องวัด ความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้

3.3 วิเคราะห์ปริมาณก๊าซด้วยการแทนที่น้ำและวิเคราะห์ตัวอย่างก๊าซ

โดยใช้เครื่อง gas chromatography (Shimadzu GC-8A) ที่มีตัวตรวจจับ (detector) เป็น thermal conductivity detector (TCD) ซึ่งมีสภาวะคือ inlet temperature 100 °C, oven temperature 40 °C และ detector temperature 100 °C โดยมีขั้นตอนดังนี้ (1) วัดปริมาณก๊าซโดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี (2) คำนวณปริมาณก๊าซไฮโดรเจน โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ก๊าซตัวอย่างกับพื้นที่ใต้กราฟจากการวิเคราะห์ก๊าซมาตรฐาน และ (3) คำนวณกลับ โดยนำข้อมูลที่ได้จากข้อ (2) มาใช้ในสมการหลังจากได้

ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนจากการวิเคราะห์ แล้วหาปริมาตรของก๊าซที่ผลิตขึ้นโดยคำนวณจากสมการ mass balance equation [21] คือ $VH.i = [VH.i-1 + CH.i (VG.i - VG.i-1)] + [VH (CH.i - CH.i-1)]$ เมื่อ $VH.i$ และ $VH.i-1$ คือ ปริมาตรไฮโดรเจนสะสมที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านมา (i-1) ตามลำดับ; $VG.i$ และ $VG.i-1$ คือ ปริมาตรก๊าซชีวภาพทั้งหมดที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านมา (i-1) ตามลำดับ; $CH.i$ และ $CH.i-1$ คือ สัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนใน headspace ที่เวลาปัจจุบัน (i) และเวลาที่ผ่านมา (i-1) ตามลำดับ; VH คือ ปริมาตรของ headspace ในถังหมัก

3.4 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งที่ระเหยได้

ใช้วิธี Gravimetric method APHA [20] มีขั้นตอนดังนี้ (1) อบครุชีเบิ้ลที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ (2) นำครุชีเบิ้ลใส่ในเดซิเคเตอร์ ที่ไว้ให้เย็น ประมาณ 15-30 นาที (3) ชั่งน้ำหนักครุชีเบิ้ล (A) (4) ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ในครุชีเบิ้ล (5) บันทึกน้ำหนักตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชีเบิ้ล (B) (6) นำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ (7) นำครุชีเบิ้ลใส่ในเดซิเคเตอร์ ที่ไว้ให้เย็น ปริมาณ 15-20 นาที (8) ชั่งน้ำหนักรวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชีเบิ้ล หลังการอบ (C) (9) นำไปเผาโดยใช้เตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และ (10) นำครุชีเบิ้ลใส่ในเดซิเคเตอร์ ที่ไว้ให้เย็น ประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง รวมกับน้ำหนักครุชีเบิ้ล หลังการเผา (D) เมื่อ $X =$ น้ำหนักของตัวอย่างสด (B - A) หน่วยเป็นกรัม; $Y =$ น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (B - C) หน่วยเป็นกรัม; $Z =$ น้ำหนักของตัวอย่างหลังเผา (C - D) หน่วยเป็นกรัม สามารถคำนวณผลตามสูตรดังนี้

เปอร์เซ็นต์ TS (total solid, ปริมาณของแข็งทั้งหมด) = $(Y \times 100) \div X$

เปอร์เซ็นต์ VS (volatile solid, ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้) = $[(X - Z) \times 100] \div Y$

เปอร์เซ็นต์ MC (moisture content, ความชื้น) = $[(X - Y) \times 100] \div X$

4. ผลการวิจัย

4.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดพบว่าที่เวลา 120 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด 18.66 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลดังกล่าวเพียงพอต่อการการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกลุ่มแบคทีเรียชอบร้อน

4.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณขานอ้อยร้อยละ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลได้ก๊าซไฮโดรเจน 43.63 มิลลิลิตร-ไฮโดรเจนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้ และประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งที่ระเหยได้ประมาณร้อยละ 25-50

4.3 การผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ

การผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณขานอ้อยที่ร้อยละ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 โดยน้ำหนัก โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร และได้ก๊าซมีเทน 51.75 มิลลิลิตร-มีเทนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้ และ

ประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งที่ระเหยได้ประมาณร้อยละ 85-90

4.4 การผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

การผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 31.37 ลิตร-มีเทนต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 156.84 มิลลิลิตร-มีเทนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้

4.5 การก๊าซมีเทนจากขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ

การผลิตก๊าซมีเทนโดยใช้ น้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยหมักแบบไม่ใช้อากาศที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ผลดังนี้

4.5.1 ผลการศึกษาวิธีที่ 1 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 7.28 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้ก๊าซมีเทน 92.47 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

4.5.2 ผลการศึกษาวิธีที่ 2 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 17.10 ลิตรมีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้มีเทน 217.42 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

4.5.3 ผลการศึกษาวิธีที่ 3 การปรับสภาพ

ขานอ้อยด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 35.75 ลิตรมีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้ก๊าซมีเทน 229.04 มิลลิ ลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

4.5.4 ผลการศึกษาวิธีที่ 4 การปรับสภาพขานอ้อยด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 เป็นเวลา 3 นาที พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด 39.28 ลิตรมีเทนต่อลิตร ซึ่งให้ผลได้ก๊าซมีเทน 214.65 มิลลิ ลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้

4.6 ผลค่าพลังงานของก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ผลิตได้

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากการหมักขานอ้อยแบบไม่ใช้อากาศ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สามารถคำนวณค่าพลังงานทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในแต่ละชุดการทดลอง ได้ผลดังนี้

การผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 10.35 ลิตร-มีเทนต่อลิตร มีค่าพลังงาน 410.80 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อย หลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจนพบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 28.54 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 1,132.56 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น 1,194.81 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความ

เข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.21 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน 53.68 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 7.28 ลิตรมีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 288.72 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น 342.40 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.21 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน 53.68 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 17.10 ลิตร-มีเทนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 678.81 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น 732.49 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 35.75 ลิตรมีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 1418.70 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น 1,480.95 กิโลจูลต่อลิตร

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนจากน้ำหมักและขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที พบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร ในขั้นตอนที่ 1 มีค่าพลังงาน 62.25 กิโลจูลต่อลิตร และให้ผลผลิตก๊าซมีเทน 33.31 ลิตร-มีเทนต่อลิตรในขั้นตอนที่ 2 มีค่าพลังงาน 1,322.11 กิโลจูลต่อลิตร รวมให้พลังงานทั้งสิ้น 1,384.36 กิโลจูลต่อลิตร

Table 1 Comparison the energy derived from the fermentations containing various concentrations of sugarcane bagasse

Samples	Energy (KJ/L)					
	CH ₄ production single-stage	After H ₂ production	5 % NaOH 24 hours	1 % H ₂ SO ₄ 24 hours	High pressure steam 121 °C 1 hours	Electromagnetic wave 700 W 3 minutes
Sugarcane bagasse 1 %	72.11	70.21	140.42	125.81	141.17	158.83
Sugarcane bagasse 5 %	133.39	181.89	198.64	289.37	342.15	362.95
Sugarcane bagasse 10 %	238.64	791.73	342.42	732.50	1289.36	1141.36
Sugarcane bagasse 15%	319.72	1194.82	106.11	152.74	1480.97	1384.37
Sugarcane bagasse 20%	410.81	1272.07	52.75	211.98	923.69	1112.41
Sugarcane bagasse 25%	350.36	1149.99	53.27	236.55	1330.89	1330.41
Sugarcane bagasse 30%	389.02	1229.84	67.95	328.54	1389.18	1647.51

5. อภิปรายผล

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่ขานอ้อยเพื่อให้ได้น้ำตาล การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดพบว่าที่เวลา 120 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุด 18.66 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลดังกล่าวเพียงพอต่อการต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกลุ่มแบคทีเรียชอบร้อน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ O-thang และคณะ [22] ที่ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน พบว่าแบคทีเรีย *T. thermosaccharolyticum* PSU-2 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนหลายชนิด เช่น แป้ง ซูโครส ไซโลส แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนให้ได้ปริมาณและอัตราสูงสุด คือ ซูโครสเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chen และคณะ [23] ที่ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจาก *C. butyricum* โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรท พบว่า

ปริมาณซูโครสเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนคือ 17.8 กรัมต่อลิตร

ผลการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนพบว่าขานอ้อยความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 4.87 ลิตร-ไฮโดรเจนต่อลิตร และให้ผลได้ก๊าซไฮโดรเจน 43.63 มิลลิลิตร-ไฮโดรเจนต่อกรัม-ของแข็งระเหยได้ โดยส่วนใหญ่การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะมีประสิทธิภาพสูงที่ pH 5.0-6.5 Thungklin และคณะ [24] ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียของโรงฆ่าสัตว์ปีก โดยบำบัดด้วยการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ซึ่งกากตะกอนที่ทำให้ร้อนในไมโครเวฟ 850 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 12.77 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมต่อซีโอดี และ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุด คือ 5.5 แสดงให้เห็นว่าช่วง pH จะส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยตรง ทั้งนี้ pH ยังมีบทบาทในการ

ยับยั้งการผลิต เนื่องจากระหว่างการหมักแบบไม่ใช้อากาศนั้นผลผลิตที่เกิดขึ้น คือ กรดอินทรีย์ระเหยง่าย ซึ่งมีผลในการยับยั้งกระบวนการหมัก [25] เนื่องจากกรดอินทรีย์ระเหยง่ายสะสมอยู่มากจะทำให้สภาวะในการหมักเป็นกรดซึ่งจะทำให้กิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เปลี่ยนไปตามสภาวะของ pH จึงทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนเปลี่ยนแปลงไปด้วย [26] และสอดคล้องกับ O-Thang และคณะ [22] ที่ศึกษาผลของ pH จากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย *T. Thermosaccharolyticum* PSU-2 พบว่าสภาพ pH ที่ให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 6.25 ในขณะที่สภาพ pH ต่ำกว่า 4.0 จะไม่เกิดก๊าซไฮโดรเจนและพบว่าที่ pH สูงกว่า 8.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนก็ไม่เกิดขึ้น

ผลการศึกษาผลิตก๊าซมีเทนจากขานอ้อยความเข้มข้นต่าง ๆ จากน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และจากการปรับสภาพขานอ้อยด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่าการผลิตก๊าซมีเทนจากการปรับสภาพขานอ้อยด้วยไอน้ำแรงดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง 700 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที ให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงกว่าน้ำหมักและขานอ้อยหลังการผลิตก๊าซไฮโดรเจน การปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การปรับสภาพด้วยสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ ทั้งนี้เพราะขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพทางกายภาพข้างต้นสามารถย่อยเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส และย่อยเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของน้ำตาลคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม จะได้น้ำตาลไซโลสแมนโนส อะราบิโนส และกลูโคส [27] ซึ่งสารดังกล่าวมีความเหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ใช้ในการผลิตก๊าซ

มีเทน แต่ขานอ้อยที่ไม่ผ่านการปรับสภาพจะไม่มีการกำจัดสารประกอบประเภทลิกนินที่ห่อหุ้มเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสออกไป [28] สารเหล่านี้มีผลต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์เพื่อผลิตก๊าซมีเทน ส่วนการปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสารละลายซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นั้นมีสภาพ pH ที่ไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน ทำให้ได้ผลผลิตก๊าซมีเทนปริมาณน้อย โดยปกติค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้สร้างก๊าซมีเทนอยู่ในช่วง 7.0-8.5 ถ้า pH มีค่าสูงหรือต่ำกว่านี้ประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซมีเทนจะลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายไม่ทัน ทำให้ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยถูกสะสมมากขึ้น pH จึงต่ำลงอย่างรวดเร็วและสภาพ pH ต่ำลงถึง 4.5-5.0 จะทำให้จุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทนจะหยุดการเจริญเติบโตในระหว่างปรับสภาพด้วยกรด น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม จะสลายตัวเป็นเฟอพิวรัลและละลายอยู่ในน้ำหมัก ซึ่งความเป็นพิษและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กล่าวคือ จะทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตในระยะปรับตัว (lag phase) เป็นเวลานาน [18]

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบ 2 ขั้นตอน ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่ได้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Kongjan และคณะ [13] ที่ศึกษากระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ฟางข้าวสาลีเป็นซับสเตรต ได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน 89 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ และ 307 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ Chu และคณะ [29] ศึกษาศักยภาพของอินทรีย์ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนในกระบวนการหมัก

2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ขยะจากครัวเรือน ได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน 20.85 มิลลิลิตรไฮโดรเจนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ และ 329.36 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ และ Tahti และคณะ [30] ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนแบบ 2 ขั้นตอน ที่อุณหภูมิ 70 องศา

เซลเซียสในระบบ UASB (upflow anaerobic sludge blanket) ดำเนินการโดยใช้น้ำเสีย ได้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 0.73 โมลไฮโดรเจนต่อโมลน้ำตาล และก๊าซมีเทนที่ผลิตจากน้ำทิ้งซึ่งผ่านการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ได้ผลผลิตก๊าซมีเทน 117.5 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมซีไอดี

Table 2 Productions of hydrogen and methane gases using raw materials and various production methods

Raw materials	Systems	Production	References
Wheat straw	CSTR	190 ml-H ₂ /g-total sugar 307 ml-CH ₄ /g-VS	Kongjan, <i>et al.</i> (2011) [13]
Organic waste	CSTR	20.85 ml-H ₂ /g-VS 329.36 ml-CH ₄ /g-VS	Chu, <i>et al.</i> (2012) [29]
Waste water	UASB	0.73 mol-H ₂ /mol-glucose 117.5 ml- CH ₄ /g-COD	Tahti, <i>et al.</i> (2013) [30]
Sugarcane bagasse	Batch	43.63 ml-H ₂ /g-VS 256.97 ml-CH ₄ /g-VS	This study

6. Reference

- [1] Department of Alternative Energy Development and Efficiency, 2012, Annual Report 2012 (2008-2022), Ministry of Energy, Bangkok, 11 p. (in Thai)
- [2] Kaparaju, P., Serrano, M., Thomsen, B. A., Kongjan, P., Angelidaki, I., 2009, Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept, *Bioresour. Technol.* 100: 2562-2568. (in Thai)
- [3] Department of Mineral Fuels, 2011, Annual Report 2011, Ministry of Energy, Bangkok, 174 p. (in Thai)
- [4] Jitpupakdee, J., 2009, Two-Phase Biogas Production from Pineapple Pulp and Peel, Master's Thesis, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok, 147 p. (in Thai)
- [5] O-Thong, S., Prasertsan, P., Intrasingkha, N., Dhamwichukorn, S. and Birkeland, N.K., 2007, Improvement of biohydrogen production and treatment efficiency on palm oil mill effluent with nutrient supplementation at thermophilic condition using an anaerobic sequencing batch reactor, *Enzyme Microb. Technol.* 41: 583-590.

- [6] Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M. and Reungsang, A. , 2008, Bio- hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*, Int. J. Hydrogen Energy 33: 5256-5265.
- [7] Lee, Z., Li, S., Kuo, P., Chen, I., Tein, Y., Huang, Y., Chuang, C., Wong, S. and Cheng, S., 2010, Thermophilic bio-energy process study on hydrogen fermentation with vegetable kitchen waste, Int. J. Hydrogen Energy 35: 13458-13466.
- [8] Tawfik, A., Salem, A. and El-Qelish, M., 2010, Two stage anaerobic baffled reactors for bio- hydrogen production from municipal food waste, Bioresour. Technol. 102: 8723-8726.
- [9] Fangkum, A. and Reungsang, A. , 2011, Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration, Int. J. Hydrogen Energy 36: 8687-8696.
- [10] Plangklang, P., Reungsang, A. and Pattra, S., 2012, Enhance bio-hydrogen production from sugarcane juice by immobilized *Clostridium butyricum* on sugarcane bagasse, Int. J. Hydrogen Energy 37: 15525-15532.
- [11] Cheong, D.Y. and Hansen, C.L. , 2007, Feasibility of hydrogen production in thermophilic mixed fermentation by natural anaerobes, Bioresour. Technol. 98: 2229-2239.
- [12] Cavinato, C., Giuliano, A., Bolzonella, D., Pavan, P. and Cecchi, F. , 2012, Bio-hythane production from food waste by dark fermentation coupled with anaerobic digestion process: A long-term pilot scale experience, Int. J. Hydrogen Energy 37: 11549-11555.
- [13] Kongjan, P., O-Thong, S. and Angelidaki, I., 2011, Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from hydrolysate in UASB reactors, Bioresour. Technol. 102: 4028-4035.
- [14] Office of the Cane and Sugar Board, 2556, Report of Sugar Zone 2012/ 13, Office of the Cane and Sugar Board, Bangkok. (in Thai)
- [15] Rabelo, S.C., Fonseca, N.A., Andrade, R.R., Filho, R.M. and Costa, A.C., 2009, Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide, Biomass Bioenergy 35: 2600-2607.
- [16] Zhao, X., Zhou, Y. and Liu, D. , 2012, Kinetic model for glycan hydrolysis and formation of monosaccharides during dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse, Bioresour. Technol. 105: 160-168.
- [17] Asgher, M., Ahmad, Z. and Iqbal, H.M.N., 2013, Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose

- polymers for saccharification and bio-ethanol production, Ind. Crops Prod. 44: 488-495.
- [18] Binod, P., Satyanagalakshmi, K., Sindhu, R., Janu, U.K., Sukumaran, K.R. and Pandey, A., 2012, Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse, Renew. Energy 37: 109-116.
- [19] Doboys, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., 1956, Colorimetric method for determination of sugar and related substances, Anal. Chem. 28: 350-356.
- [20] APHA, AWWA and WEF, 1998, Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 20th Ed., American Public Health Association, Washington D.C.
- [21] Song, Z.X., Wang, Z.Y., Wu, L.Y., Fan, Y.T. and Hou, H.W., 2012, Effect of microwave irradiation pretreatment of cow dung compost on bio-hydrogen process from corn stalk by dark fermentation, Int. J. Hydrogen Energy 37: 6554-6561.
- [22] O-Thong, S., Prasertsan, P., Karakashev, D. and Angelidaki, I., 2008, Thermophilic fermentative hydrogen production by the newly isolated *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU- 2, Int. J. Hydrogen Energy 33: 1204-1214.
- [23] Chen, W.M., Tseng, Z.J., Lee, K.S. and Chang, J.S., 2005, Fermentation hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolate from anaerobic sewage sludge, Int. J. Hydrogen Energy 30: 1063-1070.
- [24] Thungklin, P., Reungsang, A. and Sittijunda, S., 2011, Hydrogen production from sludge of poultry slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave, Int. J. Hydrogen Energy 36: 8751-8757.
- [25] Kapdan, I. and Karpi, F., 2006, Bio-hydrogen production from waste materials, Enzyme Microb. Technol. 38: 569-582.
- [26] Ruggeri, B., Tommasi, T. and Sassi, G., 2009, Experimental kinetics and dynamics of hydrogen production on glucose by hydrogen forming bacteria (HFB) culture, Int. J. Hydrogen Energy 34: 753-763.
- [27] Sun, Y. and Cheng, J.J., 2002, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production, Bioresour. Technol. 83: 1-11.
- [28] Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M. and Ladisch, M., 2005, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, Bioresour. Technol. 96: 673-686.
- [29] Chu, C., Xu, K., Li, Y. and Inamori, Y., 2012, Hydrogen and methane potential based on the nature of food waste materials in a two-stage thermophilic fermentation process, Int. J. Hydrogen Energy 37: 10611-10618.

- [30] Tahti, H., Kaparaju, P. and Rintala, J., 2013, Hydrogen and methane production in extreme thermophilic conditions in two-stage (upflow anaerobic sludge bed) UASB reactor system, Int. J. Hydrogen Energy 38: 4997-5002.