

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี สมมติฐาน

เป้าหมายหลักของงานวิจัยนี้คือต้องการพัฒนาเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตแก๊สชีวภาพ ซึ่งบริษัทปาล์มพัฒนาชายแดนใต้จำกัดกำลังดำเนินการติดตั้งระบบผลิตแก๊สชีวภาพจาก POME ด้วยถังปฏิกรณ์แบบ Plug flow ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาเพื่อเพิ่มทั้งคุณภาพและปริมาณของแก๊สชีวภาพ โดยการพัฒนาระบบการย่อยสลายสองขั้นตอนแบบไร้อากาศให้มีประสิทธิภาพสูงร่วมกับการประยุกต์การเทคโนโลยีการย่อยสลายร่วมระหว่าง POME และสาหร่ายพวงกะโดน โดยการใช้ข้อได้เปรียบร่วมกันทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (Positive synergisms) ในระบบการย่อยสลายของสารอินทรีย์ต่างชนิดกันส่งผลให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีขึ้น ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตแก๊สชีวภาพสูงตามไปด้วย ในขณะเดียวกันกระบวนการย่อยสลายสองขั้นตอนสามารถผลิตได้ทั้งแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนร่วมกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และมีแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์อีกเล็กน้อย ซึ่งเมื่อนำแก๊สที่ผลิตได้ ไปผ่านกระบวนการกำจัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีประสิทธิภาพเช่นกระบวนการดูดซึมแก๊สก็จะได้แก๊สผสมระหว่างไฮโดรเจนและมีเทนมีชื่อทางการค้าว่าแก๊สไฮเทน ซึ่งเป็นแก๊สเชื้อเพลิงคุณภาพดี

2.1.1 กระบวนการในการสกัดน้ำมันปาล์ม

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างมากในประเทศไทยที่นักลงทุนหันมาสนใจและมีการเพิ่มพื้นที่ทางการเกษตรเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากมีการนำปาล์มน้ำมันมาผลิตน้ำมันพืช เป็นวัตถุดิบต่าง ๆ และผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิงไบโอดีเซล โดยข้อมูลจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตรพบว่า การนำน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตเป็นพลังงานเชื้อเพลิงไบโอดีเซลที่มีความต้องการแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นจากที่มีการศึกษาตั้งแต่ปี 2550 - 2553 และทำให้ความต้องการของน้ำมันปาล์มมีแนวโน้มสูงขึ้นซึ่งหมายถึงปริมาณของผลกระทบจากเศษวัสดุ และน้ำเสียจากกระบวนการต่าง ๆ ภายในโรงงานอุตสาหกรรมที่สกัดเพื่อผลิตน้ำมันปาล์มมีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งของเสียที่เกิดจากการะบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม

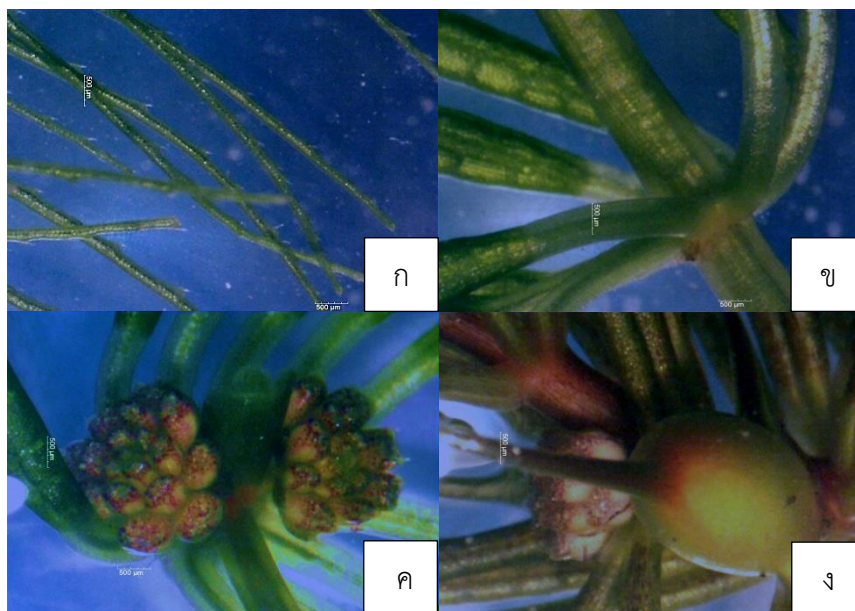
กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มโดยทั่วไปแล้วในโรงงานอุตสาหกรรมนิยมใช้กันเป็นแบบวิธีมาตรฐาน หรือแบบหีบเปียกโดยสกัดน้ำมันปาล์มจากทะลายปาล์มสด ซึ่งผลปาล์มน้ำมันจะมีสองส่วนที่ให้น้ำมันคือเนื้อที่อยู่ระหว่างเปลือกกับกะลาของผลปาล์มและอีกส่วนอยู่ในเมล็ด ขั้นตอนในการสกัดน้ำมันปาล์มแบบหีบเปียกขั้นแรกจะต้องนึ่งทะลายปาล์มสดที่ความร้อนสูงเพื่อทะลายกับผลปาล์มหลุดออกจากกันได้ง่ายขึ้น และเพื่อเป็นการหยุดการเกิดกรดอิสระของน้ำมัน จากนั้นอบและเข้าเครื่องแยกทะลายกับผลปาล์มออกจากกัน และนำผลปาล์มมาสับแยกเปลือกและเนื้อออก เพื่อนำมาหีบให้ได้น้ำมัน ส่วนเมล็ดในจะถูกนำมากะเทาะกะลาออกแล้วอบเนื้อเมล็ดในที่มีมูลค่าสามารถส่งขายเพื่อผลิตน้ำมันคุณภาพสูงต่อไป ซึ่งหลังจากกระบวนการสกัดเอาน้ำมันออกจากผลปาล์มแล้ว จะมีเศษวัสดุที่เหลือจากกระบวนการนี้ได้แก่ กะลาปาล์ม เส้นใยปาล์ม ทะลายปาล์มเปล่า และโดยเฉพาะกระบวนการหีบเปียกที่จะต้องใช้น้ำเป็นปริมาณมาก ซึ่งทำให้เกิดของเสียในรูปของของเหลวใน

ปริมาณที่มากมาย และจำเป็นจะต้องบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เนื่องจากน้ำเสียที่ได้จากการสกัดนี้จะมีการปนเปื้อนของน้ำมันและสารอินทรีย์ต่าง ๆ อุดมไปด้วยองค์ประกอบของธาตุอาหารและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์บางชนิดทำให้แหล่งน้ำนั้นเกิดการบลูมของแพลงตอนพืชเกิดสภาวะขาดออกซิเจนได้ จึงจำเป็นต้องมีการนำไปบำบัดและใช้พืชน้ำบางชนิดที่สามารถช่วยลดสารอินทรีย์ของน้ำเสียจากการนำไปใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโตต่อไป

2.1.2 สาหร่ายพวงชะโด

สาหร่ายพวงชะโดเป็นพืชน้ำที่พบเห็นได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ทั้งในบริเวณน้ำจืดและน้ำกร่อยโดย Pastare *et al.* (2015) พบว่าพืชน้ำชนิดนี้สามารถใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อมทางน้ำโดยมีความสามารถในการดูดซึมสารอาหารได้ สาหร่ายพวงชะโดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Ceratophyllum demersum* ชื่อเรียกทั่วไป Coontail หรือ Hornwort

ลักษณะสำคัญ ลำต้นเป็นสาขากลมเรียวยาว ไม่มีราก ลอยตัวเป็นอิสระอยู่ในน้ำ มีใบออกมารอบ ๆ ข้อเป็นชั้น 6-12 ใบ แตกกิ่งก้านมาก ลอยตัวเป็นกลุ่มใหญ่ บริเวณผิวน้ำ ใบมีลักษณะเป็นเส้น ขอบใบมีหนาม ปลายใบแตกเป็น 2 แฉก มีการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีดอกแยกเพศเกิดที่ซอกโคนใบ ดอกตัวผู้เห็นได้ชัด มีเกสรตัวผู้สีขาวอยู่เป็นกระจุก ไม่มีกลีบดอกและก้านดอก ดอกตัวเมียจะเห็นชัดเจนเมื่อติดผลแล้ว ผลเป็นรูปไข่ สีดำมีหนามย่นยาว 3 อัน



ภาพที่ 2.1 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญของสาหร่ายพวงชะโด
ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (Stereo Microscope)

ก ใบที่มีหนามของสาหร่ายพวงชะโด

ข ใบที่แตกกิ่งรอบข้อ

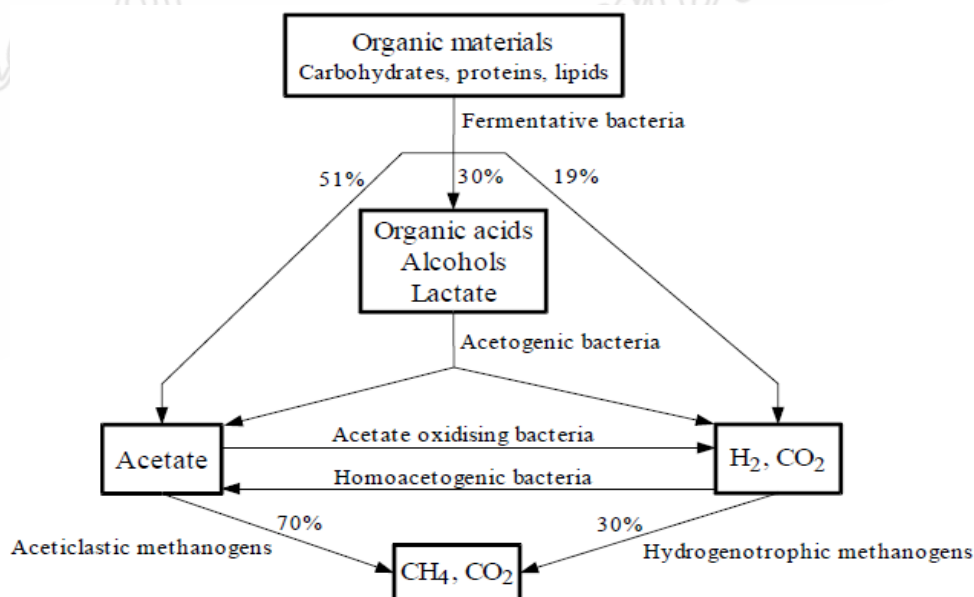
ค ดอกแยกเพศบริเวณซอกโคนใบ

ง ผลรูปไข่มีหนามย่นสามแฉก

ความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีของสาหร่ายชนิดนี้ทำให้มีการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำธรรมชาติ จึงจำเป็นต้องมีการแก้ปัญหา นอกจากการตกเพื่อกำจัดทิ้งแล้ว ยังมีงานวิจัยต่าง ๆ ที่นำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้เป็นชีวมวลสำหรับหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพได้ (Koyama *et al.*, 2014; Pastare *et al.*, 2015) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มความเป็นไปได้สำหรับการนำสาหร่ายพวงคะโมาใช้ในการกระบวนการหมักแบบไร้อากาศได้ และคุณสมบัติของสาหร่ายพวงคะโมาที่มีองค์ประกอบของธาตุคาร์บอนน้อย (Lauka *et al.*, 2015) ทำให้เป็นวัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้สำหรับการใช้ในการหมักร่วมกับ POME ที่มีองค์ประกอบของคาร์บอนสูงกว่าได้เพื่อเป็นการปรับธาตุอาหารที่จะช่วยระบบการย่อยสลายในการเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตแก๊สชีวภาพต่อไป

2.1.3 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ

กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเป็นกระบวนการที่มีการนำจุลินทรีย์ชนิดไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Microorganisms) ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยการปลดปล่อยเอนไซม์และนำสารอาหารไปใช้ภายในเซลล์ โดยกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นจากเอนไซม์ของจุลินทรีย์ จะเปลี่ยนเปลี่ยนสารอินทรีย์ไปเป็นแก๊สชีวภาพที่มีปริมาณของแก๊สมีเทนสูง ซึ่งสามารถใช้เป็นในการผลิตพลังงานเชื้อเพลิง และไฟฟ้าต่อไป โดยมีกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพที่สำคัญ 4 ขั้นตอนหลักดังภาพที่ 2.2 แต่ละขั้นตอนจะอาศัยจุลินทรีย์ต่างชนิดกันในการทำงาน



ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ

ที่มา: Boe (2006)

1) ขั้นตอนไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ขั้นตอนนี้เป็นการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็กลงเช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมันโซ่ยาวตามลำดับ ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นบริเวณภายนอกเซลล์แบคทีเรีย โดยอาศัยเอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมา เพื่อใช้ในการช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เล็กและง่ายต่อการนำมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์

2) ขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์ (Acidogenesis)

ขั้นนี้สารประกอบโมเลกุลขนาดเล็กที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์มาแล้วจะถูกแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด (Acid forming bacteria) ดูดซึมเข้าไปภายในเซลล์เพื่อใช้เป็นอาหารบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานที่ใช้ภายในเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต และอีกส่วนสำคัญคือถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหยได้เช่น อะซิติก บิวทิริก โพรพิโอนิก เป็นต้น จะได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ขั้นตอนนี้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าขั้นตอนการหมัก (Fermentation)

3) ขั้นตอนการผลิตกรดอะซิติก (Acetogenesis)

ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียกลุ่มอะซิโตจีนิค (Acetogenic bacteria) จะเป็นกลุ่มที่สามารถทำการย่อยสลายกรดไขมันระเหยได้ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมขึ้นไปเพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน

4) ขั้นตอนผลิตมีเทน (Methanogenesis)

ขั้นตอนสุดท้ายเป็นขั้นตอนที่สารอินทรีย์จะลดลงจากเริ่มต้นอย่างมากเนื่องจากสารอินทรีย์ที่ถูกเปลี่ยนรูปมาเรื่อย ๆ จากกระบวนการก่อนหน้านี้สามารถถูกนำมาใช้และเปลี่ยนรูปของสารตั้งต้นต่าง ๆ ได้แก่ กรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม Methanogens ที่มีความสามารถในการเกิดกระบวนการสร้างแก๊สมีเทนได้ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนได้

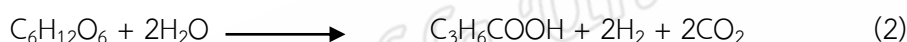
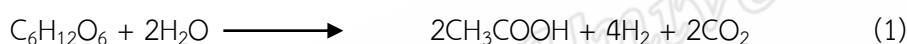
2.1.4 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบแยกเฟสที่อุณหภูมิต่างกัน (Two-stage temperature phased anaerobic digestion: TPAD)

กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบแยกเฟสของอุณหภูมิที่ต่างกัน โดยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศนี้จะถูกแยกออกเป็นสองขั้นตอน ขั้นแรกเป็นการย่อยสลายเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ที่เฟสของอุณหภูมิหนึ่ง และขั้นที่สองเป็นการผลิตมีเทน โดย Pohland and Ghosh (1971) ได้มีการดำเนินการศึกษาเป็นครั้งแรก การดำเนินการสองขั้นตอนนี้สามารถแยกถึงปฏิกิริยาได้เนื่องจากขั้นตอนทั้งสองมีจุลินทรีย์หลักที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายแตกต่างกัน ทำให้มีสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญสำหรับจุลินทรีย์ต่างกัน จากการศึกษา Kongjan *et al.* (2011) พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรดจะดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่าความเป็นกรดในช่วงพีเอช 5-6 ในขณะที่กลุ่มจุลินทรีย์สร้างมีเทนจะดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่าเป็นด่างในช่วงพีเอช 7-8 และค่าการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) ในกระบวนการหมักทั้งสองขั้นตอนนั้นแตกต่างกัน โดยที่กลุ่มจุลินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างกรดจะเจริญเติบโตเร็วกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างมีเทนอย่างมีนัยสำคัญ จากสภาวะความต้องการและลักษณะในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองขั้นตอน

มีความแตกต่างกันทำให้เหมาะสมต่อการแยกถึงปฏิกรณ์อย่างเป็นอิสระต่อกันออกเป็นสองชุดสำหรับดำเนินการของสองขั้นตอน

1) ขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์

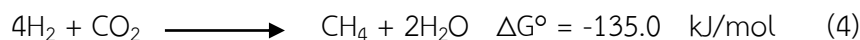
ขั้นตอนนี้ นอกจากจะเป็นขั้นตอนที่ให้ผลผลิตที่มีความเป็นกรดที่อยู่ในรูปของกรดอินทรีย์ขนาดเล็กจากกระบวนการย่อยสลายแล้วยังครอบคลุมตั้งแต่กระบวนการไฮโดรไลซิส สารชีวโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ ให้มีขนาดเล็กลงอีกด้วย โดยผลผลิตที่เกิดขึ้นนอกในรูปของของเหลวแล้วยังมีผลผลิตในรูปของแก๊สอีกด้วย โดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Enterobacter*, *Bacillus* และ *Clostridium* ผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาพร้อมกับกรดอินทรีย์ โดยการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทคาร์โบไฮเดรต จากสมการที่ (1) ได้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนสูงสุดทางทฤษฎี 498 mL-H₂/g-Sugar ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนออกมาพร้อมกับการเกิดกรดอะซิติก ในขณะที่สมการที่ (2) เมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดบิวทิริก ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ได้เพียง 249 mL-H₂/g-Sugar



ถึงแม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักมีผลต่อผลผลิตแก๊สแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีการศึกษาโดย O-Thong *et al.* (2008) ยังมีปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการการผลิตแก๊สไฮโดรเจนอีกเช่น ธาตุอาหาร (Nutrient), ระบบบัฟเฟอร์ (Buffers), ค่าความเป็นกรดเบส (pH), ระยะเวลาการกักเก็บของของเหลว (hydraulic retention time: HRT), ความดันย่อย (partial pressure) ของแก๊สไฮโดรเจน และ อุณหภูมิ (Temperature) โดยจากการศึกษา Kengen *et al.* (2009) พบว่าการควบคุมอุณหภูมิที่สภาวะเทอร์โมฟิลิกมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี และทางชีววิทยาสูงกว่าที่สภาวะเมโซฟิลิก ซึ่งการดำเนินการที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก ยังช่วยเพิ่มการละลายของของเหลวทำให้ใช้พลังงานน้อยกว่าในการผสม (Lee *et al.*, 2009) และผลจากอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่เร็ว ส่งผลให้ระยะเวลาในการกักเก็บของของเหลว (HRT) สั้นลงทำให้สามารถออกแบบลดขนาดของถังปฏิกรณ์ลงได้ (Lu *et al.*, 2008) นอกจากนี้การเกิดสารชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากกรดอะซิติก และ บิวทิริก ที่ไม่ให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนร่วมด้วย ได้แก่ กรดแลคติก กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และ แอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ นี้เป็นผลทำให้ผลผลิตที่ได้นั้นมีข้อจำกัด และทำให้ผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนที่ได้จากการหมักจริงน้อยกว่าค่าทางทฤษฎี

2) ขั้นตอนการสร้างมีเทน

ขั้นตอนนี้ เป็นขั้นที่ให้ผลผลิตเป็นแก๊สมีเทนเป็นผลผลิตสุดท้าย ซึ่งขั้นนี้ยังรวมถึงขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติกด้วย โดยกลุ่มแบคทีเรีย (Homo) acetogenic bacteria เช่น *Butyribacterium methylophilum* ซึ่งเป็นการเปลี่ยนกรดชนิดต่าง ๆ ให้อยู่ในรูปของกรดอะซิติก โดยจุลินทรีย์ผลิตแก๊สมีเทนจะใช้สารละลายกรดอะซิติก ที่ได้จากขั้นตอนการผลิตแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนการสร้างกรด



จากสมการที่ (3) กรดอะซิติกจะถูกส่งต่อไปยังขั้นตอนการผลิตแก๊สมีเทน พบในจุลินทรีย์กลุ่ม Aceticlastic Methanogens ที่เปลี่ยนได้เฉพาะกรดอะซิติกให้เป็นผลผลิตแก๊สมีเทน ในขณะเดียวกัน แก๊สไฮโดรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ถูกเปลี่ยนไปเป็นแก๊สมีเทนได้เช่นกัน พบในกลุ่มจุลินทรีย์ Hydrogenotrophic Methanogens ซึ่งได้แก่จุลินทรีย์สายพันธุ์ *Methanobrevibacter arboriphilus* ที่สามารถเปลี่ยนได้เฉพาะแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ไปเป็นแก๊สมีเทน ดังแสดงในสมการที่ (4) โดย Stams *et al.* (2005) ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Methanosarcina* spp. นั้นสามารถเปลี่ยนได้ทั้งกรดอะซิติกและแก๊สไฮโดรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้ผลผลิตเป็นแก๊สมีเทน

ข้อได้เปรียบของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอน

(1) เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้สูงขึ้น เนื่องจากทั้งสองขั้นตอนของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศถูกดำเนินการอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จึงเป็นผลให้ได้ปริมาณแก๊สเชื้อเพลิงสูงตามไปด้วย

(2) มีความเสถียรของกระบวนการสูง จึงสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ที่มีอัตราบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูงได้ สามารถย่อยสลายของเสียชีวมวลได้ในปริมาณมาก

(3) สามารถออกแบบถังปฏิกรณ์ให้มีขนาดเล็กลงได้ เป็นการลดงบประมาณในการสร้างถังปฏิกรณ์

(4) ความเข้มข้นของแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพสูงประมาณร้อยละ 65-75 ซึ่งสูงกว่าแก๊สมีเทนที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายขั้นตอนเดียวเป็นร้อยละ 50-60

(5) มีประสิทธิภาพในการใช้พลังงานสุทธิ

2.1.5 ถังปฏิกรณ์ย่อยสลายแบบไร้อากาศ

ถังปฏิกรณ์ย่อยสลายแบบไร้อากาศ (Conventional anaerobic digesters) ที่ใช้สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพได้แก่ถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์ และถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่อง (Semi-continuous or Continuous) โดยที่ถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องจะได้รับความนิยมมากกว่าเนื่องจากสามารถควบคุมอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (Maximum growth rate) ของจุลินทรีย์ให้สม่ำเสมอได้ในสภาวะการปฏิบัติการแบบคงตัว (Steady state) ด้วยวิธีการควบคุมอัตราการป้อนสารอินทรีย์เข้าถังปฏิกรณ์ ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์ไม่สามารถควบคุมได้เนื่องจากความเข้มข้นของสารอินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์จะเปลี่ยนตามเวลา (Boe, 2005) โดยทั่วไปแล้วถังปฏิกรณ์ชนิดแบทช์จะใช้สำหรับการศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สมีเทน (Biomethane potential: BMP) และจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับการออกแบบถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่อง (Angelidaki *et al.*, 2005)

การศึกษานี้สนใจที่จะนำถังปฏิกรณ์ชนิดป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องมาพัฒนาเป็นระบบผลิตแก๊สชีวภาพจากของเสียอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากถังปฏิกรณ์ป้อน (กึ่ง) ต่อเนื่องจะทำงานโดยขึ้นอยู่กับสมบัติของสารป้อนเป็นหลัก ถ้าหากสารป้อนมีลักษณะเป็นของแข็งและของแข็งแขวนลอย ถังปฏิกรณ์ที่ใช้จะเป็นชนิดถังกวนแบบต่อเนื่อง (Continuously stirred tank reactor: CSTR) ซึ่งเป็นถังปฏิกรณ์ที่มีการกวนผสมภายในถังตลอดเวลาทำให้จุลินทรีย์ได้สัมผัสกับสารอินทรีย์อย่างทั่วถึง ส่งผลให้ช่วยเพิ่มความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพ (Boe, 2005) ถังปฏิกรณ์อีกชนิดหนึ่งที่มีความนิยมและมีการติดตั้งในระดับเชิงพาณิชย์ สำหรับผลิตแก๊สชีวภาพในโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มได้แก่ ถังปฏิกรณ์แบบท่อไหล (Plug flow reactor: PFR) มีลักษณะเป็นบ่อแบบราง ที่มีการไหลในแนวระดับโดยให้มีการผสมในแนวตั้งฉากกับการไหลของน้ำ ถังปฏิกรณ์ PFR สามารถควบคุมให้ Solid retention time (SRT) มีค่าสูงกว่า Hydraulic retention time (HRT) ทำให้ไม่เกิดปัญหาการหลุดออกจากกระบอกของจุลินทรีย์ เป็นผลให้สามารถออกแบบให้ถังปฏิกรณ์มีขนาดและสามารถรับอัตราบรรทุกสารอินทรีย์และความเข้มข้นสารอินทรีย์ได้สูง (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2553)

2.1.6 ถ้ำปาล์ม

กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มดิบ Yin *et al.*, 2008 กล่าวว่า มีขั้นตอนที่ต้องใช้ไอน้ำคือการนึ่งปาล์มและการสกัดน้ำมัน โดยใช้เส้นใยหรือทะลายปาล์มเปล่าเป็นเชื้อเพลิงที่อุณหภูมิประมาณ 800°C ถ้ำที่ได้จากการเผาไหม้เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์จากการศึกษาของ Lahijani *et al.* (2013) ถ้ำที่ได้เป็นสารประกอบโลหะออกไซด์ โดยสัดส่วนของโลหะออกไซด์ขึ้นอยู่กับปริมาณของเส้นใยหรือทะลายปาล์มเปล่าที่ใช้เนื่องจากแต่ละส่วนมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์ต่างกัน องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นออกไซด์ของโพแทสเซียม Madhiyanon *et al.* (2012) รายงานองค์ประกอบของถ้ำจากทะลายปาล์มเปล่าดังนี้ K₂O (55.48%), SiO₂ (12.12%), CaO (9.65%), P₂O₅ (3.58%), MgO (1.90%), Al₂O₃ (0.26%) และ Na₂O (0.09%) นอกจากนี้ Yin *et al.* (2008) รายงานว่าจากการวิเคราะห์ถ้ำจากทะลายปาล์มเปล่าพบองค์ประกอบของโลหะหนักเช่น Cd, Pb และ Ni น้อยกว่า 0.2 mg/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่น้อยไม่เป็นพิษ

สำหรับค่าความเป็นกรดต่างที่ได้จากการละลาย เมื่อนำถ้ำไปละลายน้ำได้สารละลายที่มีค่า pH มากกว่า 10 สารประกอบ K₂O และ Na₂O จะกลายเป็น KOH และ NaOH ซึ่งเป็นด่างแก่ P₂O₅ เปลี่ยนเป็น H₃PO₄ CaO และ MgO ละลายน้ำได้เล็กน้อย ในขณะที่มีออกไซด์บางตัวไม่ละลายน้ำเช่น SiO₂ และ Al₂O₃ ดังนั้นจึงเป็นแนวคิดที่น่าสนใจในการนำถ้ำปาล์มเตรียมสารละลายต่างเพื่อใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์

2.1.7 หลักการวิเคราะห์เชื้อด้วย PCR-DGGE

Polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาลักษณะโครงสร้างของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ผสม โดยขั้นตอนสำหรับการศึกษานี้ มีขั้นหลักอยู่ 3 ขั้นตอน คือการสกัด DNA การเพิ่มจำนวน DNA และการทดสอบหาโครงสร้างของเชื้อด้วยเทคนิค DGGE เริ่มต้นการวิเคราะห์ต้องดำเนินการสกัด DNA ของเชื้อที่ผสมหรือปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์เชื้อที่ผสมอยู่ในน้ำหมักผสมที่อยู่ในถังหมักหรือน้ำหมัก

ปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เซลล์ตกตะกอน ล้างด้วยน้ำกลั่นสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นสกัด DNA ออกด้วยชุดทดสอบ QIAgen จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วน DNA ด้วยเทคนิค (Polymerase Chain Reaction: PCR) ที่จำเป็นต้องใช้องค์ประกอบสำหรับการเพิ่มจำนวนดังนี้ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์, DNA polymerase ต้องเป็นเอนไซม์ชนิดทนความร้อน, ไพโรเมอร์ และ deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) 4 ชนิด โดยไพโรเมอร์ universal primer 1492r และ bacteria-specific primer 27f เป็นไพโรเมอร์จำเพาะสำหรับแบคทีเรีย ส่วนในกลุ่มของอาร์เคียจะใช้ไพโรเมอร์ Arch21f และ Arch958r (Lane, 1991) และใช้สารละลาย KCl 50 mM, Tris-HCl (pH 8.4) 20 mM และ MgCl₂ 25 mM ในขั้นตอนการทำ PCR จะเตรียมสารสำหรับทำปฏิกิริยา โดยปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดขึ้นซ้ำ ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่โดยการเกิดขึ้นในแต่ละรอบจะมีขั้นตอน 3 ขั้นตอนประกอบไปด้วยขั้นตอน ดังนี้

1. ขั้นตอนการแยกสาย DNA เกลียวคู่ออกจากกัน (Denaturation) เป็นขั้นตอนของการแยกสายของ DNA เกลียวคู่ของ DNA แม่พิมพ์ ให้เป็นสายเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 90-95 °C ที่เพียงพอสำหรับการสลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส
2. ขั้นตอนการจับกันของไพโรเมอร์กับ DNA แม่แบบ (Annealing) หลังจากแยกสาย DNA จากกันแล้วจึงลดอุณหภูมิลงที่ 50-55 °C เพื่อให้ DNA สังเคราะห์สายสั้น ๆ หรือเรียกว่า Primer สามารถเข้าไปจับกับ DNA แม่พิมพ์สายเดี่ยวบริเวณที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คู่สม
3. ขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA สายใหม่จากไพโรเมอร์ (Extension) เป็นขั้นตอนที่มีการสร้างสาย DNA สายใหม่ที่ต่อจาก Primer ในทิศทางจาก 5' ไป 3' ที่อุณหภูมิ 68-72 °C

เทคนิควิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้คือเทคนิค DGGE เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสามารถใช้แทนเทคนิคเดิม ๆ ได้หลักการในการดำเนินการเริ่มจากนำส่วนของสาย DNA ที่ได้ถูกแยกไปวิเคราะห์หาลำดับเบส มาจากเทคนิค DGGE คือสายของ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียแต่ละชนิด ซึ่งสามารถนำไปเปรียบเทียบกับสายของ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียที่ได้ทราบถึงชนิดแล้วจากฐานข้อมูล เพื่อตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียว่าเป็นชนิดใด ขั้นตอนของ DGGE analysis เริ่มจากการสกัด DNA ทั้งหมด และทำให้บริสุทธิ์ จากนั้นใช้ Universal primer เข้าไปจับกับสาย DNA บริเวณที่จำเพาะเจาะจงที่บริเวณส่วนของ 16S rRNA gene จากนั้นทำการแยกสาย DNA จากตัวอย่าง โดย DGGE ซึ่งสาย DNA ที่แยกได้จาก DGGE จะถูกแยกออกจาก DGGE gel เพื่อนำไปใช้หาลำดับเบส เป็นการหาความสัมพันธ์ของลำดับเบส 16S rRNA gene ที่ได้มาจากการหาลำดับเบส (Sequencing) และจำแนกแฉกแฉงชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบได้

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การย่อยสลายไร้อากาศพรรณไม้ได้น้ำและการย่อยสลายร่วมกับซัสเตรตชนิดต่าง ๆ

Costa *et al.* (2012) ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตมีเทนชีวภาพจากสาหร่ายขนาดใหญ่ *Ulva* spp. และ *Gracilaria* spp. ที่ย่อยสลายร่วมกับสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้ง พบว่ามีความเป็นไปได้ในการผลิตมีเทนจากสาหร่ายขนาดใหญ่ 4 สายพันธุ์ ของจีนัส *Ulva* และ *Gracilaria* จากการทดลองแบบแบตช์ที่ควบคุมอุณหภูมิที่สภาวะเมโซฟิลิกและมีความเข้มข้นของของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 2.5 พบว่าผลผลิตมีเทนต่อหน่วยของแข็งระเหยได้ที่ได้จาก *Ulva* sp. มีค่า 196±9 L-CH₄/kg-VS ซึ่ง

สูงกว่าสาหร่ายขนาดใหญ่ชนิดอื่น ๆ โดยสาหร่ายขนาดใหญ่เหล่านั้นสามารถผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพในขั้นตอนสุดท้ายของการบำบัดน้ำเสียชุมชนเพื่อกำจัดสารอาหาร งานวิจัยนี้ยังได้ประเมินการย่อยสลายร่วมของสาหร่ายขนาดใหญ่กับสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งพบว่าการย่อยสลายร่วมระหว่างสาหร่ายร้อยละ 15 และสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งร้อยละ 85 นั้นมีความเป็นไปได้ โดยมีอัตราการผลิตของมีเทนสูงกว่าการย่อยสลายของสลัดจ์กัมมันต์เหลือทิ้งเพียงอย่างเดียวถึงร้อยละ 26

Pastare et al. (2015) ศึกษาศักยภาพการผลิตมีเทนจากสาหร่ายพวงชะโด (*Ceratophyllum demersum*) ในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ (ขวดซีรัมขนาด 100 ml และมีปริมาตรใช้งาน 60 ml) ที่สภาวะอุณหภูมิ 37°C และแปรผันอัตราส่วนผสมระหว่างสาหร่ายพวงชะโดและกล้าเชื้อที่อัตราส่วน 1:3 1:5 และ 1:10 (VS Basis) ผลการผลิตมีเทนสูงสุด 471 L-CH₄/kg-VS ได้จากถังปฏิกรณ์ที่ใช้อัตราส่วนผสมระหว่างสาหร่ายพวงชะโดและกล้าเชื้อ 1:10 (VS Basis)

Koyama et al. (2014) พืชน้ำซึ่งรวมถึงพรรณไม้ใต้น้ำได้มีการขยายพันธุ์อย่างมากและก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำจืดในหลาย ๆ ประเทศและได้มีการศึกษาการบำบัดอย่างยั่งยืน ในงานวิจัยนี้ พรรณไม้ใต้น้ำ 5 สายพันธุ์ (*Ceratophyllum demersum*, *Egeriadensa*, *Elodea nuttallii*, *Potamogeton maackianus* และ *Potamogeton malaianus*) ซึ่งมีอยู่ในทะเลสาบ Biwa ประเทศญี่ปุ่น เป็นจำนวนมากได้ถูกนำมาใช้เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายไร้อากาศเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการย่อยสลายไร้อากาศ องค์ประกอบลิกนินของพรรณไม้ใต้น้ำมีปริมาณในช่วงกว้างระหว่างร้อยละ 3.2-20.7 ของปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพรรณไม้ใต้น้ำ นอกจากนี้พบว่าปริมาณลิกนินที่พบในพรรณไม้ใต้น้ำมีการกรด hydroxycinnamic acids เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 27.2-59.4 โดยลิกนินชนิดนี้สามารถแตกสลายด้วยด่างได้ง่ายกว่าเมื่อเทียบกับไม้ใหญ่ ผลผลิตได้มีเทนผันแปรตามสายพันธุ์ของพรรณไม้ใต้น้ำในช่วง 161.2-360.8 mL-CH₄/g-VS ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนเป็นมีเทนของ *C. demersum*, *El. nuttallii*, *Eg. densa*, *P. maackianus* และ *P. malaianus* เท่ากับร้อยละ 57.1 61.4 60.6 33.9 และ 72.2 ตามลำดับ จากผลการทดลองได้บ่งชี้ว่า *C. demersum*, *El. Nuttallii*, *Eg. densa*, และ *P. malaianus* มีความเป็นไปได้ในการย่อยสลายไร้อากาศเนื่องจากให้ผลผลิตได้มีเทนสูง งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ผลผลิตมีเทนจากพรรณไม้ใต้น้ำขึ้นอยู่กับปริมาณลิกนินเช่นเดียวกับชีวมวล ลิกโนเซลลูโลสทั่วไป

Koyama et al. (2015) ศึกษาผลของการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีเคมี-ความร้อนร่วมกับวิธีอัลคาไลน์ต่อความสามารถย่อยสลายของพรรณไม้ใต้น้ำสองสายพันธุ์ ซึ่งมีปริมาณลิกนินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงสุดได้มาจากการใช้ปริมาณ NaOH 0.2 g/g-TS_{substrate} 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทั้งสองสายพันธุ์ การกำจัดลิกนินด้วยวิธีอัลคาไลน์สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนในสายพันธุ์ ที่มีองค์ประกอบลิกนิน (*Potamogeton maackianus*) เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ที่มีลิกนินปริมาณต่ำ (*Egeria densa*) กรด Ferulic ซึ่งเชื่อมระหว่างลิกนินและน้ำตาลโมเลกุลใหญ่มีปริมาณลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ NaOH ดังนั้นจึงบ่งชี้ว่าสารอัลคาไลน์สามารถกำจัดสารประกอบเชิงซ้อน lignin-ferulate ออกจากพื้นผิวของน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ได้ ผลได้ของมีเทนจาก *P. maackianus* ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นเท่ากับ 243 mL-CH₄/g-VS มีค่าสูงกว่าร้อยละ 51 เทียบกับชุดที่ไม่มีการบำบัดเบื้องต้น ตรงกันข้ามกับผลได้มีเทนจาก *E. densa* ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น มี

ค่าสูงกว่าร้อยละ 24 เทียบกับชุดที่ไม่มีการบำบัดเบื้องต้น ผลการทดลองบ่งชี้ว่าการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีเคมี-ความร้อนร่วมกับวิธีอัลคาไลน์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการย่อยสลายไร้อากาศของพืชน้ำที่มีลิกนินในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามการเติม NaOH ปริมาณสูงสามารถยับยั้งการผลิตมีเทนได้เนื่องจากการเพิ่มการละลายของลิกนินในสารที่ถูกย่อยได้

Toru and Koike (2010) ได้ทำการศึกษาการผลิตแก๊สมีเทนจากการร่วมย่อยสลายของสาหร่ายทะเลและนมในโรงงานต้นแบบ สาหร่ายทะเลที่นำมาใช้ในการศึกษาค้างนี้เป็นสายพันธุ์ที่พบได้ทั่วไปที่ประเทศญี่ปุ่น ได้แก่ *Laminaria* sp. และ *Ulva* sp. โดยการนำสาหร่ายมาผสมกับนมซึ่งเป็นซับสเตรตหลักในการหมักในอัตราส่วนและปริมาณที่แตกต่างกัน พบสามารถผลิตแก๊สมีเทนมีค่าอยู่ในช่วง 0.2-0.3 m³-CH₄/Kg-COD และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์หลังการหมักมีค่าน้อยกว่า 1200 ppm เมื่อถึงปฏิกิริยาเข้าสู่สภาวะคงตัว ผลจากการศึกษาได้แสดงถึงสภาวะการเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ ที่มีความเสถียรในการใช้สารอินทรีย์ชนิดอื่นเช่นนมเข้าย่อยสลายร่วม ซึ่งช่วยลดความแปรปรวนของกระบวนการ ซึ่งเกิดจากย่อยสลายเฉพาะสาหร่ายทะเลได้ งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นศักยภาพของการใช้สาหร่ายทะเลสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ

Yen and Brune (2007) เนื่องจากสาหร่ายมีสัดส่วนระหว่าง C/N ต่ำ ซึ่งเป็นปัจจัยข้อจำกัดหลักต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการเพิ่มส่วนของธาตุคาร์บอนที่ได้จากของเสียกระดาษผสมกับสลัดจ์ของสาหร่ายเพื่อให้ได้สัดส่วนที่สมดุลของ C/N สำหรับการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศระหว่างสลัดจ์ของสาหร่ายและของเสียกระดาษ ที่สภาวะอุณหภูมิ 35°C อัตราบรรทุกสารอินทรีย์ 4 g-VS/d.L และระยะเวลาเก็บของของเหลว 10 วัน จากการทดลองพบว่า การเติมของเสียกระดาษร้อยละ 50 (บนฐานสารอินทรีย์ระเหยได้ (VS)) ได้ อัตราการผลิตมีเทน 1173±75 mL-CH₄/d.L ซึ่งเพิ่มขึ้นประมาณสองเท่าเมื่อเทียบกับอัตราการผลิตมีเทน 573±28 mL-CH₄/d.L ซึ่งได้จากการย่อยสลายสาหร่ายเพียงอย่างเดียว อัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 1607±17 mL-CH₄/d.L เกิดจากการใช้อัตราป้อนสารอินทรีย์ 5g-VS/d.L โดยการเติมของเสียกระดาษร้อยละ 60 (VS Basis) ผสมกับของสลัดจ์ของสาหร่าย จากผลการวิจัยในครั้งนี้พบค่าสัดส่วนที่เหมาะสมของ C/N อยู่ในช่วง 20-25/1

Zhong *et al.* (2012) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศแบบแบดจ์ของสาหร่ายสีน้ำเงิน (Taihu) โดยใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อประเมินผลกระทบของการเติมของซังข้าวโพดซึ่งมีปริมาณคาร์บอนสูงสำหรับการย่อยสลายของสาหร่ายไทฮูสีน้ำเงิน เพื่อให้ได้อัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมีเทนให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น การเติมซังข้าวโพดในสาหร่ายที่อัตราส่วน C/N ที่ 20/1 ให้ผลผลิตของมีเทนเพิ่มขึ้นร้อยละ 61.69 คือ 325 mL-CH₄/g-VS (เปรียบเทียบกับ 201 mL-CH₄/g-VS ของการย่อยสลายสาหร่ายเพียงอย่างเดียว) อัตราส่วน C/N ที่ 16/1 และที่ 25/1 ดำเนินการที่ 20 g-VS/L และอุณหภูมิ 35°C ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของ C/N สำหรับการย่อยสลายร่วมกับซังข้าวโพดที่อัตราส่วน C/N ที่ 20/1

2.2.2 การผลิตแก๊สชีวภาพหรือแก๊สไฮโดรเจนจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

POME เป็นซับสเตรตที่มีศักยภาพสูงทั้งในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทน ดังนั้นจึงมีการศึกษาปริมาณแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนด้วยถึงปฏิกิริยาป้อนต่อเนื่องชนิดต่าง ๆ

ตารางที่ 2.1 ปริมาณแก๊สไฮโดรเจนและแก๊สมีเทนที่ผลิตได้จาก POME ด้วยถังปฏิกรณ์แบบบ่อนต่อเนื่องต่างชนิด

ผู้วิจัย	แหล่ง/เชื้อจุลินทรีย์	ถังปฏิกรณ์ (อุณหภูมิ)	OLR	ผลได้ไฮโดรเจน	ผลได้มีเทน
Badiei <i>et al.</i> (2011)	Mixed microflora	ASBR (37°C)	20 gCOD/L.d	340 mL/gCOD	-
Choorit and Wisarnwan (2007)	Digested sludge	CSTR (55°C)	17 gCOD/L.d	-	3.24 L/L-reactor d
Fang <i>et al.</i> (2011)	Cow manure	UASB (55°C)	5.8 gVS/L _{reactor} .d	-	436 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011)	Cow manure	EGSB (55°C)	5.8 gVS/L _{reactor} .d	-	438 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011) (De-oiled POME)	Cow manure	UASB (55°C)	2.6 gVS/L _{reactor} .d	-	600 mL/gVS _{added}
Fang <i>et al.</i> (2011) (De-oiled POME)	Cow manure	EGSB (55°C)	2.6 gVS/L _{reactor} .d	-	555 mL/gVS _{added}
Mamimin <i>et al.</i> (2012)	<i>Thermoanaerobac trum rich</i> sludge	CSTR (60°C)	2.8 gCOD/L.d	4.2 L/L POME	-
Najafpour <i>et al.</i> (2006)	Anaerobic granular sludge	UASFF (38°C)	23 gCOD/L.d	-	346 mL/gCOD
Zhang <i>et al.</i> (2008)	Digested sludge	EGSB (55°C)	17.5 kgCOD/m ³ .d	-	70%
Zinatizadeh <i>et al.</i> (2006)	Digested sludge	UASFF (38°C)	23.15 gCOD/L.d	-	325 mL/gCOD

ASBR: Anaerobic Sequencing Batch Reactor

CSTR: Continuous Stirred Tank Reactor

EGSB: Expanded Granular Sludge Blanket Reactor

UASB: Up-flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor

UASFF: Up-flow Anaerobic Sludge Fixed Film Reactor

2.2.3 กระบวนการย่อยสลายสองขั้นตอนแบบไร้อากาศสำหรับการผลิตไฮโดรเจน และมีเทน

Lee *et al.* (2010) ศึกษากระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบสองขั้นตอนที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกซ์ โดยใช้อาหารเหลือทิ้งที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ร้อยละ 10 โดยทำให้แปรผันค่าอัตราบรรทุกสารอินทรีย์ (OLR) เพื่อการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนควบคู่ไปกับการบำบัดค่าความเข้มข้นในการกระจาย COD ในไฮโดรเจน และการปรับ pH โดยไหลวนสลัดจ์จากถังเก็บสลัดจ์สำหรับการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนเพื่อใช้เป็นบัพเฟอร์ โดยที่ค่า pH ในถังปฏิกรณ์สำหรับการหมักไฮโดรเจน จะสามารถถูกควบคุมให้มีค่าอยู่ในช่วง 5.4-5.7 โดยไหลวนสลัดจ์ในสัดส่วน

$Q_r/Q_i = 1$ อัตราการผลิตเฉลี่ยของไฮโดรเจนและมีเทนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $11.1 \text{ L-H}_2/\text{L}_{\text{substrate}}$ และ $47.4 \text{ L-CH}_4/\text{L}_{\text{substrate}}$ เมื่อใช้ค่า OLR เท่ากับ 39 g-COD/L/d (ถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจน) และเท่ากับ 4.16 g-COD/L/d ตามลำดับผลการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าเสถียรภาพระยะยาวของกระบวนการสองขั้นตอนแบบต่อเนื่องสามารถเกิดขึ้นได้โดยการไหลวนสลัดจ์ที่มีความเป็นต่างสูง ซึ่งมีค่าประมาณ $6.7\text{-}7.5 \text{ g-CaCO}_3/\text{L}$ โดยไม่ต้องมีการเติมสารเคมีเพิ่ม

Kongjan *et al.* (2011) ศึกษากระบวนการสองขั้นตอนของการผลิตไฮโดรเจนที่อุณหภูมิเอ็กซ์ตรีมเทอร์โมฟิลิกซ์ (70°C) พ่วงต่อการผลิตแก๊สมีเทนที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกซ์ (55°C) โดยใช้ไฮโดรไลสเสทของฟางข้าวสาลีและเครื่องปฏิกรณ์ชนิดยูเอเอสบีในระดับปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่ามีค่าผลได้ของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทนเท่ากับ $89 \text{ mL-H}_2/\text{g-VS}$ และ $307 \text{ mL-CH}_4/\text{g-VS}$ ตามลำดับจากการปฏิบัติการทดลองที่ระยะเวลาพักเก็บ (HRT) ทั้งหมด 4 วัน (HRT เท่ากับ 1 วัน ในขั้นตอนที่หนึ่ง และ HRT 3 วัน ในขั้นตอนที่สอง) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งระเหยได้เท่ากับร้อยละ 81 กระบวนการสองขั้นตอนนี้ยังสามารถที่จะผลิตพลังงานรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มจากร้อยละ 7.5 ในเฉพาะขั้นตอนการผลิตไฮโดรเจนไปเป็นร้อยละ 87.5 ของศักยภาพการผลิตพลังงานจากไฮโดรไลสเสท ซึ่งคิดเป็นปริมาณพลังงานที่ผลิตได้ประมาณ 13.4 kJ/g-VS

Kongjan *et al.* (2013) ศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของ OLR และ HRT สำหรับการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจาก de-sugared molasses (DM) ด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองขั้นตอนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ Up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) ที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) เมื่อป้อน DM ที่ OLR 42.4 g-VS/d.L (HRT 12 ชั่วโมง) เข้าถังปฏิกรณ์ผลิตไฮโดรเจน พบมีผลได้ไฮโดรเจน $132 \text{ mL-H}_2/\text{g-VS}$ และเมื่อป้อนน้ำทิ้งจากขั้นตอนที่หนึ่งเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ผลิตมีเทนที่ พบมีผลได้มีเทน $239 \text{ mL-CH}_4/\text{g-VS}$ ที่ HRT 3 วัน นอกจากนี้พบว่ากระบวนการสองขั้นตอนสามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้ถึงร้อยละ 95

Kvesitadze *et al.* (2011) ศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศระหว่างขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอนด้วยขยะอินทรีย์ชุมชน (Municipal solid waste: MSW) โดยใช้ถังปฏิกรณ์ Plug flow ที่สภาวะอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก (55°C) และใช้ HRT 12 ชั่วโมง และ 5 วัน ในถังปฏิกรณ์ขั้นที่หนึ่งและสองตามลำดับ ระบบถังปฏิกรณ์สองขั้นตอนสามารถให้ผลได้แก๊สไฮโดรเจนและมีเทน 12 m^3 และ $110 \text{ m}^3/\text{Ton}$ -ขยะเปียกตามลำดับ แก๊สในขั้นตอนที่หนึ่งมีความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 50.7 และ 49.2 ตามลำดับ ส่วนแก๊สในขั้นตอนที่สองมีความเข้มข้นของแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 78.6 และ 21.4 ตามลำดับ ในขณะที่กระบวนการขั้นตอนเดียวสามารถผลิตมีเทนได้ $90 \text{ m}^3/\text{Ton}$ -ขยะเปียก และแก๊สชีวภาพมีความเข้มข้นของแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 และ 40 ตามลำดับ ผู้วิจัยได้ประเมินการเพิ่มกระบวนการหมักในขั้นตอนที่หนึ่งต่อจากกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพขั้นตอนเดียวที่ดำเนินการอยู่แล้วมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนน้อย