การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้ Klebsiella sp.
Hydrogen production from ethanol whole stillage water using Klebsiella sp.

ปรียา แก้วนารี[1,2*] ปวริศา ภูศรี[2] Jeffrey Nash[1] สรฉัตร เทียมดาว[1,3] และ ธนิศรา อินทโสตถิ[1,3]

[1]Renewable Energy Research Unit, Udon Thani Rajabhat University, Thailand,

[2]Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University, Thailand

[3]Department of Biology, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University, Thailand

Email : preeya_52@hotmail.com

บทคัดย่อ

การใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย Klebsiella sp. เตรียมน้ำทิ้งโดยนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที การผลิตไฮโดรเจนของ Klebsiella sp. ได้ศึกษาการหมักก๊าซไฮโดรเจนแบบกะ ซึ่งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก คือ ความเข้มข้นของน้ำตาล ค่าพีเอช และปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้น พบว่า สภาวะที่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดคือ ที่อุณหภูมิ 30 °C ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 2 °Brix ค่าพีเอชเริ่มต้น 6 และความเข้มข้นเริ่มต้นของไนโตรเจน 3 g/L ของไดแอมโมเนียมฟอสเฟต นำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวมาใช้ผลิตก๊าซไฮโดรเจนและติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาบอไลท์ระหว่างกระบวนการหมัก พบว่า ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด คือ 154.46 mgH2/L ที่เวลา 48 ชั่วโมง และการสะสมก๊าซไฮโดรเจนทั้งหมด คือ 402.34 mgH2/L ที่เวลา 72 ชั่วโมง ส่วนการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลท์ระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน จะเห็นได้ว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าพีเอช และค่าซีโอดีลดลงตลอดการหมัก ในทางตรงกันข้าม ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลง จากผลการทดลองชี้ให้เห็นได้ว่า เชื้อ Klebsiella sp. สามารถนำมาผลิตไฮโดรเจนโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลได้ดี

คำสำคัญ

การผลิตก๊าซไฮโดรเจน เคลบเซลลา น้ำทิ้งจากการกลั่นเอทานอล

Abstract

Ethanol whole stillage water (EWSW) was used as a substrate for hydrogen production by Klebsiella sp. It was heated in an autoclave at 121 °C for 15 min. Hydrogen production by Klebsiella sp. was studied in batch cultivation. Various fermentation conditions (sugar concentrations, initial pH values and nitrogen contents) were evaluated for hydrogen production. Maximal hydrogen

yield was obtained at 30 °C with a sugar concentration of 2 °Brix, initial pH value of 6 and a nitrogen concentration of 3 g/L as diammonium phosphate. This optimal condition was used for hydrogen production. The results showed that the maximum hydrogen yield and cumulative hydrogen production were 154.46 mg H2/L after 48 h and 402.34 mg H2/L after 72 h, respectively. The metabolite concentrations changed during hydrogen production. Reducing sugars, total sugars, pH and COD decreased while TVFA and total nitrogen concentrations decreased. These results indicate that Klebsiella sp. is a good hydrogen producer using EWSW as a substrate.

Keywords:

hydrogen production, Klebsiella sp., ethanol whole stillage water

1. บทนำ

จากสถานการณ์ของประเทศไทยที่มีความต้องการพลังงานเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้วิกฤตด้านพลังงานของประเทศจะต้องมีการพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทนอื่นที่สามารถผลิตขึ้นได้เอง เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่มีแหล่งชีวมวลจากภาคการเกษตรมากมาย เช่น มันสำปะหลัง อ้อย แกลบ ชานอ้อย ฯลฯ จึงมีความได้เปรียบทางวัตถุดิบ [1] ดังนั้นพลังงานจากชีวมวล โดยเฉพาะอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล หลังจากกระบวนการแยกเอทานอลออกจากน้ำหมักโดยการกลั่น จะเหลือวัตถุดิบที่หมักไม่สมบูรณ์เป็นพวกแป้ง น้ำตาลหรือเซลลูโลส ที่ไม่สามารถนำกลับไปใช้ในการผลิตเอทานอลได้อีก ดังนั้นน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเอทานอลเหล่านี้ก็จะมีปริมาณมากเมื่อปล่อยออกสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ และจะก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นในแต่ละโรงงานจึงนำน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลมาใช้ประโยชน์ นำเข้าสู่ระบบการบำบัดโดยใช้วิธีทางชีวภาพ เพราะใช้ต้นทุนในการบำบัดต่ำ และยังเป็นวิธีที่สามารถนำผลพลอยได้จากการบำบัดไปใช้ประโยชน์ได้ ช่วยลดปริมาณน้ำเสีย และเป็นการเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล เช่นเดียวกับกระบวนการผลิตเอทานอลของมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานีจะเกิดน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลประมาณ 75 % (v/v) ของปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ ซึ่งมีแหล่งคาร์บอนในน้ำทิ้งเหลืออยู่ คือ น้ำตาล 7-13 % (w/v) และยังมีปริมาณไนโตรเจนสูง [2] ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยเฉพาะการนำน้ำทิ้งที่เหลือจากกระบวนการกลั่นเอทานอลสามารถนำมาผลิตก๊าซไฮโดรเจน ในกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจึงต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเข้มข้นของน้ำตาล pH รวมทั้งแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน [3] โดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. ที่คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำทิ้งของมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานีเนื่องจาก Klebsiella sp. มีคุณสมบัติในการใช้น้ำตาลที่เป็นแหล่งคาร์บอนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลได้ และสามารถควบคุมสภาวะในการหมักไฮโดรเจนได้ง่าย เช่น อุณหภูมิ ค่าพีเอช ปริมาณแร่ธาตุ เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลดีต่อการหมักก๊าซไฮโดรเจนให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงสนใจที่จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของน้ำตาลที่เป็นแหล่งคาร์บอน ค่าพีเอช และปริมาณไนโตรเจนเริ่มต้นที่มีผลต่อการผลผลิตของก๊าซไฮโดรเจน

ในกระบวนการหมักน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. และติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาบอไลท์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำไปเป็นประโยชน์ในการพัฒนากระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนระดับโรงงานต้นแบบต่อไป

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลของเชื้อ Klebsiella sp.

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเอทานอลจากน้ำอ้อยจากโรงงานผลิตเอทานอลของมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นทุกๆ ตัวอย่างผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และไล่อากาศออกจากขวดตัวอย่างโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน

เชื้อ Klebsiella sp. ที่คัดแยกได้จากบ่อบำบัดน้ำทิ้งของมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย คือ Nutrient Broth (NB) ประกอบด้วย Peptone 5 g และ Beef extract 3 g ละลายในน้ำกลั่น 1 L

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น Klebsiella sp.

นำเชื้อ Klebsiella sp. เขี่ยลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 100 ml บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 1.000 ที่ความยาวคลื่น 620 nm เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

3.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp.

3.2.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

1) เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นจากข้อ 3.1.1 ลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 ml

2) เตรียมน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล โดยใช้น้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นน้ำตาล 13 oBrix เจือจางให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาล 5 ระดับ คือ 2 4 6 8 และ 10 °Brix และปรับ pH 5.5

3) นำกล้าเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมได้จากข้อ 1) ปริมาตร 5 ml นำมาหมักในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลที่เตรียมได้จากข้อ 2) ทั้ง 5 ระดับ ปริมาตร 30 ml หมักในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจน

3.2.2.2 การศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

1) เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นจากข้อ 3.3.1 ลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 ml

2) เลือกสภาวะความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสม จากข้อ 3.2.2.1 มาปรับ pH เป็น 6 ระดับ คือ 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 เพื่อใช้ในกระบวนการหมัก

3) นำกล้าเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 1) ปริมาตร 5 ml นำมาหมักในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลที่เตรียมได้จากข้อ 2) ปริมาตร 30 ml หมักในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจน

3.2.2.3 การศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

1) เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นจากข้อ 3.2.1 ลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 ml

2) เลือกความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2.1 และ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2.2 เติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) เป็นแหล่งไนโตรเจนให้ได้ 4 ระดับ คือ 1 2 3 และ 4 g/L

3) นำกล้าเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 1) ปริมาตร 5 ml นำมาหมักในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลจากข้อ 2) ปริมาตร 30 ml หมักในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจน

3.3.3 การศึกษาการหมักก๊าซไฮโดรเจนและการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลท์ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

1) เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นจากข้อ 3.2.1 ลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 ml

2) เลือกความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2.1 และ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2.2 และปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2.3

3) นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมได้จากข้อ 1) ปริมาตร 50 ml นำมาหมักในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลที่เตรียมได้จากข้อ 2) ปริมาตร 300 ml หมักในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง ติดตามปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand) ไนโตรเจน (Nitrogen) กรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด (Total Volatile fatty acid) pH และก๊าซชีวภาพ นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพและวิเคราะห์กรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี

3.4 การวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugar) โดยวิธี Phenol Sulfuric [4] วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) โดยวิธี 3,5-dinitrosalicylic acid [5]

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน [6] ใช้สารละลายน้ำทิ้ง 1 ml เติมลงใน Kjeldahl digestion flask จากนั้นเติมสารย่อยตัวอย่างโพแทสเซียมซัลเฟต 5 g เติมน้ำกลั่น 30 ml และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 ml เขย่า นำไปย่อยโดยใช้อุณหภูมิ 360 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่น 50 ml 40 % NaOH 50 ml และ Boric acid indicator 50 ml นำสารละลายที่ได้ไปกลั่นเป็นเวลา 5 นาที จนได้สารละลายตัวอย่างใส นำมาไทเทรตกับ 0.1 N H_2SO_4 บันทึกปริมาตรของสารละลาย H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรต คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด บันทึกผลการทดลอง

การวิเคราะห์ค่าซีโอดี [7] ใช้น้ำทิ้งที่ได้ในกระบวนการหมักโดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งของชั่วโมงที่ 0 และชั่วโมงสุดท้าย เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักปริมาตร 1 ml เจือจาง 10,000 เท่า ใช้สารละลายน้ำทิ้งที่เจือจางแล้ว 2 ml เติมลงในหลอดทดลองฝาเกลียว แล้วเติมสารละลายมาตรฐาน 0.25 N โปรแตสเซียมไดโครเมต ปริมาตร 1.5 ml สำหรับย่อยสลาย แล้วค่อยเติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 3.5 ml ปิดฝาให้สนิทเขย่าเพื่อให้สารละลายผสมกัน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 150 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เทสารละลายจากหลอดทดลองลงในขวดรูปชมพู่ เติมเฟอโรอีน อินดิเคเตอร์ 3 หยด นำไปไตเตรทด้วย 0.1 N FAS จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง และทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง และวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างน้ำทิ้ง

การวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมด (Total Volatile Fatty Acid, TVFA) โดยเครื่อง GC [8] การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดอะซิติก และกรดบิวทิริก (Butyric acid) ความเข้มข้น 100 mg/L โดยเตรียมสารละลายกรดไขมันที่ระเหยง่าย เพื่อทำกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 mg/L ตามลำดับ การเตรียมสารละลายตัวอย่างใช้สารละลายตัวอย่างกรองสารละลายที่ได้ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ใช้สารละลายตัวอย่าง 2 ml กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 °m วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

การวิเคราะห์กรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมดด้วยเครื่อง GC ใช้เครื่อง GC ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น GC 2014 จากประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้คอลัมน์แคปปิลารี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 mm ความยาว 30 m และความหนาของสารเคลือบ 0.25 °m ใช้ดีเท็คเตอร์ ชนิดเอฟไอดี (FID) อุณหภูมิของคอลัมน์ อินเจ็คเตอร์ และดีเท็คเตอร์ ใช้อุณหภูมิ 200 220 และ 240 °C ตามลำดับ ใช้ก๊าซพาเป็นก๊าซฮีเลียม อัตราการไหล 0.6 ml/min ฉีดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2) 10 µl เข้าเครื่อง GC ใช้สภาวะเครื่องที่อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 35 °C เป็นเวลา 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิจาก 5 °C/min จนถึง 80 °C และคงอุณหภูมินี้ไว้ 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิจาก 80 °C /min จนถึง 200 °C ในอัตรา 8 °C /min และคงอุณหภูมินี้ไว้ 10 นาที ใช้เวลาในการรันทั้งหมด 28 นาที คำนวณปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของ สารละลายมาตรฐานกรดไขมันที่ระเหยง่าย

การวิเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่อง GC [9] เตรียมสารละลายมาตรฐานก๊าซไฮโดรเจน 12 25 50 และ 100 % ในขวดหมักขนาด 60 ml ที่กำจัดก๊าซอื่นๆ ออกโดยใช้ก๊าซไนโตรเจนไล่เป็นเวลา 2 นาที เตรียมสารตัวอย่างโดยใช้กระบอกเก็บก๊าซขนาด 50 ml ดูดก๊าซในถังหมักปริมาตร 50 ml จากนั้นฉีดลงขวดเก็บตัวอย่างขนาด 60 ml ที่กำจัดก๊าซอื่นๆ ออกโดยใช้ก๊าซฮีเลียมในการไล่ เป็นเวลา 2 นาที ปิดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC การวิเคราะห์ก๊าซชีวภาพด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) โดยใช้เครื่อง GC ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น GC 2014 ของบริษัท Bara Scientific co., Ltd จากประเทศญี่ปุ่น ใช้ Column MS-5A มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.00 mm ความยาว 60 m และความหนาของสารเคลือบ 0.5 mm ใช้ดีเท็คเตอร์ชนิดทีซีดี (TCD) อุณหภูมิของอินเจ็คเตอร์ คอลัมน์ และดีเท็คเตอร์ ใช้อุณหภูมิ 100 70 และ 140 °C ตามลำดับ ใช้ก๊าซตัวพาเป็นก๊าซไฮโดรเจนอัตราการไหล 25 ml/min ฉีดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2) 1 ml เข้าเครื่อง GC ใช้สภาวะเครื่องที่อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้นที่ 40 °C เป็นเวลา 4 นาที เพิ่มอุณหภูมิจาก 5 °C/นาที จนถึง 60 °C คงอุณหภูมินี้ไว้เป็นเวลา 3 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิจาก 60 °C/นาที จนถึงอุณหภูมิ 200 °C ในอัตรา 20 °C/นาที และคงอุณหภูมินี้ไว้ 10 นาที ใช้เวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมด 20 นาที สร้างเส้นกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน และฉีดสารละลายตัวอย่าง 10 ml จากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานก๊าซไฮโดรเจน

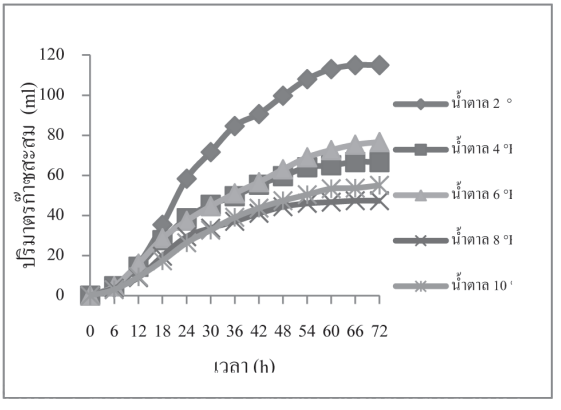
4. ผลและวิจารณ์ผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp.

4.1.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

การศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งในกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp.

ขั้นแรกเตรียมน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 5 ระดับ ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล คือ 2 4 6 8 และ 10 °Brix ปรับ pH เป็น 5.5 ใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 5 ml เติมลงในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล ปริมาตร 30 ml บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพ พบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกันทั้ง 5 ระดับ Klebsiella sp. สามารถใช้น้ำตาลได้ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้สูงสุดปริมาตรก๊าซสะสมที่ 115 ml ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 4 6 และ 10 °Brix พบว่า เกิดก๊าซชีวภาพสะสม 66.7 76.7 และ 55 ml ตามลำดับ และน้ำตาล 8 °Brix เกิดก๊าซสะสมน้อยที่สุดที่ 47.3 ml ดังแสดงในภาพที่ 1

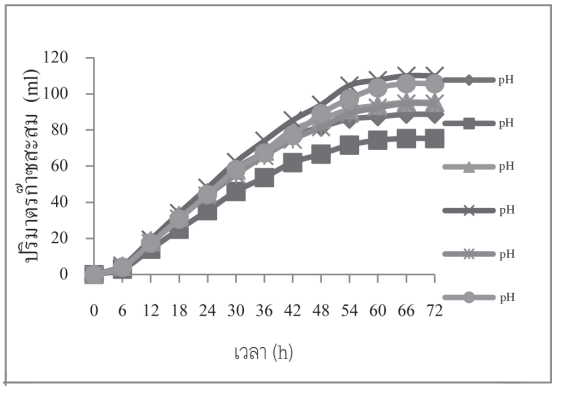


ภาพที่ 1 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 5 ระดับคือ 2 4 6 8 และ 10 °Brix

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการหมักน้ำทิ้งโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ 2 °Brix มีความเหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพมากที่สุด

4.1.2 ผลการศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

การศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งในกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. โดยเตรียมน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix ในสภาวะที่มี pH 6 ระดับ คือ 4.5 5 5.5 6 6.5 และ 7 ใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NB ปริมาตร 5 ml เติมลงในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล ปริมาตร 30 ml บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพ พบว่าในสภาวะ pH แตกต่างกันทั้ง 6 ระดับที่ pH 6 Klebsiella sp. สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้สูงสุดคือ เกิดก๊าซสะสม 110 ml ที่ pH 4.5 5.5 6.5 และ 7 พบว่าได้ปริมาตรก๊าซสะสม 88.7 94.7 94.7 และ 105.7 ml ตามลำดับ และที่ pH 5 ได้ปริมาตรก๊าซสะสมน้อยที่สุดที่ 75.3 ml ดังภาพที่ 2

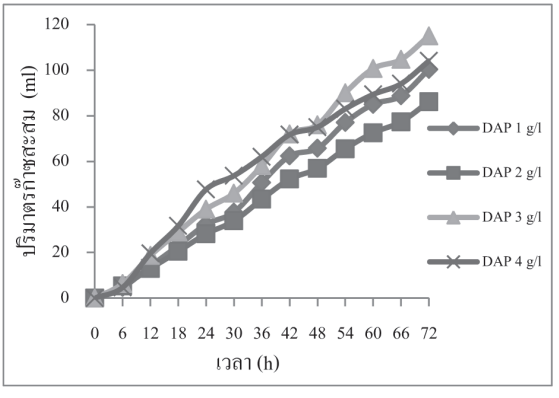


ภาพที่ 2 ผลการศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. ในสภาวะที่ pH 6 ระดับ คือ 4.5 5 5.5 6 6.5 และ 7

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการหมักน้ำทิ้งที่ pH 6 มีความเหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งเกิดปริมาตรก๊าซสะสมมากที่สุด

4.2.3 ผลการศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งในกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. โดยเตรียมน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix และปรับ pH 6 ในสภาวะที่มีการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 4 ระดับ คือ 1 2 3 และ 4 g/L ใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหาร NB ปริมาตร 5 ml เติมลงในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล ปริมาตร 30 ml บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อติดตามปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพ พบว่าในสภาวะหมักที่มีการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟตแตกต่างกันทั้ง 4 ระดับที่การเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต3 g/L แบคทีเรีย Klebsiella sp. สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้สูงสุด คือเกิดปริมาตรก๊าซสะสม 115 ml พบว่าการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 1 และ 4 g/L เกิดก๊าซสะสม 104 และ 105 ml ตามลำดับ และที่การเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 2 g/L เกิดสะสมน้อยที่สุดที่ 86.1 ml ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. ในสภาวะที่เติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 4 ระดับ คือ 1 2 3 และ 4 g/L

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการหมักน้ำทิ้งที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน คือ ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 3 g/L มีความเหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพมากที่สุด

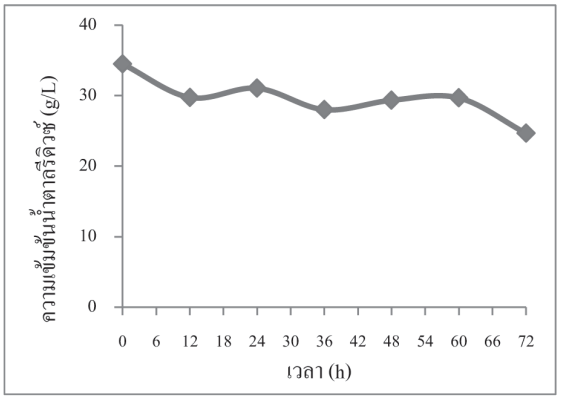
สภาวะในกระบวนการหมักไฮโดรเจนที่เหมาะสม คือ ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 2° Brix ที่ pH 6 และที่การเติมแหล่งไนโตรเจน 3 g/L ซึ่งจะให้ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนมากที่สุด เป็นสภาวะที่แบคทีเรียผลิตไฮโดรเจนได้ดี สอดคล้องกับงานของ Sakchai และคณะ ผลิตไฮโดรเจนจากน้ำตาลที่ย่อยสลายซานอ้อยโดยใช้ Clostridium butyricum ได้ผลได้ของไฮโดรเจนสูงที่สุด 1,611 ml H2/L/day ที่ ที่สภาวะหมัก pH 5.5 และความเข้มข้นของน้ำตาล 20 g-COD/L [10]

4.3 การศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลท์ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ

ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งในกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. โดยนำกล้าเชื้อเริ่มต้นลงในอาหารเหลว NB ปริมาตร 50 ml ปรับสภาวะที่เหมาะสมของน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix ปรับ pH 6 และเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 3 g/L นำกล้าเชื้อที่เตรียมได้เติมในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล ปริมาตร 300 ml บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน เก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง ติดตามความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) น้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) กรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด (Total Volatile Fatty Acid) ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand) และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

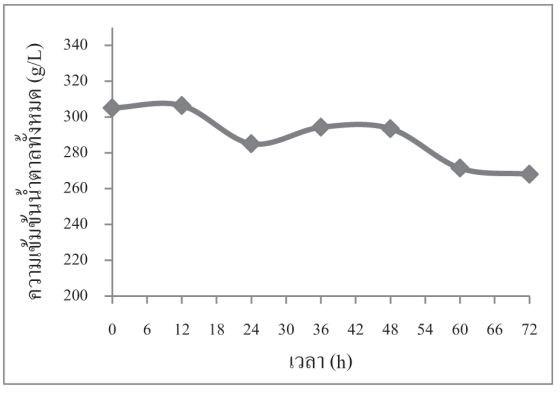
จากการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มี

แนวโน้มลดลงตลอดการหมัก จากชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ 34.49 g/L ปริมาณน้ำตาลลดลงไปจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพที่ชั่วโมงที่ 72 เหลือเพียง 24.65 g/L ดังในภาพที่ 4



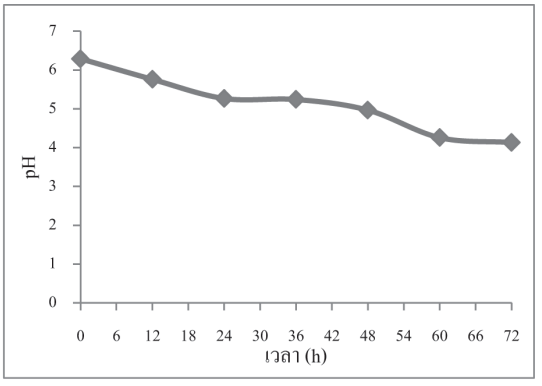
ภาพที่ 4 ผลศึกษาความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

จากการศึกษาเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงตลอดการหมักเช่นเดียวกับน้ำตาลรีดิวซ์ จากชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ 305.08 g/L น้ำตาลทั้งหมดลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ คือชั่วโมงที่ 72 เหลือเพียง 268.04 g/L ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ผลศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

จากการศึกษาเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง จากชั่วโมงที่ 0 มี 6.29 ค่าพีเอชลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างกระบวนการหมักจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก คือชั่วโมงที่ 72 ค่าพีเอชเป็น 4.13 ดังภาพที่ 6

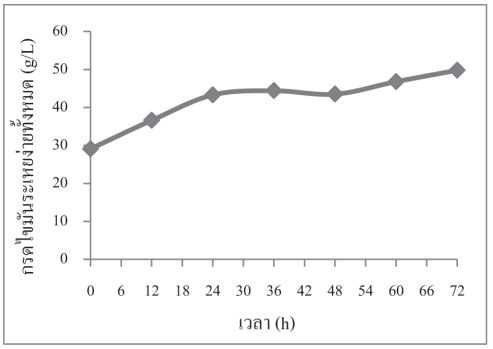


ภาพที่ 6 ผลศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด พบว่าการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด จากชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย 29.1 g/L ระหว่างกระบวนการหมักจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก คือที่ชั่วโมงที่ 72 มีปริมาณ 49.8 g/L ดังแสดงในภาพที่ 7 และพบว่ากรดไขมันระเหยง่ายมีองค์ประกอบกรดไขมันระเหยง่ายอยู่ 4 ชนิด คือ กรดโพรไพโอนิค กรดบิวทิริก กรดเอ็น-วาเลลิค และ กรดแลคติก แต่ส่วนใหญ่เป็นกรดบิวทิริก ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลศึกษาชนิดของกรดไขมันระเหยง่าย ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp.

เวลา (h)	กรดบิวทิริก	
	(% w/v)	mg/L
0	0.25	8.38
24	0.29	9.74
48	0.27	9.04
72	0.66	22.22



ภาพที่ 7 ผลศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลท์ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจนโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด

จากการศึกษาเปลี่ยนแปลงปริมาณซีโอดีในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย Klebsiella sp. พบว่า Klebsiella sp. สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งได้ เนื่องจาก Klebsiella sp. ใช้น้ำตาลในน้ำทิ้งเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยค่าซีโอดีเริ่มต้นจาก 130.62 เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักเหลือเพียง 105.90 mg/L หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 2.47 ดังในตารางที่ 2

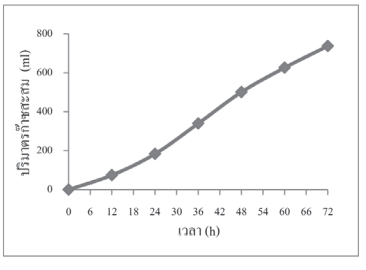
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจน พบว่าน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 9.66 %N และเมื่อสิ้นสุดการหมักก๊าซชีวภาพปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด เพิ่มขึ้นเป็น 11.27 %N ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนก่อนกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล กับหลังกระบวนการหมักก๊าซชีวภาพ พบว่า Klebsiella sp. สามารถเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลระหว่างกระบวนการหมักคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 0.16 % ดังในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารเมตาบอไลท์ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจนโดยติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณซีโอดีและปริมาณไนโตรเจน

สารเมตาบอไลท์	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 72
ค่าซีโอดี (mg/L)	130.62	105.90
ไนโตรเจน (% N)	9.66	11.27

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย Klebsiella sp. สามารถลดปริมาณแหล่งคาร์บอนในน้ำทิ้งได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต จากมาตรฐานน้ำทิ้งค่าซีโอดีต้องไม่เกิน 120 - 400 mg/L (มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง) [11] ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นพบว่า Klebsiella sp. ใช้ลดปริมาณค่าซีโอดีเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ดี ขณะเดียวกันยังเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในน้ำทิ้งได้ด้วย จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจน Klebsiella sp. สามารถเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลได้

จากการศึกษาผลผลิตก๊าซชีวภาพโดยติดตามปริมาตรก๊าซสะสม พบว่า ในการหมักน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล โดย Klebsiella sp. สามารถผลิตก๊าซชีวภาพสะสมได้ถึง 737.33 mg/L ดังในภาพที่ 8



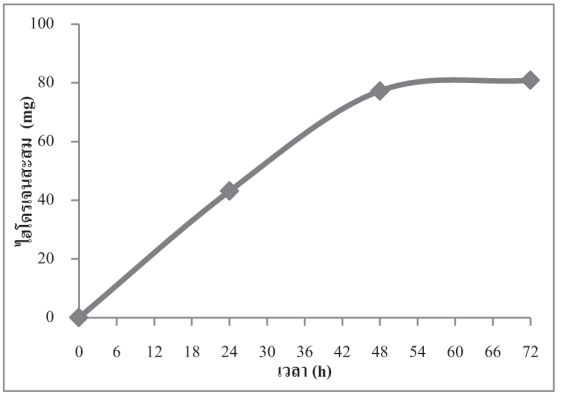
ภาพที่ 8 ผลศึกษาปริมาตรก๊าซสะสมในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ ในการหมักน้ำทิ้งในกระบวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. เตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น ปริมาตร 50 ml เติมลงในน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลใช้

สภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix ปรับค่า pH 6 และเติม DAP 3 g/L ปริมาตร 300 ml ลงในขวดฝาเกลียวขนาด 1 L ที่ผ่านการไล่อากาศโดยใช้ก๊าซไนโตรเจนหมักที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน วัดปริมาณก๊าซต่อเวลาทุกๆ 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ และวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันระเหยง่าย ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง GC พบว่าองค์ประกอบของกรดไขมันระเหยง่ายพบกรดไขมันระเหยง่ายอยู่ 4 ชนิด คือ กรดไพโพรโอนิค กรดบิวทีริก กรดเอ็น-วาเลลิก และกรดแลคติก พบกรดไพโพรโอนิคและกรดบิวทีริกสูงที่สุดที่ชั่วโมง 72 คือ 22.22 mg/L แสดงดังในตารางที่ 1 และพบว่ามีการผลิตไฮโดรเจนซึ่งเชื้อผลิตขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมักมีปริมาตร 86.17 mgH2/L และมีปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจนสูงสุดชั่วโมงที่ 72 คือสามารถผลิตไฮโดรเจนได้ถึง 161.71 mgH2/L หรือคิดเป็น 90.55 %H2 และมีปริมาตรก๊าซสะสม 774 mg/L ดังแสดงในตารางที่ 3 ตารางที่ 3 ผลการเกิดก๊าซไฮโดรเจนในน้ำทิ้งจากกระ บวนการกลั่นเอทานอลโดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. ในสภาวะการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจน

เวลา (h)	ปริมาตรก๊าซทั้งหมด (ml)	ความเข้มข้น			
		% H_2 v/v	mgH_2/ 100 ml	mgH_2/ L	mmolH_2/L
0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
24	204	48.25	4.30	86.17	43.08
48	317	86.49	7.72	154.46	77.23
72	253	90.55	8.08	161.71	80.85
ก๊าซสะสม	774	-	-	402.34	201.17

จากรายงานวิจัยของ Fikret และคณะ [12] ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมมะกอก โดยใช้เชื้อ Clostridium sp. ในสภาวะการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนผลิตไฮโดรเจนได้ 2500 mlH2g-4COD และจากรายงานวิจัยของ Jinling และคณะ [13] ได้ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนโดยใช้ Clostridium sp. 6A-5 ที่คัดแยกจากตะกอนจากกระบวนการย่อยน้ำตาล โดยใช้น้ำตาลในช่วง 10–16 g/L ผลิตไฮโดรเจนได้สูงสุด 2727 ml/L คิดเป็น 269.3 ml H2/L h จากผลการทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่า Klebsiella sp. ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้น้อยกว่างานวิจัยของ Fikret และ Jinling อาจเนื่องมาจากน้ำทิ้งที่ใช้มีองค์ประกอบและมีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกันและใช้เชื้อต่างชนิดกันดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจน (mg) ในระหว่างกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน

5. สรุปผล

การศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอล ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้เชื้อ Klebsiella sp. พบว่า สภาวะที่มีความเหมาะสมคือ ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 °Brix ค่าพีเอช 6 และปริมาณ ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 3 g/l ซึ่งได้ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนสะสมสูงที่สุด

จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล กรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด พีเอช ปริมาณ ซีโอดีและปริมาณไนโตรเจน พบว่า Klebsiella sp. สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ 34.49 g/L จนถึงชั่วโมงที่ 72 เหลือ 24.65 g/L น้ำตาลทั้งหมดถูกใช้ไปจากชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ 305.08 g/L จะเห็นว่า ปริมาณน้ำตาลลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 72 เหลือ 268.04 g/L พีเอชจากชั่วโมงที่ 0 เป็น 6.29 ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 72 เป็น 4.13 จะเห็นว่า Klebsiella sp. ใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางระหว่างกระบวนการย่อยสลายได้กรดไขมันระเหยง่ายซึ่งมีความเป็นกรดทำให้พีเอชลดลงอย่างเห็นได้ชัด แสดงว่ามีกรดไขมันระเหยง่ายเกิดขึ้นมาก แสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาได้ดี พบว่ากรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมดที่ชั่วโมงที่ 0 ปริมาณ 29.1 mg/L เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 72 เป็น 49.8 mg/L สอดคล้องกับการลดลงของแหล่งคาร์บอน คือค่าซีโอดีในน้ำทิ้ง Klebsiella sp. ใช้แหล่งคาร์บอนได้ดี พบว่าจากการลดลงของปริมาณค่าซีโอดี โดยลดลงจาก 130.62 mg/L เหลือ 105.90 mg/L คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของซีโอดี 24.7% และพบผลพลอยได้คือ Klebsiella sp. ยังสามารถผลิตไนโตรเจนระหว่างกระบวนการหมัก หลังการหมักปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจาก 9.66 % N เป็น 11.27 % N คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของไนโตรเจนเป็น 16% และกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก คือ กรดโพรไพโอนิค กรดบิวทีริก กรดวาเลลิก และกรดแลคติก พบว่า กรดบิวทีริกมีปริมาณสูงที่สุดชั่วโมงที่ 72 สูงถึง 22.22 mg/L ซึ่งกรดบิวทีริกจะเปลี่ยนไปเป็นก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุดถึง 90.55 % (v/v) จากผลการวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการกลั่นเอทานอลเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนใช้เป็นเชื้อเพลิงต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัยนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ในความอนุเคราะห์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ

7. เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน (2556) สถานการณ์พลังงานไทย กระทรวงพลังงาน.

[2] Kaewnaree P. (2014) A two step sequential treatment of ethanol distillation bottom liquid by bacterial fermentation and subsequent Chlorella vulgaris culture under continuous illumination of various lights. KKU Research Journal. 19, 98-108.

[3] Wang CC. Chang CW. Chu CP. Lee DJ. Chang L. (2033) Producing hydrogen from wastewater sludge by Clostridium bifermentans. Journal of Biotechnology., 102, 83-92.

[4] Herbert D., Philipps P. J. and Strange R. E (1971) “Carbohydrate analysis”, Method Enzymol., Vol. 5B, pp. 265-77.

[5]. Miller G.L. (1959) “Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar”, Anal. Chem., Vol. 31, pp. 426.

[6] Jessen-Hansen H. (1932) “Johan Kjeldahl, in: Meisen, V. Prominent Danish Scientists through the Ages”, University Library of Copenhagen 450 th Anniversary, Levin & Munksgaard, Copenhagen., pp. 169–172

[7] สุรเดช ภูพันนา (2546) การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำในลำห้วยหลวงในเขตอำเภอสร้างคอม จังหวัดอุดรธานี. โปรแกรมวิชาเคมี คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

[8] McGhee T. J. (1968) "A method for approximation of the volatile acid concentrations in anaerobic digesters", Water Sewage Works., Vol. 155, pp. 162-166.

[9] Li M., Zhao Y., Guo Q., Qian X., Niu D. (2008) Bio – hydrogen production from food waste and sewage sludge in the presence of aged refuse excavated from reuse landfill. Renewable Energy 33, 2573 - 2579

[10] Pattra S., Sangyota S., Boonmee M, Reungsang A. (2008) Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by Clostridium butyricum. International Journal of Hydrogen energy. 33, 5256-5265.

[11] กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม (2539) กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม (ฉบับที่ 3) ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539

[12] Fikret K. and Ebru C. C. (2011) Hydrogen production from olive mill wastewater by electrohydrolysis with simultaneous COD removal. Hydrogen energy 38, 3457 – 3464.

[13] Jinling C., Qi W., Guangce W. and Chaobin D. (2013) Fermentative hydrogen production by a new Mesophilic bacterium Clostridium sp. 6A-5 from the sludge of a sugar mill. Renewable Energy 59 202-209