

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนชีวภาพจากผักตบชวาที่
ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริก
โดยการหมักแบบไม่ใช้ออกาศ
BIOHYDROGEN AND BIOMETHANE PRODUCTION FROM
WATER HYACINTH PRETREATED WITH
PHOSPHORIC ACID USING ANAEROBIC FERMENTATION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOHYDROGEN AND BIOMETHANE PRODUCTION FROM
WATER HYACINTH PRETREATED WITH
PHOSPHORIC ACID USING ANAEROBIC FERMENTATION



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2019

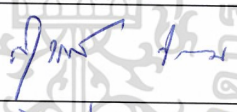
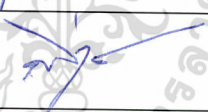
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนชีวภาพจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกโดยการหมักแบบไม่ใช้ออกาศ
BIOHYDROGEN AND BIOMETHANE PRODUCTION FROM WATER HYACINTH PRETREATED WITH PHOSPHORIC ACID USING ANAEROBIC FERMENTATION

ชื่อนักศึกษา นายกมลภพ แจ่มจรัส รหัสนักศึกษา 59050532
 นายธัญบุรณ์ นามวงษ์ รหัสนักศึกษา 59050566
 นางสาวอริญา แซ่ลี้ม รหัสนักศึกษา 59050637

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2562
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม) ประจำปีการศึกษา 2562

คณะกรรมการ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. สุวรรณิ จรรยาพูน ประธานกรรมการ	
ดร. กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์ กรรมการ	
ผศ. พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนชีวภาพจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกโดยการหมักแบบไม่ใช้อากาศ		
ชื่อนักศึกษา	นายกมลภพ แจ่มจรัส	รหัสนักศึกษา	59050532
	นายธัญบุรณ์ นามวงษ์	รหัสนักศึกษา	59050566
	นางสาวอริญา แซ่ลี้	รหัสนักศึกษา	59050637
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีสิ่งแวดล้อม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
ปีการศึกษา	2562		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย		

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณผักตบชวาต่อปริมาตรของสารละลายกรดในอัตราส่วน 1:20 ที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งผักตบชวาที่นำมาทดลองนั้นมีค่า COD:N:P เท่ากับ 193.6 : 5.26 : 1 ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำมาหมักเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ โดยทำการปรับสภาพผักตบชวากับกรดฟอสฟอริก 5% ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 5 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งใช้ปริมาณผักตบชวา 20 กรัมและ 30 กรัมจากนั้นได้นำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพแล้วมาทำการหมักแบบไม่ใช้อากาศร่วมกับจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาปริมาณก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนชีวภาพที่เกิดขึ้น โดยผลจากการศึกษาก่อนเริ่มกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจนพบว่าที่ปริมาณผักตบชวา 20 และ 30 กรัมมีสารอาหารในรูปซีไอดีละลายเท่ากับ 6854 และ 6400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับและเมื่อทำการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนเป็นเวลา 15 วันโดยทำการเก็บตัวอย่างก๊าซที่เกิดขึ้นทุกๆ 24 ชั่วโมง พบว่าที่ปริมาณผักตบชวา 20 และ 30 กรัมให้ปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมเท่ากับ 345.6 และ 190.6 มิลลิตรตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน พบว่ามีกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเกิดขึ้น โดยมีปริมาณของกรดบิวไทรริกมากที่สุด ซึ่งได้นำสารละลายมาใช้ในการหมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพต่อพบว่าที่ปริมาณผักตบชวา 20 กรัมให้ปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมเท่ากับ 12.5 มิลลิตร ขณะที่ปริมาณผักตบชวา 30 กรัมไม่เกิดก๊าซมีเทนชีวภาพ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักได้นำสารละลายที่ใช้ในการหมักไปวิเคราะห์หาปริมาณไอออนประจุบวกพบว่ามีปริมาณโซเดียมไอออนในชุดการทดลองที่ใช้ผักตบชวา 20 และ 30 กรัม เท่ากับ 30176 และ 45836 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : กรดฟอสฟอริก, การหมักแบบไม่ใช้อากาศ, ผักตบชวา, ก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ , ก๊าซมีเทนชีวภาพ, การปรับสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	BIOHYDROGEN AND BIOMETHANE PRODUCTION FROM WATER HYACINTH PRETREATED WITH PHOSPHORIC ACID USING ANAEROBIC FERMENTATION
Student	Mr. Kamolpob Chamcharus ID 59050532 Mr. Tanyaboon Namwong ID 59050566 Miss Ariya Saelim ID 59050637
Degree	BACHELOR OF SCIENCE (ENVIRONMENTAL CHEMISTRY)
Department	CHEMISTRY
Faculty	SCIENCE
University	KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
Academic Year	2019
Advisor	Asst.Prof. Pitsamai Chairat-utai

Abstract

This special project's objective is to study suitable amount of Water hyacinth per phosphoric acid in a 1:20 ratio for producing biogas. Water hyacinth has COD:N:P value is 193.6:5.26:1, which is suitable for producing biogas. First, 20 grams and 30 grams of Water hyacinth undergo pretreatment with 5% phosphoric acid and heating at 95 ± 5 Celsius for 3 hours, then ferment them in anaerobic condition with microorganism; while measuring the amount of biohydrogen and biomethane produced. The results show that the 20 and 30 grams Water hyacinth has nutrients in form of COD 6854 and 6400 mg/L respectively before undergoes fermenting to produce biohydrogen. After 15 days of fermentation to produce biohydrogen in which samples were also collected during that time for every 24 hour, we found that the amount of biohydrogen of 345.6 and 190.6 mL produced by using water hyacinth 20 and 30 gram respectively. At the end of the biohydrogen production process, we found that volatile fatty acid are also produced with the highest amount are butyric acid, then we continued to produce biomethane. We noted that amount of biomethane of 12.5 mL from 20 gram of Water hyacinth, in contrary there was no biomethane by using 30 grams of water hyacinth. Finally, we analyzed amount of cation in our solution obtained from fermentation. In trial set of 20 grams and 30 grams of Water hyacinth we found that there are sodium cation equal 30,176 and 45,836 mg/L respectively.

Keywords : Phosphoric Acid, Anaerobic Fermentation, Water Hyacinth,

Biohydrogen gas, Biomethane gas, Pretreatment

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความกรุณาและความร่วมมือ
บุคคลหลายท่าน คณะผู้จัดทำโครงการพิเศษขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.พิสมัย ชัยรัตน์อุทัย อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่คอยให้คำปรึกษา
และข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำโครงการพิเศษ อีกทั้งช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น
ระหว่างการดำเนินงาน

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สุวรรณิ จรรยาพูน และ ดร.กลีนสุคนธ์ สุวรรณรัตน์ กรรมการสอบ
โครงการพิเศษที่ช่วยชี้แนะถึงข้อบกพร่อง ให้คำแนะนำและตรวจสอบโครงการพิเศษเพื่อให้เกิดความ
สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ชูติมา จารุศิริพจน์ อาจารย์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์เครื่องมือ และให้คำแนะนำต่างๆในการดำเนินงานมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ โรงงานเส้นหมี่ขอเอง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์นำตะกอนจุลินทรีย์จาก
กระบวนการบำบัดน้ำเสียให้กับคณะผู้จัดทำมาใช้ในการทำงานวิจัยเพื่อให้ได้ผลสำเร็จตามเป้าหมาย

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์และบุคลากร ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำ
ความรู้และช่วยสนับสนุนโครงการพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเคมี นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ธุรการ
ภาคเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ในการทดลองและอำนวยความสะดวกด้านเอกสาร ส่งผลให้โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

นอกจากนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาเคมีสิ่งแวดล้อมทุกคนที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือ
ในการทำโครงการพิเศษนี้

สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและครอบครัว ที่เป็นแรงผลักดัน ให้
กำลังใจและคอยสนับสนุนทางด้านการศึกษามาโดยตลอด

คณะผู้จัดทำ

กมลภาพ แจ่มจรัส

ฉันทบุรณ์ นามวงษ์

อริญา แซ่ลิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
สารบัญคำย่อ.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ผักตบชวา.....	3
2.1.1 ประโยชน์จากผักตบชวา	3
2.1.2 ปัญหาจากผักตบชวา	4
2.2 ตะกอนหรือสลัดจ์.....	4
2.3 กรดฟอสฟอริก.....	5
2.4 การปรับสภาพ.....	5
2.4.1 วิธีทางกายภาพ.....	6
2.4.2 วิธีทางชีวภาพ.....	6
2.4.3 วิธีทางเคมี.....	6
2.4.4 การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี.....	8
2.5 กระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ.....	10
2.5.1 ขั้นตอนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการแบบไม่ใช้อากาศ.....	10
2.5.2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ.....	11
2.5.2.1 แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน.....	11
2.5.2.2 แบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทน.....	13
2.5.3 ขั้นตอนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการแบบไม่ใช้อากาศ.....	14
2.5.3.1 ไฮโดรไลซิส.....	14
2.5.3.2 การสร้างกรด.....	15
2.5.3.3 การสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยอื่นๆ.....	15
2.5.3.4 การสร้างก๊าซมีเทน.....	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.5.4 ตัวอย่างผลของความดันพาร์เซียลของก๊าซไฮโดรเจนที่มีต่อการสร้างกรดไขมันระเหยง่ายจากกลูโคส.....	15
2.5.4.1 ความดันพาร์เซียลของก๊าซไฮโดรเจนต่ำ.....	15
2.5.4.2 ความดันพาร์เซียลของก๊าซไฮโดรเจนสูง.....	16
2.6 การประยุกต์ใช้การย่อยสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ.....	17
2.6.1 กระบวนการเกิดก๊าซไฮโดรเจน.....	17
2.6.2 กระบวนการการเกิดก๊าซมีเทน.....	19
2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน.....	20
2.7.1 ปัจจัยด้านการทำงาน.....	20
2.7.2 ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม.....	22
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	31
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	31
3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	31
3.1.2 สารเคมี.....	31
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย.....	32
3.2.1 แหล่งที่มาของตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย.....	32
3.2.1.1 ผักตบชวา.....	32
3.2.2 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมี.....	32
3.2.3 ขั้นตอนการวิจัย.....	33
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	39
4.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผักตบชวา.....	39
4.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ.....	39
4.3 การผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพ.....	42
4.4 การวิเคราะห์ไอออนบวกที่ละลายในน้ำหลังจากกระบวนการผลิตก๊าซมีเทน.....	44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยข้อเสนอแนะ.....	45
5.1 สรุปผลวิจัย.....	45
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	45
บรรณานุกรม.....	46
ภาคผนวก.....	49
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์.....	50

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณสลัดจ์จากน้ำเสียและเปอร์เซ็นต์ของแข็ง.....	4
2.2 ผลผลิตที่ได้จากขั้นตอนไฮโดรไลซิส และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง.....	14
2.3 ตัวอย่างเวลากักพักทางจุลชีววิทยาที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากน้ำเสียประเภทต่างๆ โดยใช้ถึงปฏิกิริยาแบบกวนสมบูรณ์.....	21
2.4 ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย.....	22
2.5 องค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย.....	24
2.6 ความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักที่มีผลยับยั้งแบคทีเรีย 50%.....	25
2.7 ความเข้มข้นของซัลไฟด์และผลที่มีต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดไร้ออกซิเจน.....	26
3.1 วิธีการวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางเคมี.....	33
3.2 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน.....	36
3.3 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทน.....	37
3.4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ระเหยง่าย.....	38
4.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของผักตบชวา.....	39
4.2 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวาก่อนและหลังการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน.....	40
4.3 ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนจากปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ.....	42

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในระบบน้ำเสีย.....	10
4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพสะสมกับระยะเวลาในการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ.....	41
4.2 ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายแต่ละชนิดในแต่ละชุดการทดลอง.....	43
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพสะสมกับระยะเวลาในการหมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพ.....	43
4.4 ปริมาณไอออนบวกแต่ละชนิดที่ละลายในน้ำหลังจากการผลิตก๊าซมีเทน.....	44



สารบัญคำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
pH	ความเป็นกรดต่าง
TCOD	ซีโอดีทั้งหมด
SCOD	ซีโอดีในรูปของสารละลาย
TP	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด
TKN	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด
TS	ปริมาณของแข็งทั้งหมด
TVS	ปริมาณของแข็งระเหยง่าย
VFA	กรดไขมันระเหยง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยในปัจจุบันได้มีความก้าวหน้าทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากทำให้เกิดแนวโน้มในการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้พลังงานส่วนใหญ่ได้ถูกนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งแหล่งกำเนิดพลังงานส่วนใหญ่นั้นได้มาจากเชื้อเพลิงฟอสซิลเป็นพลังงานที่ใช้แล้วหมดไปหากมีการนำมาใช้ในปริมาณมากจะส่งผลทำให้เชื้อเพลิงประเภทนี้หมดไปอย่างรวดเร็วและไม่สามารถเกิดใหม่ได้ทันตามความต้องการของมนุษย์ จากปัญหาเรื่องพลังงานที่เกิดขึ้นในปัจจุบันจึงได้มีการคิดค้นเพื่อหาแหล่งพลังงานทดแทนที่สามารถใช้ได้ในอนาคต ทางคณะผู้จัดทำจึงได้ศึกษาถึงปัญหาที่เกิดขึ้นและทำการวิจัยเพื่อหาแหล่งพลังงานทดแทนมาใช้ในอนาคตซึ่งได้พบว่าการผลิตก๊าซชีวภาพจากพืชนั้นสามารถทำให้เกิดผลผลิตของพลังงานที่สามารถใช้ในอนาคตได้และเล็งเห็นว่าผักตบชวาเป็นพืชชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งผลิตก๊าซชีวภาพที่มีศักยภาพ เนื่องจากการศึกษาพบว่าโครงสร้างของผักตบชวา และองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยหลังการปรับสภาพมี เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน คิดเป็นร้อยละ 41.61 16.27 และ 12.53 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (กิตติยาและคณะ, 2558) ทำให้สามารถเป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพได้ อีกทั้งยังเป็นการลดปริมาณผักตบชวาที่เป็นปัญหภายในประเทศอีกด้วย ประเทศไทยได้เจอปัญหาจากผักตบชวาที่เกิดการแพร่พันธุ์ในแหล่งน้ำอย่างรวดเร็วทำให้ปลดประสิทธิภาพในการส่งน้ำ กีดขวางทางน้ำ และการคมนาคมทางน้ำ อีกทั้งยังทำให้เกิดน้ำเน่าเสียส่งกลิ่นเหม็นและเสื่อมคุณภาพ ดังนั้นทางคณะผู้จัดทำจึงนำผักตบชวามาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพได้แก่ ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน โดยในการทดลองได้มีการปรับสภาพผักตบชวาก่อนนำไปเข้าสู่กระบวนการหมัก เพื่อเปลี่ยนรูปลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เป็นโมโนเมอร์ขนาดเล็ก เพื่อให้จุลินทรีย์ดูดซึมไปใช้ได้เร็วขึ้น ส่งผลให้ผลผลิตของก๊าซชีวภาพเพิ่มขึ้น การปรับสภาพผักตบชวานั้นสามารถทำได้หลายวิธีการโดยอาจจะใช้วิธีการทางกายภาพ เช่น การบด การใช้เอนไซม์แรงดันสูง วิธีการเคมี เช่น การใช้กรดหรือด่าง วิธีการทางชีวภาพ เช่น การใช้เอนไซม์ หรือเชื้อจุลินทรีย์ หรือการใช้ร่วมกันในวิธีการดังกล่าวข้างต้น (Parveen, Dianne, Micheal & Pieter, 2009) ซึ่งในการวิจัยนี้ได้ทำการปรับสภาพโดยผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีการทางกายภาพร่วมกับเคมี โดยใช้ความร้อนร่วมกับการใช้กรด ซึ่งได้มีการเลือกใช้กรดฟอสฟอริกเนื่องจากสารที่ตกค้างจะอยู่ในรูปอนุโมลฟอสเฟตซึ่งเป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ในระบบ ปัจจุบันกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพนิยมใช้กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกาศขั้นตอนเดียวซึ่งให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกาศประกอบด้วยขั้นตอนการทำงาน 4 ขั้นตอน คือ 1) ขั้นตอนไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นขั้นตอนการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง 2) ขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์ (Acidogenesis) หรือขั้นตอนการหมัก (Fermentation) เป็นขั้นตอนการผลิตกรดอินทรีย์ มีการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน 3) ขั้นตอนการผลิตกรดอะซิติก (Acetogenesis) เป็นขั้นตอนการผลิตกรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน และขั้นตอนสุดท้ายคือขั้นตอนผลิตก๊าซมีเทน (Methanogenesis) โดยในแต่ละขั้นตอนจะอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ต่างชนิด เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแบบขั้นตอนเดียวจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทน แต่หากแยกการหมักออกเป็นสองถังหรือที่เรียกว่าการหมักแบบสองขั้นตอน

โดยในถังหมักแรกใช้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสและการผลิตกรดอินทรีย์ แต่ไม่มีขั้นตอนการผลิตกรดอะซิติกและการผลิตก๊าซมีเทน ทำให้สามารถนำก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นไปใช้ประโยชน์ได้จากขั้นตอนนี้ของเหลวหลังการหมักซึ่งมีกรดอินทรีย์ระเหยง่ายก็จะเป็นข้อได้เปรียบให้กับขั้นตอนที่สองซึ่งจะผลิตก๊าซมีเทนเป็นขั้นตอนต่อไป ทำให้เทคโนโลยีการหมักแบบสองขั้นตอนนี้เป็นที่นิยมเพราะสามารถผลิตได้ทั้งก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนเป็นพลังงานสะอาดที่มีเพียงน้ำเป็นผลจากการเผาไหม้ และก๊าซไฮโดรเจนให้พลังงานความร้อนสูง โดย 1 กิโลกรัมของไฮโดรเจนให้พลังงานเท่ากับ 119930 กิโลจูล (Fanhau *et al.*, 2008) และค่าพลังงานความร้อนจากมีเทน โดยแก๊สมีเทน 1 ลูกบาศก์เมตร สามารถทดแทนแก๊สหุงต้มได้ประมาณ 0.46 กิโลกรัม หรือผลิตไฟฟ้าได้ประมาณ 2.086 กิโลวัตต์ต่อชั่วโมง (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2551) ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงได้ทำการศึกษาปริมาณผักตบชวาที่ปรับสภาพโดยใช้กรดฟอสฟอริกและกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนชีวภาพ และศึกษาปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณผักตบชวาต่อปริมาตรของสารละลายกรดในอัตราส่วน 1:20 ที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยใช้ปริมาณผักตบชวา 20 และ 30 กรัม
2. เพื่อศึกษาปริมาณและความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

1.3 ขอบเขตการทดลอง

1. ทำการปรับสภาพผักตบชวาโดยใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 5% โดยปริมาตร ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 5 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้ปริมาณผักตบชวา 20 และ 30 กรัม ในสารละลายกรด 400 และ 600 มิลลิลิตร ตามลำดับ
2. ทดลองผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ได้ผ่านการอบฆ่าเชื้อในขวดหมักแบบกะที่อุณหภูมิห้อง
3. ทำการวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นและวิเคราะห์หาความเข้มข้นของผลผลิตไฮโดรเจนที่ได้จากการหมัก
4. ทดลองผลิตก๊าซมีเทนจากสารละลายที่ได้จากการหมักโดยเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อลงไปจากนั้นทำการวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นและวิเคราะห์หาความเข้มข้นของผลผลิตที่ได้

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้มีการนำวัชพืชมานำมาใช้ให้เป็นประโยชน์ในการเป็นสารตั้งต้นการผลิตก๊าซชีวภาพ
 2. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 2. ทราบถึงแนวทางในการผลิตพลังงานทดแทนทางชีวภาพ
- ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1.ผักตบชวา (Water hyacinth)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eichhornia crassipe* (C.Mart) Solms

วงศ์ : Pontederiaceae

ชื่อสามัญ : Water hyacinth , Java weed

ชื่ออื่น : ผักตบปอง สวะ (ภาคกลาง), ผักบ่ง (นครราชสีมา), ผักปอง (สุพรรณบุรี)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : เป็นวัชพืชน้ำที่มีอายุยืนหลายปี สูงประมาณ 30-90 เซนติเมตร มีลำต้นสั้น รากแตกออกจากลำต้นบริเวณข้อ รากมักมีสีม่วงดำ เกิดจากสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ลำต้นแตกไหลเกิดเป็นลำต้นใหม่ติดต่อกันไป ใบออกเป็นกลุ่มรอบลำต้น (rosettes) ใบกว้างใหญ่ รูปร่างค่อนข้างกลม ส่วนฐานใบเว้าเข้าหาก้านใบ มีหูใบ ปลายใบมน ขนาดของใบและความยาวของก้านใบขึ้นกับสภาพความอุดมสมบูรณ์ในบริเวณที่เจริญเติบโตอยู่ ส่วนของก้านใบจะพองออกภายในมีรูพรุนลักษณะคล้ายฟองน้ำ ช่วยพยุงให้ลำต้นลอยน้ำได้ ดอก ออกเป็นช่อ ออกดอกได้ตลอดปี ในช่อหนึ่งๆ มีดอกย่อย 6-30 ดอกก้านช่อดอกยาวประมาณ 15-30 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกหลอมรวมกัน (perianth) มีสีม่วง มีจุดเหลืองตรงกลาง ส่วนฐานกลีบดอกหลอมรวมกันเป็นรูปกรวย ส่วนปลายแยกเป็น 6 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 6 อัน เกสรตัวเมียเป็นเส้นบางๆ ที่ส่วนปลายเป็นตุ่มสีขาว ผลเป็นชนิดแคปซูล แบ่งเป็น 3 พู ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีรูปร่างกลม พบขึ้นตามลำคลอง คลองชลประทาน หนองน้ำ และที่ชื้นแฉะมีน้ำขัง ขยายพันธุ์โดยอาศัยเมล็ดและส่วนของลำต้น ผักตบชวาเป็นวัชพืชที่ร้ายแรงอันดับแปดของโลก เนื่องจากการเจริญเติบโตและแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว ผักตบชวาเป็นวัชพืชประเภทลอยน้ำ มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้เริ่มออกดอกเมื่ออายุ 26 วัน ผักตบชวา 1 ต้น สามารถให้เมล็ดได้ถึง 5,000 เมล็ด และเมล็ดจะมีชีวิตอยู่ในแหล่งน้ำได้นานถึง 15 ปี ผักตบชวาชยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อได้ดีมาก มีน้ำเป็นส่วนประกอบโดยเฉลี่ยประมาณ 94% ความหนาแน่นของจำนวนต้นสูงสุดประมาณ 180 ต้นต่อตารางเมตร และน้ำหนักรากสูงสุด ประมาณ 40 กิโลกรัมน้ำหนักสดต่อตารางเมตร ผักตบชวาก่อให้เกิดความเสียหายต่อแหล่งน้ำโดยทำให้อัตราการระเหยน้ำเพิ่มขึ้นกว่าปกติ3-5 เท่า ชัดขวางการระบายน้ำโดยลดอัตราการไหลของน้ำลงประมาณ 40 % แย่งธาตุอาหารพืชจากแพลงก์ตอน และสาหร่าย ถ้าครอบคลุมผิวน้ำมากกว่า 20 % จะทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง บดบังแสงแดดที่ส่อง ลงสู่พื้นน้ำ กีดขวางการจราจรทางน้ำ เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ศัตรูพืชโดยเฉพาะหอยเชอรี่ และทำให้เกิด ความเสียหายด้านการเกษตรประมาณปีละ 200 ล้านบาท สร้างความตื่นใจแก่แม่น้ำลำคลองประมาณปีละ 400 ล้านบาท และสูญเสียทัศนียภาพด้านการท่องเที่ยวทางน้ำ

2.1.1. ประโยชน์จากผักตบชวา

ใช้เป็นอาหารสัตว์โดยนำผักตบชวาไปแปรรูปเป็นอาหารสัตว์โดยการบดเอาน้ำออกอบให้แห้ง แล้วอัดเป็นเม็ดแบบเดียวกับมันสำปะหลัง ผักตบชวาสามารถใช้เป็นวัตถุดิบหรืออาหารเสริมสำหรับเพาะเห็ดฟางได้ ใช้ทำวัสดุเพาะชำโดยนำผักตบชวาสดหรือแห้งมาผสมกับวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร เช่น ขุยมะพร้าว ตอซังหรือฟางข้าว นอกจากจะใช้กับกล้าไม้ป่าและกล้ายางพาราแล้ว ยังตัดแปลงมาใช้ปลูกไม้ประดับหรือพืชผักสวนครัวได้ ใช้ผักตบชวาทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้าหรือการอื่นใดได้ หากมีการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตจะถือว่าผิดกฎหมาย

ปุ๋ยหมักได้เพราะมีธาตุโพแทสเซียมอยู่มากเป็นพิเศษ ส่วนธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสก็มีพอสมควรและนำผักตบชวาและวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งมาผลิตปุ๋ยน้ำจุลินทรีย์ผักตบชวาและวัสดุ นอกจากนี้ผักตบชวายังสามารถนำมาผลิตเป็นก๊าซมีเทนเพื่อการหุงต้มและยังใช้ทำผลิตภัณฑ์หัตถกรรม (ธงชัย, 2556)

2.1.2. ปัญหาจากผักตบชวา

ผักตบชวาทำให้การพัฒนาแหล่งน้ำไม่ได้ผลเต็มตามเป้าหมายเนื่องจากทำให้ลดการไหลของน้ำลงประมาณ 40% อีกทั้งส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่จมลงใต้น้ำก่อให้เกิดอุปสรรคสำคัญที่กีดขวางการสัญจรทางน้ำในคลองกับการระบายน้ำทำให้ทางเดินของน้ำเกิดการตื้นเขินเร็วกว่าปกติและการระเหยของน้ำในที่ที่มีผักตบชวาจะสูงกว่าในที่ที่ไม่มีผักตบชวา ประมาณ 3-8 เท่าก่อให้เกิดปัญหาสำคัญในการผลิตไฟฟ้าพลังน้ำ เกิดการแย่งน้ำและอาหารจากพืชปลูก ผักตบชวาที่ขึ้นหนาแน่นเป็นอุปสรรคแก่การเจริญเติบโตของปลาและการจับปลาเป็นปัญหาต่อการประมงและการที่จะพัฒนาให้สถานที่นั้นๆ เป็นแหล่งท่องเที่ยวก็เป็นไปได้ยาก ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านเศรษฐกิจและยังมีส่วนก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขเป็นพาหะนำโรคต่างๆ (จิรศักดิ์, 2559)

2.2 ตะกอนหรือสลัดจ์

สลัดจ์มาจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียซึ่งแยกเอาของแข็งและสารอินทรีย์ออกจากน้ำเสียแล้วปล่อยน้ำที่บำบัดแล้วทิ้งไป คงเหลือแต่สลัดจ์ที่ต้องผ่านการบำบัด ลักษณะของสลัดจ์จะมีความแตกต่างกันเนื่องจากแหล่งที่มา ชนิดของของแข็ง อายุสลัดจ์ และกรรมวิธีที่ทำให้เกิดสลัดจ์ที่ไม่เหมือนกัน โดยสลัดจ์จากถังตกตะกอนชั้นแรก จะมีสีเทาเป็นเมือก มีกลิ่นเหม็นมาก และสามารถย่อยสลายได้โดยง่าย สลัดจ์จากการใช้สารเคมี มักจะมีสีดำหรือแดงหากมีเหล็กปนอยู่มาก มีกลิ่นเหม็นเป็นเมือกวนหากตั้งทิ้งไว้จะย่อยสลายอย่างช้าๆและมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น และสลัดจ์จากถังเติมอากาศ มีสีน้ำตาล ลักษณะเป็นปุย ไม่มีกลิ่น แต่หากหยุดเติมอากาศจะกลายเป็นสภาพอย่างรวดเร็วเปลี่ยนเป็นสีดำ และมีกลิ่นเหม็นของการหมัก ซึ่งสลัดจ์จากการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน มีสีน้ำตาลแก่ปนดำ มีก๊าซมาก หากย่อยสลายจนเต็มที่แล้วจะมีเพียงกลิ่นจาง ๆ คล้ายกลิ่นยาง แตกตัวได้ง่าย

ตารางที่ 2.1ปริมาณสลัดจ์จากน้ำเสียและเปอร์เซ็นต์ของแข็ง

กรรมวิธี	ปริมาณสลัดจ์ กก./1,000 ลบ.ม. น้ำเสีย	% ของแข็งในสลัดจ์
ถังตกตะกอนชั้นแรก	110 - 170	5.00
สลัดจ์จากถังเติมอากาศ	70-100	0.75
สลัดจ์จากถังกรองชีวภาพ	55-90	1.50
ถังย่อยแบบไร้ออกซิเจน	-	4.00

ที่มา: กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2552 : อ้างถึง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538(3)

2.3 กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid)

กรดฟอสฟอริกเป็นกรดชนิดหนึ่งที่ใช้กันในอุตสาหกรรมหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นผงซักฟอก สบู่ หรือแม้แต่ในน้ำอัดลม ซึ่งกรดฟอสฟอริกมีสูตรโมเลกุล คือ H_3PO_4 น้ำหนักโมเลกุล 98.0 กรัมต่อโมล ความถ่วงจำเพาะ 1.834 ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 42.35 องศาเซลเซียสเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ละลายได้ในน้ำและแอลกอฮอล์ หรือเป็นผลึกใสขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและอุณหภูมิ กรดฟอสฟอริก ร้อยเปอร์เซ็นต์ จะอยู่ในรูปผลึกใส กระบวนการผลิตเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดซัลฟิวริกหรือกรดเกลือกับหินฟอสเฟต ซึ่งในปัจจุบันได้มีการใช้กรดฟอสฟอริกในอุตสาหกรรมหลายประเภท ที่สำคัญ ได้แก่ ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสารพวกฟอสเฟต เช่น ผงซักฟอก สบู่ ปุ๋ย ใช้ผสมเป็นวัสดุอุดฟัน อุตสาหกรรมโลหะสำหรับขัดผิวโลหะ ชุบโลหะ กัดเงา ชิ้นงานอะลูมิเนียม อีกทั้งยังเป็นส่วนผสมชนิดหนึ่งในน้ำอัดลมนอกจากนั้นยังใช้เป็น electrolyte สำหรับเซลล์เชื้อเพลิงชนิดกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid fuel cells หรือ PAFC) เซลล์เชื้อเพลิงนี้มักใช้ในเครื่องใช้ไฟฟ้าบางประเภทและในอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งบางชนิดและเป็นสารที่ใช้ในการทำมาสะอาด (cleaning agents) ในกระบวนการแปรรูปและใช้ในอุตสาหกรรมยา และอาหาร

ถึงแม้ว่ากรดฟอสฟอริกจะมีประโยชน์หลายอย่างแต่ถ้าได้รับกรดชนิดนี้โดยตรงในปริมาณที่มากพอก็สามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ อันตรายต่อผู้ที่สัมผัสอาจเกิดขึ้นได้โดยทางการหายใจ การสัมผัสทางผิวหนังเป็นสำคัญ หากกินเข้าไปด้วยความตั้งใจหรือไม่ตั้งใจก็ตามจะทำให้ปวดท้องอย่างรุนแรงและรู้สึกคลื่นไส้ กรดฟอสฟอริกนอกจากจะเป็นอันตรายต่อระบบร่างกายต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว ยังเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศน์ โดยถ้ามีกรดฟอสฟอริกในแหล่งน้ำจะทำให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยสารประกอบพวกฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ จะทำให้พืชน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและทำให้ออกซิเจนไม่สามารถละลายในน้ำได้ และถ้าหากมีการรั่วไหลของกรดฟอสฟอริก ควรปฏิบัติดังนี้ ใช้เครื่องช่วยหายใจชนิดแบบเต็มหน้า แนะนำให้สวมแว่นตาป้องกัน รักษามืออย่างเคร่งครัดแบบผ้ากันเปื้อน ทำการดูไอควันหรือฝุ่นออกให้เหลือน้อยที่สุดกรณีระบายอากาศออกไปไม่ได้ ถ้าความเข้มข้นสูงเกิน 12 ppm ให้ใช้เครื่องช่วยหายใจ หรือใส่หน้ากากกันฝุ่นเพื่อไม่เสี่ยงที่จะได้รับอันตรายทำการระบายอากาศบริเวณที่เกิดเหตุทำให้สารที่หกเป็นกลาง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจางหรือโซดาแอช หรือปูนขาว สำหรับการปฐมพยาบาลผู้ที่ได้รับกรดฟอสฟอริกสามารถทำได้โดยกรณีเมื่อสุดคมให้รีบอากาศบริสุทธิ์ และนำส่งแพทย์ กรณีเมื่อสัมผัสที่ดวงตาให้ชะล้างออกด้วยน้ำที่ไหลผ่านอย่างน้อย 15 นาที โดยลืมตากว้างและนำส่งพบจักษุแพทย์ทันที กรณีเมื่อสัมผัสสารที่ผิวหนังให้ชะล้างออกด้วยน้ำปริมาณมาก ทาด้วยพอลิเอทิลีน-ไกลคอล 400 จากนั้นถอดเสื้อผ้าที่เปื้อนออกทันที กรณีที่กลืนกินเข้าไปถ้าผู้ป่วยยังมีสติให้ดื่มน้ำปริมาณมาก ๆ (หลายลิตรถ้าจำเป็น) ไม่ควรทำให้อาเจียน (อาจทำให้เกิดการกัดทะลุ) นำส่งแพทย์ทันทีที่จะเห็นได้ว่ากรดฟอสฟอริกมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ แต่ควรมีการใช้ในปริมาณที่พอเหมาะและปฏิบัติตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยต่อตัวเราและสิ่งแวดล้อม

2.4 การปรับสภาพ (Pretreatment)

ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบจะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางด้านกายภาพคือ ทำให้ชั้นเมมเบรนของวัสดุกลไกโนเซลลูโลสถูกทำลายซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลต่อการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถทำงานได้ง่ายขึ้น ในการศึกษาจะแสดงให้เห็นถึงกระบวนการปรับสภาพมีความสำคัญจะเป็นตัววัดความสำเร็จของเทคโนโลยีในการการคัดไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงเซลลูโลส เนื่องจากเป็นตัวช่วยแสดงให้เห็นถึงความคุ้มค่าทางพาณิชย์ในการเปลี่ยนเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นเอทานอล และก๊าซชีวภาพได้ จุดประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบ คือ เป็นการเปลี่ยนรูปลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความพรุนความวัสดุ ซึ่งกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบสามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธีหลักๆ ซึ่งแต่ละวิธีมีวิธีย่อยลงไปอีก ดังนี้

2.4.1. วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

1. การใช้แรงทางกล (Mechanical comminution)

วิธีการทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลงสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทุบ การบด การโม่ การเขย่าวัดุดิบ เป็นต้น ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการลดผลึก (Cellulose crystallinity) และเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาให้มากขึ้น ความสามารถในการลดขนาดจะขึ้นอยู่กับขนาดสุดท้ายของวัสดุและคุณสมบัติของวัสดุนั้น ซึ่งปกติขนาดของเศษวัตถุดิบจะทำให้มีขนาดประมาณ 0.2-2 มิลลิเมตร (Sun and Cheng, 2002)

2. การไพโรไลซิส (Pyrolysis)

วิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ให้วัตถุดิบกลายสภาพเป็นแก๊สหรือของแข็ง กระบวนการจะทำให้ได้เชื้อและการระเหยจะต่ำถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ จากการวิจัยพบว่าการใช้อุณหภูมิมากไปหรือน้อยไปจะไม่เป็นผลดี จึงต้องมีการวิจัยที่เหมาะสม ซึ่งสำหรับงานวิจัยนี้ยังมีข้อมูลที่ค่อนข้างน้อย

3. การใช้ความร้อน (Thermal heat treatment)

เป็นการปรับสภาพของวัตถุดิบเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของเซลลูโลส ซึ่งโดยส่วนใหญ่ มักจะใช้อุณหภูมิมากกว่า 150-180 องศาเซลเซียส แต่ต้องทำให้วัสดุมีขนาดที่เล็กลงก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยวัตถุดิบทางความร้อน

2.4.2 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

จุลินทรีย์สามารถใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสและยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ ในการใช้จุลินทรีย์ในการปรับสภาพ จะสามารถย่อยสลายลิกนิน รวมทั้งย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยส่วนเซลลูโลสถูกย่อยน้อยมากซึ่งเซลลูโลสมีความต้านทานในการถูกจุลินทรีย์ย่อยได้มากกว่าส่วนอื่นๆของลิกโนเซลลูโลส จุลินทรีย์ที่ใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบ ได้แก่ กลุ่ม Brown-, White-, และ soft-rot fungi โดยเฉพาะกลุ่ม White-rot fungi เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการปรับสภาพด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporia lacerata*, *Cyathus stercolerus*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus* *Pleurotus ostreatus* (Kumar et al., 2011; Sreenath et al., 2001; Slininger et al., 1982)

2.4.3. วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment)

1. การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis)

โอโซนเป็นตัวออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพ และสามารถทำให้เกิดการแตกตัวของลิกนินและเฮมิเซลลูโลสในวัสดุพวกฟางข้าวได้ วิธีนี้มีจุดเด่นคือ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในไม่ช้ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดึงเอาลิกนินออกได้ดี ไม่มีสารพิษที่จะไปยับยั้งการทำปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ กระบวนการนี้สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ผลเสียของวิธีนี้คือค่าใช้จ่ายที่สูงมาก (Sun and Cheng, 2002)

2. การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment)

การใช้ด่างในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบมีผลต่อวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส และผลของด่างที่ใช้ในกระบวนการแปลงสภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในวัตถุดิบด้วย (McMillan, 1994) กลไกการทำงานของด่างนั้นเชื่อว่าจะไปเพิ่มการพองตัวของโมเลกุลภายในต่อสายพันธะภายในของโซลแลนในเฮมิเซลลูโลส ความพรุนของวัสดุจะเพิ่มขึ้นได้เมื่อทำการกำจัดสายโซ่ที่เชื่อมต่อกันภายใน การใช้ด่างเจือจางในวัสดุลิกโนเซลลูโลสมีผลทำให้เกิดการบวมภายในเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการทำปฏิกิริยาทำให้วัสดุมีความพรุนเพิ่มขึ้นได้ลดความเป็นโครงสร้างผลึกของเซลลูโลส ลดระดับความเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ และสามารถแยกสายโครงสร้างระหว่างลิกนินและ คาร์โบไฮเดรต และเป็นการแยกองค์ประกอบหรือทำลายโครงสร้างของลิกนิน อย่างไรก็ตามการใช้ด่างเพื่อปรับสภาพมักจะไม่ค่อยมีผลต่อวัสดุพวกไม้เนื้ออ่อนเท่าไม้เนื้อแข็ง ด่างที่นิยมใช้ในการแยกลิกนินได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Kim *et al.*, 2008) ได้ศึกษาการปรับสภาพข้าวบาร์เลย์ด้วยแอมโมเนียพบว่าแอมโมเนียที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เวลา 24-72 ชั่วโมง สามารถสกัดแยกเอาส่วนของลิกนินออกร้อยละ 50-66

3. การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment)

กระบวนการปรับสภาพโดยใช้กรดนั้น มีจุดประสงค์คือเพื่อให้ได้น้ำตาลในปริมาณที่สูงจากวัสดุชีวมวล กระบวนการแปลงสภาพสามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเพิ่มการทำงานของกระบวนการไฮโดรไลซิส (Palmqvist and Hahn-Hagerdal, 2002) ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบ การใช้กรดเจือจางเป็นวิธีหนึ่งที่มีความสนใจศึกษากันมาก และแพร่หลายที่สุด (Mussatto *et al.*, 2005) การใช้กรดเจือจางเพื่อปรับสภาพวัสดุที่อุณหภูมิที่เหมาะสมโดยใช้กรดซัลฟิวริกหรือกรดฟอสฟอริกมักจะถูกใช้สำหรับการเปลี่ยนวัสดุพวกลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นเฮมิเซลลูโลส ไปเป็นน้ำตาลที่ละลายได้ตามการใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อให้เกิดเป็นกลูโคส (Silverstein *et al.*, 2007) ในการใช้กรดเจือจางจะมีอยู่ 2 รูปแบบที่ใช้ คือ (1) ปริมาณสารตั้งต้นน้อย (ร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิสูง ($T > 433$ องศาเซลวิน) และ (2) ปริมาณสารตั้งต้นมาก (ร้อยละ 10-40 โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิต่ำ ($T < 433$ องศาเซลวิน)

โดยทั่วไปแล้วพบว่าเมื่อทำการปรับสภาพที่อุณหภูมิสูงและเวลาที่ใช้น้อยกว่าจะมีผลทำให้พบปริมาณไซลอสสูง และการทำงานของเอนไซม์สามารถทำงานได้ดีกว่า ที่อุณหภูมิสูงการใช้กรดเจือจางพบว่ามีการเพิ่มการย่อยเซลลูโลส ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารตั้งต้นและความเข้มข้นที่ใช้ โดยส่วนใหญ่ร้อยละ 80 และ 95 ของน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลสสามารถได้คืนมาโดยใช้กรดเจือจางในการปรับสภาพจากการใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นสารตั้งต้น นอกจากนั้นความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิที่ใช้เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดสารที่เป็นพิษ อุณหภูมิที่เหมาะสม (< 160 องศาเซลเซียส) ได้มีการพิสูจน์ว่าเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเฮมิเซลลูโลส ในอีกด้านหนึ่งเมื่อใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 160 องศาเซลเซียส จะมีผลต่อ

เซลลูโลสมากกว่าซึ่งพบว่าจะมีการเกิดปริมาณน้ำตาลที่สูงและมีการสลายส่วนประกอบของลิกนิน (McMillan *et al.*, 1994) โดยทั่วไปแล้วการใช้กรดเจือจางผสมกับวัสดุชีวมวลและทำที่อุณหภูมิสูงที่ 160-220 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาสั้นๆ ไปไฮโดรไลซ์เฮมิเซลลูโลสให้เป็นไซโลสและน้ำตาลตัวอื่นและจากนั้นจะมีการทำลายไซโลสให้เป็นเฟอฟูรัล กระบวนการไฮโดรไลซิสโดยไม่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบก่อนพบว่าผลผลิตที่ได้มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 20 ในขณะที่เมื่อผ่านกระบวนการปรับสภาพแล้วได้ผลผลิตมากกว่าร้อยละ 90 (Hamelinck *et al.*, 2005)

2.4.4. การปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)

1. การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion)

วิธีการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส (McMillan, 1994) การระเบิดด้วยไอน้ำโดยส่วนใหญ่แล้วจะทำที่อุณหภูมิช่วง 160-260 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 0.69-4.82 เมกะปาสคาล วัตถุดิบจะถูกผสมกับไอน้ำอันทันทีความดันสูง แล้วทำการลดความดันอย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้เกิดการแยกเฮมิเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินออกจากกันที่อุณหภูมิสูง โดยส่วนของเฮมิเซลลูโลสจะละลายในน้ำที่ควบแน่นจากไอน้ำที่จับตัวที่มีผลในกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือ เวลาที่ใช้ อุณหภูมิ ขนาดของวัสดุตั้งต้นที่ใช้ และปริมาณความชื้นที่อยู่ในวัตถุดิบ (Duff and Murray, 1996) จากการศึกษาพบว่าค่าที่ดีที่สุดในการละลายเฮมิเซลลูโลสและการเกิดกระบวนการไฮโดรไลซิส สามารถเกิดได้ภายใต้เงื่อนไขสภาวะอย่างใดอย่างหนึ่งดังนี้คือสภาวะที่ใช้ อุณหภูมิสูง และมีการใช้เวลาที่ต่ำ (270 องศาเซลเซียส, 1 นาที) และที่สภาวะการใช้ อุณหภูมิที่ต่ำและเวลาที่ใช้มีค่าสูง (190 องศาเซลเซียส, 10 นาที) จากการศึกษาของ Wright (1998) พบว่าที่การใช้ อุณหภูมิต่ำและ เวลาที่ใช้ นานกว่าพบว่าผลที่ได้มีค่าสูงการเติมกรดเช่นพวกกรดซัลฟิวริก หรือการเติม ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในกระบวนการระเบิดด้วยไอน้ำพบว่าผลทำให้เพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการไฮโดรไลซิส และเป็นการลดสารที่จะเป็นตัวต่อต้านในการเกิดปฏิกิริยาอื่นที่สำคัญและยังเป็นการทำให้มีการกำจัดเฮมิเซลลูโลสได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้อดีของวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือ มีการสูญเสียพลังงานน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ด้วยวิธีทางกล การแปลงสภาพโดยวิธีทางกลจะใช้พลังงานสูงกว่าร้อยละ 70 เป็นที่ทราบกันดีว่าวิธีการระเบิดด้วยไอน้ำนั้นจะมีผลโดยตรงกับวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่เป็นไม้เนื้อแข็ง และวัตถุดิบพวกของเหลือใช้ทางการเกษตร แต่จะมีผลน้อยมากต่อวัสดุลิกโนเซลลูโลสที่เป็นไม้เนื้ออ่อน (Clark and Mackie, 1987) วัสดุที่ผ่านกระบวนการนี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการไฮโดรไลซิส แต่ข้อจำกัดของกระบวนการนี้ก็คือในการทำลายแยกส่วนประกอบออกจากกันในส่วนของลิกนินมักเกิดไม่สมบูรณ์ และมักเกิดเป็นกลุ่มของสารประกอบที่ไปตัวยับยั้งการเกิดจุลินทรีย์ เพราะวาลู่อังค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ที่ถูกย่อยออกมาจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การใช้เอนไซม์ในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (enzymatic hydrolysis) รวมถึงการหมักด้วย เนื่องจากองค์ประกอบที่ได้จากการย่อยออกมาเป็นสารที่เป็นตัวต่อต้าน และเป็นสารพิษต่อจุลินทรีย์ กระบวนการไฮโดรไลซิส และกระบวนการหมัก ทำให้ต้องมีการล้างด้วยน้ำเพื่อทำให้สารที่เป็นพิษเหล่านี้ออกไป การล้างมีผลทำให้น้ำตาลที่ได้ถูกชะล้างหรือสูญเสียไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX)

วิธีการนี้ใช้แอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิระหว่าง 60-100 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันระยะเวลาหนึ่ง แล้วทำการลดความดันลงซึ่งมีผลต่อวัตถุดิบโดยวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีอัตราการเป็นน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณของเอมิเซลลูโลส ไม่เหมาะสมกับพืชที่มีลิกนินอยู่มาก ในกระบวนการนี้สามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ได้ใหม่ และไม่ก่อให้เกิดด้วยยังการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น อาทิเช่น การระเบิดด้วยไอน้ำจะได้ลักษณะของตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (slurry) สามารถทำการแยกส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลวออกจากกันได้ ในขณะที่การระเบิดด้วยแอมโมเนีย จะให้ตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพเป็นของแข็งเท่านั้น (Alvira *et al.*, 2010)

3. ความร้อนชื้น (Liquid hot water)

วิธีการนี้เป็นอีกกระบวนการที่มีการใช้ความร้อนชื้น ซึ่งจะดำเนินการอย่างช้าๆ และไม่ต้องการสารเคมีเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่ต้องอาศัยความดันเพื่อควบคุมสถานะของน้ำในสถานะของเหลวอุณหภูมิที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 160-240 องศาเซลเซียส โดยจะส่งผลต่อเอมิเซลลูโลส ตัวอย่างได้หลังจากการปรับสภาพจะอยู่ในรูปแบบกึ่งแข็งกึ่งเหลว (Slurry) โดยส่วนที่เป็นของแข็งส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลส ส่วนของเหลวส่วนใหญ่เป็นเอมิเซลลูโลส และเกิดน้ำตาลบางส่วน ทั้งนี้ควรมีการปรับค่าพีเอช ให้อยู่ในช่วง 4-7 เนื่องจากว่าในช่วงดังกล่าวทำให้เอมิเซลลูโลสยังคงอยู่ในรูปของโอลิโกเมอร์ (Oligomeric form) ช่วยลดปัญหาการเกิดรวมตัวเกิดเป็นโพลีเมอร์ใหม่อีกครั้ง (Mosier *et al.*, 2005)

4. การย่อยเปียก (Wet oxidation)

วิธีการนี้ใช้ออกซิเจน และอากาศเป็นตัวกลางในการทำปฏิกิริยา นิยมใช้ถังหมักชีวภาพในสถานะที่อุณหภูมิต่ำภายใต้แรงดัน และเวลาอันสั้น โดยทั่วไปจะใช้เวลา 10-15 นาที อุณหภูมิ 170-200 องศาเซลเซียส และความดันระหว่าง 10-12 บาร์ ของออกซิเจน (Ogbonna *et al.*, 2001) จากงานวิจัยของ Mishima *et al.* (2006) พบว่ามีประสิทธิภาพในการแยกเอมิเซลลูโลส และลิกนิน ทำให้ปริมาณเซลลูโลสมีค่าเพิ่มขึ้น นิยมใช้ในการผลิตเอทานอลในขบวนการหมักแบบการย่อยให้เป็นน้ำตาลพร้อมการหมัก (Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)

5. การปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave pretreatment)

วิธีการปรับสภาพโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟจัดเป็นวิธีการทางกายภาพร่วมกับทางเคมี เนื่องจากว่ามีการใช้ความร้อนจากคลื่นไมโครเวฟ และส่วนที่ใช้สารเคมีเพื่อใช้ในการเร่งอัตราการให้คลื่นไมโครเวฟจะแตกต่างกันไปตามชนิดของวัสดุใช้เวลาช่วงระหว่าง 5-20 นาที (Keshwani, 2009) จากการศึกษาเบื้องต้นของ เวสาร์ช และรัชพล (2555) และ Zhu *et al.* (2006) พบว่าการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมกับสารละลายต่างมีประสิทธิภาพในการปรับสภาพด้วยคลื่นไมโครเวฟมากกว่าสารละลายกรด

6. การปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์ (Ultrasonic pretreatment)

วิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์ยังมีรายงานเกี่ยวกับวิธีดังกล่าว น้อย แต่ผลที่ได้จากการใช้คลื่นความถี่สูงอัลตราซาวด์พบว่าส่งผลให้เกิดการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้มากขึ้น จากงานวิจัยของ (Yachmenev *et al.*, 2009) พบว่าคลื่น

ไขมัน ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ปล่อยออกมาใน
ขั้นตอนนี้ยังไม่มีกรดคาร์บอกซิลิก

2. การสร้างกรด (Acidogenesis)

ผลผลิตจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสขั้นตอนที่ 1 จะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรด
นำไปใช้เพื่อผลิตกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid: VFA) เช่น กรดแอสติก
กรดไพรูวอิก กรดบิวไทริก เป็นต้น ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและ
มีค่าคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว

3. การสร้างกรดแอสติกจากกรดไขมันระเหย (Acetogenesis)

กรดไขมันระเหยที่ได้จากการสร้างกรดจะถูกแบคทีเรียอะซีโตจีนิค
(Acetogenic Bacteria) เปลี่ยนให้เป็นกรดแอสติก กรดฟอร์มิก แก๊สคาร์บอนได
ออกไซด์และแก๊สไฮโดรเจนซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างแก๊สมีเทน
ปฏิกิริยานี้มีความสำคัญเนื่องจากการลดการสะสมของกรดไขมันระเหย ซึ่งการ
สะสมของกรดไขมันระเหยในปริมาณที่สูงสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างมีเทนได้

4. การสร้างแก๊สมีเทน (Methanogenesis)

กรดแอสติก กรดฟอร์มิก แก๊สไฮโดรเจน และ แก๊สไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นผล
จากปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างกรด จะถูกแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic
Bacteria) นำไปใช้ในการผลิตแก๊สมีเทนต่อไป

2.5.2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.5.2.1. แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน

แบคทีเรียชนิดไม่สร้างแก๊สมีเทนมีความสำคัญต่อระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนเป็น
อย่างมาก โดยจะทำหน้าที่ในการสร้างซับสเตรตที่แบคทีเรียชนิดสร้างมีเทนสามารถนำไปใช้
ได้ด้วยการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนน้อยกว่า 2
อะตอม แบคทีเรียชนิดนี้มีหลายชนิดทั้งแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาดและ
แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนได้บ้าง แต่ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่าง
เด็ดขาด แบคทีเรียชนิดนี้จะเกี่ยวกับขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจนจน
ตั้งแต่ขั้นตอนไฮโดรไลซิสไปจนถึงขั้นตอนการสร้างกรดอะซีติกจึงสามารถแบ่งแบคทีเรียชนิด
นี้ออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. แบคทีเรียที่สร้างกรดไขมันระเหยง่าย (Acidogenic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำหน้าที่เปลี่ยนกรดไขมัน กรดอะมิโนและน้ำตาล ที่ได้จาก
ขั้นตอนไฮโดรไลซิสให้เป็นกรดไขมันชนิดสั้น (คาร์บอนไม่เกิน 6 อะตอม) แก๊สไฮโดรเจน
แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เอทานอล บิวทานอล อะซีโตน (acetone)
เป็นต้น กรดไขมันชนิดสั้นที่ได้จากปฏิกิริยามีหลายชนิด เช่น กรดอะซีติก กรดไพรูวอิก
กรดบิวไทริกและ กรดฟอร์มิก เป็นต้น แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนนี้มีแบคทีเรียกลุ่ม
Clostridium เป็นแบคทีเรียกลุ่มหลักและยังมีกลุ่ม *Propionibacterium* อยู่ด้วย (กรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุมมลพิษ, 2546) ปฏิบัติการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดสามารถได้ดังสมการ 2.1-2.4

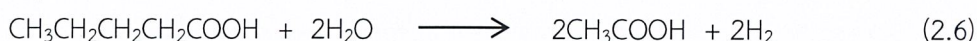


2. แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยอื่นๆ (Acetogenic bacteria)

แบคทีเรียชนิดนี้จะทำหน้าที่ย่อยสลายกรดไขมันระเหยง่ายที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมให้กลายเป็นกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ก๊าซไฮโดรเจน เมทานอลและเมทิลลามีน แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสำคัญในการสร้างสมดุลระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างก๊าซมีเทน โดยการเปลี่ยนกรดไขมันระเหยง่ายชนิดอื่นให้เป็นกรดอะซิติกเพื่อให้แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนสามารถนำไปใช้ได้ซึ่งจะช่วยลดปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในระบบ โดยหากมีกรดไขมันระเหยง่ายสะสมมากเกินไปจะทำให้ค่าพีเอชของระบบลดลงและเกิดการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนรวมทั้งแบคทีเรียชนิดอื่นให้เป็นกรดอะซิติกนั้นได้รับผลโดยตรงจากความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจน โดยสามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้สภาวะความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนต่ำกว่า 2×10^{-3} บรรยากาศ และสำหรับสลายกรดไพรูโวนิกให้เป็นกรดอะซิติกจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนต่ำกว่า 9×10^{-3} บรรยากาศ แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามข้อสเตรทที่ใช้ดังนี้ คือ

2.1) แบคทีเรียสร้างอะซิเตทที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ (Hydrogen producing bacteria)

ทำหน้าที่ย่อยสลายกรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมและเอทานอลให้เป็นกรดอะซิติก ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นหากมีการสะสมมากเกินไปจนมีความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนสูงจะส่งผลให้การสร้างกรดอะซิติกไม่สามารถทำได้ แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนจึงบทบาทในการลดก๊าซไฮโดรเจนโดยเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทน จึงอาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีการอาศัยแบบให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน ตัวอย่างของปฏิบัติการย่อยสลายดังสมการ 2.5 – 2.8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และห้ามใช้ในการค้าโดยไม่ได้รับอนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ทางการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2) แบคทีเรียผลิตอะซิเตทอย่างเดียว (Homoacetogenic bacteria)

เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดอะซิเตทได้เพียงอย่างเดียวโดยไม่มีก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้นในปฏิกิริยาแต่จะมีการใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นตัวให้อิเล็กตรอนและมีการใช้แหล่งพลังงานจากสารอนินทรีย์คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาผลิตเป็นกรดอะซิเตทภายใต้การเจริญเติบโตแบบออโตโทรฟิก (Autotrophic) และยังสามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนให้อิเล็กตรอนและรับอิเล็กตรอนภายใต้การเจริญเติบโตแบบเฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic) หรือ เรียกว่าการหมัก (Fermentation) ปฏิกิริยาการย่อยสลายทั้ง 2 แบบ ดังสมการ 2.9 และ 2.10



ในกลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่สร้างก๊าซมีเทนทั้งแบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหยง่ายและแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก มีแบคทีเรียจีส Clostridium เป็นกลุ่มหลักซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียจำนวนมากมายหลายชนิด บางชนิดก็มีกระบวนการเมทาบอลิซึมหลายแบบด้วยกันทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนการสร้างกรดและการสร้างกรดอะซิติกมีหลายชนิดด้วย

2.5.2.2 แบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทน

เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการสร้างก๊าซมีเทน โดยแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนจะเป็นแบคทีเรียชนิดไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาด สามารถเจริญเติบโตได้ช้าเนื่องจากมีความต้องการสารอาหารที่เฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังมีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น การมีปริมาณออกซิเจนเพียงเล็กน้อยในระบบหรือการมีค่าพีเอชที่อยู่นอกช่วง 6.8-9.2 ช่วงที่แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนส่วนใหญ่สามารถใช้ได้แก่ ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และกรดฟอร์มิก เป็นต้น

จากการที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแบคทีเรียที่ไม่สร้างก๊าซมีเทนมีมากมายหลายชนิดทั้งที่เป็นก๊าซอินทรีย์และสารอินทรีย์อื่นๆ แต่เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนไม่สามารถนำใช้ได้ทั้งหมด ทำให้สารอินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นก๊าซมีเทนได้เกิดการตกค้างอยู่ภายในระบบ จึงเป็นสาเหตุให้กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนไม่สามารถลดปริมาณซีโอดีของน้ำเสียให้มีค่าต่ำมากๆ ได้ ต้องมีการบำบัดต่อด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนเพื่อให้ค่าซีโอดีลดต่ำลง ได้ตามมาตรฐานน้ำทิ้ง แบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

- 1. แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนที่บริโภคเฉพาะก๊าซไฮโดรเจน(Hydrogenotrophic methanogen)

แบคทีเรียสร้างแก๊สมีเทนที่บริโภคเฉพาะก๊าซไฮโดรเจน หรือเรียกอีกอย่างว่า Hydrogen utilizer เป็นพวกที่ สร้างก๊าซมีเทนจากก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์โดยจะใช้พลังงานจากก๊าซไฮโดรเจนและใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนนอกจากนี้ยังสามารถใช้กรดฟอร์มิกเป็นซับสเตรทได้โดยการเปลี่ยนเป็นก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์เสียก่อนดังสมการ 2.11



2. แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนที่บิริโภาคเฉพาะอะซิเตท (Acetoclastic methanogen)
- แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนจากการแตกตัวของกรดอะซิติกดังสมการ 2.12



3. แบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนที่บิริโภาคได้ทั้งก๊าซไฮโดรเจนและอะซิเตท (Hydrogenotrophic/Acetoclastic methnogen)
- แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนที่บิริโภาคได้ทั้งก๊าซไฮโดรเจนและอะซิเตทเป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้ได้ทั้งก๊าซไฮโดรเจนและอะซิเตทในการผลิตก๊าซมีเทน แต่จะสามารถใช้ก๊าซไฮโดรเจนได้ดีกว่า (methyamine) เป็นต้น

2.5.3 ขั้นตอนของการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.5.3.1 ไฮโดรไลซิส

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ที่ไม่ละลายน้ำ เช่นไขมัน โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ให้มีโมเลกุลขนาดเล็กลงโดยใช้ เอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมานอกเซลล์ โดยเอนไซม์นี้จะมีเฉพาะเจาะจงต่อสาร ชนิดนั้นๆ ดังตารางที่ 2.4 ผลจากขั้นตอนนี้จะได้สารโมเลกุลขนาดเล็กที่ละลายน้ำได้ เช่น กรดไขมันชนิดยาว กรดอะมิโนและน้ำตาล ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อย่อยสลายในขั้นตอนต่อไป ขั้นตอนนี้จะดำเนินไปได้ค่อนข้างช้า จึงเป็นขั้นตอนที่จำกัดอัตราเร็วของปฏิกิริยา ทำให้เวลาในการย่อยสลายสารอินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

ตารางที่ 2.2 ผลผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนไฮโดรไลซิส และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง

ประเภทของสารอินทรีย์	เอนไซม์	ผลิตภัณฑ์
ไขมัน	ไลเปส,เอสเตอเรส	กรดไขมันชนิดยาว(คาร์บอนมากกว่า 12 อะตอม)
โปรตีน	โปรตีน	กรดอะมิโน
คาร์โบไฮเดรต	อะไมเลส	น้ำตาล

2.5.3.2 การสร้างกรด (Acidogenesis)

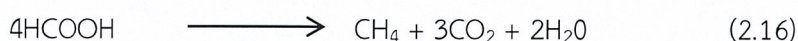
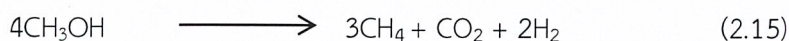
ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียสร้างกรด โดยจะมีการนำสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเข้าสู่ภายในเซลล์และย่อยสลายกลายเป็นกรดไขมันระเหยชนิดสั้น (คาร์บอนไม่เกิน 6 อะตอม) เช่น กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวไทริก เป็นต้น นอกจากนี้ผลของปฏิกิริยาจะได้ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาด้วย ชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนนี้จะขึ้นกับชนิดของซับสเตรทและความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจน ยกตัวอย่างเช่นในการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคส 1 โมลภายใต้สภาวะที่มีความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนต่ำจะได้กรดอะซิติก 2 โมล แต่ภายใต้สภาวะที่มีความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนจะได้กรดอะซิติก 1 โมล และกรดบิวไทริกหรือกรดโพรไพโอนิก 1 โมล เป็นต้น ส่วนการย่อยสลายกรดไขมันและกรดอะมิโนจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ต่างกันไป

2.5.3.3 การสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยอื่นๆ (Acetogenesis)

ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียกลุ่มอะซิโตจีนิคหรือแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดอะซิติกจะทำหน้าที่เปลี่ยนกรดไขมันระเหยง่ายชนิดสั้นที่ได้จากขั้นตอนการสร้างกรดให้เป็นกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน โดยขั้นตอนนี้มีความสำคัญในการเชื่อมต่อระหว่างขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างก๊าซมีเทน เนื่องจากแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนไม่สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมได้ ต้องมีการเปลี่ยนกรดไขมันชนิดอื่นให้เป็นกรดอะซิติกเสียก่อน นอกจากนี้สารอินทรีย์ชนิดอื่นที่แบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนสามารถนำไปใช้ได้แก่ กรดฟอร์มิก ก๊าซไฮโดรเจน เมทานอลและเมทิลามีน (Methylamine) เป็นต้น

2.5.3.4 การสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenesis)

แบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนจะเปลี่ยนกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจน รวมถึงเมทานอล กรดฟอร์มิกและสารอินทรีย์อื่นๆ ที่แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนสามารถนำไปใช้ได้ ที่ได้จากขั้นตอนการย่อยสลายทั้งหมดข้างต้นให้ก๊าซมีเทนสภาวะไร้ออกซิเจนอย่างเด็ดขาด ดังสมการที่ 2.13-2.16

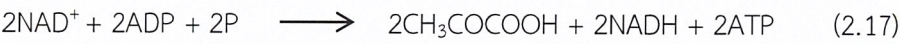


2.5.4 ตัวอย่างผลของความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนที่มีต่อการสร้างกรดไขมันระเหยง่ายจากกลูโคส (มันลิน, 2542)

2.5.4.1. ความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายหลังจากขั้นตอนไฮโดรไลซิส ได้เป็นกลูโคสซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กแล้ว แบคทีเรียที่ไม่สร้างก๊าซมีเทนจะดูดซึมกลูโคสเข้าไปในเซลล์และย่อยสลายโดยวิถีทาง EMP (Embden-Meyerhof pathway) โดยกลูโคสจะถูกออกซิไดซ์กลายเป็นกรดไพรูวิก ดังสมการ 2.17



จากสมการกลูโคส 1 โมลจะได้กรดไพรูวิก 2 โมล ATP 2 โมล และNADH 2 โมล โดยมีโคเอนไซม์ NAD⁺ เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการเป็นตัวพาหะของอิเล็กตรอนและไฮโดรเจนโดยจะกลายเป็น NADH จากนั้นจะมีการฟื้นฟูอำนาจของ NAD⁺ ใหม่เพื่อเป็นพาหะในการขนส่งอิเล็กตรอนต่อไปโดยการปลดปล่อยโปรตอนออกมาดังสมการที่2.18



ไฮโดรเจนที่อยู่ในอากาศเหนือน้ำมีความดันพาร์เชียลต่ำ จนทำให้ไฮโดรเจนละลายน้ำได้น้อยมาก ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะหนีจากน้ำสู่บรรยากาศได้ง่ายทำให้ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนชนิดที่เป็นผู้บริโภคน้ำก๊าซไฮโดรเจนนำไปสร้างก๊าซมีเทนดังสมการที่ 2.19



กรดไพรูวิกที่เกิดขึ้นจะถูกออกซิไดซ์กลายเป็นอะซิetylโคเอนไซม์ โดยมี NAD⁺ ทำหน้าที่เป็นตัวพาหะของอิเล็กตรอนเช่นเดิม และหลังจากนั้นอะซิetylโคเอนไซม์จะถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติก พร้อมการสร้าง ATP ดังสมการ 2.20

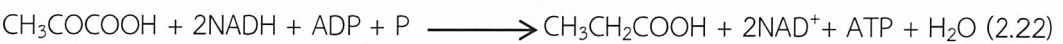


เมื่อรวมสมการการย่อยสลายกลูโคสจะได้ว่ากลูโคส 1 โมล ให้กรดอะซิติก 2 โมล คาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมล ก๊าซไฮโดรเจน 4 โมล ดังสมการที่ 2.21

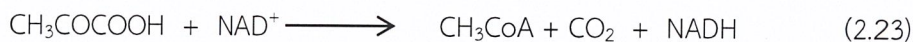


2.5.4.2. ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง

เมื่อมีการสะสมตัวของก๊าซไฮโดรเจนจนมีค่าสูง การปลดปล่อยโปรตอนออกมาจาก NADH ด้วยวิธีปกติจะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ แบคทีเรียที่ไม่สร้างก๊าซมีเทนจึงต้องใช้วิธีการอื่นในการฟื้นฟูของ NADH โดยใช้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเองควบคู่กับการเปลี่ยน NADH เป็น NAD⁺ ดังสมการที่ 2.22



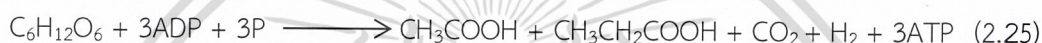
กรดไพรูวิกที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการย่อยสลายกลูโคส 1 โมล สามารถใช้ปลดปล่อยโปรตอนออกมาจากจาก NADH ได้ 2 โมล ส่วนที่เหลืออีก 1 โมล จะถูกย่อยสลายออกเป็นอะซิetylโคเอนไซม์ดังสมการที่ 2.23 การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



การฟื้นฟูอำนาจให้กับ NADH จากขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับความดันพาร์เซียล ของก๊าซไฮโดรเจน ถ้าความดันของไฮโดรเจนต่ำ การปลดปล่อยโปรตอนจาก NADH จะใช้วิธีปกติ แต่ถ้าความดันของไฮโดรเจนยังมีค่าสูงการปลดปล่อยโปรตอนจะเกิดขึ้นควบคู่กับการเปลี่ยนแปลงอะซิไทลโคเอให้เป็นกรดอะซิติก ดังสมการที่ 2.24



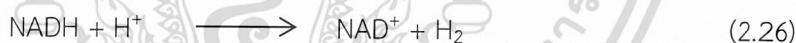
ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ความดันพาร์เซียลของไฮโดรเจนต่ำกลูโคส 1 โมลจะให้ ATP 4 โมล และกรดอะซิติก 2 โมลโดยไม่มีกรดไพรูโวนิกเกิดขึ้น แต่ที่ความดันพาร์เซียลของก๊าซไฮโดรเจนมีค่าสูงจะได้ ATP 3 โมล กรดอะซิติกและกรดไพรูโวนิกอย่างละ 1 โมล สมการการย่อยสลายกลูโคสภายใต้ความดันพาร์เซียลของไฮโดรเจนสูง ดังสมการที่ 2.25



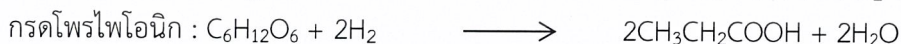
2.6 การประยุกต์ใช้การย่อยสลายอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจนในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ

2.6.1. กระบวนการเกิดก๊าซไฮโดรเจน

ในกระบวนการหมักในที่มืด สารตั้งต้นที่มีส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยโดยกระบวนการหมักแบบไร้อากาศโดยจุลินทรีย์ ซึ่งก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการสร้างกรดและสร้างกรดอะซิติกจากการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน โดยเกิดจากการปลดปล่อย H^+ ออกจาก NADH เพื่อให้คืนกลับไปเป็น NAD^+ อีกครั้ง ซึ่ง NAD^+ นี้ทำหน้าที่ในการเป็นตัวพาหะของอิเล็กตรอนที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากในระหว่างการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นกรดไขมันระเหยชนิดต่างๆ โดยปฏิกิริยาการปลดปล่อย H^+ ออกจาก NADH ดังสมการ 2.26



ผลรวมของปฏิกิริยาจะได้กรดไขมันระเหยง่าย ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยชนิดของกรดไขมันระเหยง่ายที่ได้จะมีความแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสารอินทรีย์และความดันพาร์เซียลของก๊าซไฮโดรเจน โดยตัวอย่างของปฏิกิริยาการสร้างกรดไขมันระเหยจากกลูโคส ดังสมการ



นอกจากปฏิกิริยาข้างต้นแล้ว ในระหว่างขั้นตอนนี้อาจเกิดผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ ได้อีกเช่น กรดมาลิก หรือเอทานอล (Mohankrihna และคณะ, 2010) ซึ่งจะไม่มีการเกิดก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้น ชนิดของกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นมีความสำคัญต่อปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตได้ ดังจะเห็นจากปฏิกิริยาการย่อยสลายกลูโคสในสมการโดยหากปฏิกิริยาได้กรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะได้ก๊าซไฮโดรเจนทั้งหมด 4 โมล ต่อกลูโคส 1 โมลซึ่งจะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาที่ได้กรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์จะได้จำนวนโมลของก๊าซไฮโดรเจนมากกว่า จึงมีการสันนิษฐานว่าในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพนั้นควร

เอ็กสาร์ทที่จะได้กรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายมากกว่ากรดบิวไทริกและมีหลายงานวิจัยที่ได้มีการพิจารณาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนระหว่างกรดอะซิติกและกรดบิวไทริกที่เกิดขึ้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยพบว่าปริมาณก๊าซไฮโดรเจนมีการแปรผันโดยตรงกับอัตราส่วนระหว่างกรดอะซิติกและกรดบิวไทริก ยังสามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของระบบผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ และสิ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยา คือ ชนิดของแบคทีเรียภายในระบบ ดังจะเห็นได้จากแบคทีเรียสร้างกรดบางกลุ่มในจีส *Clostridium* เพียงกลุ่มเดียว สามารถให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลายถึง 17 ชนิด ยังไม่รวมถึงแบคทีเรียสร้างกรดกลุ่มจีสอื่นๆ อีกหลายกลุ่มซึ่งได้มีงานวิจัยที่ทำการศึกษากการผลิตแก๊สไฮโดรเจนชีวภาพจากแบคทีเรียกลุ่มจีสต่างๆ โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) ซึ่งการใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพมีข้อดีคือ สามารถเลือกชนิดและสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมทั้งกับสภาวะการทำงานและชนิดของซับสเตรตนั้นๆ ได้ และยังให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนหรือไฮโดรเจนยิลด์สูงอีกด้วย แต่ข้อเสียคือ มีความไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้กับระบบการผลิตจริงซึ่งมีขนาดใหญ่ และยังมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมต่ำโดยอาจจะต้องใช้เวลาในการปรับตัวนานพอสมควร นอกจากนี้อาจจะไม่สามารถแข่งขันกับเชื้อชนิดอื่นๆ ที่อาจมีการปนเปื้อนเข้ามาในระบบได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อซับสเตรตเป็นสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น เนื่องจากเชื้อบริสุทธิ์จะมีความจำเพาะเจาะจงกับซับสเตรตที่ใช้เลี้ยงเชื้อเพียงบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดผสมจากแหล่งธรรมชาติหรือจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ เนื่องจากหาได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อนำไปใช้กับระบบการผลิตซึ่งมีขนาดใหญ่และต้องใช้หัวเชื้อเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายในระบบที่นอกเหนือออกไปจากสภาวะที่เหมาะสมได้ อย่างไรก็ตามในหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดผสมนั้นประกอบไปด้วย แบคทีเรียหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียที่สร้างกรดและแบคทีเรียกลุ่มสร้างแก๊สมีเทน ซึ่งจะส่งผลทำให้มีการนำก๊าซไฮโดรเจนผลิตไปใช้ในการสร้างก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนได้ ดังนั้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพโดยอาศัยการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจนนั้นจะต้องมีการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มนี้ โดยการบำบัดเบื้องต้นก่อนนำไปใช้ หรือการควบคุมสภาวะแวดล้อมและปัจจัยต่างๆ ของระบบ หรือใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสร้างแก๊สมีเทนซึ่งมีความอ่อนไหวต่อสภาพแวดล้อมมากกว่าแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนชนิดอื่นอยู่แล้ว โดยวิธีที่ใช้ในการบำบัดหรือเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นมีหลายวิธี ได้แก่ การให้ความร้อนแก่หัวเชื้อการปรับสภาพหัวเชื้อ ให้มีค่าพีเอชเป็นกรด การเติมสารเคมีเป็นต้น การบำบัดหัวเชื้อจุลินทรีย์โดยการให้ความร้อนเป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดเนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและค่อนข้างมีประสิทธิภาพตัวอย่างของการบำบัดหัวเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธีต่างๆ ผลจากการบำบัดหัวเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นจะทำให้แบคทีเรียเรียกกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนถูกกำจัดออกไปและทำให้ได้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ประกอบไปด้วยแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์อันมีแบคทีเรียกลุ่มจีส *Clostridium* กลายเป็นกลุ่มแบคทีเรียหลัก ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียสร้างกรดและสามารถสร้างก๊าซไฮโดรเจนได้ ตัวอย่าง ของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ *C. butyricum*, *C. acidisoli* (อ้างถึง 2002; Fang , Liu และ Zhang, 2002 ใน Kim และคณะ, 2006) เป็นต้น โดยแบคทีเรียเหล่านี้จะมีการสร้างสปอร์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเช่น สภาวะที่มีอุณหภูมิที่สูงเกินไปสภาวะที่มีสารเคมีที่เป็นพิษหรือเมื่อขาดสารอาหารที่จำเป็นเป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียชนิดนี้มีข้อจำกัดคือ มีความอ่อนไหวต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่คงที่และมีความต้องการแบบจำเพาะเจาะจงในการงอกของสปอร์ (spore germination) อีกด้วย (Labbe และ Remi shih, 1997 อ้างถึงใน Hawkes และคณะ, 2002) นอกจากนี้ภายในหัวเชื้อจุลินทรีย์ จากระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนที่ผ่านการ บำบัดหัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับงานวิจัยและการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของลิขสิทธิ์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื่อว่าจะมีแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดและผลิตก๊าซไฮโดรเจนแล้ว ภายในหัวเชื้อจุลชีพยังมีแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ชนิดอื่นอาศัยอยู่ด้วย เช่น แบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดอะซิติกบางชนิด ได้แก่ *C. scatologen*, *C. coccoides*, *SPOROMUSA OVATA* (Mitchell, 2001 อ้างถึงใน Kim และคณะ , 2006) เป็นต้น โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการนำก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตได้ไปใช้ในการสร้างกรดอะซิติก ดังสมการ ซึ่งจะมีผลทำให้ปริมาณไฮโดรเจนที่ผลิตได้ลดลงดังสมการ 2.27



นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตแลกเตทซึ่งมีทั้งชนิดที่สร้างสปอร์ได้ *Bacillus racemilacticus* และที่ไม่สร้างสปอร์ เช่น *Lactobacillus paracasei* (Hyronimus และคณะ /2000;Noike และคณะ, 2002 อ้างถึงใน Kim และคณะ, 2006) ซึ่งจะคอยแข่งขันกับแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในการนำซับสเตรทไปใช้ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาจะไม่มีก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้น ดังสมการ 2.28



จึงจะเห็นได้ว่าการบำบัดหัวเชื้อจุลชีพเบื้องต้นนั้นสามารถกำจัดแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนออกไปได้ แต่ไม่สามารถกำจัดแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ชนิดอื่นนอกเหนือไปจากแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ ดังนั้นจึงควรที่จะมีการใช้สภาวะต่างๆ ในการทำงานเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ด้วย เช่น เวลาพักทางเซลล์ชีวเคมีและค่าพีเอชของระบบเป็นต้น นอกจากนี้การมีแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดอะซิติกและแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตแลกเตทภายในระบบจะเป็นผลทำให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนลดลงแล้ว แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนเองยังสามารถผลิตแอลกอฮอล์เอทานอล บิวทานอล และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มีไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ยกตัวอย่างเช่น การมีความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนสูง (Adum, 1990 อ้างถึงใน Liu และคณะ, 2006) เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนลดลงได้ และจากงานวิจัยที่ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพโดยใช้การทดลองแบบที่ละเหยยังพบว่า เมื่อแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจนเกือบถึงช่วงที่มีการเจริญเติบโตแบบคงที่หรือในช่วงปลายของ log phase แบคทีเรียจะมีการผลิตแอลกอฮอล์แทนการผลิตกรดและก๊าซไฮโดรเจนอีกด้วย (Lay และคณะ, 1999 อ้างถึงใน Hawkes และคณะ, 2002)

2.6.2 กระบวนการการเกิดก๊าซมีเทน

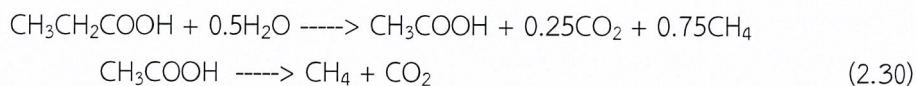
ปฏิกิริยาการเกิดก๊าซมีเทน (CH_4) จากการสับสเตรท แบ่งออกเป็น 3 ปฏิกิริยา (ภาวิณี ชัยประเสริฐ, 2541) คือ การเกิดมีเทน (CH_4) จากกระบวนการ Decarboxylation ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย การเกิดมีเทน (CH_4) จากคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน (H_2) และการเกิดมีเทน (CH_4) จากสารประกอบอินทรีย์เชิงเดี่ยวอื่น ๆ

1. ก๊าซมีเทน (CH_4) ที่เกิดจากกระบวนการ Decarboxylation ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย กรดอินทรีย์ระเหยง่ายทุกชนิดจะถูกย่อยสลายเป็นกรดอะซิติกแล้วเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทน (CH_4) ดัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 2.29 สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



การย่อยสลายกรดไพรูวอิก ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$) ไปเป็นกรดอะซิติก (CH_3COOH) และมีเทน (CH_4) ดังสมการที่ 2.30



2. ก๊าซมีเทน (CH_4) ที่เกิดจากปฏิกิริยาของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน (H_2)
การเกิดมีเทน (CH_4) จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน ดังสมการที่ 2.31



3. ก๊าซมีเทน (CH_4) ที่เกิดจากสารอินทรีย์เชิงเดี่ยวชนิดอื่น

การเกิดก๊าซมีเทน (CH_4) สามารถเกิดจากสารอินทรีย์เชิงเดี่ยวอื่นๆ ได้ เช่น Methanol (CH_3OH)



ปริมาณก๊าซมีเทน (CH_4) ที่เกิดขึ้นจากสารเริ่มต้นต่างกัน จะให้ปริมาณก๊าซมีเทนและผลิตภัณฑ์อื่นๆ ดังนี้

1. คาร์โบไฮเดรต ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ทำให้เกิดก๊าซมีเทน (CH_4) 50% และ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 50% ของปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทั้งหมด



2. โปรตีน ($\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{O}_7\text{N}_3\text{S}$) ทำให้เกิดก๊าซมีเทน (CH_4) 70-71% และ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 29-30% ของปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทั้งหมด



3. ไขมัน ($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_6$) ทำให้เกิดก๊าซมีเทน (CH_4) 67-68% และ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 32-33% ของปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทั้งหมด



2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน

2.7.1. ปัจจัยด้านการทำงาน (Operating factor)

1. อัตราภาระสารอินทรีย์ (Organic loading)

อัตราภาระสารอินทรีย์เป็นปัจจัยทางด้านการทำงานที่ส่งผลต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยตรงและยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะในระบบ เช่น ค่าพีเอชและเวลากักพักทางชลศาสตร์อีกด้วย ดังนั้นระบบควรมีอัตราภาระสารอินทรีย์ที่มีความเหมาะสมกับชนิดของซับสเตรทและสภาวะการเดินระบบ ซึ่งในการปรับอัตราภาระอินทรีย์ทำได้โดยการเปลี่ยนอัตราภาระไหลที่เข้าระบบ หรือการปรับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เข้าระบบโดยการเจือจางน้ำเสียให้มีค่าต่ำลงหรือเพิ่มขึ้น

2. เวลากักพักทางชลศาสตร์ (Hydraulic Retention Time , HRT) และเวลากักพักตะกอน (Solid Retention Time , SRT)

เวลากักพักทางชลศาสตร์เป็นค่าที่บ่งบอกถึงเวลาที่น้ำเสียอยู่ระบบเพื่อให้แบคทีเรียมีเอกสารระยะเวลในการสัมผัสกับน้ำเสียที่เพียงพอที่จะเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมและย่อยสลายการค้ำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอินทรีย์ได้ ระยะเวลาที่แบคทีเรียต้องการในการสัมผัสกับน้ำเสียนั้นมีค่าแตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับชนิดของขั้วสเตรทว่ามีความซับซ้อนเพียงใด ขั้วสเตรทที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเช่น กลูโคส กรดไขมัน ระบายง่ายและแอลกอฮอล์ จะสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าขั้วสเตรทพวกคาร์โบไฮเดรตไขมัน รวมไปถึงน้ำเสียชุมชนและขยะชุมชนซึ่งมีความซับซ้อนของโครงสร้างมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียต้องการเวลากักพักทางจุลศาสตร์เพื่อสัมผัสและย่อยสลายเพิ่มมากขึ้นด้วย

เวลากักพักตะกอนเป็นค่าที่บ่งบอกถึงระยะเวลาที่แบคทีเรียจะคงอยู่ในระบบเพื่อที่จะเจริญเติบโตและเพิ่มเซลล์ใหม่จนมีจำนวนเพียงพอที่จะเป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบ (Predominant) สำหรับแบคทีเรียในระบบแบบไร้ออกซิเจนนั้นมีอัตราการผลิตมวลจุลชีพที่ต่ำและเจริญเติบโตได้ช้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทน ดังนั้นระบบควรที่จะมีเวลากักพักตะกอนที่นาน เพื่อรักษามวลจุลชีพไว้ภายในระบบ เวลากักพักทางจุลศาสตร์มีความสัมพันธ์กับการเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยเวลากักพักทางจุลศาสตร์ที่นานจะทำให้แบคทีเรียมีระยะเวลาในการสัมผัสและย่อยสลายสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ปฏิกริยาการย่อยสลายสามารถดำเนินต่อไปจนถึงขั้นของการผลิตก๊าซมีเทน ดังนั้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จึงมีการออกแบบให้มีระบบเวลากักพักทางจุลศาสตร์ที่สั้น เพื่อให้ปฏิกริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ในขั้นแรกๆ เท่านั้น ช่วยลดโอกาสการนำก๊าซไฮโดรเจนไปใช้โดยแบคทีเรียกลุ่มบรีโพรทีก๊าซไฮโดรเจนทำให้ไฮโดรเจนยีสต์ที่ได้จากปฏิกริยามีค่าสูงขึ้น สิ่งที่ต้องพิจารณาในการออกแบบเวลากักพักทางจุลศาสตร์คือ ความซับซ้อนของน้ำเสียหรือของเสียที่ทำการบำบัด ชนิดของเชื้อจุลชีพ(เชื้อบรีโพรทีก๊าซ/เชื้อผสม) และสภาพแวดล้อมที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกริยาและเมทาบอลิซึมของแบคทีเรีย เช่น อุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างของเวลากักพักทางจุลศาสตร์ของน้ำเสียที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองแบบต่อเนื่องโดยใช้ถึงปฏิกริยาแบบกวนสมบูรณ์ ดังตารางที่2.3

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างเวลากักพักทางจุลศาสตร์ที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จากน้ำเสียประเภทต่างๆ โดยใช้ถึงปฏิกริยาแบบกวนสมบูรณ์

ชนิดของน้ำเสีย	อุณหภูมิของระบบ	ค่าพีเอชของระบบ	เวลากักพักทางจุลศาสตร์ที่เหมาะสม	งานวิจัยอ้างอิง
กลูโคส	40	6.0-7.0	6 ชั่วโมง	Wu และคณะ(2008)
แป้ง	35	5.3	12 ชั่วโมง	Arooj และคณะ(2008)
ตะกอนเปี้ยว	37	5.5	18 ชั่วโมง	Fan,Kan และ Lay(2006)

3. การกวนผสม (mixing)

การกวนผสมภายในระบบมีผลต่อการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน โดยจะช่วยให้มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การสัมผัสกันระหว่างขั้วสเตรทและเชื้อจุลชีพมากขึ้น จึงส่งผลให้เกิดการย่อยสลายไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอินทรีย์ได้ดีขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังช่วยให้มีการกระจายเชื้อจุลินทรีย์ภายในระบบให้มีลักษณะที่สม่ำเสมอทั่วทั้งถังปฏิกิริยา ช่วยป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของของเสียภายในถังหมักซึ่งจะทำให้การย่อยสลายเป็นไปได้ยาก และสามารถป้องกันการสะสมของสารอินทรีย์บางบริเวณของถัง โดยการกวนผสมนั้นสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การกวนโดยใช้เครื่องมือ (Mechanical) การใช้ของเหลวหมุนเวียนเข้าระบบ (Liquid circulation) การอัดพ่นก๊าซเข้าที่ทางด้านล่างของถังปฏิกิริยา (Compressed air) เป็นต้น แต่มีข้อควรระวังคือ จะต้องเป็นการกวนแบบช้าและไม่ก่อให้เกิดความปั่นป่วน (Turbulent) ภายในระบบ

2.7.2 ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental factor)

1. อุณหภูมิ (Temperature)

โดยทั่วไปอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ซึ่งรวมไปถึงปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตหรือที่เรียกว่า ปฏิกิริยาทางเคมีอีกด้วย ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนมีอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้อง โดยมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียภายในระบบ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นแบคทีเรียมีแนวโน้มที่จะมีกระบวนการเมทาบอลิซึมสูงขึ้นซึ่งจะส่งผลให้อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพเพิ่มสูงขึ้นด้วย เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความชอบอุณหภูมิในช่วงที่ต่างกัน ดังนั้นการควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับชนิดของแบคทีเรียจึงมีความสำคัญเช่นเดียวกัน อุณหภูมิที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ดังตารางที่ 2.4 แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาดและกลุ่มที่อยู่ได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจนส่วนใหญ่มีความชอบอุณหภูมิในช่วงมีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิก

ตารางที่ 2.4 ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (ดัดแปลงจาก Metcalf และ Eddy, /2004)

ชนิดของช่วงอุณหภูมิ	ช่วงอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)
ไซโคฟิลิก	10-30	12-18
มีโซฟิลิก	20-50	25-40
เทอร์โมฟิลิก	35-75	55-65

การเดินระบบที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆ อาจมีข้อจำกัดเนื่องมาจากสภาพอากาศในพื้นที่ที่แตกต่างกัน ในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิต่ำอาจจะต้องมีการให้ความร้อนแก่ระบบทำให้เสียค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากต้องการเดินระบบที่อุณหภูมิสูงกว่าสภาพอากาศมากๆ ซึ่งจะทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายมากจนอาจเกิดความไม่คุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์ได้ ซึ่งอาจมีการใช้ทางเลือกอื่นโดยการเดินระบบที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่ต้องการ แต่ให้มีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์

ภายในระบบให้สูงขึ้นกว่าปกติ เพื่อให้มีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์เท่ากันหรือใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ต้องการมากที่สุด (Speece, 1996) สำหรับประเทศไทยซึ่งมีสภาพอากาศค่อนข้างร้อนและมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 20-35 องศาเซลเซียส จึงมีความเหมาะสมในการเดินระบบโดยใช้อุณหภูมิในช่วงมีโซฟิลิกโดยไม่จำเป็นต้องให้อุณหภูมิเพิ่มแก่ระบบแต่อย่างใด

สำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพนั้นพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตได้ โดยจากงานวิจัยที่ทำการศึกษเพื่อเปรียบเทียบปริมาณก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียประเภทแบ่งที่อุณหภูมิแตกต่างกันด้วยระบบที่ละเท โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพที่ได้จากเสียที่อุณหภูมิ 37 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนมากกว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีไฮโดรเจนยลด์ 78 มล./ก. ของแบ่ง ในขณะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีไฮโดรเจนยลด์ 47 มล./ก. ของแบ่ง (Zhang , Liu และ Fang, 2003) นอกจากนี้ในระบบแบบต่อเนื่อง Ueno,Fukui และ Goto (2007) ได้ทำการศึกษการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากของเสียจากบ้านเรือนโดยอุณหภูมิเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส พบว่า มีค่าก๊าซไฮโดรเจนที่มากกว่าในของเสียชนิดเดียวกันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากข้อมูลข้างต้นนอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพและก๊าซไฮโดรเจนแล้ว อุณหภูมิที่มีค่าสูงยังสามารถลดความดันของพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนโดยจะช่วยให้ก๊าซไฮโดรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมีการกระจายไปสู่ชั้นอากาศมากขึ้น ช่วยป้องกันการผลิตกรดโพไฟโอนิกและทำให้การย่อยสลายเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hawkes และคณะ, 2002)

2. ค่าพีเอช

ค่าพีเอชเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจน โดยทั่วไปค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนอยู่ในช่วง 6.8-7.4 (Grady, Daigger และ Lim, 1999) สำหรับถึงหมักกรดของระบบไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดจะมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3.5-6.5 โดยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำเสีย (เกรียงศักดิ์, 2543) การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมีผลโดยตรงต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรีย หากมีค่าต่ำหรือสูงเกินกว่าที่เหมาะสมมากเกินไปจะทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตไม่เต็มที่ไปจนถึงถูกยับยั้งการเจริญเติบโตและไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ภายในระบบได้ ในที่สุดแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนมีความอ่อนไหวต่อสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน แบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนมีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ในขณะที่อีกกลุ่มที่สร้างกรดนั้นมีความทนทานได้มากกว่า ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จึงนำข้อเปรียบเทียบนี้มาใช้เดินระบบเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนโดยควบคุมให้ค่าพีเอชค่อนข้างเป็นกรดที่เท่ากับ 5.5 เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด

3. สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาพความเป็นต่างเป็นค่าที่แสดงถึงความจุบัฟเฟอร์ (Buffer capacity) ระบบที่มีความจุบัฟเฟอร์ต่ำเมื่อปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้นสูงจะส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช อย่างรวดเร็วและส่งผลกระทบต่อระบบได้ สภาพที่สำคัญในระบบไร้ออกซิเจนคือสภาพต่างในรูปไบคาร์บอเนต (Bicarbonate alkalinity) โดยช่วงของสภาพต่างนี้จะไม่มีช่วงที่เหมาะสมตายตัว ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบ

4. ความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์(H₂ and CO₂ Partial pressure)

ในขั้นตอนการย่อยสลายอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน ก๊าซไฮโดรเจนและ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนไฮโดรไลซิสไปจนถึงขั้นตอนสร้างกรดอะซิติกจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียกลุ่มบริโวกไฮโดรเจน (H₂ Consuming bacteria) และกลุ่มไฮโดรจีโนฟิลิกเมทาโนเจน (Hydrogenophilic methanogens)

5. สารอาหาร (nutrient)

เนื่องจากแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนมีการสร้างเซลล์เพียงร้อยละ 4-10 ของค่าซีโอดีที่ถูกนำไปใช้ (Grady และคณะ, 1999) มีความต้องการอาหารที่น้อยลงเมื่อเทียบกับแบบเติมอากาศ นอกจากแบคทีเรียจะต้องการคาร์บอนจากสารอินทรีย์แล้วแบคทีเรียยังต้องการไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพื่อสร้างเซลล์แบคทีเรีย ดังตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย (Metcalf และ Eddy, 2004)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย

ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	ธาตุที่เป็นองค์ประกอบ	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง
คาร์บอน	50.0	โซเดียม	1.0
ออกซิเจน	22.0	แคลเซียม	0.5
ไนโตรเจน	12.0	แมกนีเซียม	0.5
ไฮโดรเจน	9.0	คลอไรด์	0.5
ฟอสฟอรัส	2.0	เหล็ก	0.2
ซัลเฟอร์	1.0	ธาตุชนิดอื่นๆ	0.3
โพแทสเซียม	1.0		

(ที่มา : ลานนา, 2552 อ้างอิงถึง Metcalf และ Eddy, 2004)

6. สารพิษ (Toxic substance)

แบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนประกอบด้วยแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดและสร้างก๊าซมีเทน ซึ่งกลุ่มที่สร้างมีเทนมีความอ่อนไหวแต่ต่างกับกลุ่มสร้างกรดที่ทนทานต่อไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามใช้เคมีภัณฑ์และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะ เนื่องจากความเข้มข้นของสารที่ก่อความเป็นพิษสูงย่อมเกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย
สร้างกรดได้เช่นกัน การเดินระบบโดยเผื่อระวังไม่ให้มีสารที่อาจก่อให้เกิดความเป็นพิษภายใน
ระบบมากเกินไปจะช่วยให้แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้และทำให้ระบบ
บำบัดดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งสารที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษมีดังนี้

6.1 ไอออนและจุววกของโลหะเบา (Light metal cation) ไอออนบวกที่จำเป็นต่อ
การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่น Ca^{2+} Mg^{2+} Na^{+} เป็นต้น โดยมีผลกระทบต่อการ
เจริญเติบโตของแบคทีเรียถ้ามีความเข้มข้นที่เหมาะสม อาจก่อให้เกิดพิษต่อแบคทีเรียที่ความ
เข้มข้นสูงๆ ได้

6.2 แอมโมเนีย (Ammonia, NH_3) อยู่ในน้ำเสียจะอยู่ในรูปของแอมโมเนียมไอออน
(NH_4^{+}) เกิดจากการย่อยสลายโปรตีน ยูเรีย และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่มีไนโตรเจนเป็น
องค์ประกอบ ดังสมการที่ 2.24



6.3 โลหะหนัก (Heavy metal) โลหะหนักที่ความเข้มข้นต่ำๆ เป็นประโยชน์ต่อ
การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่หากเข้มข้นสูงเกินไป จะมีผลยับยั้งแบคทีเรียได้ โลหะหนัก
แต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งที่แตกต่างกันดังตารางที่ 2.6 ความเข้มข้นของไอออน
ของโลหะหนักที่มีผลยับยั้งแบคทีเรีย 50% (Half Maximalinhibitory Concentration, IC_{50})
ของถังย่อยไร้ออกซิเจน (Mosey และ Hughes, 1975 อ้างถึงใน Grady และคณะ, 1999)

ตารางที่ 2.6 ความเข้มข้นของไอออนโลหะหนักที่มีผลยับยั้งแบคทีเรีย 50%
(Mosey และ Hughes, 1975 อ้างถึงใน Grady และคณะ, 1999)

ไอออนของโลหะหนัก	ความเข้มข้น (มก/ล.)
Fe^{2+}	1-10
Zn^{2+}	10^{-4}
Cd^{2+}	10^{-7}
Cu^{+}	10^{-12}
Cu^{2+}	10^{-16}

6.4 ซัลไฟด์ (Sulfide) ซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100 มก./ล. สามารถยับยั้งและ
เกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ความเข้มข้นของซัลไฟด์และผลที่มีต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดไร้ออกซิเจน
(Mosey และ Hughes, 1975 อ้างถึงใน Grady และคณะ, 1999)

ความเข้มข้นของซัลไฟด์(มก./ล.)	การยับยั้งที่มีต่อแบคทีเรีย
100	ทนต่อการยับยั้งได้โดยมีการปรับเพียงเล็กน้อยหรือไม่จำเป็นต้องปรับตัว
100-200	อาจจะทนต่อการยับยั้งได้โดยมีการปรับตัว
>200	ยับยั้งอย่างรุนแรง

นอกจากนี้ซัลไฟด์ยังสามารถอยู่ได้ในรูปของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen Sulfide,H₂S)ได้
โดยรวมตัวกับไฮโดรเจนไอออน ดังสมการที่ 2.25

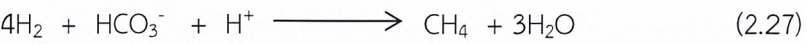


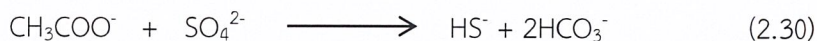
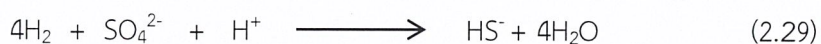
โดยที่ไฮโดรเจนซัลไฟด์จะสามารถเปลี่ยนกลับไปซัลไฟด์ที่ค่ามากกว่า 7.0 ดังสมการ 2.26



ไฮโดรเจนไฟด์มีลักษณะสมบัติเป็นกรดอ่อน ละลายน้ำได้และสามารถเคลื่อนที่ผ่าน
ชั้นน้ำไปสู่ชั้นอากาศ ทำให้ก๊าซที่ได้จากระบบไร้ออกซิเจนมีความสามารถในกักกร่อน การ
กำจัดซัลไฟด์ออกจากระบบสามารถทำได้ใช้วิธีเดียวกับการกำจัดโลหะหนัก โดย การเติม
เพอร์รอสซัลไฟด์ให้เกิดการตกตะกอนในรูปโลหะซัลไฟด์ สารประกอบของซัลไฟด์อีกตัวหนึ่งที่
สำคัญคือ ซัลเฟต (Sulfate ion, SO₄²⁻) โดยซัลเฟตไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย
โดยตรง แต่จะทำให้แบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวซิง (Sulfate – reducing bacteria) มีการ
แข่งขันกับแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนในการรับอิเล็กตรอนเพื่อรีดิวซ์ซัลไฟด์ ดังสมการ

แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทน





จากสมการที่ 2.29 และ 2.30 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวิซึ่งมีการนำก๊าซไฮโดรเจนไปใช้โดยก๊าซไฮโดรเจนทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนและซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน การมีซัลเฟตภายในระบบจึงส่งผลต่อการบำบัดแบบไร้ออกซิเจน ดังนี้คือ

6.4.1. สำหรับระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนทั่วไป หรือในถังผลิตก๊าซมีเทนในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน แบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวิซึ่งจะมีการนำอิเล็กตรอนไปใช้ทำให้มีอิเล็กตรอนเหลือไม่เพียงพอต่อการนำ อิเล็กตรอนไปใช้ผลิตก๊าซมีเทนของแบคทีเรียเรียกกลุ่มสร้างก๊าซมีเทน ดังนั้นจึงป้องกันการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้ ระบบควรที่จะมีอัตราส่วนของค่าซีโอดีที่เข้าระบบต่อปริมาณซัลเฟต ($\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$) มากพอที่จะให้มีอิเล็กตรอนเหลือสำหรับการผลิตก๊าซมีเทน

6.4.2. สำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกแบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวิซึ่งนำไปใช้ในการรีดิวิทำให้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนและไฮโดรเจนยิลด์ลงได้

6.5 สารพิษชนิดอื่นๆ

นอกจากดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีสารพิษชนิดอื่นที่อาจก่อความเป็นพิษ ต่อแบคทีเรีย ในระบบไร้ออกซิเจนโดยเฉพาะกับแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทน ซึ่งมีความอ่อนไหวมาก เช่นการมีออกซิเจนภายในระบบ การมีสารอนินทรีย์บางชนิด เช่น 2-bromoethane sulphonic acid ($\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3$, BES) คลอโรฟอร์ม คาร์บอนเตตระคลอไรด์ อะเซติลีน หรือเอธิลีน เป็นต้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Xin, M.G., Eric .,T., Eric., He'le'ne ., C.Jean,P,S., (2010) ทำการศึกษาการผลิตไฮโดรเจนจากของเสียทางการเกษตรโดยการหมักแบบไม่ใช้แสง โดยพิจารณาจากกากของเสียทางการเกษตร 3 ประเภท คือ กากของเสียจากการเกษตร มูลสัตว์ และกากอาหาร พารามิเตอร์ที่นำมาศึกษาได้แก่ พีเอช ความดัน อุณหภูมิ และกลุ่มของจุลินทรีย์ ผลการวิจัยพบว่า กากของเสียจากอาหารมีศักยภาพในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนที่ดีกว่า กากของเสียที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการเกษตร และของเสียจากมูลสัตว์ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า พารามิเตอร์ที่มีผลต่อการเกิดก๊าซไฮโดรเจน ได้แก่ ช่วงพีเอชและความดันในช่วงต่ำๆ รวมทั้งภาวะอุณหภูมิสูงๆ ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลต่อการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์อีกทั้งรูปแบบของถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการหมักจะส่งผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ นอกจากปัจจัยสภาพแวดล้อมแล้วหัวเชื้อหรือตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักจะมีความสำคัญ เนื่องจากมีจุลินทรีย์หลายกลุ่มมีทั้งผู้ผลิต และผู้ใช้ ไฮโดรเจนเป็นสารตั้งต้น รวมทั้งผลผลิตอื่นๆที่เกิดจากกระบวนการเม

เอกสตร้าบอลลิมของจุลินทรีย์ จะส่งผลต่อเสถียรภาพการหมัก ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sakchai, P and Sureewan, S (2015) ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย ผักตบชวาปัจจัยที่ศึกษาคือ เวลาในการเกิดปฏิกิริยา ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเจือจาง (%v/v) และความเร็วการเขย่า (รอบต่อนาที) ผลการวิจัยพบว่า การเพิ่มเวลาในการทำปฏิกิริยา ความเข้มข้นของกรดที่สูงขึ้น และความเร็วรอบในการเขย่าที่มากขึ้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสที่สมบูรณ์และให้ผลผลิตน้ำตาลเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณกรดและเวลาที่มากเกินไป จะส่งผลให้เกิดน้ำตาลรูปอื่นๆ ที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก(Formic acid) กรดลิวูลินิก (levulinic acid) ผลการวิเคราะห์พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายผักตบชวา คือใช้เวลา 7.73 ชั่วโมง ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก เท่ากับ 1.31(%v/v) และความเร็วรอบในการปั่นกววน 264 รอบต่อนาที ซึ่งมีน้ำตาลเกิดขึ้นทั้งหมดสูงสุด 13 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำผักตบชวาที่ได้รับการย่อยสลายแล้วใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยการหมักด้วยตะกอนแบบไม่ใช้อากาศ ร่วมกับความร้อนได้ก๊าซไฮโดรเจนที่ได้สูงสุด 127.6 mmol H₂/L

Visva and Ajay (2017) ได้ศึกษาผลของเทคนิคการปรับสภาพผักตบชวด้วยวิธีทางกายภาพ 4 แบบ คือ เตอบล้อนร้อน ไมโครเวฟ หม้อนึ่งไอน้ำ และอ่างน้ำร้อน ในกระบวนการไฮโดรไลซิสการวิเคราะห์องค์ประกอบและลักษณะของผักตบชวา เพื่อหาเทคนิคการปรับสภาพความร้อนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดที่แสดงถึงการละลายที่ดีขึ้น การปรับสภาพที่สูงที่สุดคือเตอบล้อนร้อนลงมา คือไมโครเวฟ อ่างน้ำร้อน และหม้อนึ่งไอน้ำตามลำดับ จากนั้นนำผักตบชวาไปศึกษาศักยภาพทางชีวเคมีในการหมักของก๊าซมีเทน (BMP) ผ่านการปรับสภาพและไม่ผ่านการปรับสภาพ พบว่า ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพมีการผลิตก๊าซมีเทนสะสมได้ 3039±32 mL CH₄/g VS โดยการอบ ผักตบชวาที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการผลิตก๊าซมีเทนสะสมของ ผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ 2396±19 mL CH₄/g Vs ในระยะเวลา 35 วัน

Chyi-How, L., Biswarup, S., Chin-Chao, C., Chiu-Yue, L., (2016) ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนจากผักตบชวาโดยการหมักแบบเอเอสบีอาร์ (Anaerobic Sequencing Batch Reactor; ASBR) และถังกวนสมบูรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง (Intermittent Continuous Stirred Tank Reactor; ICSTR) ในการเริ่มต้นเดินระบบจะเติมกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร และมูลสุกรเป็นหัวเชื้อ เริ่มต้นจากนั้นค่อยๆเติมผักตบชวาขนาด 0.8 มิลลิเมตร สภาวะที่ควบคุมคือ พีเอชและระยะเวลาพักในถังหมัก (HRT) ผลการวิจัยพบว่า ศักยภาพการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจะลดลงเมื่อปริมาณผักตบชวาเพิ่มขึ้น การควบคุมปริมาณสารอาหารเริ่มต้น (substrate) พีเอช และ ระยะเวลาพักเก็บในถัง ICSTR มีผลต่อปริมาณก๊าซที่ผลิตได้ และอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงสุด เท่ากับ 1.1 mL/L-d , 82.4 mL/L-d และมีเทนที่สภาวะพีเอช 4 ระยะเวลาพักเก็บในถัง 2 วัน

Cheng J., Zhou ,J., Qi ,F., Xie B., Cen, K., (2006) ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากผักตบชวาโดยการหมักแบบไร้อากาศและใช้กากตะกอนที่ผ่านการย่อยสลายแล้ว (Digested sludge) เป็นหัวเชื้อและวิเคราะห์ปริมาณก๊าซกับกรดอินทรีย์ระเหยง่ายด้วยเครื่องก๊าซเครื่องโครมาโทกราฟี (Trace2000) ผลการวิจัยได้ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน 10-20% ไม่พบก๊าซมีเทนในสภาวะพีเอชที่ 5.5 ให้ก๊าซไฮโดรเจนสูงกว่าที่พีเอช 4.5 รวมทั้งอุณหภูมิ ที่ 65 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตก๊าซที่ต่ำกว่า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียสและขนาดที่อัตราส่วนผักตบชวาต่อตะกอนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมคือ 1:1 ดีกว่า 3:7 ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดเท่ากับ 122.3 ml/g

รัชพล (2554) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมไฮโดรไลเสท (Hydrolysate) จากผักตบชวา ทำการปรับสภาพโดยใช้วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมีที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ แขน้ำเปล่า แช่สารละลายกรดและแช่สารละลายด่าง โดยพบว่าการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ร่วมกับหม้อนึ่งไอน้ำแรงดันสูงจะได้ไฮโดรไลเสท (Hydrolysate) ที่มีลักษณะของโครงสร้างและองค์ประกอบเส้นใยสูงที่สุด โดยมีเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนินคิดเป็นร้อยละ 23.16, 47.38 และ 3.71 โดยน้ำหนัก เมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณน้ำตาลและสารประกอบอนุพันธ์ที่เป็นพิษจากกระบวนการปรับสภาพ เช่น เฟอร์ฟูรัล (Furfural) และ 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟูรัล (5-Hydroxymethyl-Furfural) มีปริมาณน้อยมาก

มาลินี (2555) ได้ทำการศึกษาศักยภาพของวัชพืชน้ำคือ ผักตบชวา ในการเป็นวัตถุดิบในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศเพื่อเพิ่มอัตราการไฮโดรไลซิสของมวลชีวภาพโดยเซลล์เอสเอนไซม์ โดยการประยุกต์ใช้กระบวนการปรับสภาพมวลชีวภาพเบื้องต้นด้วยการใช้ไมโครเวฟ และมีการติดตามประสิทธิภาพของการปรับสภาพมวลด้วยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นได้มีการทำการทดลองในถังหมักแบบกะซึ่งได้มีการติดตามผลผลิตและคุณภาพของก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพมวลเบื้องต้นแล้ว จากผลการศึกษาพบว่าผักตบชวานั้นสามารถถูกย่อยสลายได้ดีและสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ถึง 290 ลิตรต่อกิโลกรัมมวลผักตบชวา โดยมีปริมาณก๊าซมีเทนประมาณ 55% นอกจากนี้ยังพบว่าผักตบชวาที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพเบื้องต้นแล้วนั้นมีความสามารถในการผลิตก๊าซที่สูงขึ้นถึงกว่า 36.15% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เวสารัช และรัชพล (2555) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการปรับสภาพผักตบชวาและจอกด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave) ร่วมกับด่าง และทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยใช้เอนไซม์เพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ โดยตัวอย่างผักตบชวาและจอกเฉพาะส่วนของใบ ปรับสภาพตัวอย่างโดยใช้วิธีทางกายภาพ ใช้คลื่นไมโครเวฟที่ กำลังไฟฟ้า 360, 600 และ 800 ร่วมกับทางเคมีโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เพื่อให้โครงสร้างภายในเหมาะสมต่อการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ (Enzymatic Hydrolysis) พบว่ากำลังไฟฟ้าและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลในทางลบต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและน้ำหนักของตัวอย่าง เมื่อพิจารณาเฉพาะเซลล์ูโลส พบว่า ตัวอย่างเริ่มต้นให้ปริมาณเซลล์ูโลสสูงสุด (75.25 ± 2.21 ของน้ำหนักแห้ง) แตกต่างจากวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับขั้นตอนการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 1000 หน่วยต่อกรัมสารตั้งต้น ได้แก่ เซลลูโลส (Cellulose) ไชลานเนส (Xylanase) เซลลูโลสร่วมกับไชลานเนส (Cellulose + Xylanase) ไชลานเนสตามด้วยเซลล์ูโลส (Xylanase/Cellulose) พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการไฮโดรไลซิสด้วยเซลล์ูโลสที่เวลา 48 ชั่วโมงให้ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตน้ำตาลสูงสุดคิดเป็น 0.24 ± 0.33 กรัมต่อสารตั้งต้น และเหลือองค์ประกอบเซลลูโลสเพียงร้อยละ 47.63 ± 0.37 ของน้ำหนักแห้ง

สกุลรัตน์ และคณะ (2559) ได้ทำการปรับสภาพผักตบชวาเพื่อนำไปผลิตก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen) โดยจะทำการปรับสภาพผักตบชวาทั้งหมด 4 วิธี ได้แก่ การปรับสภาพด้วยความร้อนการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) การปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) และการปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) พบว่า วิธีการปรับสภาพด้วยความร้อนร่วมกับกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) และความร้อนร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับสภาพผักตบชวาก่อนจะเข้าสู่กระบวนการหมักก๊าซไฮโดรเจน เนื่องจากให้ค่าซีไอดีละลายหลังการปรับสภาพสูงสุดคือมีค่าเท่ากับ 6510.13 และ 6992.37 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกลั่นแอมโมเนีย (Distillation apparatus) รุ่น Unit K-350, BUCHI ประเทศเยอรมนี
2. เครื่องย่อย พร้อมหลอดเจลดาร์ห์ล (Digestion apparatus) รุ่น K-425 Speed Digester, BUCHI ประเทศเยอรมนี
3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) รุ่น UH5300, HITACHI ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น Nexis GC-2030 ประเทศญี่ปุ่น
5. ตู้อบความร้อน บริษัท MEMMERT (Germany) ประเทศเยอรมนี
6. เตาเผา (Furnace) Nabertherm รุ่น Controller P320 ประเทศเยอรมนี
7. เครื่องเขย่า (Orbital Shaker) ยี่ห้อ GALLENKAMP บริษัท Henan Chengyi Equipment Science And Technology Co., Ltd (China) ประเทศจีน
8. เตาให้ความร้อน (Hotplate) Cole-Parmer-Stuart UC152, Wolfab ประเทศเยอรมนี
9. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น MS20TS จากบริษัท METTLER TOLEDO (USA) ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. พีเอชมิเตอร์ ยี่ห้อ METTLER บริษัท METTLER TOLEDO (USA) , Metrohm รุ่น 827 บริษัท Metrohm Siam Co., Ltd. ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. ชุดอุปกรณ์การหมักแบบไม่ใช้อากาศ 1 ชุด ประกอบด้วยขวดขนาด 1 ลิตรและ 250 มิลลิลิตร ฝายางและอลูมิเนียมฟอยด์
12. ชุดอุปกรณ์เก็บก๊าซ 1 ชุด ประกอบด้วย เข็มฉีดยา กระบอกฉีดยาพลาสติกหลอดเก็บเลือด สูญญากาศ ขนาด 6 มิลลิลิตร และพาราฟิล์ม
13. ชุดอุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับการทดลอง ได้แก่ ปีกเกอร์ ปิเปต กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ บิวเรต ขวดปรับปริมาตร และหลอดทดลองสำหรับการวัดค่า COD

3.1.2 สารเคมี

1. กรดฟอสฟอริกเข้มข้น 85% (Phosphoric Acid, H_3PO_4) เกรดอุตสาหกรรม บริษัท อัลติมาร์ ประเทศไทย
2. กรดไนตริกเข้มข้น 69% (Nitric Acid, HNO_3) เกรดวิเคราะห์, LOBA CHEMIE ประเทศอินเดีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 96% (Sulfuric Acid, H_2SO_4) เกรตวึเคราะห์, LOBA CHEMIE ประเทศอินเดีย
4. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassium phosphate, K_2HPO_4) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
5. โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
6. เมอร์คิวรีซัลเฟต (Mercury Sulfate, $HgSO_4$) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
7. เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium Sulfate; FAS) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
8. สารมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนลาทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate, KHP) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
9. กรดบอริก (Boric Acid) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
10. โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate, K_2SO_4) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
11. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper(II)sulfate, $CuSO_4$) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี
12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) เกรตวึเคราะห์, Carlo Erba ประเทศอิตาลี

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 แหล่งที่มาของตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1.1 ผักตบชวา

แหล่งที่มาของผักตบชวาที่ใช้ในการวิจัยมาจากคลองประเวศด้านหลังของโรงพยาบาลลาดกระบัง นำมาตัดรากออก ล้างและทำความสะอาด ตากแดดจนแห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการบดละเอียดให้ตัวอย่างมีขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างในถุงซิปล็อคและใส่ไว้ในโถดูดความชื้น เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.1.2 ตะกอนจุลินทรีย์

ตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาใช้นั้นได้มาจากถังตกตะกอนชั้นที่สองของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ (Activated Sludge: AS) ของโรงงานผลิตเส้นไหมโซเฮง จังหวัดนครปฐม ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 7 สิงหาคม 2562 จำนวน 30 ลิตร นำมาล้างทำความสะอาด แบ่งตะกอนจุลินทรีย์ 15 ลิตรเก็บไว้ จากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่เหลือเข้าสู่ตูบที่ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน และทำการเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างผักตบชวาจะนำมาตรวจวัดพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ ความชื้น(Moisture), ของแข็งทั้งหมด(Total Solid; TS), ของแข็งระเหยทั้งหมด(Total Volatile Solid; TVS), ซีโอดีทั้งหมด (Total Chemical Oxygen Demand; TCOD), ซีโอดีในรูปละลาย (Soluble Chemical Oxygen Demand; SCOD), ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrogen; TKN), ฟอสเฟตทั้งหมด (Total Phosphate; TP), กรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid; VFA) โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตาม Standard Methods for the Examination of Waste and Wastewater (2017) ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 วิธีการวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางเคมี

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น(Moisture)	การชั่งน้ำหนัก
ของแข็งทั้งหมด(TS)	การชั่งน้ำหนัก (2540 B)
ของแข็งระเหยทั้งหมด(TVS)	การชั่งน้ำหนัก (2540 E)
ซีโอดีทั้งหมด (Total COD), ซีโอดีในรูปละลาย (Soluble COD)	รีฟลักซ์แบบปิด (5220 C)
ไนโตรเจนทั้งหมด (TKN)	การย่อยสลายและไทเทรตหาปริมาณแอมโมเนีย ตามวิธี Kjeldahl Method (4500-N _{org} C)
ฟอสเฟตทั้งหมด (TP)	การย่อยด้วยกรดและหาปริมาณออร์โธฟอสเฟต ด้วยวิธีกรดแอสคอบิก(4500-E)
กรดไขมันระเหยง่าย (VFA)	เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (6200 C)

หมายเหตุ: รายละเอียดวิธีการทดลองอยู่ในภาคผนวก ก.

3.2.3 ขั้นตอนการวิจัย

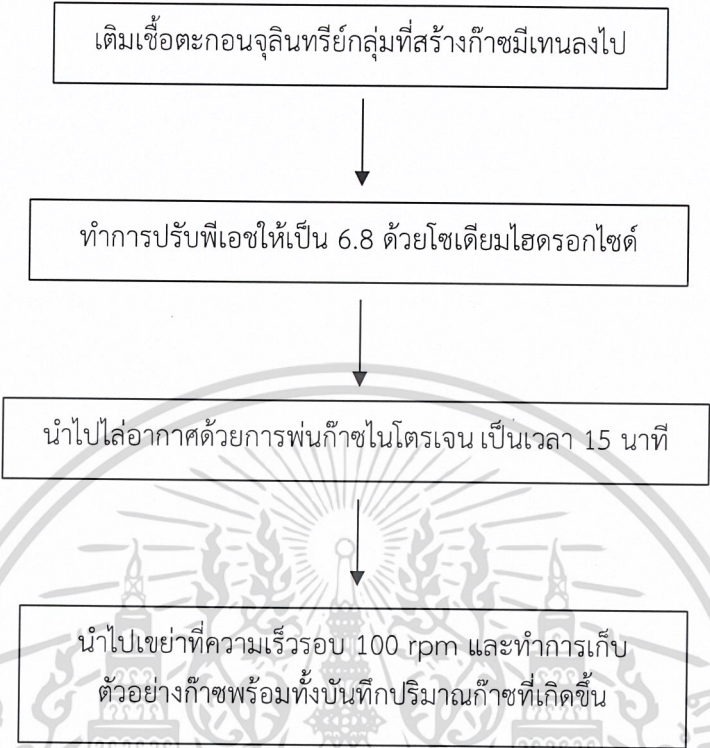
3.2.3.1 การปรับสภาพผักตบชวด้วยความร้อนและสารละลายกรดฟอสฟอริก

ในการปรับสภาพผักตบชวาจะใช้กรดฟอสฟอริกเข้มข้น 5% อัตราส่วนที่ใช้คือ 1:20 จากการทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสม (ผลดังภาคผนวก ข-12) นำไปต้มบนเตาให้ความร้อนควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 95 ± 5 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมคือ 1, 2, 3 ชั่วโมง โดยทำการกวนสารตัวอย่างทุกๆ 10 นาที ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่า ที่ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ในการปรับสภาพจะทำให้ค่าซีโอดีทั้งหมดและค่าซีโอดีในรูปละลายสูงขึ้น (ผลดังภาคผนวก ข-13) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะปรับสภาพผักตบชวด้วยกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 5% ให้ความร้อน 95±5 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการปรับสภาพ 3ชั่วโมง นำมาศึกษาหาปริมาณผักตบชวาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนโดยทำการศึกษาที่อัตราส่วน 1:20 โดยชุดการทดลองที่ 1 ใช้ผักตบชวา 20 กรัมและชุดการทดลองที่ 2 ใช้ผักตบชวา 30 กรัม โดยขั้นตอนการวิจัยการปรับสภาพเพื่อทำไปผลิตแก๊สชีวภาพนั้นมีการคำนวณการดังแผนภาพที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ผู้อื่นนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อแหล่งอื่นและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3.2.3.2 การหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ

การศึกษาในขั้นตอนนี้ใช้ชุดการทดลองแบบกะโดยใช้ขวดแก้วขนาด 1 ลิตร เป็นขวดหมักภายใต้สภาวะไร้แสงและไม่ใช้ออกซิเจน โดยแบ่งเป็นสองชุดการทดลองซึ่งใช้ปริมาณผักตบชวาเป็น 20 และ 30 กรัมต่อปริมาตรกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 5% เท่ากับ 400 และ 600 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการปรับสภาพผักตบชวา ดังขั้นตอนที่ 3.2.3.1 เมื่อทำการปรับสภาพผักตบชวาเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความร้อน (Heat shock) ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์มีค่าประมาณ 5000 มิลลิกรัม TVS ต่อลิตร แล้วปรับพีเอชเป็น 5.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% จากนั้นแบ่งตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ก่อนทำการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ ซึ่งได้แก่ ปริมาณซีโอดีทั้งหมด ปริมาณซีโอดีละลาย และของแข็งระเหยทั้งหมด จากนั้นจะทำการปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาให้แน่นพร้อมตรวจเช็ครอยรั่ว หุ้มขวดแก้วด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไปพ่นแก๊สไนโตรเจนเป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนภายในขวด จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ตลอดการทดลอง และทำการเก็บข้อมูลปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นทุกๆ 24 ชั่วโมง เมื่อปริมาณก๊าซไฮโดรเจนไม่เกิดขึ้นแล้วจะทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ ปริมาณซีโอดีทั้งหมด ปริมาณซีโอดีละลาย และการคำนวณปริมาณกรดไขมันที่ระเหยง่ายทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี หากมีการนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมายและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.3 การหมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพ

หลังจากการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเมื่อไม่มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนเกิดขึ้นแล้วจะนำมาใช้เพื่อผลิตก๊าซมีเทนโดยใส่หัวเชื้อที่ไม่ได้ผ่านการอบฆ่าเชื้อลงไปปริมาณ 100 กรัม TVS ต่อลิตร ปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 6.8 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% จากนั้นทำการปิดฝาขวดด้วยจุกยางและปิดฝาให้แน่นพร้อมตรวจเช็ครอยรั่ว หุ้มขวดแก้วด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปพ่นแก๊สไนโตรเจนเป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนภายในขวด จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ตลอดการทดลองและทำการเก็บก๊าซและบันทึกปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นทุกๆ 24 ชั่วโมง เมื่อปริมาณก๊าซมีเทนไม่เกิดขึ้นแล้วจะทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ พีเอช และของแข็งระเหยง่ายทั้งหมด

3.2.3.4 การวิเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ

การเก็บตัวอย่างก๊าซเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน วัดปริมาตรก๊าซที่ผลิตได้โดยใช้เข็มเจาะเข้าที่จุกขวดหมัก (Septum) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างโดยใช้ไซริงค์ขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วนำก๊าซตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) รุ่น GC Agilent 6890 Version N.06.07 โดยสภาวะ (Condition GC) ที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจน

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์	
อุณหภูมิของเตาอบ (Oven temperature)	100 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของหัวฉีด (Injector temperature)	80 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัด (Detector temperature)	200 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน (Carrier gas flow)	13 มิลลิลิตรต่อนาที

ซึ่งในการทำก๊าซมาตรฐานสามารถเตรียมได้โดยการนำไซริงค์ดูดก๊าซไฮโดรเจนจากถังก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 99.999 เปอร์เซ็นต์ออกมา 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไซริงค์ดูดก๊าซมีเทนจากถังก๊าซมีเทนมาตรฐาน 5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดเดียวกัน และหลอดที่ 2 ให้ดูดก๊าซไฮโดรเจน 2.5 มิลลิลิตร และก๊าซมีเทน 7.5 มิลลิลิตร ซึ่งชุดของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐานนี้จะมีเข้มข้น 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นใช้ไซริงค์ขนาด 3 มิลลิลิตร ดูดก๊าซจากหลอดที่ 1 และ หลอดที่ 2 รวมทั้งจากถังก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 99.999 เปอร์เซ็นต์ (100%) ฉีดเข้าไปในเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี ตัวอย่างการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ก.

3.2.3.5 การวิเคราะห์ก๊าซมีเทนชีวภาพ

การเก็บตัวอย่างก๊าซเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทน วัดปริมาตรก๊าซที่ผลิตได้โดยใช้เข็มเจาะเข้าที่จุกขวดหมัก (Septum) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างโดยใช้ไซริงค์ขนาด 5 มิลลิลิตร แล้วนำก๊าซตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทนด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (Gas Chromatograph) รุ่น GC Agilent 6890 Version N.06.07 โดยสภาวะ (Condition GC) ที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทน

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์	
อุณหภูมิของเตาอบ (Oven temperature)	100 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของหัวฉีด (Injector temperature)	80 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของเครื่องตรวจจับ (Detector temperature)	200 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน (Carrier gas)	13 มิลลิลิตรต่อนาที

ซึ่งในการทำก๊าซมาตรฐานสามารถเตรียมได้โดยการนำไซริงค์ดูดก๊าซไฮโดรเจนจากถังก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 99.999 เปอร์เซ็นต์ออกมา 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไซริงค์ไปดูดก๊าซมีเทนจากถังก๊าซมีเทนมาตรฐาน 7.5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดเดียวกัน และหลอดที่ 2 ให้ดูดก๊าซไฮโดรเจน 5 มิลลิลิตร และก๊าซมีเทน 5 มิลลิลิตร ดังนั้นหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 จะมีความเข้มข้นของก๊าซมีเทน 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นใช้ไซริงค์ดูดก๊าซจากหลอดที่ 1 (25%), หลอดที่ 2 (50%) และหลอดที่ 3 (100%) มา 3 มิลลิลิตรฉีดเข้าไปในเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟีทันทีวิธีการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ก.

3.2.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ระเหยง่าย

การเก็บตัวอย่างสารละลายเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid; VFA) โดยการนำสารละลายที่ได้หลังจากการหมักก๊าซไฮโดรเจนเพื่อนำมาเป็นสารละลายตั้งต้นในการหมักก๊าซมีเทนมา 5 มิลลิลิตร ทำการกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน หลังจากนั้นนำสารละลายที่ผ่านการกรองไปวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น Nexis GC-2030 คอลัมน์ DB-624 โดยสภาวะ (Condition) ที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ระเหยง่าย

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์	
อุณหภูมิของคอลัมน์ (Column temperature)	80-200 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของหัวฉีด (Injector temperature)	240 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของเครื่องตรวจจับ (Detector temperature)	240 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน (Carrier gas flow)	24 มิลลิลิตรต่อนาที

ซึ่งในการทำกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย นั้นสามารถเตรียมได้โดยเจือจางความเข้มข้นเป็น 2, 4, 8 และ 10 เท่าของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจากสารละลายกรดอินทรีย์ระเหยง่ายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลในน้ำ จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยฉีดเข้าไปในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) โดยระยะเวลาที่เกิดพีค (Peak) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Retention time) จะอยู่ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน โดยช่วงเวลาระเบียงตามมวลโมเลกุลที่น้อยที่สุดไปมากที่สุด จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป ดังภาคผนวก ก.



บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผักตบชวา

ผักตบชวาที่นำมาใช้การศึกษาในงานวิจัยนี้มีความยาว 20-30 เซนติเมตรซึ่งได้นำมาอบแห้งและบดจนมีขนาดประมาณ 2.0 มิลลิเมตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผักตบชวาโดยจะทำการตรวจวัดพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้ ความชื้น ของแข็งทั้งหมด เถ้า ของแข็งระเหยทั้งหมด ของแข็งคงตัว ซีโอดีละลาย ฟอสฟอรัส และไนโตรเจน ผลของการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.1 และภาคผนวก ข-1, ข-2 และ ข-3

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของผักตบชวา

สมบัติทางกายภาพและเคมี	ผลการวิเคราะห์
ความชื้น (%)	7.84
ของแข็งทั้งหมด (%)	92.15
เถ้า (%)	15.30
ของแข็งระเหยทั้งหมด (%)	83.40
ของแข็งคงตัว (%)	16.60
ซีโอดี (mgO ₂ /mg)	0.60
ฟอสฟอรัส (%)	0.31
ไนโตรเจน (%)	1.62

จากตารางที่ 4.1 พบว่าผักตบชวามีปริมาณความชื้นร้อยละ 7.84 ของแข็งทั้งหมดร้อยละ 92.15 เถ้าร้อยละ 15.30 ของแข็งระเหยทั้งหมดร้อยละ 83.41 ของแข็งคงตัวร้อยละ 16.60 ปริมาณซีโอดีเท่ากับ 0.60 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อมิลลิกรัมตัวอย่าง ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 1.63 และปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดร้อยละ 0.31 โดยมีอัตราส่วนระหว่าง COD:N:P เท่ากับ 193.6:5.26:1 ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำมาหมักเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ เนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมากกว่าอัตราส่วนที่กำหนดไว้ โดยระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนควรมีอัตราส่วน COD:N:P เท่ากับ 100:2:0.4 (Metcalf และ Eddy, 2004)

4.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ

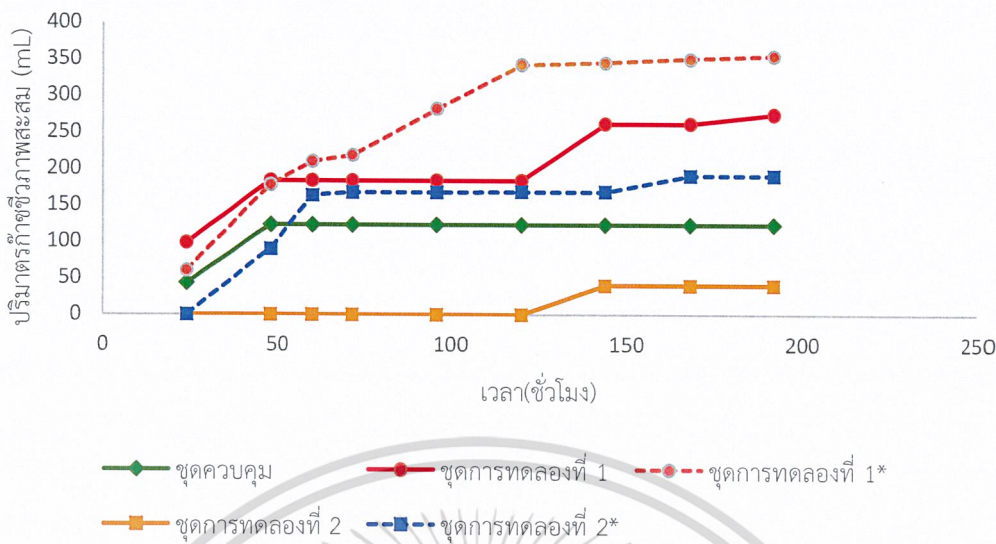
จากการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ ใช้ระยะเวลาในการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ 15 วัน ในระหว่างการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพนั้น จะต้องมีการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมี ทั้งก่อนและหลังการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ โดยทำการวัดพีเอช ปริมาณซีโอดีทั้งหมด และซีโอดีละลาย ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.2 ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผักตบชวาก่อนและหลังการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

ตัวอย่าง		pH	Total COD (mg/L)	Soluble COD (mg/L)
ชุดควบคุม	ก่อนหมัก	5.87	3713	3427
	หลังหมัก	3.86	3200	2666
	ร้อยละการกำจัด	-	13.82	22.20
ชุดการทดลองที่ 1	ก่อนหมัก	5.71	9711	6568
	หลังหมัก	4.36	9067	5333
	ร้อยละการกำจัด	-	6.63	18.80
ชุดการทดลองที่ 1*	ก่อนหมัก	5.60	9139	6854
	หลังหมัก	4.40	8533	6134
	ร้อยละการกำจัด	-	6.63	10.52
ชุดการทดลองที่ 2	ก่อนหมัก	5.52	13709	9711
	หลังหมัก	4.44	11733	6400
	ร้อยละการกำจัด	-	14.41	34.10
ชุดการทดลองที่ 2*	ก่อนหมัก	5.55	12852	11995
	หลังหมัก	4.45	10133	5866
	ร้อยละการกำจัด	-	21.16	51.10

หมายเหตุ : * หมายถึงการทำการทดลองซ้ำ

ในการทดลองก่อนทำการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้มีการควบคุมพีเอชให้มีค่าประมาณ 5.5 ซึ่งพบว่าหลังจากการหมัก พีเอชมีค่าลดลงเนื่องจากการผลิตกรดเกิดขึ้นจากขั้นตอนการสร้างกรด (Acidogenesis) โดยแบคทีเรียสร้างกรดจะนำสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเข้าสู่ภายในเซลล์และย่อยสลายกลายเป็นกรดไขมันระเหยชนิดต่างๆ (ลานนา, 2552) แต่จะเห็นได้ว่า ค่าพีเอชในชุดควบคุมนั้นลดลงมากกว่าชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 เนื่องจากการปรับค่าพีเอชนั้นได้มีการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นสารที่มีสภาพต่างในการปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.5 โดยในชุดควบคุมได้ใช้ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับพีเอชน้อยกว่าจึงทำให้ค่าพีเอชสามารถลดลงได้มากกว่าชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งในกระบวนการนี้แบคทีเรียจะใช้สารอาหารในรูปของซีโอดีละลาย โดยชุดการทดลองที่ 2 มีค่าซีโอดีละลายสูงที่สุดตามด้วยชุดการทดลองที่ 1 และชุดควบคุมตามลำดับ โดยหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักพบว่าร้อยละการกำจัดของชุดการทดลองที่ 2 มากกว่าชุดการทดลองที่ 1 และชุดควบคุมตามลำดับ



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพสะสมกับระยะเวลาในการหมักก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพจากผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ

จากรูปที่ 4.1 พบว่าปริมาณก๊าซสะสมที่เกิดขึ้นจากชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 1* ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 2* อาจเกิดจากการกวนผสมในขั้นตอนการปรับสภาพที่ไม่สม่ำเสมอ จึงเกิดการสลายตัวของเส้นใยผักตบชวาในปริมาณที่ไม่เท่ากัน ทำให้มีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นในกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน และในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 2* จะมีปริมาตรก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นใกล้เคียงและต่ำกว่าชุดควบคุม เนื่องจากในการปรับค่าพีเอชให้ได้ประมาณ 5.5 ในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 2* ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% ในปริมาณมาก ทำให้เกิดการสะสมของโซเดียมไอออน ดังรูปที่ 4.4 ซึ่งไอออนประจุบวกของโลหะเบาที่ความเข้มข้นสูงๆ อาจก่อให้เกิดพิษต่อแบคทีเรียได้ (ลานนา, 2552) ดังนั้นโซเดียมไอออนจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบได้ จึงทำให้เกิดก๊าซชีวภาพน้อย (ผลดิงภาคผนวกที่ ข-5)

ตารางที่ 4.3 ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนจากปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก ผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพ

เวลา (ชั่วโมง)	ชุดควบคุม		ชุดการทดลองที่ 1		ชุดการทดลองที่ 1*		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 2*	
	ก๊าซ ชีวภาพ (mL)	%H ₂	ก๊าซ ชีวภาพ (mL)	%H ₂	ก๊าซ ชีวภาพ (mL)	%H ₂	ก๊าซ ชีวภาพ (mL)	%H ₂	ก๊าซ ชีวภาพ (mL)	%H ₂
24	43	10.60	98	13.45	60	11.00	0	0	0	0
48	80	15.62	86	30.21	118	24.87	0	0	90	13.78
60	0	0	0	0	32	21.46	0	0	74	17.33
72	0	0	0	0	8.4	21.27	0	0	3.6	16.53
96	0	0	0	0	64	19.81	0	0	0	0
120	0	0	0	0	60	14.54	0	0	1	9.54
144	0	0	78	17.82	3	25.02	40	8.42	0	0
168	0	0	0	0	5.2	31.41	0	0	22	24.82
192	0	0	13	27.99	4	19.14	0	0	0	0
360	0	6.63	0	23.65	0	25.53	0	9.04	0	22.57

หมายเหตุ: *หมายถึงการทำการทดลองซ้ำ

จากการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซชีวภาพและความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น พบว่า ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนไม่ได้สัมพันธ์กับปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในแต่ละครั้ง เพราะจากกระบวนการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์จะเกิดก๊าซชีวภาพชนิดอื่นๆร่วมด้วยเช่น คาร์บอนไดออกไซด์ กรดไขมันชนิดสั้น (short fatty acid) ดังสมการ

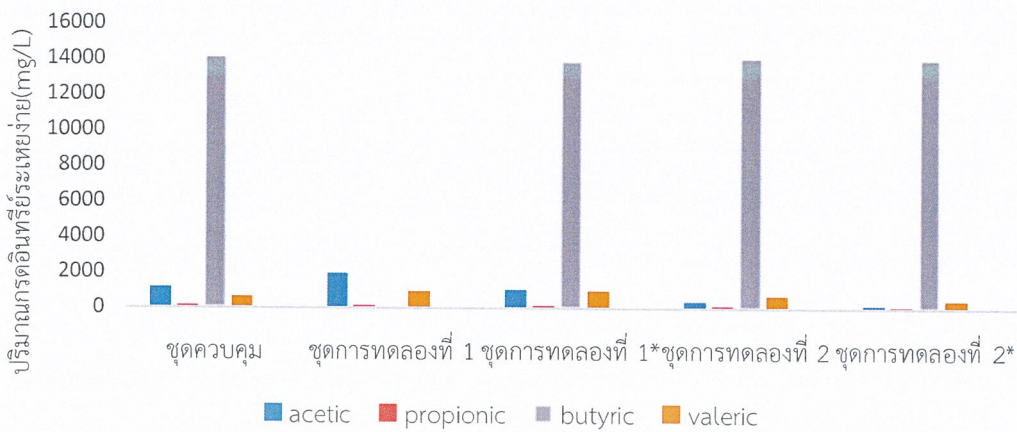


โดยในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนสูงที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ 1* ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2* ชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนเท่ากับ 31.41, 30.21, 24.82, 15.62 และ 9.04 ตามลำดับ

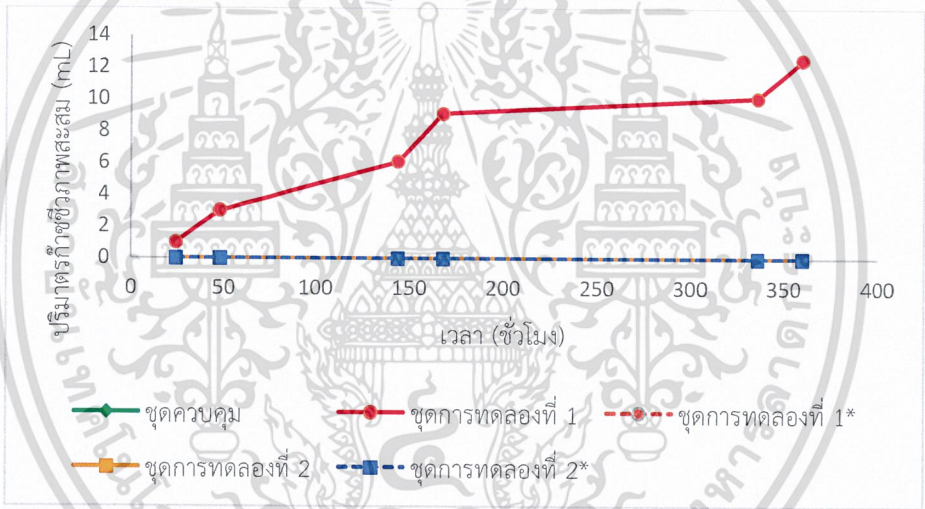
4.3 การผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพ

ในการหมักก๊าซมีเทนชีวภาพนั้นจะทำได้จากสารละลายที่มาจากกากก๊าซไฮโดรเจน ซึ่งใช้ระยะเวลาในการหมักเพื่อให้เกิดก๊าซมีเทนชีวภาพ 15 วัน โดยควบคุมค่าพีเอชในช่วง 6.8-7.2 ปริมาณซีโอดีละลายในขวดหมักก่อนใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์โดยชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 1* ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 2* มีค่าเท่ากับ 2666, 5334, 6134, 6400 และ 5866 mg/L อีกทั้งได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่าย โดยผลการวิเคราะห์ดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายแต่ละชนิดในแต่ละชุดการทดลอง



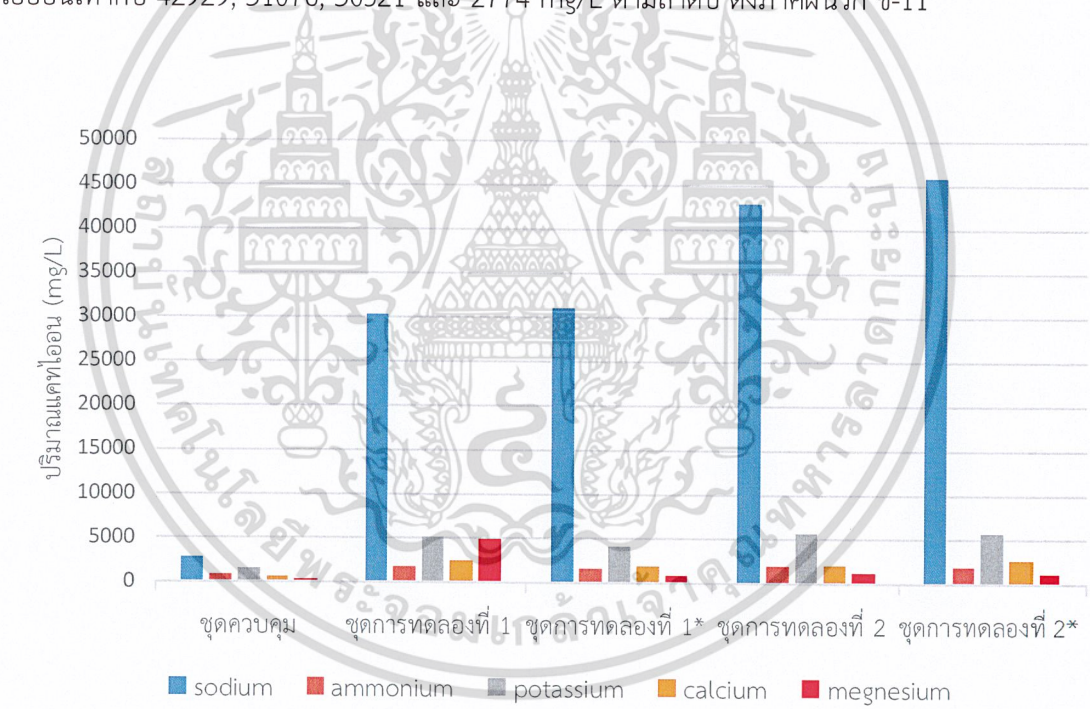
รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพสะสมกับระยะเวลาในการหมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทนชีวภาพ

จากรูปที่ 4.2 ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายของชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 1*ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 2* มีกรดบิวไทริกสูงกว่ากรดอินทรีย์ในรูปอื่น โดยชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุด ตามด้วยชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 2* ชุดการทดลองที่ 1* และชุดการทดลองที่ 1 ตามลำดับโดยแต่ละชุดมีปริมาณกรดบิวไทริกเท่ากับ 14187.46, 14145.04, 14086.76, 13937.96 และ 144.287 mg/L ดังภาคผนวก ข-8 ซึ่งทำให้ปริมาณก๊าซมีเทนเกิดขึ้นน้อยมากจนถึงไม่เกิดเนื่องจากแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนไม่สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมได้ ต้องมีการเปลี่ยนกรดไขมันชนิดอื่นให้เป็นกรดอะซิติกเสียก่อน (ดังสมการที่ 2.3) ขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 พบกรดอินทรีย์ระเหยง่ายในรูปกรดอะซิติกเท่ากับ 1930.586 mg/Lซึ่งสูงกว่ากรดอินทรีย์รูปอื่นๆ

อะซิติกมีค่าเท่ากับ 1015.257, 376.354, 167.623 และ 1116.48 mg/L ดังรูปที่ 4.2 จึงทำให้ปริมาณก๊าซมีเทนในชุดการทดลองที่ 1 สูงกว่า ชุดการทดลองอื่นๆ โดยมีปริมาตรก๊าซสะสม 12.5 มิลลิตรในเวลา 360 ชั่วโมง และมีความเข้มข้นของมีเทนสูงสุด เท่ากับ 52.07 % ดังรูปที่ 4.3 และภาคผนวกที่ ข-9

4.4 การวิเคราะห์ไอออนบวกที่ละลายในน้ำหลังจากการผลิตก๊าซมีเทน

ในการทดลองพบว่าการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนชีวภาพนั้น เกิดก๊าซชีวภาพในปริมาณที่น้อย อาจเกิดจากในระบบมีไอออนบวกในปริมาณที่สูง ซึ่งมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรีย เพราะทำให้เกิดความเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้นมาก ทำให้แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ผลิตก๊าซชีวภาพไม่สามารถทำงานได้เนื่องจากในการปรับพีเอชได้ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในปริมาณมากจึงอาจทำให้มีปริมาณโซเดียมไอออนสูงซึ่งในชุดการทดลองที่ 2* มีปริมาณโซเดียมไอออนเท่ากับ 45836 mg/L ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 1* ชุดการทดลองที่ 1 และชุดควบคุม ซึ่งมีค่าโซเดียมไอออนเท่ากับ 42929, 31076, 30321 และ 2774 mg/L ตามลำดับ ดังภาคผนวก ข-11



รูปที่ 4.4 ปริมาณไอออนบวกแต่ละชนิดที่ละลายในน้ำหลังจากการผลิตก๊าซมีเทน

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

โครงการพิเศษนี้เป็นการวิจัยเกี่ยวกับการนำผักตบชวาที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 5% ในอัตราส่วน 1:20 โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และศึกษาปริมาณผักตบชวาที่ 20 และ 30 กรัม เพื่อนำมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนและมีเทนชีวภาพ โดยใช้กระบวนการหมักแบบไม่ใช้แสงและไม่ใช้อากาศร่วมกับจุลินทรีย์ซึ่งสามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. จากการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นพบว่า การใช้ปริมาณผักตบชวา 20 และ 30 กรัม มีปริมาตรก๊าซชีวภาพสะสมเท่ากับ 345.6 และ 190.6 มิลลิลิตร และให้ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนเป็น 31.41% และ 24.82% ตามลำดับดังนั้นการใช้ปริมาณผักตบชวาในกระบวนการหมักเพื่อให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ 20 กรัมให้ผลผลิตก๊าซไฮโดรเจนดีกว่าที่ปริมาณ 30 กรัม
2. จากการวิเคราะห์สารละลายหลังจากการหมักก๊าซไฮโดรเจน พบกรดอินทรีย์ในรูปของกรดบิวไทรริกมากที่สุด รองลงมาคือ กรดอะซิติก กรดวาลริก และกรดโพรพิโอนิก ตามลำดับ
3. ในขั้นตอนการผลิตก๊าซมีเทนพบว่าปริมาณกรดอะซิติกที่เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการใช้ผลิตก๊าซมีเทนมีปริมาณน้อย ทำให้สามารถเกิดก๊าซมีเทนได้ในปริมาณที่น้อยมาก และเนื่องจากมีความเข้มข้นของโซเดียมไอออนสูงจึงทำให้เกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการควบคุมการกวนผสมในกระบวนการหมักอย่างสม่ำเสมอ เพื่อทำให้เกิดก๊าซชีวภาพขึ้นอย่างต่อเนื่อง
2. การปรับพีเอชโดยการใช้สารที่มีสภาพเป็นเบสแก่ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้เป็นพิษต่อแบคทีเรียซึ่งไม่ดีต่อระบบการหมัก จึงควรเลือกใช้สารปรับพีเอชที่ไม่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมัก
3. ควรมีการทำชุดการทดลองซ้ำมากขึ้น ในครั้งการทดลองเดียวกัน เนื่องจากประสิทธิภาพของแบคทีเรียจะได้มีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด
4. ควรมีการควบคุมอุณหภูมิในการทดลอง เพื่อให้ระบบหมักมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น
5. ควรใช้วิธีการเก็บก๊าซที่เป็นมาตรฐานเนื่องจากในกระบวนการเกิดก๊าซอาจทำให้ก๊าซรั่วไหลได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรองแก้ว ทิพย์ศักดิ์ และพิสมัย ชัยรัตน์อุทัย. 2559. การวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญหาจากผักตบชวา. ม.ป.ป. [Online]. Available :

<https://www.nectec.or.th/schoolnet/library/webcontest2003/100team/dlbs085/interEx/informate/paktob/trouble.html>.

ธงชัย ชูชาติพงษ์. 2556. โครงการเครื่องเก็บผักตบชวาระบบโซ่พาลำเลียงแบบติดตั้งริมฝั่งเพื่อการควบคุมและใช้ประโยชน์จากผักตบชวา[Online]. Available :

http://kmcenter.rid.go.th/center/_data/docs/kmc16/manual/sola_puktob.pdf.

ธรรมนิธย์ เจนสินธนานันท์, พิชญ์ กองกาญจน์ และ สุภกร กอกน้อย. 2553. Smart Biogas.

คณะวิจัยสิ่งแวดล้อม โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย จังหวัดชลบุรี

มันสิน ตันทุลเวศม์. 2546. คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รัชพล พะวงศ์รัตน์ และ เวสารัช สุนทรชัยบุรณ์. 2555. การปรับสภาพผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*(Mart.) Solms และจอก (*Pistia stratiotes* L.) ด้วยคลื่นไมโครเวฟร่วมกับด่าง และกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ เพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์. *Sakon nakon graduate studies Journal*, Vol.10 No. 45: 173-184.

ลานนา ใจหาผลี. 2552. การหมักก๊าซไฮโดรเจนจากเศษอาหารโดยการหมักแบบไร้ออกซิเจน โครงการวิจัยหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Alvira., P.E. Tomas-Pejo., M. Ballesteros. and M.J. Nergro. 2010. Pretreatment technology for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review *Bioresource Technology* 101, 4851-4861.

Clark, T.A., and Mackie, K.L., 1987. Steam explosion of the soft-wood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. I. Process optimization. *J. Wood Chem. Technol.* 7, 373 – 403.

Duff, S. J. B. & Murray, W. D. 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol. *a review Bioresource Technology* 55, 1-33.

Fang, H. H. P.; and Liu, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology* 82 (2002) : 87–93.

Grady, C. P. L., Jr.; Daigger, G. T.; and Lim, H. C. *Biological wastewater Treatment* 2nd ed.

Hamelinck, C. N., van Hooijdonk, G., & Faaij, A. P. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short, middle, and long term.

Biomass and Bioenergy 28(4):384-410. เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hawkes, F. R.; Dinsdele, R.; Hawkes, D. L.; and Hassy, I. 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. **Int. J. Hydrogen Energy** 27:1339–1347.
- Keshwani, D.R. 2009. **Microwave pretreatment of switchgrass for bioethanol production**. Thesis Dissertation. North Carolina State University
- Kim, S. H.; Han, S. K.; and Shin, H. S. Effect of substrate concentration on hydrogen production and 16S rDNA-based analysis of the microbial community in a continuous fermenter. **Process Biochemistry** 41 (2006) : 199-207.
- Kim, T.H., F. Taylor and K.B. Hicks. 2008. Bioethanol Production from Barley Hull Using SSA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment. **Bioresource Technology**. 99:5694 - 5702.
- Kumar S, Singh, S.P., Mishra, I.M. and Adhikari, D.K. 2011. Continuous ethanol production by *Kluyveromyces* sp. IPE453 immobilized on bagasse chips in packed bed reactor, **Journal of Petroleum Technology and Alternative Fuels**, 2(1), 1-6.
- Liu, D.; Liu, D. P.; Zeng, R. J.; and Angelidaki, I. 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. **Water Res.** 40:2230 – 2236.
- McMillan, J.D., 1994. **Pretreatment of lignocellulosic biomass**. In:Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Eds.), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 292–324
- Mishima, D., M. Tateda., M. Ike and M. Fujita. 2006. Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes. **Bioresource Technology** 97(16) : 2166-2172.
- Mohanakrishna, G.; Goud, R. K.; Mohan, S. V; and Sarma, P. N . 2010. Enhancing biohydrogen production through sewage supplementation of composite vegetable based market waste. **Int. J. Hydrogen Energy** 35 : 533-541
- Mosier, N., C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**. 96: 673-686.
- Mussatto, S.I., G. Dragone and I.C. Roberto. 2005. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. **Process Biochem.** 40: 3801 - 3806 York: Marcel Dekker, Inc., 1999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ogbonna, J. C., H. Mashima and H. Tanaka. 2001. Scale up of fuel ethanol production from sugar beet juice using loofa sponge immobilized bioreactor, **Bioresources Technology** 76 : 1-8.
- Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2002. Fermentation of Lignocel-lulosic Hydrolysates.I: Inhibition and Detoxification. **Bioresources Technology** 74: 17-24.
- Ragg, P. L. and Fields, P. R., 1987. **The development of a process for the hydrolysis of lignocellulosic waste.** Phil Trans R Soc Lond A321, 537-547
- Silverstein, R.A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Boyette, M.D., Osborne, J., 2007. A comparison of chemical pre-treatment methods for improving saccharification of cotton stalks. **Bioresource Technology**, 98, 3000-3011
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydroloysis of lignocellulosic materials for bioethanol production: review. **Bioresources Technology** 83, 1-11.
- Wright JD. 1998. Ethanol from biomass by enzymatic hydrolysis. **Chem Eng Prog**; 84:62-74
- Yachmenev, V., Condon, B., Klasson, T. and Lambert, A. 2009. Accerelation of enzymatic hydrolysis of corn stover and sugar cane baggasse by low intensity uniform ultrasound. **J. Biobased Mater. Bioenergy**. 3, 25-31.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Wang, C., Yu, F., Jin, S., Ding, Y., Chi, R., Liao, J. and Zhang, Y. 2006. Comparition of three microwave / chemical pretreatment process for enzymatic hydrolysis of rice straw. **Biosyt. Eng.** 93, 279-283.



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์

การวิเคราะห์ของแข็ง (Total solid, Total Suspended Solid and Volatile Suspended Solid)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ตู้อบ (Oven)
3. ชามระเหย (Crucible)
4. เตาเผา (Furnace)
5. โถดูดความชื้น (Desiccator)
6. เครื่องเขย่า (Orbital Shaker)
7. PH Meter

การวิเคราะห์หาของแข็งทั้งหมด (Total solid)

1. เตรียมชามระเหย โดยเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำข้อ 1 จนชามระเหยมีน้ำหนักคงที่ หรือน้ำหนักเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 4 บันทึกน้ำหนักชามระเหย
3. ชั่งตัวอย่างผักตบชวา 1-5 g (ตัวอย่างตะกอนซึ่ง 10 g ลงในชามระเหย บันทึกน้ำหนักรวมของตัวอย่างและชามระเหยเป็นน้ำหนักก่อนอบ
4. นำชามระเหยที่ใส่ตัวอย่างแล้วเข้าอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ตัวอย่างตะกอนใช้เวลา 2 ชั่วโมง) ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักทันทีที่เย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง
5. ทำซ้ำข้อ 4 จนมีน้ำหนักคงที่หรือเปลี่ยนแปลงไม่เกินร้อยละ 4 บันทึกเป็นน้ำหนักหลังอบ

การวิเคราะห์หาของแข็งระเหยได้และของแข็งคงตัว (Total Volatile Solid or Fixed Solid)

1. นำชามระเหยและตัวอย่างที่ผ่านการอบแล้ว เข้าเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักทันทีที่เย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง และบันทึกน้ำหนัก
2. ทำซ้ำข้อ 1 จนน้ำหนักคงที่ หรือเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 4 บันทึกเป็นน้ำหนักหลังเผา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ซีโอดี

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดีโดยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Closed Reflux, Titrimetric Method)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดย่อยสลาย (Digestion Vessels) ขนาด 16×100 mm ที่มีฝาเกลียวชนิด ทีเอฟอี (Tetrafluoroethylene; TFE)
2. ฮีทติ้งบล็อก (Heating Block)
3. ถังมือกักกรด
4. ขวดวัดปริมาตร(Volumetric Flask)
5. ปิเปต (Transfer Pipette)
6. บิวเรต
7. ปีกเกอร์
8. ขวดรูปชมพู่

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโพแทสเซียมไดโครเมต (primary standard potassium solution) เข้มข้น 0.01667 M
 - นำ $K_2Cr_2O_7$ อบแห้งใน 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนัก $K_2Cr_2O_7$ มา 4.093 g ละลายในน้ำกลั่น 500 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 mL เติมปรอทซัลเฟต 33.3 g ที่ให้ละลายและปล่อยให้เย็นจึงเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 mL
2. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซิลเวอร์ซัลเฟต (ConC. sulfuric with silver sulfate)
 - ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 g ลงในกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 Kg(ปริมาตร 2.5 ลิตร) ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน ซิลเวอร์ซัลเฟตจึงจะละลายหมด
3. สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ (Ferroin Indicator)
 - ละลาย(1,10 phenanthroline monohydrate $C_{12}H_{18}N_2H_2O$ 1.485 g และเฟอร์รัส(II)ซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.695 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 100 mL) นำมาทำการเจือจางในสัดส่วน 1+4 (เฟอร์โรอิน 1 ส่วนและน้ำ 4 ส่วน)
4. สารละลายมาตรฐานทุติยภูมิ เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) เข้มข้น 0.10 N
 - สารละลายเฟอร์รัส (II) แอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) ชั่ง ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ชนิด เอ.อาร์(Analysis grade crystal) 32.9 g ในน้ำกลั่นเติมกรดซัลฟิวริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 20 mL ทำให้เย็นแล้วเจือจาง 1000 mL สารละลายนี้ก่อนใช้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนกับสารละลายมาตรฐานปฐภูมิโพแทสเซียมไดโครเมต

5. สารละลายมาตรฐานไฮโดรเจนพาทาเลตความเข้มข้น 5000 mg/L
- ชั่ง KHP จำนวน 4.250 g ที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสและทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วละลายในน้ำกลั่นเจือจางเป็น 1 L สารละลายนี้มีซีไอดีเท่ากับ 5000 mgO₂/L หรือมีค่าเท่ากับ 11.76 mgO₂/mg

การทดลองซีไอดี

- ล้างหลอดแก้วและผาด้วยกรดซัลฟิวริก 20% ก่อนใช้ทุกครั้ง เพื่อป้องกันการปนเปื้อน
- นำตัวอย่างมา 2.5 mL ใส่หลอดทดลอง 1 หลอดต่อ 1 ตัวอย่าง (จะต้องเจือจางหรือไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำตัวอย่าง) สำหรับแบลนด์ให้ใส่น้ำกลั่นหลอดละ 2.5 mL กรณีที่ต้องการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานให้เจือจาง KHP (เข้มข้น 500 mg/L) ให้มีความเข้มข้นไม่เกิน 300 mg/L ก่อนที่จะนำมาใช้ (หลักการเจือจางจะใช้ขวดวัดปริมาตรปิเปตนำมา 50 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 mL เรียกว่าการเจือจาง 2 เท่า)
- นำมาเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต เข้มข้น 0.1 N (primary standard potassium solution) จำนวน 1.5 mL ทุกๆหลอดการทดลอง เขย่าให้เข้ากัน
- เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เติมซิลเวอร์ซัลเฟต (Conc.H₂SO₄ with silver sulfate) จำนวน 3.5 mL ทุกๆหลอดทดลองโดยค่อยๆใส่กรดให้ไหลไปตามด้านข้างของหลอดไปอยู่ด้านล่าง

หลอดย่อยสลาย	ปริมาตรน้ำ (mL)	ปริมาตร K ₂ Cr ₂ O ₇ (mL)	สารละลายกรดซัลฟิวริก (mL)	ปริมาตรรวม (mL)
หลอดแก้วขนาดมาตรฐาน 10 mL	2.50	1.50	3.50	7.50

- ปิดฝาหลอดให้สนิทค่อยๆเขย่าเพื่อให้สารผสมเข้ากันดี (ควรสวมถุงมือเพื่อป้องกันความร้อนขณะเขย่า)
- นำหลอดทดลองใส่ลงฮีทติ้งบล็อกที่ 150 ± 2 องศาเซลเซียส แล้วต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- เมื่อครบ 2 ชั่วโมง ให้นำหลอดทดลองออกจากฮีทติ้งบล็อก ทำให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- เปิดฝาหลอดแก้วแล้วเทสารลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 mL และฉีดล้างสารละลายในหลอดแก้วให้หมด เติมสารละลายเฟอโรอิน อินดิเคเตอร์ 1-2 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานทิตเนียม FAS
- เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเขียวแกมน้ำเงินและจุดยุติคือสีน้ำตาลปนแดง
- บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานทิตเนียม FAS ที่ใช้ในการไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารวิชาการที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ซีไอดี (mg O2/L)} = \frac{(A-B) \times N \times 8000}{V}$$

เมื่อ A = ปริมาณ FAS ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

ไทเทรตแบลงค์ (mL)

B = ปริมาณ FAS ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (mL)

N = ความเข้มข้นของ FAS (N)

V = ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (mL)

12. การควบคุมคุณภาพ ผลการทดสอบเพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือ

วิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ว่ามีค่าความถูกต้อง โดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials) หรือวัสดุอ้างอิง (Reference Materials) เพื่อเป็นการ ทวนสอบให้แน่ใจว่า ค่าที่ได้จากการทดสอบสารมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเองมีความถูกต้อง เกณฑ์การยอมรับ $\pm 10\%$ ของค่าจริง (True value) หรือพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ความ ถูกต้อง ที่คำนวณได้ ควรอยู่ในช่วง 90-110 %

$$\% \text{ ความถูกต้อง} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ค่าจริง}} \times 100$$

การวิเคราะห์หาปริมาณที่เคเอ็นไนโตรเจน(TKN)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดเครื่องย่อยสลาย(Digestion apparatus) ประกอบด้วยขวดเจลดดาห์ลขนาด 800 mL และเตาให้ความร้อนที่ให้ความร้อนขนาด 300 – 400 C
2. ชุดเครื่องกลั่นหาแอมโมเนีย
3. ขวดเจลดดาห์ล(Kjeldahl flask) ขนาด 800 – 1000 mL
4. กระบอกตวง(Cylinder) ขนาด 25,50,100,500 mL
5. ปิเปต (Transfer Pipette) ขนาด 5,10 mL
6. ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 10,25,50 mL
7. ขวดรูปชมพู่(Erlenmeyer flask) ขนาด 250 mL
8. ขวดวัดปริมาตร(Volumetric flask) ขนาด 100 mL
9. บิวเรต ขนาด 50 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของสำนักงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย
2. สารละลายอินดิเคเตอร์ผสม
 - ละลายเมธิลเรด 200 mg ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% หรือในไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ 100 mL และ ละลายเมธิลบลู 100 mg ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% หรือ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ 50 mL นำสารทั้งสองชนิดมาผสมกัน สารละลายนี้ไม่ควรเก็บไว้เกิน 1 เดือน
3. สารละลายกรดบอริก
 - ละลายกรดบอริก (H_3BO_3) 20 g ในน้ำกลั่น เจือจางให้เป็น 1 L
4. สารละลายย้อยสลาย
 - ชั่งโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 134 g และสารคอปเปอร์ ซัลเฟต ($CuSO_4$) จำนวน 7.3 g นำมาผสมกัน และเติมน้ำกลั่น 800 mL คน ให้ทั่วจนสารละลายหมด จากนั้นค่อยๆเติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น จำนวน 134 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 L สารละลายนี้ควรเก็บในที่ อุณหภูมิ 20 C เพื่อป้องกันการตกผลึก
5. สารละลายกรดกลูตามิก เข้มข้น 1,000 mg/L หรือเท่ากับ 95.14 mgN/L
 - อบสารกรดกลูตามิกที่อุณหภูมิ 103 – 105 C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง(Desicator) ชั่งสารมา 1.050 g ใส่ในขวดวัด ปริมาตรขนาด 1 L เติมกรดซัลฟิวริก 2 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ 1 L สารละลายนี้เก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 3 สัปดาห์
6. สารละลายกรดนิโคตินิก เข้มข้น 1,000 mg/L
 - ชั่งสาร 4.393 g ด้วยน้ำกลั่น 50 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 mL คนจนสารละลายหมด ถ่ายลงขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL แล้วปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่น
7. สารละลายกรดซัลฟิวริก 1 N
 - นำกรดซัลฟิวริก H_2SO_4 เข้มข้นมา 28 mL เจือจางให้ได้ 1000 mL ด้วย น้ำกลั่น
8. สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.02 N
 - เตรียมจากสารละลาย H_2SO_4 1N มา 2 mL เจือจางให้ได้ 100 mL ด้วยน้ำกลั่น (ก่อนใช้ควรไทเทรตหาความเข้มข้นที่แน่นอนกับสารละลายมาตรฐาน โซเดียมคาร์บอเนต)

การทดลอง

1. ใส่ฟลูมิก 1 ซ้อน เพื่อลดการกระเด็นของสารเวลาเดือดลงในขวดเจลดาห์ล ขนาด 800 mL
2. การเลือกปริมาณตัวอย่างน้ำขึ้นกับปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนที่คาดว่าจะมีอยู่ในน้ำเสีย
3. เติมสารละลายย้อยสลาย 50 mL ค่อยๆเขย่าขวดเจลดาห์ลเพื่อให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนนำไปวางบนเตาย้อยสลาย กรณีที่ใช้ตัวอย่าง 25-50 mL ให้เติมน้ำย้อยสลาย 20 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การย่อยสลาย (Digestion) นำไปต้มบนเตาของชุดเครื่องย่อยจนกระทั่งได้ควันสีขาว และสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าเขียวใส ให้ทำการย่อยสลายไปอีก 30 นาที แล้วทิ้งให้เย็น(ถ้าสารละลายไม่ใสให้เติมน้ำย่อยอีก 20 mL แล้วย่อยต่อไป)
5. นำมาเติมน้ำกลั่น 100-200 mL เพื่อให้ปริมาตรน้ำในขวดเจลดาร์ลมีปริมาณ 300 mL และเติมฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 0.5 mL แล้วเขย่าให้เข้ากัน
6. เติงขวดแล้วค่อยๆเติมสารละลาย NaOH-Na₂S₂O₃ จำนวน 50 mL (ปริมาณต่างที่เติมต้องเท่ากับกรดที่ใช้ในการย่อยสลาย) เพื่อให้เกิดชั้นของต่างที่กั้นขวด นำไปต่อกับชุดเครื่องกลั่น เขย่าขวดเพื่อให้สารเข้ากัน
7. การกลั่น(Distillation) นำขวดเจลดาร์ลที่มีตัวอย่างน้ำไปประกอบกับชุดกลั่น แกว่งขวดให้สารละลายผสมจนเข้ากัน โดยให้ปลายแท่งแก้วด้านที่แก๊สออกมา ให้น้ำขาดรูปชมพู่ขนาด 250-500 mL (ซึ่งมีสารละลายกรดบอริก 50 mL และหยดอินดิเคเตอร์ผสม 1-2 หยด ลงในฟลาสก์) ไปรองรับไอน้ำที่กลั่นออกมาโดยเก็บน้ำส่วนที่กลั่นได้น้อย 100-200 mL
8. การไทเทรต นำส่วนที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.0200 N เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากเขียวเป็นม่วงอ่อน
9. ให้ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำและวิเคราะห์เหมือนกับตัวอย่างน้ำทุกขั้นตอน

การคำนวณ

$$\text{TKN (mgN/L)} = \frac{(A-B) \times 280}{V}$$

A = ปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้กับตัวอย่างน้ำ (mL)

B = ปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้กับแบลงค์ (mL)

V = ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (mL)

ปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจน = ทีเคเอ็น - แอมโมเนียไนโตรเจน

การควบคุมคุณภาพ ผลการทดสอบเพื่อให้เกิดความน่าเชื่อถือ

1. สารมาตรฐานที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ค่าความถูกต้อง คือกรดกลูตามิก(ความเข้มข้น 1,000 mg/L) โดยการเจือจางสารละลายกรดกลูตามิกจำนวน 1 mL ลงในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 25 mL แล้วนำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างน้ำทุกขั้นตอน
2. การหาเปอร์เซ็นต์ค่ากลับคืน จะใช้สารละลายกรดนิโคตินิก (เข้มข้น 1,000 mg/L) โดยการเติมสารละลายกรดนิโคตินิกจำนวน 0.5 mL ลงในตัวอย่างน้ำให้มีปริมาตรรวม 100 mL แล้วนำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างน้ำทุกขั้นตอน
3. การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกันเพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ทดสอบโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำขวดเดียวกัน 2-3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การหาปริมาณฟอสฟอรัสและฟอสเฟต ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ข้อมูลและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยสลายโดยใช้กรดซัลฟิวริก – กรดไนตริก

เครื่องมือ

1. ขวดไมโครเจลดาห์ล หรือ ใช้ถ้วยระเหยโดยทำการระเหยในตู้ดูดควัน
2. เตาให้ความร้อน

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. กรดไนตริกเข้มข้น

การทดลอง

1. ใส่ตัวอย่างน้ำจำนวนพอเหมาะ(ขึ้นอยู่กับปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำทิ้ง) ประมาณ 25-100 mL ลงในขวดไมโครเจลดาห์ลหรือถ้วยระเหย เติมกรดซัลฟิวริก 1 mL และกรดไนตริกเข้มข้น 5 mL
2. นำไปย่อยสลายในตู้ดูดควันจนปริมาตรตัวอย่างน้ำเหลือเพียง 1 mL และย่อยสลายต่อไปเพื่อให้กรดจนกว่าสารละลายจะไม่มีสี
3. ทำให้เย็นเติมน้ำกลั่น 10 mL ใส่ฟีนอล์ฟธาลีน 1 หยด เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N จนได้สีชมพูอ่อน
4. ถ้าสารละลายขุ่นให้กรองจากนั้นถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ด้วยน้ำกลั่น
5. นำไปวิเคราะห์หาปริมาณออร์โธฟอสเฟต

การหาปริมาณออร์โธฟอสเฟตด้วยวิธีแอสคอบิกแอซิด

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก 5 N
 - เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 70 mL ในน้ำกลั่น 500 mL
2. สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาเทรต
 - ละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาเทรต 1.3715 g ในน้ำกลั่น 200 mL เติมน้ำจนครบ 500 mL เก็บในขวดแก้ว
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต
 - ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 20g ในน้ำกลั่น 500 mL เก็บในขวดแก้ว
4. สารละลายแอสคอบิก 0.1 โมลาร์
 - ละลายกรดแอสคอบิก 1.76 g ในน้ำกลั่น 100 mL สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้ประมาณ 1 สัปดาห์ และต้องเก็บไว้ในตู้เย็น
 - ผสมน้ำยาเคมีในสัดส่วนสำหรับ 100 mL ของน้ำยารวมดังนี้สารนี้จะคงตัวอยู่ได้นาน 4 ชั่วโมง
5. น้ำยารวม (Combined Reagent)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้า หรือการอื่นใดที่ก่อให้เกิดความเสียหายหรือการฟ้องร้องทางกฎหมาย

- 5.1.กรดซัลฟิวริก 5 N 50 mL
- 5.2.สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาเทรต 5 mL
- 5.3.สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 15 mL
- 5.4.กรดแอสคอบิก 30 mL
- 6. สารละลายสต็อกฟอสเฟต
 - ละลาย KH_2PO_4 (anhydrous) 219.5 mg เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 mL (1 mL ของสารละลายจะมี $50\text{ }\mu\text{g PO}_4^{3-}\text{P}$)
- 7. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต
 - นำสารละลายจากข้อ 6 มา 50 mL เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 L สารละลายนี้มีความเข้มข้นฟอสเฟต $2.5\text{ }\mu\text{g PO}_4^{3-}\text{P/ 1 mL}$
- 8. สารละลายมาตรฐาน AMP
 - ชั่ง AMP ที่อบแห้งแล้ว 0.2242 g ละลายด้วยน้ำกลั่น และ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 mL ปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

การทดลอง

- 1. ปิเปตตัวอย่างน้ำมา 30.0 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL เติมฟีนอลฟทาลิน 1 หยด ถ้าได้สีแดงให้เติมกรดซัลฟิวริก 5 N ที่ละลายจนสีแดงหายไป
- 2. เติมน้ำยารวม 8.0 mL และปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
- 3. เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตมา 0,2,6,10,16,24 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL เติมน้ำยารวม 8.0 mL และเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีด เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายฟอสเฟตที่มีความเข้มข้น 0,5,15,25,40,60 μg นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 nm เปรียบเทียบกับแบลงค์และตัวอย่างน้ำ

การคำนวณ

ฟอสเฟต (mg-P/L)

=

ค่าที่อ่านได้จากกราฟในหน่วย (μg)

ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (mL)

การควบคุมคุณภาพ

- 1. โดยการวิเคราะห์แบลงค์ของวิธีทดสอบ (Method Blank) โดยนำน้ำกลั่นมาทำการทดสอบ
- 2. ทดสอบสารมาตรฐานฟอสเฟตจากแหล่งที่แตกต่างจากแหล่งที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน(QC check standard) โดยเลือกความเข้มข้นใกล้จุดกลางของกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)
- 3. การตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือโดยใช้สารมาตรฐาน 3-5 ความเข้มข้นแล้วพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ซึ่งเกณฑ์ยอมรับอยู่ที่ไม่น้อยกว่า 0.990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์หากรดอินทรีย์ระเหยง่าย

เครื่องมือและอุปกรณ์

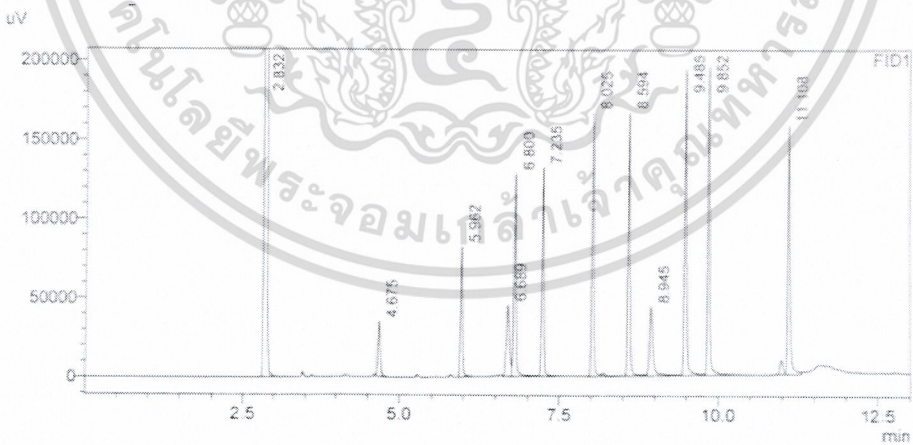
- 1. เครื่องเซนติฟิวจ์
- 2. เครื่องกลั่น
- 3. เครื่องวัดพีเอช

การทดลอง

- 1. นำตัวอย่างที่เป็นของเหลวมากรองด้วยฟิลเตอร์ขนาด 0.45 ไมครอน เก็บใส่ภาชนะเพื่อเตรียมไปวิเคราะห์โดยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี
- 2. นำตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟียี่ห้อ SHIMADZU รุ่น Nexis GC-2030 คอลัมน์ DB-624 ยี่ห้อ Agilent Technologies โดยมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ดังนี้

อุณหภูมิของคอลัมน์ (Column Temperature) = 80 – 200 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของหัวฉีด (Injection Temperature) = 240 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของเครื่องตรวจจับ (Detector Temperature) = 240 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของก๊าซไนโตรเจน (Carrier gas flow) = 24 มิลลิลิตรต่อนาที
Detector = FID Detector
Carrier gas = Helium

การคำนวณ



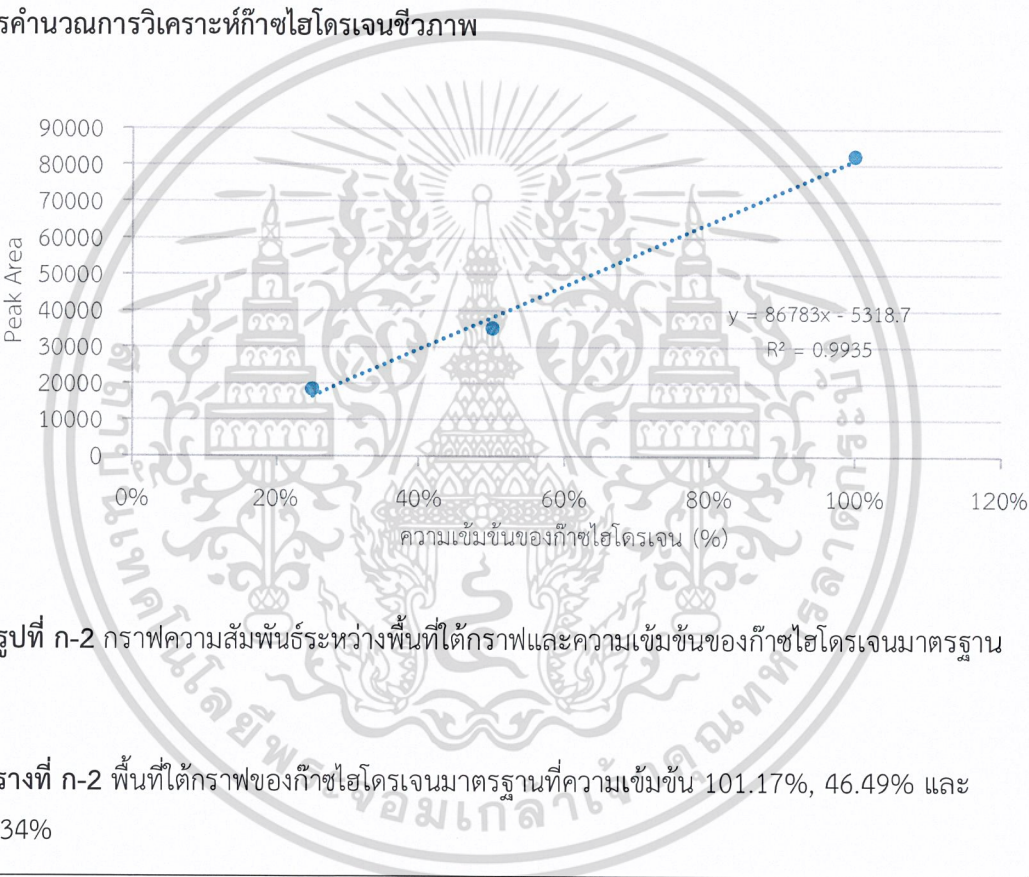
รูปที่ ก-1 โครมาโตแกรมแสดงการเกิดพีคของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-1 พื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายชนิดต่างๆ

กรดอินทรีย์ระเหยง่าย	Peak Area	ความเข้มข้น (mg/L)
Formic Acid	743408	91.951
Acetic Acid	18165	124.581
Propionic Acid	35899	144.642
Butyric Acid	178090	176.004
Valeric Acid	73675	205.071

การคำนวณการวิเคราะห์ก๊าซไฮโดรเจนชีวภาพ

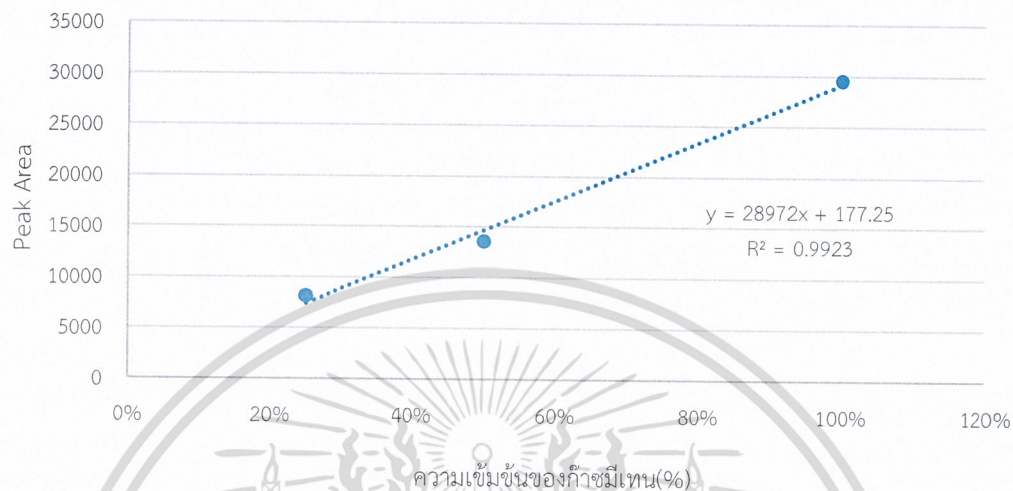


รูปที่ ก-2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐาน

ตารางที่ ก-2 พื้นที่ใต้กราฟของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 101.17%, 46.49% และ 27.34%

ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจน (%)	Peak Area
101.17%	82478.7667
46.49%	35028.7
27.34%	18406.333

การคำนวณการวิเคราะห์ก๊าซมีเทนชีวภาพ



รูปที่ ก-2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนมาตรฐาน

ตารางที่ ก-2 พื้นที่ใต้กราฟของก๊าซมีเทนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 101.13%, 46.18% และ27.55%

ความเข้มข้นของก๊าซมีเทน (%)	Peak Area
101.13%	29518.63
46.18%	13556.68
27.55%	8158.23

ภาคผนวก ข.

วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์

ตารางที่ ข-1 ปริมาณของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยง่าย ของแข็งคงตัวและค่าความชื้นของตะกอนจุลินทรีย์

ตัวอย่าง	ครั้งที่	น้ำหนัก ถ้วย(g)	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	น้ำหนัก รวมก่อน อบ (g)	น้ำหนัก รวมหลัง อบ (g)	น้ำหนัก รวมหลัง เผา (g)	% ความชื้น	% ความชื้น เฉลี่ย	% ของแข็ง ทั้งหมด(TS)	% ของแข็ง ทั้งหมดเฉลี่ย	% ของแข็ง ระเหย ทั้งหมด (TVS)	% ของแข็ง ระเหย ทั้งหมดเฉลี่ย	% ของแข็ง คงตัว	%ของแข็ง คงตัว เฉลี่ย
ตะกอนจุลินทรีย์ ผ่านการอบฆ่า เชื้อ	1	30.1342	10.0227	40.1663	31.2197	30.3085	89.1797	89.1797	10.8202	10.6064	83.9428	83.9988	16.0571	15.9995
	2	28.1067	10.0241	38.1333	29.1633	28.2740	89.4620		10.5380		84.1661		15.8338	
	3	29.3130	10.1722	39.4851	30.3771	29.4844	89.5390		10.4610		83.8925		16.1075	
ตะกอนจุลินทรีย์ ที่ไม่ได้อบฆ่าเชื้อ	1	29.3121	10.1028	39.4157	30.1398	29.4398	91.8061	92.1801	8.1940	7.8200	84.5513	84.7402	15.4487	15.2600
	2	30.1348	10.1059	40.2432	30.8991	30.2520	92.4335		7.5665		84.5993		15.4010	
	3	30.4521	10.1080	40.5607	31.2302	30.5681	92.3001		7.6992		85.0700		14.9300	

ตารางที่ ข-2 ลักษณะทางกายภาพของผักตบชวา

ครั้งที่	น้ำหนัก ถ้วย(g)	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	น้ำหนัก รวมก่อน อบ (g)	น้ำหนัก รวมหลัง อบ (g)	น้ำหนัก รวมหลัง เผา (g)	% ความชื้น	% ความชื้น เฉลี่ย	% ของแข็ง ทั้งหมด (TS)	% ของแข็ง ทั้งหมด เฉลี่ย	% ของแข็ง ระเหย (TVS)	% ของแข็ง ระเหย ง่ายเฉลี่ย	% ของแข็ง คงตัว	% ของแข็ง คงตัว เฉลี่ย	% เถ้า	% เถ้า เฉลี่ย
1	145.8903	3.0004	148.8911	148.6538	146.3496	7.9082	7.8394	92.0854	92.1489	83.3949	83.4073	16.6202	16.5978	15.3060	15.2949
2	157.1028	3.0005	160.1074	159.8651	157.5633	8.0643		91.9357		83.3291		16.6709		15.3265	
3	157.2200	3.0005	160.2235	159.9960	157.6781	7.5456		92.4255		83.4978		16.5022		15.2522	

ตารางที่ ข-3 ลักษณะทางเคมีของผักตบชวา

ตัวอย่าง ผักตบชวา	COD (mg O ₂ /mg)	COD เฉลี่ย	%TKN	%TKN เฉลี่ย	%TP	%TP เฉลี่ย
1	0.5796	0.60413	1.8224	1.6249	0.3339	0.3117
2	0.6164		1.427		0.2981	
3	0.6164		1.6254		0.3031	

ตารางที่ ข-4 ลักษณะทางเคมีในชุดการทดลองที่ใช้หมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

ชุดการทดลอง		pH	Total COD (mg/L)	Soluble COD (mg/L)	Total TVS (g)	TKN (mgN ₂ /L)	TP (mg P/L)
ชุดควบคุม	ก่อนหมัก	5.87	3713	3427	77.71	205.00	3.52
	หลังหมัก	3.86	3200	2666	-	-	-
ชุดการทดลองที่ 1	ก่อนหมัก	5.71	9711	6568	39.24	546.56	2.46
	หลังหมัก	4.36	9067	5334	-	-	-
ชุดการทดลองที่ 1*	ก่อนหมัก	5.6	9139	6854	39.66	546.56	16.17
	หลังหมัก	4.4	8533	6134	-	-	-
ชุดการทดลองที่ 2	ก่อนหมัก	5.52	13709	9711	39.40	751.52	59.60
	หลังหมัก	4.44	11733	6400	-	-	-
ชุดการทดลองที่ 2*	ก่อนหมัก	5.55	12852	11995	39.13	683.2	18
	หลังหมัก	4.45	10133	5866	-	-	-

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-5 ปริมาณของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นและปริมาณก๊าซสะสมในแต่ละชุดการทดลองจากการหมักเพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจน

เวลา (ชั่วโมง)	ชุดควบคุม		ชุดการทดลองที่ 1		ชุดการทดลองที่ 1*		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 2*	
	ปริมาตรที่เกิด (mL)	ปริมาตรสะสม (mL)	ปริมาตรที่เกิด (mL)	ปริมาตรสะสม (mL)	ปริมาตรที่เกิด (mL)	ปริมาตรสะสม (mL)	ปริมาตรที่เกิด (mL)	ปริมาตรสะสม (mL)	ปริมาตรที่เกิด (mL)	ปริมาตรสะสม (mL)
24	43	43	98	98	60	60	0	0	0	0
48	80	123	86	184	118	178	0	0	90	90
60	0	123	0	184	32	210	0	0	74	164
72	0	77.1	0	184	8.4	218.4	0	0	3.6	167.6
96	0	77.1	0	184	64	282.4	0	0	0	167.6
120	0	77.1	0	184	60	342.4	0	0	1	168.6
144	0	77.1	78	262	3	345.4	40	40	0	168.6
168	0	77.1	13	262	5.2	350.6	0	40	22	190.6
192	0	77.1	0	275	4	354.6	0	40	0	190.6

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-6 ความเข้มข้นเป็นเปอร์เซ็นต์ของก๊าซไฮโดรเจนในขวดหมัก

เวลา (ชั่วโมง)	ชุดควบคุม		ชุดการทดลองที่ 1		ชุดการทดลองที่ 1*		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 2*	
	Peak area	% H ₂	Peak area	% H ₂	Peak area	% H ₂	Peak area	% H ₂	Peak area	% H ₂
24	3881.6	10.6015	6354.13	13.4505	4232.93	11.0063	0	0	0	0
48	8240.53	15.6243	20896.2	30.2073	16269.3	24.8760	0	0	6638.83	13.7786
60	0	0	0	0	13303.8	21.4587	0	0	9721	17.3302
72	0	0	0	0	13144.8	21.2756	0	0	9028.47	16.5322
96	0	0	0	0	11874.0	19.8111	0	0	0	0
120	0	0	0	0	7298.7	14.5390	0	0	2960.4	9.5400
144	0	0	10148.5	17.8230	16393	25.0184	1986.1	8.4173	0	0
168	0	0	0	0	21941.2	31.4116	0	0	16220	24.8190
192	0	0	18977.9	27.9970	11292.5	19.1410	0	0	0	0
240	441.16	6.6370	15205.4	23.6500	16842.67	25.5365	2530.13	9.0442	14269.53	22.5715

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-7 ลักษณะทางเคมีในชุดการทดลองที่ใช้หมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทน

ชุดการทดลอง	ชุดควบคุม		ชุดการทดลองที่ 1		ชุดการทดลองที่ 1*		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 2*	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
pH	3.86	7.07	4.36	7.06	4.40	7.32	4.44	7.25	4.45	7.28

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-8 ตารางค่ากรดอินทรีย์ระเหยง่ายแต่ละชนิดในชุดการทดลองก่อนหมักก๊าซมีเทน

ชุดการทดลอง	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 1*	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 2*
Acetic (mg/L)	1116.48	1930.60	1015.26	376.35	167.62
Propionic (mg/L)	104.65	107.59	114.37	129.59	89.92
Butyric (mg/L)	14187.46	144.28	13937.96	14145.04	14086.76
Valeric (mg/L)	596.81	922.05	939.68	666.21	423.278

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-9 ปริมาณก๊าซสะสมและความเข้มข้นของก๊าซมีเทนในแต่ละชุดการทดลองจากการหมักเพื่อผลิตก๊าซมีเทน

เวลา (ชั่วโมง)	ชุดควบคุม			ชุดการทดลองที่ 1			ชุดการทดลองที่ 1*			ชุดการทดลองที่ 2			ชุดการทดลองที่ 2*		
	ปริมาตร สะสม (mL)	Peak area	% CH ₄	ปริมาตร สะสม (mL)	Peak area	% CH ₄	ปริมาตร สะสม (mL)	Peak area	% CH ₄	ปริมาตร สะสม (mL)	Peak area	% CH ₄	ปริมาตร สะสม (mL)	Peak area	% CH ₄
24	0	0	0	1	1059.37	3.04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	3	3695.77	12.14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
144	0	0	0	6.1	7045.5	23.70	0	0	0	0	0	0	0	0	0
168	0	0	0	9.1	10919.7	37.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0
336	0	0	0	10.1	10456.4	35.48	0	0	0	0	0	0	0	0	0
360	1	11987.6	40.76	12.5	15263.3	52.07	0	0	0	0	0	0	0	0	0

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-10 ปริมาณของแข็งระเหยง่ายก่อนและหลังการหมักก๊าซชีวภาพ

ชุดการทดลอง	ชุดควบคุม		ชุดการทดลองที่ 1		ชุดการทดลองที่ 1*		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 2*	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
%ของแข็งระเหยง่าย	22.29	55.88	60.76	27.69	60.34	32.03	60.61	32.47	60.87	31.70

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-11 การวิเคราะห์ไอออนบวกที่ละลายในน้ำหลังจากการผลิตก๊าซมีเทน

ชนิดของไอออนบวก (mg/L)	ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 1*	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 2*
Sodium	2774	30321	31076	42929	45836
Ammonium	854	1781	1646	1989	1892
Potassium	1554.2	5072	4122	5658	5696
Calcium	542.4	2481	1910	2031	2639
Magnesium	294.1	4852	819	1161	1140

หมายเหตุ : * การทำการทดลองซ้ำ

ตารางที่ ข-12 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์หาอัตราส่วนผักตบชวาต่อสารละลายกรดที่เหมาะสม

อัตราส่วน	TCOD (mg O ₂ /L)			TCOD เฉลี่ย	SCOD (mg O ₂ /L)			SCOD เฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	
1:20	33600	33600	32000	33066	20800	20800	20800	20800
1:30	28800	32000	28800	29866	12800	16000	12800	13866

ตารางที่ ข-13 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์หาเวลาที่เหมาะสมในการปรับสภาพผักตบชวากับกรดฟอสฟอริกพร้อมกับการให้ความร้อน

เวลา (ชั่วโมง)	TCOD (mg O ₂ /L)			TCOD เฉลี่ย	SCOD (mg O ₂ /L)			SCOD เฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	
1	16000	17600	17000	16866	9400	9200	9500	9366
2	22600	22000	21200	21933	16200	15000	15500	15566
3	25600	24000	24500	24700	19800	18900	19900	19533