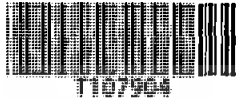


สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การลดลงของค่า SCOD ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจน
จากสัตจ่น้ำเสียชุมชนโดยใช้ *Escherichia coli*



นางสาวณัฐพร จิระเรืองฤทธิ์
นางสาวนิศานาถ อุดมมรกต
นางสาววิธานี วิชัยดิษฐ์

ชพ.
นช ๓๔๑๗
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 107904
วัน,เดือน,ปี..... - 8 ส.ย. 2553

b. 12213123
i.....

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การลดลงของค่า SCOD ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจน
จากสัลดจ์น้ำเสียชุมชนโดยใช้ *Escherichia coli*



โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Reduction of SCOD during Hydrogen Production from Municipal
Wastewater Sludge using *Escherichia coli***



Miss Natthaporn Jirarangrit

Miss Nisanart Udommorakot

Miss Wilanee Wichidit

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for

the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การทดลองของค่า SCOD ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จากสัลดจ์น้ำเสียชุมชน โดยใช้ *Escherichia coli*

นักศึกษา นางสาวณัฐพร จิระเรืองฤทธิ์
นางสาวนิศานาด อุดมมรกต
นางสาววิลาณี วิชัยดิษฐ์


ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2550

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. สุวรรณณี จรรยาพูน

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ผศ.ดร.ชลอ จารุสุทธิรักษ์	
กรรมการ	ดร. สุวรรณณี จรรยาพูน	
กรรมการ	ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์	


 (ผศ.ดร.ชลอ จารุสุทธิรักษ์)
 หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การลดลงของค่า SCOD ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจาก สลัดจ์น้ำเสียชุมชนโดยใช้ <i>Escherichia coli</i>	
นักศึกษา	นางสาวณัฐพร	จิระเรืองฤทธิ์
	นางสาวนิศานาถ	อุดมมรกต
	นางสาววิลาณี	วิรัชศิษฐ์
ภาควิชา	เคมี	
สาขาวิชา	เคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม	
ปีการศึกษา	2550	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุวรรณิ จรรยาพูน	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการลดลงของค่า SCOD ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน โดย *Escherichia coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชนด้วยวิธีการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน และความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลง SCOD ในสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชนต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน จากผลการทดลองพบว่าปริมาณกลูโคสในถังหมักที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RCM และค่า SCOD ในสลัดจ์มีค่าลดลง ในขณะที่ก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตได้มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งการลดลงของกลูโคสและ SCOD และการเพิ่มขึ้นของก๊าซไฮโดรเจนสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ ยังศึกษาวิธีกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์โดยใช้ยูวีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชนก่อนนำมาผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดย *E. coli* จากการทดลองพบว่าเปอร์อะซิติกแอซิด ที่ความเข้มข้น 1.50% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที สามารถกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม พบว่า *E. coli* ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะดังกล่าว ส่วนการกำจัดจุลินทรีย์โดยใช้ความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิดที่ 0.3% และ 0.1% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตก๊าซได้ แต่ไม่พบก๊าซไฮโดรเจน

คำสำคัญ : สลัดจ์น้ำเสียชุมชน, *E. coli*, เปอร์อะซิติกแอซิด, ยูวี, ไฮโดรเจน

Project Title	Reduction of SCOD during Hydrogen Production from Municipal Wastewater Sludge using <i>Escherichia coli</i>	
Student Name	Miss Natthaporn	Jiraruangrit
	Miss Nisanart	Udommorakot
	Miss Wilanee	Wichidit
Department	Chemistry	
Academic Year	2007	
Advisor Name	Dr. Suwannee Junyapoon	

ABSTRACT

This special project studied reduction of SCOD during hydrogen production from municipal wastewater sludge using *Escherichia coli* (*E.coli*) isolated from sludge of municipal wastewater treatment plant. The study focused on a variation of glucose in RCM and SCOD in municipal wastewater sludge related to a production of hydrogen gas. It was found that glucose in RCM and SCOD in sludge decreased while the amount of hydrogen gas increased. The decrease of glucose and SCOD and the increase of hydrogen gas related to the growth rate of microorganisms. In addition, a disinfection technique of municipal wastewater sludge was also examined using UV combined with peracetic acid. The results showed that treatment by Peracetic acid 1.50% by volume combined with UV- C at 30 watt for 10 minute was the most effective conditions. However, inoculated *E. coli* could not grow in this condition. Treatment by Peracetic acid 0.3% and 0.1% by volume combined UV-C at 30 watt for 10 minute could kill most of microorganisms. Under this condition, microorganisms could produce gas but no hydrogen gas was observed.

Key words: Municipal Wastewater Sludge, *E. coli*, Peracetic acid, UV, Biohydrogen

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. สุวรรณิ จรรยาพูน อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนการดูแลเอาใจใส่ในการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ชลอ จารุสุทธีรักษ์ และ ผศ.ดร.อุสารัตน์ ถาวรชัยสิทธิ์ อาจารย์ คณะกรรมการตรวจสอบโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณ คุณปราณี บุญวัฒน์ นักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเคมี และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ในการให้ความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์ และสารเคมี ตลอดจนการขอใช้ห้องปฏิบัติการนอกเวลา

ขอขอบพระคุณ นางสาววราณี บัวลา ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลความรู้ต่างๆ ทางด้านจุลชีววิทยา

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ ๆ และเพื่อน ๆ ทั้งหลายในการเป็นกำลังใจที่สำคัญ และช่วยติชมการนำเสนอโครงการพิเศษ

นางสาวณัฐพร จิระเรืองฤทธิ์
นางสาวนิศานาถ อุดมมรกต
นางสาววิลานี วิชัยดิษฐ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 ก๊าซไฮโดรเจน	3
2.1.1 กระบวนการผลิตไฮโดรเจน	4
2.1.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน	11
2.1.3 สารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน	17
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	26
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	26
3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	26
3.1.2 สารเคมี	27
3.1.3 ถังหมักก๊าซไฮโดรเจน	28
3.1.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน	29
3.1.5 สลัดจ์ตัวอย่าง	29
3.2 วิธีการทดลอง	30
3.2.1. การเตรียมหัวเชื้อ <i>E. coli</i>	30
3.2.2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	31

3.2.2.1 วิธีการเตรียมอาหารเหลว Reinforced Clostridium Medium RCM 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอก การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2	วิธีการเตรียมอาหารแข็ง Reinforced Clostridium Agar (RCA) จากอาหารเหลว RCM	31
3.2.3	การเตรียมสลัดจ์	31
3.2.4	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ เชื้อ <i>E. coli</i> กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหาร เลี้ยงเชื้อ RCM	31
3.2.5	ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ <i>E. coli</i> กับการเปลี่ยนแปลงของค่า SCOD ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน	33
3.2.6	ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชน โดยใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA), ยูวี (UV) และการใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ร่วมกับยูวี (UV)	34
3.2.6.1.	การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซี (UV-C)	34
3.2.6.2.	การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA)	35
3.2.6.3.	การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA)	35
3.2.6.4.	การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ <i>E. coli</i> ในสลัดจ์ที่กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด	36
บทที่ 4	ผลการวิจัยและอภิปรายผล	37
4.1	ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ <i>E. coli</i> กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM	37
4.2	ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ <i>E. coli</i> กับการเปลี่ยนแปลงของค่า SCOD ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน	39
4.3	ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชน โดยใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA), ยูวีซี (UV-C) และการใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ร่วมกับยูวีซี (UV-C)	40
4.3.1	ผลการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซี (UV-C)	40
4.3.2	ผลการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA)	40
4.3.3	ผล การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA)	41

4.3.4. ผลการทดสอบการผลิตก๊าซของเชื้อ <i>E. coli</i> ในสลัดจ์ที่กำจัดจุลินทรีย์ด้วย ยูวีซีร่วมกับเปอร์ออกไซด์ิกแอซิดที่ปริมาณต่างๆ (UV-C and PAA)	42
4.4 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ <i>E. coli</i> ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที ร่วม กับเปอร์ออกไซด์ิกแอซิดเข้มข้น 0.3 และ 0.1% โดยปริมาตร	42
4.4.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซของเชื้อ <i>E. coli</i> ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์ออกไซด์ิกแอซิดเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร	42
4.4.2 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซของเชื้อ <i>E. coli</i> ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์ออกไซด์ิกแอซิดเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร	43
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	46
5.1 สรุปผลการวิจัย	46
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	
ภาคผนวก ข	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบพลังงานที่ได้จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงชนิดต่าง ๆ	4
ตารางที่ 2.2 ปฏิกริยาที่แตกต่างกันระหว่าง <i>Escherichia sp.</i> กับ <i>Shigella sp</i>	12
ตารางที่ 2.3 แสดงปฏิกริยาทางชีวเคมีของ <i>Escherichia</i> สปีชีส์ต่าง ๆ	13
ตารางที่ 2.4 การทดสอบเบื้องต้นทางชีวเคมี เพื่อจำแนกสปีชีส์ต่าง ๆ ของแบคทีเรีย ในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี	14
ตารางที่ 2.5 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละกระบวนการย่อยสลายแบบไม่มีออกซิเจน	16
ตารางที่ 2.6 ลักษณะของสลัดจ์	19
ตารางที่ 2.7 อัตราการเกิดน้ำเสีย	20
ตารางที่ 3.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซด้วยเครื่อง Gas Chromatograph - Thermal conductivity Detector (GC-TCD)	32
ตารางที่ 3.2 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์	33
ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซี (UV-C) ที่เวลาต่าง ๆ	39
ตารางที่ 4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ	40
ตารางที่ 4.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA) ที่ความเข้มข้น 1.50% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีเป็นเวลา ต่าง ๆ	40
ตารางที่ 4.4 ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซของสลัดจ์ที่กำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซี นาน 10 นาทีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิดความเข้มข้นต่าง ๆ	41

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยผ่านกระบวนการ steam reforming ของก๊าซธรรมชาติ	5
รูปที่ 2.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยวิธีการแยกโมเลกุลของน้ำด้วยกระแสไฟฟ้า	6
รูปที่ 2.3 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Direct biophotolysis	7
รูปที่ 2.4 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Indirect biophotolysis	8
รูปที่ 2.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Photo-fermentation	9
รูปที่ 2.6 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Dark fermentation	9
รูปที่ 2.7 กราฟการสะสมของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้สมการ Modified Gompertz	10
รูปที่ 2.8 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนภายใต้สภาวะการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศ	15
รูปที่ 2.9 กลไกการบำบัดสลัดจ์และปริมาณน้ำที่มีในสลัดจ์ในแต่ละขั้นตอน	17
รูปที่ 2.10 สเปกตรัมรังสีอัลตราไวโอเล็ต	21
รูปที่ 3.1 ถังหมักก๊าซไฮโดรเจนและอุปกรณ์ในการเก็บก๊าซไฮโดรเจน โดยวิธีแทนที่น้ำ	27
รูปที่ 3.2 แผนผังกระบวนการเกิดสลัดจ์ของโรงควบคุมคุณภาพน้ำ	29
รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซไฮโดรเจนกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในถังหมักที่ช่วงเวลาต่าง ๆ	36
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซไฮโดรเจนกับพีเอชที่ช่วงเวลาต่าง ๆ	37
รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซไฮโดรเจนกับจำนวนจุลินทรีย์ที่ช่วงเวลาต่าง ๆ	37
รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซไฮโดรเจนกับการเปลี่ยนแปลง SCOD ที่เวลาหมักต่าง ๆ	38
รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซของสลัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยวิธีเป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์อะซิดิกแอซิดเข้มข้น 0.3%	42
รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซของสลัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยวิธีเป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์อะซิดิกแอซิดเข้มข้น 0.1%	43
รูปที่ 4.7 ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนสะสมของเชื้อ <i>E. coli</i> เมื่อใช้สลัดจ์เป็นอาหาร ที่เวลาต่าง ๆ	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันมีการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิล ได้แก่ น้ำมันปิโตรเลียม ถ่านหิน ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญเป็นจำนวนมาก ก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนพลังงานและปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ปรากฏการณ์โลกร้อน และการเกิดฝนกรด ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อเพลิงจากฟอสซิลจัดเป็นเชื้อเพลิงที่ไม่สามารถสร้างขึ้นใหม่ได้ (non-renewable energy) และเมื่อเผาไหม้จะปล่อยก๊าซซึ่งเป็นมลพิษทางอากาศ ได้แก่ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ออกสู่บรรยากาศ จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษามากมายเพื่อหาพลังงานทดแทนในรูปแบบใหม่ ๆ ที่เป็นพลังงานสะอาดและสามารถสร้างขึ้นใหม่ (clean and renewable energy) เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิต โดยที่ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ ยังเป็นแหล่งพลังงานทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลในอนาคตอีกด้วย

ก๊าซไฮโดรเจนเป็นพลังงานทดแทนอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนเป็นพลังงานที่สะอาด เมื่อเผาไหม้จะได้พลังงานและน้ำเท่านั้น การผลิตก๊าซไฮโดรเจนทำได้หลายวิธี ปัจจุบันวิธีผลิตก๊าซไฮโดรเจนในเชิงธุรกิจคือวิธีการแยกน้ำด้วยไฟฟ้า ซึ่งยังต้องอาศัยเชื้อเพลิงฟอสซิล ดังนั้น จึงมีผู้สนใจผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้จุลินทรีย์ หรือไบโอไฮโดรเจน (biohydrogen) ซึ่งจัดว่าเป็นพลังงานทดแทนที่สะอาดที่สามารถสร้างขึ้นใหม่ได้ เนื่องจากสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ นอกจากนี้ ยังสามารถใช้สารอินทรีย์ที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากครัวเรือน อุตสาหกรรม หรือเกษตรกรรม ได้แก่ เศษอาหาร กากตะกอนน้ำเสียชุมชน เปลือกสับปะรด กากน้ำตาล แป้ง เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน นับว่าเป็นการใช้ประโยชน์จากของเหลือทิ้งซึ่งช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่งด้วย

โครงการวิจัยนี้ ศึกษาการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยใช้สลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชนเป็นสารตั้งต้น ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลง ค่า SCOD ในสลัดจ์ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน นอกจากนี้ ยังศึกษาวิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์โดยใช้ UV ร่วมกับ PAA

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่า SCOD ในสลัดจ์ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน
3. ศึกษาวิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์โดยใช้ UV ร่วมกับ PAA

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน ที่เวลาต่าง ๆ โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Somogyi Nelson's method และวิเคราะห์ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นโดย GC - TCD
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่า SCOD ในสลัดจ์ต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน ที่เวลาต่าง ๆ โดยวิเคราะห์ค่า SCOD ในสลัดจ์ด้วยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Closed Reflux, Titrimetric method)
3. ศึกษาวิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์โดยใช้ UV ร่วมกับ PAA โดยเปรียบเทียบวิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ 3 วิธี คือ 1) วิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV C ที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ที่เวลาต่าง ๆ ได้แก่ 15,30,45 และ 60 นาที 2) วิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย PAA ที่ความเข้มข้น 0.5%, 1.0%, และ 1.5% โดยปริมาตร และ 3) วิธีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วย UV C ร่วมกับ PAA ที่ ยูวีซี ที่เวลา 10 นาที และเปอร์อะซิดิกแอซิดเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบการเปลี่ยนแปลงค่าน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อและ SCOD ในสลัดจ์ในระหว่างการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน
2. นำสภาวะที่ได้ไปใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนแบบต่อเนื่องของ *E. coli* โดยใช้สลัดจ์โรงบำบัดน้ำเสียชุมชนเป็นสารตั้งต้น
3. ได้วิธีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์จากโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ก๊าซไฮโดรเจน

การขยายตัวทางด้านเศรษฐกิจและการเพิ่มขึ้นของประชากร มีผลทำให้ความต้องการพลังงานเพิ่มมากขึ้น แหล่งพลังงานที่สำคัญในปัจจุบันได้จากเชื้อเพลิงฟอสซิล ได้แก่ น้ำมัน ปิโตรเลียม ถ่านหิน ซึ่งเป็นพลังงานที่มีอยู่จำกัดและคาดว่าจะหมดไปในระยะเวลาอันใกล้ นอกจากนี้ การใช้เชื้อเพลิงเหล่านี้ยัง ก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ปรากฏการณ์โลกร้อน และการเกิดฝนกรด เนื่องจากเชื้อเพลิงจากฟอสซิล เมื่อเผาไหม้จะปล่อยก๊าซซึ่งเป็นมลพิษทางอากาศ ได้แก่ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ออกสู่บรรยากาศ (Kapdan and Kargi, 2006) ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาหาแหล่งพลังงานทดแทนในรูปแบบต่าง ๆ ที่สามารถสร้างขึ้นใหม่ และเป็นพลังงานที่สะอาด (clean energy) เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในอนาคต ตัวอย่างพลังงานทดแทน ได้แก่ พลังงานจากน้ำ พลังงานจากแสงอาทิตย์ พลังงานจากลม และพลังงานจากก๊าซไฮโดรเจน พลังงานไฮโดรเจนกำลังได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น (ประวิช, 2548) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การผลิตไฮโดรเจนด้วยวิธีทางชีวภาพ เนื่องจากสามารถใช้ชีวมวลเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ เช่น ของเหลือจากอุตสาหกรรมและชุมชน (Lay *et al.*, 1999; Evvyernie *et al.*, 2001; Yokoi *et al.*, 2001; Yokoi *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2006) เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (agricultural residues) (Fan *et al.*, 2006) พืชผลทางการเกษตร (Martines-Perez *et al.*, 2007) ไม้และเศษไม้ (Lopez *et al.*, 2003) เป็นต้น

ไฮโดรเจนมีค่าพลังงานสูงถึง 120 เมกะจูลต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 2.1) ก๊าซไฮโดรเจนจัดเป็นพลังงานสะอาด เนื่องจากการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนจะได้น้ำ และพลังงานเท่านั้น ไม่เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก ก๊าซไฮโดรเจนสามารถนำมาใช้ในเซลล์พลังงานซึ่งไฮโดรเจนและออกซิเจนจะรวมตัวกันก่อให้เกิดพลังงานไฟฟ้า ความร้อน และน้ำ การเผาผลาญก๊าซไฮโดรเจนได้มีการนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิง ในการส่งจรวดขึ้นไปในอวกาศ ปัจจุบัน ก๊าซไฮโดรเจนส่วนใหญ่ผลิตจากเซลล์พลังงาน เช่น นำมาใช้ในยานยนต์และการบิน เป็นต้น (คัดลอกจาก <http://www.upsuper.com/>)

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบพลังงานที่ได้จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงชนิดต่าง ๆ

(คัดลอกจาก <http://www.techno.msu.ac.th/bt/pdfdocxls/b.doc>)

ชนิดเชื้อเพลิง	พลังงานต่อมวล (เมกะจูลต่อกิโลกรัม)
ก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen gas)	120
ไฮโดรเจนเหลว (Hydrogen liquid)	120
ถ่านหินแอนทราไซต์ (Coal anthracite)	15-19
ถ่านหินซับบิทูมินัส (Coal sub-bituminous)	27-30
ก๊าซธรรมชาติ (Natural gas)	33-50
เบนซิน (Petrol)	40-43
น้ำมัน (Oil)	42-45
ดีเซล (Diesel)	42.8
ไบโอดีเซล (Bio-diesel)	37
เอทานอล (Ethanol)	21
ถ่านไหม้ (Charcoal)	30
วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (Agricultural residue)	10-17
ไม้ (Wood)	15

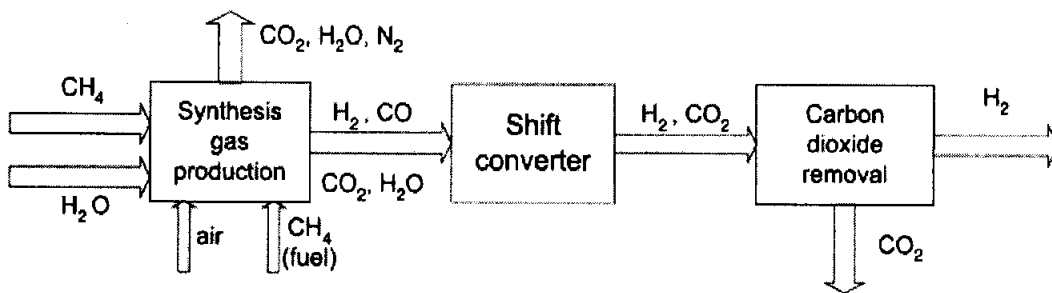
2.1.1 กระบวนการผลิตไฮโดรเจน

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนสามารถแบ่งออกเป็น 4 วิธี ดังนี้

1) การผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากเชื้อเพลิงฟอสซิล (Hydrogen production from fossil fuels)

เป็นกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากก๊าซธรรมชาติซึ่งจัดเป็นเชื้อเพลิงฟอสซิล เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเคมีและอุตสาหกรรมปิโตรเลียม โดยกระบวนการ steam reforming (ดังรูปที่ 2.1) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบไฮโดรคาร์บอนกับน้ำในรูปไอน้ำ ทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน

ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ก่อให้เกิดมลพิษ เนื่องจากมีสารตกค้างของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เกิดการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ เช่น คาร์บอนมอนอกไซด์ โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และซัลเฟอร์ เป็นต้น



รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยผ่านกระบวนการ steam reforming ของก๊าซธรรมชาติ (Granovskii *et al.*, 2006)

2) กระบวนการแยกน้ำด้วยไฟฟ้า (Water electrolysis)

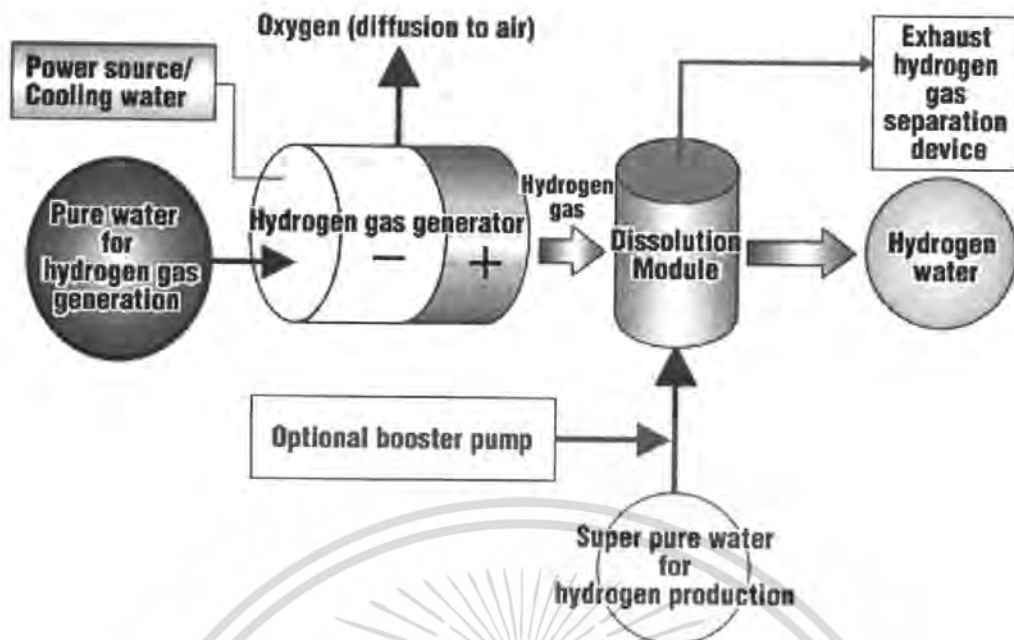
เป็นวิธีการใช้กระแสไฟฟ้าแยกโมเลกุลของน้ำโดยตรง ทำให้ได้ไฮโดรเจนอะตอมและออกซิเจนอะตอม โดยอาศัยอิเล็กโทรดขั้วบวก (positive electrode) และอิเล็กโทรดขั้วลบ (negative electrode) วิธีการ คือ จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำที่ทำให้มีความเป็นตัวนำมากขึ้น โดยการเติมสารพวก electrolyte เช่น กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ลงไป โดยไฮโดรเจนอะตอมจะไปเกาะอิเล็กโทรดขั้วบวก วิธีนี้ต้องการกระแสไฟฟ้าถึง 90 กิโลวัตต์ สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 1,000 ลูกบาศก์ฟุต ซึ่งวิธีนี้จะได้ก๊าซไฮโดรเจนที่มีความบริสุทธิ์สูง

ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ต้องใช้กระแสไฟฟ้าจำนวนมากและมีการสูญเสียพลังงานไฟฟ้าในแต่ละขั้นตอนของการแยกสลายด้วยน้ำ และจะต้องใช้สถานะอุณหภูมิที่สูงกว่า 2,500 องศาเซลเซียส เพื่อแยกโมเลกุลของน้ำให้ได้เป็นไฮโดรเจนและออกซิเจนอะตอม ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการผลิตค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้พลังงานในการแยกก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำมากกว่าที่จะได้จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงไฮโดรเจนเพื่อให้ได้พลังงาน

3) กระบวนการทางความร้อนเคมี (Thermochemical processes)

เป็นกระบวนการที่มีการพัฒนาการผลิตโดยใช้สารประกอบปรอทโบรไมด์ ($HgBr$) และแคลเซียม ซึ่งสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้โดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 200–780 องศาเซลเซียส เรียกว่ากระบวนการนี้ว่า Thermochemistry

ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถใช้ความร้อนในช่วงที่ถึงปฏิกรณ์นิวเคลียร์สามารถผลิตได้และพลังงานทั้งหมดถูกนำไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ ผลผลิตที่ได้ยังสามารถแยกออกได้ง่าย แต่มีข้อเสีย คือ พบปัญหาหมอลพิษอย่างรุนแรงจากการใช้สารประกอบโลหะหนัก ได้แก่ ปรอท และโบรไมด์



รูปที่ 2.2 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีการแยกโมเลกุลของน้ำด้วยกระแสไฟฟ้า
(www.chlorine-eng.co.jp/.../puretron/img/p10.gif)

4) กระบวนการทางชีวภาพ (Biological processes)

เป็นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้จุลินทรีย์หรือไบโอไฮโดรเจน (biohydrogen) ที่กำลังได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้จุลินทรีย์ การผลิตไบโอไฮโดรเจนสามารถแบ่งออกเป็น 5 วิธี (Levin *et al.*, 2004) ดังนี้

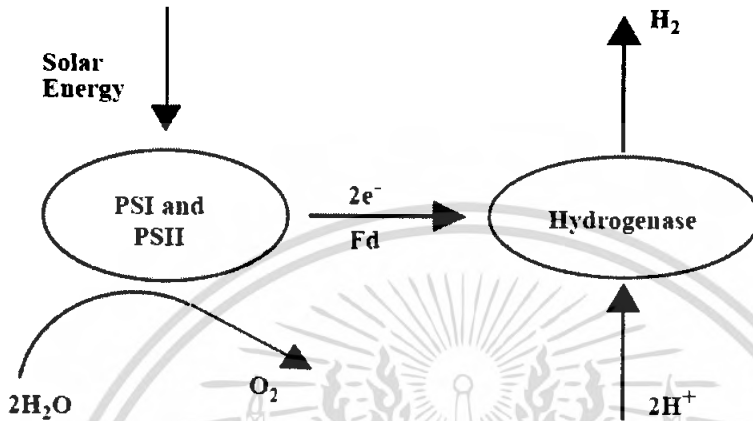
4.1) วิธี Direct biophotolysis

เป็นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้จุลสาหร่าย (microalgae) โดยการเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์เป็นพลังงานเคมี ดังปฏิกิริยา (2.1)



จุลสาหร่ายประกอบด้วยสาหร่ายสีเขียวและไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึง CO_2 จากอากาศ และใช้พลังงานแสงอาทิตย์ที่มีอยู่อย่างไม่จำกัดมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อผลิตชีวมวล ทำให้ปริมาณก๊าซ CO_2 ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจกในบรรยากาศลดลง กระบวนการเหล่านี้เกี่ยวข้องกับระบบแสง 1 (Photosystem I, PSI) และระบบแสง 2 (Photosystem II, PSII) ที่มีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากเฟอริดอกซิน (ferredoxin, Fd) ไปสู่เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และจากการที่จุลสาหร่ายสามารถผลิตเอนไซม์ไฮโดรจีเนส (hydrogenase) ทำให้ได้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ (ดังรูปที่ 2.3) (Ni *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม ไม่ว่าจะวิธีใด ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจนมีผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส ทำให้ต้องรักษาปริมาณออกซิเจนให้น้อยกว่า 0.1 % จึงสามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ (Hallenbeck and Benemann, 2002) เนื่องจากก๊าซออกซิเจนเป็นก๊าซที่จำเป็นในการหายใจ ดังนั้น การผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยวิธีนี้จึงมีประสิทธิภาพต่ำ



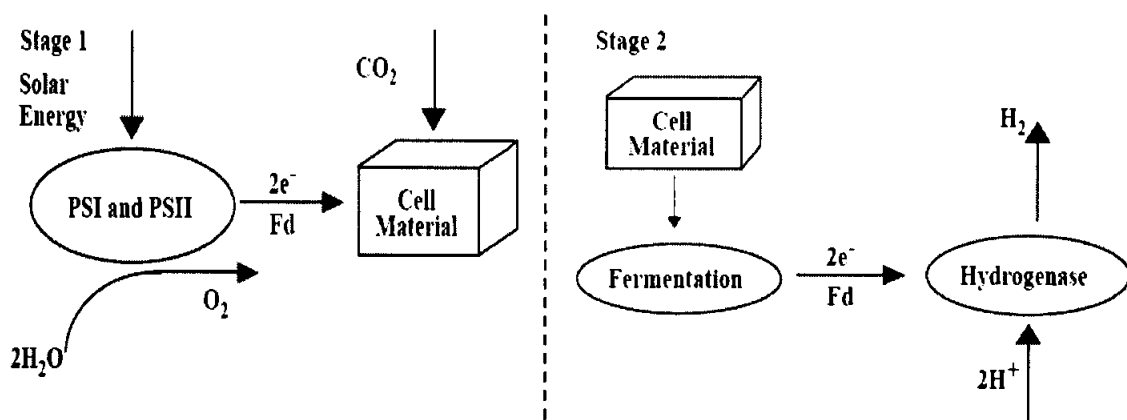
รูปที่ 2.3 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Direct biophotolysis (Ni *et al.*, 2006)

4.2) วิธี Indirect biophotolysis

เป็นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้สาหร่ายกลุ่ม *Cyanobacteria* (ดังรูปที่ 2.4) โดยมี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 เป็นการผลิตมวลชีวภาพโดยกระบวนการสังเคราะห์แสงและการทำให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น (ดังปฏิกิริยา 2.2) ส่วนขั้นตอนที่ 2 เกี่ยวข้องกับการหมักมวลชีวภาพที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ในสถานะไม่มีอากาศแบบมิด จะได้ไฮโดรเจน 4 โมลต่อโมลกลูโคส และอะซิเตต 2 โมลต่อโมลกลูโคส (ดังปฏิกิริยา 2.3) และ อะซิเตต 2 โมลต่อโมลกลูโคส สามารถเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนได้อีก (ดังปฏิกิริยา 2.4) มีปฏิกิริยารวมดังปฏิกิริยา 2.5 (Ni *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังอยู่ในขั้นวิจัยและพัฒนาในระดับห้องปฏิบัติการ (Yokoi *et al.*, 2002; Tanisho and Ishiwata, 1995)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Indirect biophotolysis (Ni *et al.*, 2006)

4.3) วิธี Biological water-gas shift reaction

เป็นการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้ photoheterotrophic bacteria ได้แก่ *Rhodospirillum rubrum* ที่สามารถเจริญได้ในที่มีแสง และใช้ CO เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ CO เพื่อสร้าง ATP ควบคู่กับการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำ (H₂O) ไปเป็นก๊าซไฮโดรเจน (H₂) ดังปฏิกิริยา 2.6 (Yokoi *et al.*, 2001)

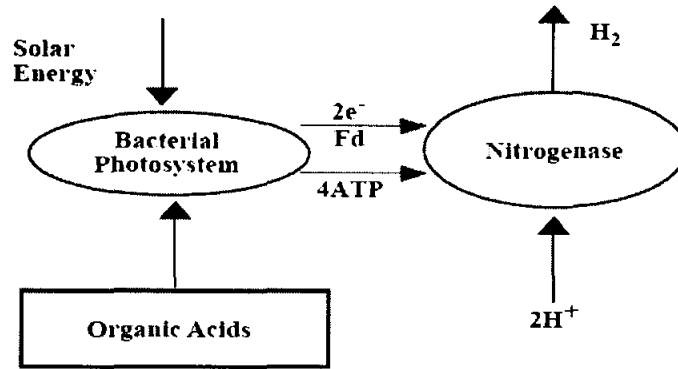


จุลินทรีย์ที่เจริญและสามารถผลิตไฮโดรเจนจากกระบวนการนี้ ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Rubrivax rubrum* และ *Rubrivax gelatinosus* และแบคทีเรียแกรมบวก *Carboxydotherrnus hydrogenoformans* (Soboh *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตาม การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีนี้ยังอยู่ในขั้นวิจัยและพัฒนาในระดับห้องปฏิบัติการ

4.4) วิธี Photo-fermentation

เป็นการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม Photosynthetic bacteria ซึ่งมีการใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ร่วมกับแสงอาทิตย์ ในการย่อยสลายกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid) กรดแลคติก (lactic acid) และกรดบิวทิริก (butyric acid) และชีวมวลให้กลายเป็นก๊าซไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ โดยมีการถ่ายเทอิเล็กตรอนผ่านเฟอริดอกซิน (ferredoxin, Fd) ไปสู่เอนไซม์ไนโตรจีเนส (รูปที่ 2.5) (Kapdan and Kargi, 2006) นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยมากมาย ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธีนี้ โดยใช้ของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม และการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน (Kim *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อเสียคือ การใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนส ต้องการพลังงานสูง ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนต่ำ และต้องใช้พื้นที่ของถังหมักมากสำหรับการหมักในสภาวะมีแสงและไม่ใช้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



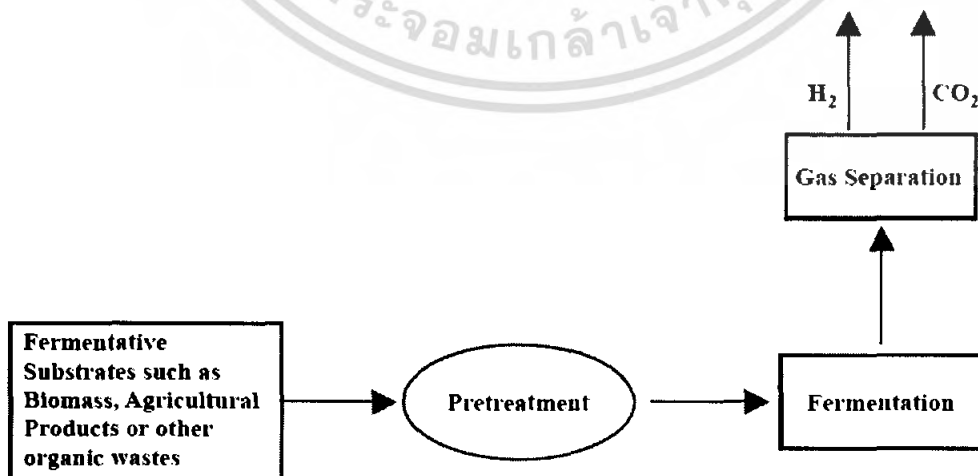
รูปที่ 2.5 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Photo-fermentation (Ni *et al.*, 2006)

4.5) วิธี Dark-fermentation

เป็นกระบวนการหมักของ anaerobic bacteria และ microalgae บางชนิดที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนในสภาวะที่ไม่มีแสง ดังแสดงในปฏิกิริยา (2.7) หรือปฏิกิริยา (2.8) วิธีนี้จะต่างจาก Photo-fermentation ตรงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักจะได้ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ดังรูปที่ 2.6) ส่วนวิธี Photo-fermentation จะได้ก๊าซไฮโดรเจนอย่างเดียว



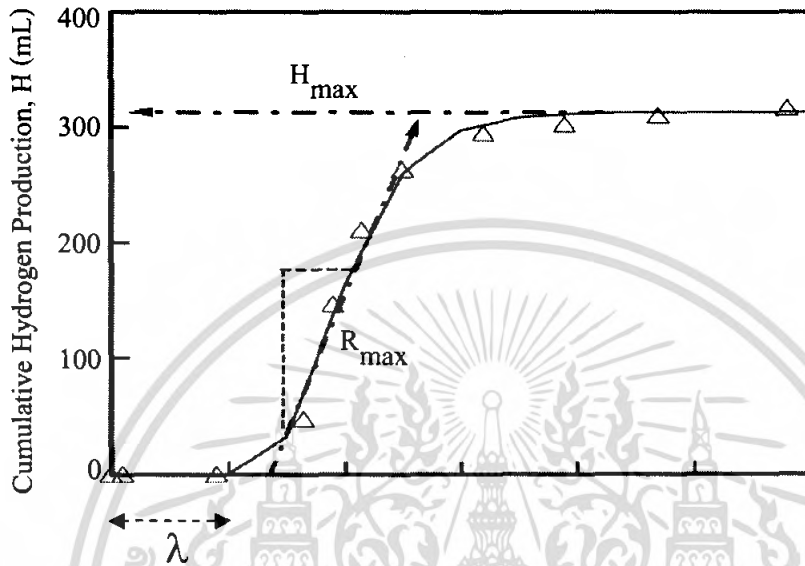
วิธีนี้ได้มีผู้สนใจศึกษาอย่างแพร่หลาย (Kumar and Das, 2000; Fan *et al.*, 2006; Ueno *et al.*, 1996) เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง ถึงหมักใช้พื้นที่น้อย และการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศมีผลกระทบต่อวิธีนี้น้อยกว่าวิธีอื่น ๆ ทำให้เทคโนโลยีนี้มีความเป็นไปได้ที่จะผลิตเป็นการค้า



รูปที่ 2.6 การผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วยวิธี Dark fermentation (Ni *et al.*, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในกระบวนการ Dark-fermentation สามารถคำนวณ โดยใช้สมการ Modified Gompertz ดังสมการ (2.9) (Lay *et al.*, 1997; Lay and Noike, 1999; Lay, 2001; Van Ginkel *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2002) ซึ่งค่าคงที่จลพลศาสตร์ (H_{\max} , R_{\max} และ λ) หาได้จากการนำข้อมูลมาสร้างกราฟ ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 กราฟการสะสมของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยใช้สมการ Modified Gompertz (Khanal *et al.*, 2004)

สมการ Modified Gompertz

$$H = H_{\max} \exp \left\{ -\exp \left(\frac{R_{\max} \cdot e}{H_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right) \right\} \quad (2.9)$$

- เมื่อ
- H = ปริมาณไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น (มล.)
 - H_{\max} = ปริมาณไฮโดรเจนที่ถูกผลิตขึ้นได้สูงสุด (มล.)
 - R_{\max} = อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด (มล./ชม.)
 - λ = เวลาที่อยู่ในระยะการปรับตัว (lag phase) (ชม.)
 - t = เวลาที่ไต่บ่ม (ชม.)
 - e = 2.71828

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามแหล่งพลังงานได้ดังนี้

1) กลุ่มโฟโตโทรฟ (Phototrophs)

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของกลุ่มโฟโตโทรฟ (Phototrophs) ได้แก่ สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

2) กลุ่มเคโมโทรฟ (Chemotrophs)

จุลินทรีย์กลุ่มเคโมโทรฟที่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้มีทั้งชนิด obligate anaerobe, facultative anaerobe และ aerobic ตัวอย่างเช่น obligate anaerobe จะผลิตไฮโดรเจนได้เฉพาะภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ได้แก่ *Clostridium* sp. ส่วน facultative anaerobe สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ภายใต้สภาวะมีและไม่มีออกซิเจน เช่น *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Escherichia coli* (Nandi and Sengupta, 1998) นอกจากนี้ ยังมีแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถตรึงไนโตรเจนอิสระ (non-symbiotic fixation bacteria) เช่น *Azotobacter* บางชนิด สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน

ในที่นี้จะกล่าวถึง *E.coli* ซึ่งเป็น Facultative anaerobic bacteria ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนเท่านั้น

เอสเชอริเชีย (*Escherichia*) (นงลักษณ์, 2544)

จีโนม *Escherichia* มีอยู่ 5 สปีชีส์ โดยมี *Escherichia coli* (*E.coli*) เป็นสปีชีส์หนึ่งในจีโนมนี้ จากการศึกษาด้านพันธุศาสตร์ โดยดูจากความสัมพันธ์ของ DNA-DNA recombination พบว่า *E.coli* และ *Shigella* เป็นสปีชีส์เดียวกัน อย่างไรก็ตาม ปฏิกริยาทางชีวเคมีของเชื้อทั้งสองมีความแตกต่างกันดังตารางที่ 2.2 *E.coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคได้ถ้าเชื้ออยู่นอกลำไส้ เช่น ในท่อปัสสาวะ ท่อน้ำดี ปอด เยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มสมอง และ ไขสันหลังในเด็กแรกเกิด เชื้อ *E.coli* บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์

ตารางที่ 2.2 ปฏิกริยาที่แตกต่างกันระหว่าง *Escherichia sp.* กับ *Shigella sp.** (นงลักษณ์, 2544)

การทดสอบ	<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>
Gas from glucose	+	-
Lactose fermentation	+	-
Motility	+	-
Lysine decarboxylase	+	-
Mucate utilization	+	-

Symbol: + = most strains positive;

- = most strains negative

ลักษณะของเชื้อ *E. coli*

E. coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนกกิ้งสาไ้ สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีราบเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหาร เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็คโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แล็คโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบปีตาฮีโมไลซิส เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญคือการทดสอบ IMVic ได้ คือสามารถใช้ทริปโทเฟนให้อินโดล และให้ผลบวกกับเมทิลเรดแต่ไม่สร้างอะซิติกเมทิลคาร์บินอล (acetyl methyl carbinol) และไม่ใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังมีไลซีนดีคาร์บอกซิเลส (lysine decarboxylase) และสามารถใช้อะซิเตต (acetate) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ปฏิกริยาทางชีวเคมีของ *Escherichia* สปีชีส์ต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.3 และความแตกต่างของ *E. coli* กับสปีชีส์อื่นๆ แสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 แสดงปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Escherichia* สปีชีส์ต่าง ๆ (นงลักษณ์, 2544)

สมบัติ	<i>E. blattae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. fergusonii</i>	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>
Motility	-	+	+	+	+
Christensen's citrate	V	+	+	V	-
Growth in KCN medium	-	-	-	+	-
Malonate fermentation	+	-	-	-	+
β -Galactosidase	-	+	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	V	V	-	+
Ornithine decarboxylase	+	V	+	+	-
Adonitol:acid production	-	-	+	-	-
Cellobiose:acid production	-	-	+	+	+
Dulcitol:acid production	-	V	-	+	-
Glycerol:acid production	+	+	-	-	-
Mannitol:acid production	-	+	+	+	+
Raffinose:acid production	-	V	-	-	+
Salicin:acid production	-	V	+	V	+
Sorbitol:acid production	-	+	-	-	-
Indole production	-	+	V	+	-

Symbol: V=some strains positive, others negative

+ = Most strains positive

- = Most strains negative

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 การทดสอบเบื้องต้นทางชีวเคมี เพื่อจำแนกสปีชีส์ต่าง ๆ ของแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี (นงลักษณ์, 2544)

Test or substrate	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> <i>typhi</i>	<i>Shigella</i> <i>dysenteriae</i>	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	<i>Enterobacter</i> <i>sakazakii</i>	<i>Serratia</i> <i>marcescens</i>	<i>Proteus</i> <i>mirabilis</i>	<i>Yersinia</i> <i>pestis</i>
D-adonitol	±	-	-	±	-	V	-	-
Voges Proskauer	-	-	-	±	+	±	μ	-
Citrate utilization	-	-	-	±	+	±	±	-
Arginine dihydrolase	μ	μ	μ	-	+	-	-	-
Motility	±	±	+	-	±	±	±	-
Indole production	+	-	V	-	±	μ	μ	-
H ₂ S (on TSI agar)	-	±	-	-	-	-	±	-
Urease production	-	-	-	±	-	+	±	+
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	V	-	±	-
Ornithine decarboxylase	V	-	-	-	±	+	+	-
Lysine decarboxylase	±	±	-	±	-	+	-	-
Sucrose	V	-	-	+	+	+	+	-
DNase	-	-	-	-	-	±	-	-
Gas from glucose	+	-	-	±	±	V	±	-

μ = over 90 percent of isolates are negative; ± = over 90 percent of isolates are positive; V = variable, that is, as many positive as negative isolates;

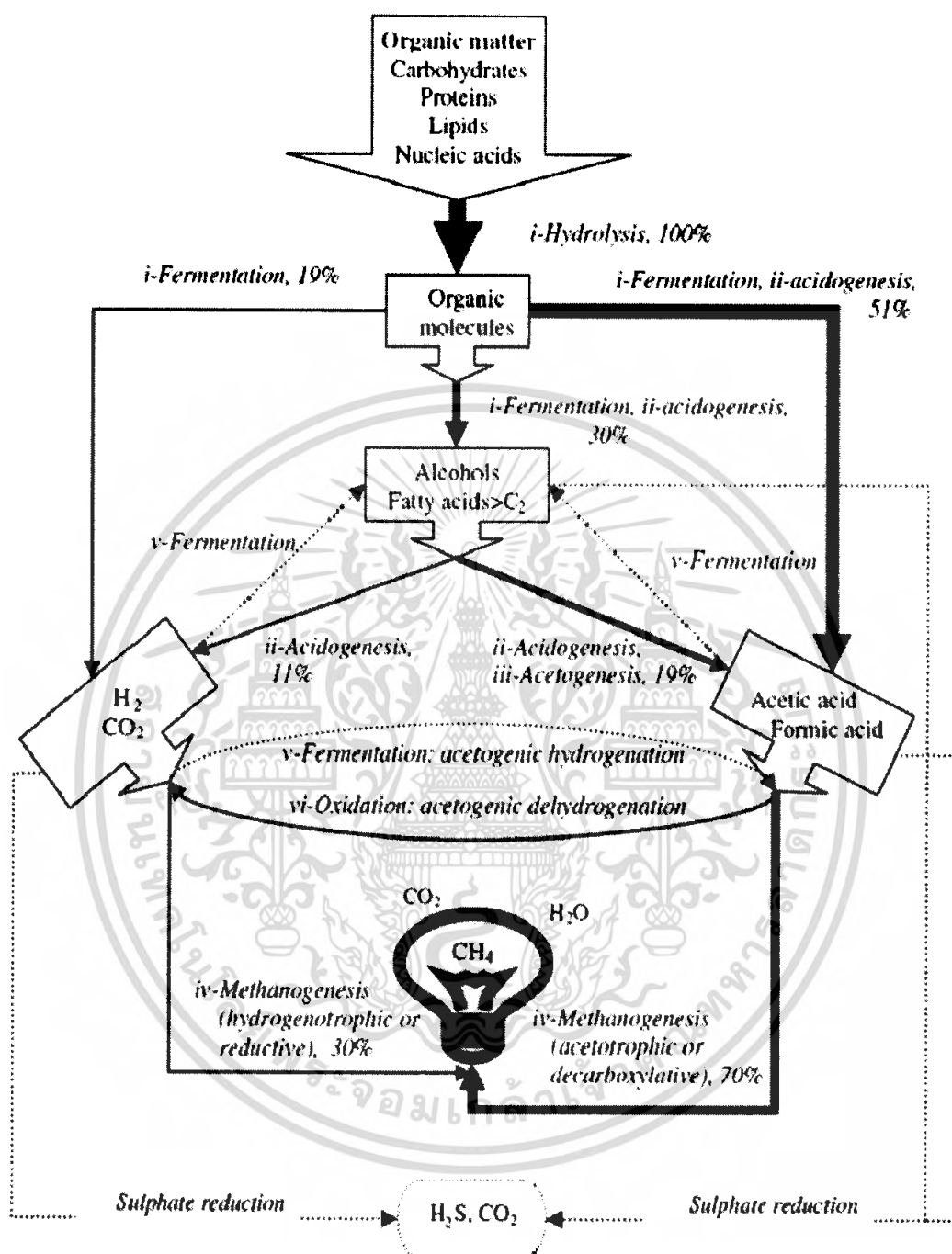
TSI = triple sugar iron agar

การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli*

ก๊าซไฮโดรเจนเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (มันสิน, 2542) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ Fermentative bacteria, H_2 - producing acetogenic bacteria และแบคทีเรียกลุ่ม H_2 - consuming acetogenic bacteria (homoacetogenic bacteria) รูปที่ 2.8 แสดงกระบวนการ hydrolysis, fermentation, acidogenesis และ acetogenesis ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน โดยมีปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกระบวนการ แสดงในตารางที่ 2.5

กระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เรียกอีกอย่างว่า กระบวนการแตกสลายโพลิเมอร์ (polymer breakdown) เกิดจากแบคทีเรียที่ผลิตกรด (acid production bacteria) ปล่อยเอนไซม์ (external enzyme) ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้มีขนาดเล็กลง เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน และกรดไขมัน ซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำ ทำให้สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ง่าย





รูปที่ 2.8 กระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนภายใต้สภาวะการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศ
(ดัดแปลงจาก Aiyuk *et al.*, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2.5 ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละกระบวนการย่อยสลายแบบไม่มีออกซิเจน (ดัดแปลงจาก Angenent *et al.*, 2004)

กระบวนการ	ปฏิกริยา
Hydrogen fermentation to acetic acid	$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2O \rightleftharpoons 4 H_2 + 2 CH_3COOH + 2 CO_2$
Hydrogen fermentation to butyric acid	$C_6H_{12}O_6 \rightleftharpoons 2 H_2 + CH_3CH_2CH_2COOH + 2 CO_2$
Fermentation to ethanol	$C_6H_{12}O_6 \rightleftharpoons 2 CH_3CH_2OH + 2 CO_2$
Propionic acid production with hydrogen	$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2 \rightleftharpoons 2 CH_3CH_2COOH + 2 H_2O$
Syntrophic propionic acid oxidation	$CH_3CH_2COOH + 2 H_2O \rightleftharpoons CH_3COOH + 3 H_2 + CO_2$
Syntrophic butyric acid oxidation	$CH_3CH_2CH_2COOH + 2 H_2O \rightleftharpoons 2 CH_3COOH + 2 H_2$
Ethanol production with hydrogen	$CH_3COOH + H_2 \rightleftharpoons CH_3CH_2OH + H_2O$
Syntrophic acetic acid oxidation	$CH_3COOH + 2 H_2O \rightleftharpoons 4 H_2 + 2 CO_2$

2.1.3 สารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

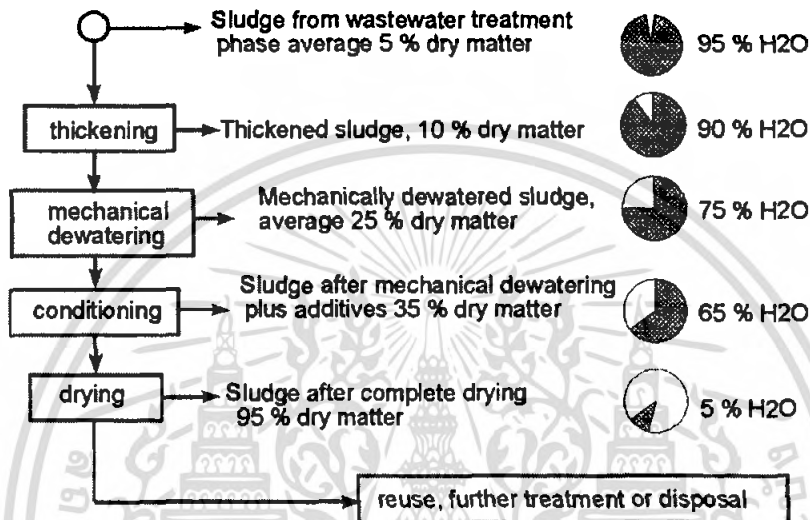
สารตั้งต้นที่นิยมใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ได้แก่ น้ำ สารประกอบไฮโดร คาร์บอนต่าง ๆ เช่น เชื้อเพลิงฟอสซิล ถ่านหิน ก๊าซธรรมชาติ ปิโตรเลียม ก๊าซชีวภาพ ตะกอนน้ำเสีย เป็นต้น

สลัดจ์จากโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน

สลัดจ์เป็นตะกอนชีวภาพที่ได้จากกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง (activated sludge) มีน้ำเป็นองค์ประกอบถึง 95 เปอร์เซ็นต์ (Okamoto *et al.*, 2000; Logan *et al.*, 2002) ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งมีการนำสลัดจ์กลับไปใช้ในระบบอีกครั้ง ส่วนที่เหลือจะถูกกำจัดโดยผ่านเครื่องรีดตะกอน มีการเติมสารเคมีป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็น และปรับเสถียร ฆ่าเชื้อโรค (ดังรูปที่ 2.10) ซึ่งกระบวนการบำบัดนี้ ต้องผ่านขั้นตอนมากมาย และใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น การนำสลัดจ์มาใช้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน นอกจากจะเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดสลัดจ์แล้ว ยังได้พลังงานมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เนื่องจากสลัดจ์ประกอบด้วยมีสารอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้



รูปที่ 2.9 กลไกการบำบัดสลัดจ์และปริมาณน้ำที่มีในสลัดจ์ในแต่ละขั้นตอน (Manzel, 1989)

องค์ประกอบในสลัดจ์

1) สารอินทรีย์ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เช่น เศษข้าว ก๋วยเตี๋ยว น้ำแกง เศษใบตอง พืชผัก ซึ้นเนื้อ เป็นต้น ซึ่งสามารถถูกย่อยสลายได้ โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน ทำให้ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen) ลดลง เกิดสภาพน้ำเน่าเหม็นได้ ปริมาณของสารอินทรีย์ในน้ำ นิยมวัดด้วยค่าบีโอดี (BOD) เมื่อค่าบีโอดีในน้ำสูง แสดงว่ามีสารอินทรีย์ปะปนอยู่มาก และสภาพน้ำเน่าเหม็นจะเกิดขึ้นได้ง่าย

2) สารอนินทรีย์ ได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ ที่อาจไม่ทำให้เกิดน้ำเน่าเหม็น แต่อาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ได้แก่ คลอไรด์, ซัลเฟต เป็นต้น

3) โลหะหนักและสารพิษ อาจอยู่ในรูปของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์และสามารถสะสมอยู่ในวงจรอาหาร เกิดเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เช่น พรอท โคเรียมม ทองแดง ปกติจะอยู่ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชที่ปนมากับน้ำทิ้งจากการเกษตร สำหรับในเขตชุมชนอาจมีสารมลพิษนี้มาจากอุตสาหกรรมในครัวเรือนบางประเภท เช่น ร้านชุบโลหะ อู่ซ่อมรถ และน้ำเสียจากโรงพยาบาล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) น้ำมันและสารลอยน้ำต่าง ๆ เป็นอุปสรรคต่อการสังเคราะห์แสง และกีดขวางการกระจายของออกซิเจนจากอากาศลงสู่น้ำ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสภาพไม่น่าดู

5) ของแข็ง เมื่อจมตัวสู่ก้นลำน้ำ ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจนที่ท้องน้ำ ทำให้แหล่งน้ำตื้นเขิน มีความขุ่นสูง มีผลกระทบต่อการค้ารังชีพของสัตว์น้ำ

6) สารก่อให้เกิดฟอง/สารซักฟอก ได้แก่ ผงซักฟอก สบู่ ฟองจะกีดกันการกระจายของออกซิเจนในอากาศสู่น้ำ และอาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ

7) จุลินทรีย์ น้ำเสียจากโรงฟอกหนัง โรงฆ่าสัตว์ หรือโรงงานอาหารกระป๋อง จะมีจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์เหล่านี้ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตสามารถลดระดับของออกซิเจนละลายน้ำ ทำให้เกิดสภาพเน่าเหม็น นอกจากนี้ จุลินทรีย์บางชนิดอาจเป็นเชื้อโรคที่เป็นอันตรายต่อประชาชน เช่น จุลินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงพยาบาล

8) ธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เมื่อมีปริมาณสูงจะทำให้เกิดการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วของสาหร่าย (Algae bloom) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้ระดับออกซิเจนในน้ำลดลงต่ำมากในช่วงกลางคืน อีกทั้งยังทำให้เกิดวัชพืชน้ำ ซึ่งเป็นปัญหาแก่การสัญจรทางน้ำ

9) กลิ่น เกิดจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน หรือกลิ่นอื่น ๆ จากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น โรงงานทำปลาป่น โรงฆ่าสัตว์ เป็นต้น

ตารางที่ 2.6 ลักษณะของสลัดจ์ (Eddy, 1991)

ลักษณะน้ำเสีย				
พารามิเตอร์	หน่วย	ความเข้มข้น		
		น้อย	ปานกลาง	มาก
1. ของแข็งทั้งหมด (Total Solids)	มก./ล.	350	720	1200
ของแข็งละลายน้ำ (Dissolved Solids)	มก./ล.	250	500	850
ของแข็งแขวนลอย (Suspended Solids)	มก./ล.	100	220	350
2. ปริมาณตะกอนหนัก (Settleable Solids)	มก./ล.	5	10	20
3. ค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand;BOD)	มก./ล.	110	220	400
4. ค่าซีโอดี (chemical Oxygen Demand;COD)	มก./ล.	250	500	1000
5. ไนโตรเจนทั้งหมด (Total as N)	มก./ล.	20	40	85
อินทรีย์ไนโตรเจน (Organic)	มก./ล.	8	15	35
แอมโมเนีย (Free ammonia)	มก./ล.	12	25	50
ไนไตรท์ (Nitrites)	มก./ล.	0	0	0
ไนเตรท (Nitrate)	มก./ล.	0	0	0
6. ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total as P)	มก./ล.	4	8	15
สารอินทรีย์ (Organic)	มก./ล.	1	3	5
สารอนินทรีย์ (Inorganic)	มก./ล.	3	5	10
7. คลอไรด์ (Chloride) ⁽¹⁾	มก./ล.	30	50	100
8. ซัลเฟต (Sulfate) ⁽¹⁾	มก./ล.	20	30	50
9. สภาพด่าง (Alkalinity as CaCO ₃)	มก./ล.	50	100	200
10. ไขมัน (Grease)	มก./ล.	50	100	150
11.Total Coliform	MPN/100ml	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸	10 ⁷ -10 ⁹

หมายเหตุ :⁽¹⁾ เป็นค่าที่เพิ่มจากค่าที่ตรวจพบในน้ำใช้ปกติ

ปริมาณน้ำเสีย ที่ปล่อยทิ้งจากบ้านเรือน อาคาร จะมีค่าประมาณร้อยละ 80 ของปริมาณน้ำใช้ หรืออาจประเมินได้จากจำนวนประชากรหรือพื้นที่อาคาร ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.7 อัตราการเกิดน้ำเสีย (สำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, 2538)

อัตราการเกิดน้ำเสียต่อคนต่อวัน						
ภาค	อัตราการเกิดน้ำเสีย (ลิตร/คน-วัน)					
	2536	2540	2545	2550	2555	2560
กลาง	160-214	165-242	170-288	176-342	183-406	189-482
เหนือ	183	200	225	252	282	316
ตะวันออกเฉียงเหนือ	200-253	216-263	239-277	264-291	291-306	318-322
ใต้	171	195	204	226	249	275

วิธีการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์

ปกติแล้วในสลัดจ์มีเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ถ้าทำการเติมหัวเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนลงไป จะมีการแข่งขันในการเจริญเติบโต จึงจำเป็นต้องมีการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ก่อนด้วยวิธีดังนี้

1) วิธีสเตอร์ไลส์

เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงคือ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดรวมทั้งสปอร์ แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือ เสียค่าใช้จ่ายสูง

2) การใช้สารเคมี

สารเคมีที่นิยมใช้มีดังนี้

- 1) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)
- 2) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite)
- 3) เปอร์อะซิติกแอซิด (Peracetic acid)

เนื่องจากสารดังกล่าวเป็นตัวออกซิไดส์ที่รุนแรง และยังมีงานวิจัยพบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ยังมีประสิทธิภาพการใช้งานที่ต่ำกว่าเปอร์อะซิติกแอซิด รวมทั้งโซเดียมไฮโปคลอไรท์ยังมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

นอกจากนี้ Peracetic acid สามารถออกซิไดส์ โปรตีนของเชื้อโรค หรือโปรตีนที่เกาะอยู่ในสิ่งที่ต้องการฆ่าเชื้อ ที่ pH ประมาณ 7.5-8.5 มีสภาพเป็นด่างอ่อนๆ และสิ้น ทำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนได้ง่าย ทำให้ไม่มีสารตกค้าง นอกจากนี้การสลายตัวของสารละลายสุดท้ายจะเป็นก๊าซออกซิเจน, น้ำ และกรดน้ำส้มอ่อนๆ จึงไม่มีพิษและไม่มีผลกระทบต่อผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อม

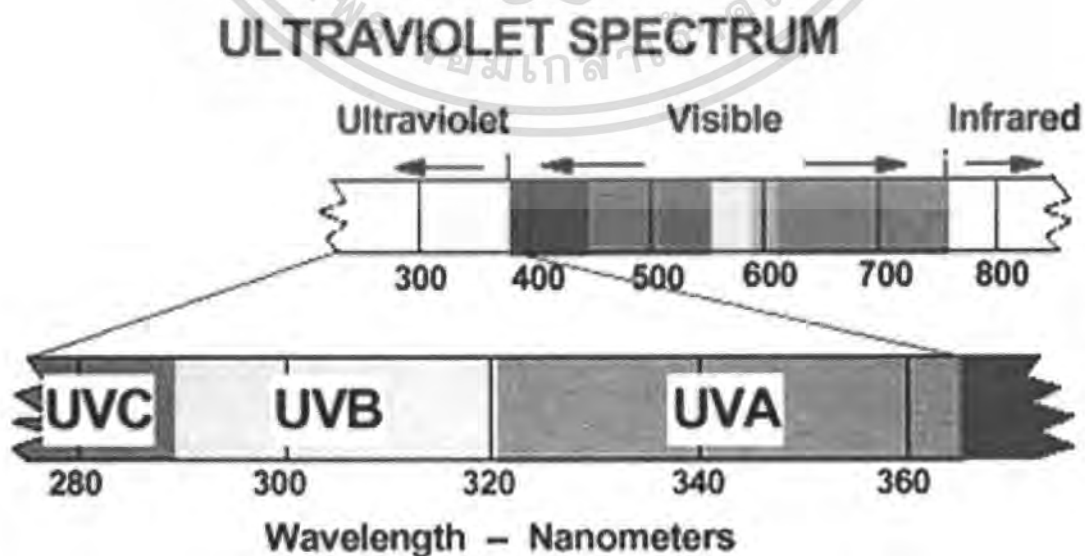
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต

อัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) หรือรังสีเหนือม่วง หรือที่นิยมเรียกชื่อแบบย่อว่า ยูวี (UV) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง ที่มีความถี่สูงเกินกว่าสายตามนุษย์จะมองเห็น เมื่อมีความถี่สูงจึงมีพลังงานสูง อำนวยในการทะลุทะลวงสูง โดยมีความถี่ช่วง $10^{15} - 10^{18}$ เฮิร์ตซ์ ยูวีมีความยาวคลื่นในช่วงประมาณ 380 นาโนเมตร - 60 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ระหว่างแสงที่มองเห็น กับรังสีเอ็กซ์ ส่วนใหญ่มาจากการแผ่รังสีของดวงอาทิตย์ ซึ่งทำให้เกิดประจุอิสระและไอออนในบรรยากาศชั้น ไอโอโนสเฟียร์ นักวิทยาศาสตร์จัดแบ่งรังสียูวีออกเป็นสเปกตรัมย่อยโดยอิงกับระดับพลังงานของรังสี ดังนี้ 380-200 nm คือ ยูวีใกล้ (Near UV: NUV), 200-10 nm ยูวีไกล (Far UV: FUV) และ 31-1 nm ยูวีไกลสุด (Extreme UV: EUV)

รังสีอัลตราไวโอเล็ต มีคุณสมบัติตามช่วงคลื่น มักแสดงในหน่วยนาโนเมตร (nanometer, $\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$) เพื่อที่จะอธิบายผลกระทบทางชีววิทยา สเปกตรัมรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Solar Ultraviolet Spectra) ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ (ดังรูปที่ 2.10)

- 1) ยูวีเอ (UVA) มีความยาวคลื่น 400–315 นาโนเมตร
ไม่ดูดกลืนโดยโอโซน แต่ส่วนมากไม่ทำลายสิ่งมีชีวิต
- 2) ยูวีบี (UVB) มีความยาวคลื่น 315–280 นาโนเมตร
ไม่ดูดกลืนโดยโอโซน แต่ส่วนมากไม่ทำลายสิ่งมีชีวิต
- 3) ยูวีซี (UVC) มีความยาวคลื่นน้อยกว่า 280 นาโนเมตร
ถูกดูดกลืนเกือบทั้งหมดโดย โอโซน และออกซิเจนในบรรยากาศ ทำลายสิ่งมีชีวิต



รูปที่ 2.10 สเปกตรัมรังสีอัลตราไวโอเล็ต (คัดลอกจาก <http://ozone.tmd.go.th/uvbasic.htm>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือใช้เพื่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รังสีอัลตราไวโอเล็ตสามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้อย่างกว้างขวาง เช่น ฆ่าเชื้อโรคในอุตสาหกรรมน้ำดื่ม หรือน้ำผลไม้โดยฉีดพ่นน้ำเหล่านั้นผ่านแหล่งกำเนิดรังสียูวีที่มีความเข้มสูงตามกำหนด เครื่องจับสัญญาณไฟไหม้เป็นหัววัดที่ไวต่อรังสียูวี ทำด้วยซิลิคอนคาร์ไบด์ หรือ อะลูมินัมไนไตรด์ หรือหลอดบรรจุก๊าซที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสียูวีบีได้ง่าย ยูวีบีจากบริเวณไฟไหม้จึงเป็นตัวเลือกให้เครื่องมือเตือนภัยชนิดนี้ทำงาน

รังสีอัลตราไวโอเล็ตมีอันตรายต่อผิวหนัง และตาคน รวมทั้งยังสามารถทำให้เชื้อโรคบางชนิดตายได้ ดังนั้น ความยาวคลื่นของรังสียิ่งสั้น จะยิ่งมีอันตรายมากขึ้น แต่ก็มีประโยชน์มากขึ้นในการฆ่าเชื้อ

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Chittibabu และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจน โดยการใช้แบคทีเรีย *Escherichia coli* BL-21 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยควบคุมอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 อุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ 3.12 โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคส ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

Kotay และ Das (2007) ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *Bacillus coagulans* IIT-BT S1 ที่คัดแยกเชื้อจากตะกอนน้ำเสีย ตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิ (28-40 องศาเซลเซียส), พีเอชเริ่มต้น (5.5-9.0), ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น (0.5-2.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร), ปริมาตร (2-20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร) และอายุของหัวเชื้อ (10-18 ชั่วโมง) และศึกษาชนิดของสารตั้งต้น (กลูโคส, มอลโตส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส, แป้ง, แมนโนส และกลีเซอรอล) โดยทดลองในถังหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ก๊าซที่ออกจากถังหมักจะผ่านถึงที่สารละลาย KOH 40 เปอร์เซ็นต์ เพื่อดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังสมการที่ (2.12) และ (2.13) และวัดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นด้วยวิธีการแทนที่น้ำ



จากผลการทดลอง พบว่า ที่สภาวะที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นของกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร, พีเอช 6.5, อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, อายุของหัวเชื้อ 14 ชั่วโมง, ปริมาตรของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้สูงสุด คือ 2.28

โมลไฮโดรเจนต่อโมลกลูโคส และเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถใช้ มอลโตส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส, แป้ง, แมนโนส และกลีเซอรอล เป็นแหล่งอาหารในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้

Koivunen และ Heinonen-Tanski (2005) ศึกษาการหยุดยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ด้วย ยูวี (UV) และสารเคมีร่วมกับยูวี ความสัมพันธ์ของประสิทธิภาพการกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ใช้กำจัด *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis* และ Coliphage MS2 virus เป็นการศึกษาทดลองในห้องทดลอง การศึกษานี้ได้ถูกประเมินประสิทธิภาพในการใช้เปอร์อะซิติกแอซิดร่วมกับยูวี และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับยูวี ในการบำบัด โดยใช้จุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงเดิมลงไปในน้ำเสียสังเคราะห์และบำบัดโดยใช้สารเคมี, ยูวี (UV) หรือสารเคมีร่วมกับยูวี ต้องใช้เวลาสัมผัสนาน 10 นาที ส่วนเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ต้องใช้ปริมาณ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะลดประมาณ 3-2 log ของแบคทีเรีย ขณะที่ใช้ปริมาณ 15-7 มิลลิกรัมต่อลิตร จะลดได้ 1.5-1 log ของ Coliphage MS2 ถ้าใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาณ 150-3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะลดจุลินทรีย์ต่ำกว่า 0.2 log และถ้าใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีปริมาณคลอรีน 18 มิลลิกรัมต่อลิตรจะลดจุลินทรีย์ได้ 1-0.3 log ขณะที่เมื่อได้รับปริมาณคลอรีน 12 มิลลิกรัมต่อลิตรจะลด *E. faecalis* ได้ 2.6 log จากผลการทดลองบ่งชี้ว่า การใช้เปอร์อะซิติกแอซิด เป็นทางเลือกที่ดีกว่าสารประกอบคลอรีนเมื่อใช้ในการกำจัด โดยเฉพาะในน้ำเสียที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ที่สามารถออกซิไดส์ได้ง่าย ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์นั้นไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดจุลินทรีย์ ในการใช้เปอร์อะซิติกแอซิดร่วมกับยูวี กำจัดเชื้อจุลินทรีย์แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดเพิ่มขึ้น จากข้อแนะนำนี้ทำให้สามารถนำวิธีการทดลองไปพัฒนาประสิทธิภาพและความสามารถในการกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจากโรงงาน การกำจัดโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร่วมกับยูวี จะกำจัดจุลินทรีย์ได้เล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ การบำบัดด้วยยูวี

Nebot Sanz และคณะ (2007) ศึกษาการเพิ่มรังสียูวีในการบำบัดน้ำเสีย ตัวอย่างของน้ำที่ออกจากการบำบัดขั้นที่สองโดยไม่ผ่านการกรองใช้รังสียูวีในระดับที่ 200-500 (7 mWs/cm^2) จากหลอดไฟความดันต่ำ 6 ดวง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 240 นาที

ได้อธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดการกระตุ้นของแสงกับยูวีซีที่จุลินทรีย์ได้รับ ข้อมูลได้ของการกระตุ้นของแสงมาจากการทดลองซึ่งประเมินได้จากค่าพารามิเตอร์ทางคณิตศาสตร์ คือ S_m และ k_2 การทดลองจะทำในความมืด กระตุ้นเพียงเล็กน้อย น้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการสลายตัวที่ลดลง แบบจำลองนี้ในระยะสุดท้ายเป็นปฏิกิริยาทางคณิตศาสตร์อันดับที่ศูนย์ ค่าของ S_m และ k_2 ในการเกิดการกระตุ้นของแสง และความมืด ซึ่งแสดงถึงศักยภาพที่ขึ้นอยู่กับปริมาณของยูวีซี โดยสามารถทำนายปริมาณจากกราฟปฏิกิริยาการกระตุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gehr และคณะ (2003) การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานในเมือง Montreal โดยใช้กระบวนการทางกายภาพและเคมี โดยใช้ เปอร์อะซิดิกแอซิด ยูวี โอโซน ในการยับยั้ง Organisms fecal Coliforms, *Enterococci*, MS-2 Coliphage หรือ *Clostridium perfringens* ในน้ำเสียที่ปล่อยจากโรงงาน จากการทดลองพบว่าเปอร์อะซิดิกแอซิด ใช้ในการยับยั้ง Fecal Coliform ระดับ 9,000 CFU /1,000 ml ปริมาณมากกว่า 6 mg/l ซึ่งให้ผลเหมือนกับ *Enterococci* และไม่ยับยั้ง *Clostridium* จากการสังเกตที่ -1log reduction ของ MS-2 ใช้เปอร์อะซิดิกแอซิด ปริมาณ 1.5 mg/l และมากกว่า ซึ่งถูกนำมาใช้在水เสียที่ปล่อยออกมาเพราะมีความต้องการ โอโซนที่สูงและความต้องการ UV fluences ค่อนข้างสูง เพราะว่าน้ำที่ปล่อยออกมามีค่า COD ฟอสฟอรัส ความเข้มข้นของแข็งแขวนลอยสูง และ UV transmittance ที่ต่ำซึ่งสามารถยับยั้งได้ สำหรับยูวี UV กราฟการยับยั้งของ Fecal Coliform แสดงให้เห็นว่า two-stage shape ที่ 1000 CFU/ 100 ml เกิดขึ้นใน Asymptote zone ที่ fluences มากกว่า 20 mJ/cm₂ ในทางตรงกันข้ามกราฟของการยับยั้งของ MS-2 or *Clostridium perfringens* เส้นของ *Clostridium perfringens* ต่อด้านมากกว่า Fecal Coliform

Zhu และ Beland (2006) การประเมินทางเลือกที่ใช้ในการเตรียมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากสลัดจ์น้ำเสียที่ผ่านการย่อยสลัดจ์ที่ผ่านการย่อยหรือบำบัดขั้นต้น โดยวิธีที่แตกต่างกัน การทำให้ร้อนด้วยไฟฟ้า การให้อากาศ การบำบัดด้วยกรดหรือเบส การใช้ 2-bromoethanesulfonic acid (BESA) และ ไอโอโดโพรเพน (iodopropane) เป็นตัวยับยั้ง โดยนำตัวอย่างที่ไม่ได้บำบัดมาหาวิธีที่เหมาะสมในการใช้เตรียมการผลิตก๊าซไฮโดรเจนโดยใช้จุลินทรีย์เป็นอาหาร การทำให้ร้อนด้วยไฟฟ้าและการบำบัดด้วยกรดเป็นการยับยั้งการทำงานของกลุ่มเมทาโนจิติก (methanogenic) อย่างสมบูรณ์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนบางส่วน การบำบัดด้วยเบสจะไม่สามารถยับยั้งกลุ่มเมทาโนจิติก (methanogenic) ได้สมบูรณ์ และยังมีผลกระทบต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจน การใช้ BESA และ iodopropane ในการบำบัดเบื้องต้นจะยับยั้งเฉพาะเมทาโนเจน (methanogens) และไม่พบผลกระทบต่อการผลิตก๊าซไฮโดรเจนคล้ายกับการบำบัดขั้นต้นด้วยการเติมอากาศ สลัดจ์ที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดจะพบว่ามีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงแต่ยังพบการทำงานของกลุ่มเมทาโนจิติกเล็กน้อย (ต่ำกว่าในกาบำบัดด้วยเบส) หลังจากนั้นทำการบำบัดขั้นที่ 2 โดยใช้จุลินทรีย์เป็นอาหาร พบว่าไม่พบการทำงานของกลุ่มเมทาโนจิติก เมื่อใส่จุลินทรีย์ที่เตรียมจากสลัดจ์ที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของการทำงานของกลุ่มที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน เมื่อวัดพีเอชในขั้นสุดท้ายพบว่าค่าพีเอชต่ำทุกขวดทดลองจึงมีการทดสอบที่ค่าพีเอชต่างๆสรุปได้ว่าพีเอชเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการควบคุมกลุ่มเมทาโนจิติก

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ - เทอร์มอล คอนดักติวิตีเทคเตอร์ (GC-TCD) รุ่น CP-3800 ของบริษัท Varian Analytical Instruments, ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ-แมสสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (GC-MSD) รุ่น 6830 N ของบริษัท Agilent Technology, ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น UV 1601 ของบริษัท Shimadzu, ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) รุ่น Memmert ของบริษัท United Instrument, ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น B-3100S ของบริษัท Sartorius, ประเทศเยอรมัน
6. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น 2842 ของบริษัท Sartorius, ประเทศเยอรมัน
7. ตู้อบ รุ่น Isotemp ของบริษัท Fisher Scientific, ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น Tomy SS 325 ของบริษัท Tomy-seiko, ประเทศญี่ปุ่น
9. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น Plus II ของบริษัท Gallenkamp, ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น HS123 ของบริษัท International Scientific Supply, ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. อ่างควบคุมอุณหภูมิ Memmert รุ่น Schutzart DIN 40050-IP20 ของบริษัท Schwabach W-Germany, ประเทศเยอรมัน
12. ขวด Duran ขนาด 1 ลิตร
13. สายยาง Tygon
14. ลูกแก้ววางปิดปากหลอดทดลองเพื่อป้องกันการระเหยและการระเบิด
15. เครื่องแก้วอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารเคมี

1. สลัดจ์จากโรงบำบัดน้ำเสียชุมชนของโรงควบคุมคุณภาพน้ำดินแดง กรุงเทพฯ ฯ
2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4 acid, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
3. กรดไฮโดรคลอริก (HCl, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
4. กรดฟอสฟอริกเข้มข้น (conc. H_3PO_4 , AR grade) บริษัท Merck, ประเทศเยอรมัน
5. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
6. โซเดียมโซโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
7. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 , AR grade) บริษัท Nacalai Tesque, ประเทศญี่ปุ่น
8. โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$, AR grade) บริษัท Nacalai Tesque, ประเทศญี่ปุ่น
9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
10. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
11. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
12. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4 , AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
13. ไดโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4 , AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
14. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4 , AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
15. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
16. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
17. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
18. แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl , AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
19. เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
20. เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($(Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O)$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
21. เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
22. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4 , AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
23. 1,10-ฟีแนนโทรีนโมโนไฮเดรต ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี
24. เมอร์คิวริกซัลเฟต ($HgSO_4$, AR grade) บริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

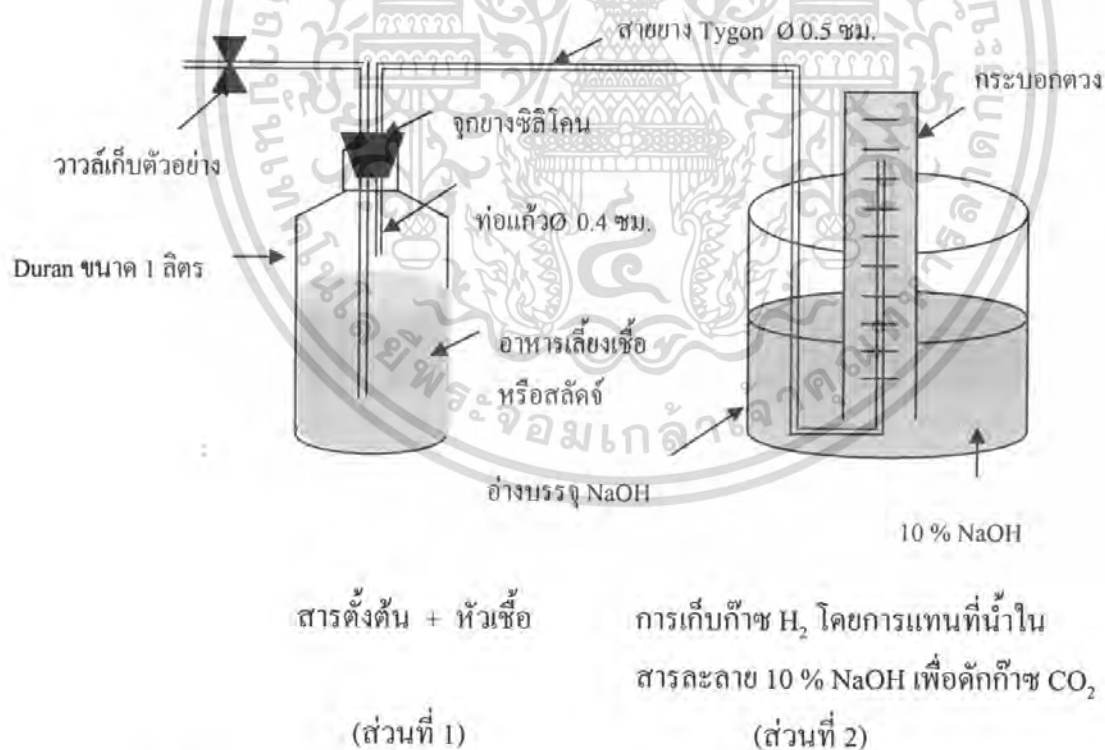
25. อาหารสำเร็จรูป Reinforced Clostridial Media (RCM, AR grade) บริษัท Merck, ประเทศเยอรมัน
26. อาหารสำเร็จรูป Reinforced Clostridium Agar (RCA, AR grade) บริษัท Merck, ประเทศเยอรมัน
27. ู้น (AR grade) บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย
28. บีสต์แอกเทค บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย
29. เปปโตน บริษัท Himedia, ประเทศอินเดีย

3.1.3 ถังหมักก๊าซไฮโดรเจน

1) ส่วนประกอบของชุดถังหมัก

ถังหมักที่ใช้ในศึกษาเป็นถังหมักในระดับห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย 2 ส่วน (ดังรูปที่

3.1)



รูปที่ 3.1 ถังหมักก๊าซไฮโดรเจนและอุปกรณ์ในการเก็บก๊าซไฮโดรเจน โดยวิธีแทนที่น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่1 ถังหมัก

ใช้ขวด Duran ขนาด 1 ลิตร ด้านบนปิดด้วยจุกยางซิลิโคนที่เจาะรู 2 รู เพื่อใส่ท่อนำก๊าซ โดยท่อที่หนึ่งจะจุ่มลงไปในสารละลายเพื่อใช้ในการไล่ก๊าซออกซิเจนออกจากระบบ โดยพ่นก๊าซในโตรเจนลงไปในถังหมักเพื่อให้ภายในถังหมักเป็นระบบไร้อากาศ ส่วนท่อที่สองอยู่เหนือสารละลาย ใช้เป็นท่อนำก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น

ส่วนที่ 2 อุปกรณ์การเก็บก๊าซไฮโดรเจน

ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นถูกเก็บด้วยวิธีการแทนที่น้ำ โดยใช้กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลาย 10 % NaOH โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บรรจุอยู่เต็มกว่าในอ่างน้ำที่บรรจุสารละลาย 10% NaOH โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อดักจับกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากระบวนการหมัก โดยมีท่อนำก๊าซที่ต่อกับสายยาง Tygon ต่อเข้าด้านล่างของกระบอกตวง (รูปที่ 3.1) วัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นโดยอ่านจากสเกลของกระบอกตวง ปรับเป็นค่าปริมาตรที่แท้จริงโดยใช้ปริมาตรที่อ่านได้ลบค่า 0.02 มิลลิลิตร

2) การทดสอบระบบถังหมัก

1. ทดสอบรอยรั่วของถังหมัก โดยการผ่านก๊าซไนโตรเจนเข้าสู่ระบบ สังเกตรอยรั่วทุกด้าน โดยหยดน้ำสบู่ลงตรงที่มีรอยต่อ เพื่อตรวจสอบการรั่ว ถ้าพบว่ามีรอยรั่วทำการปิดรอยรั่วด้วยดินน้ำมัน

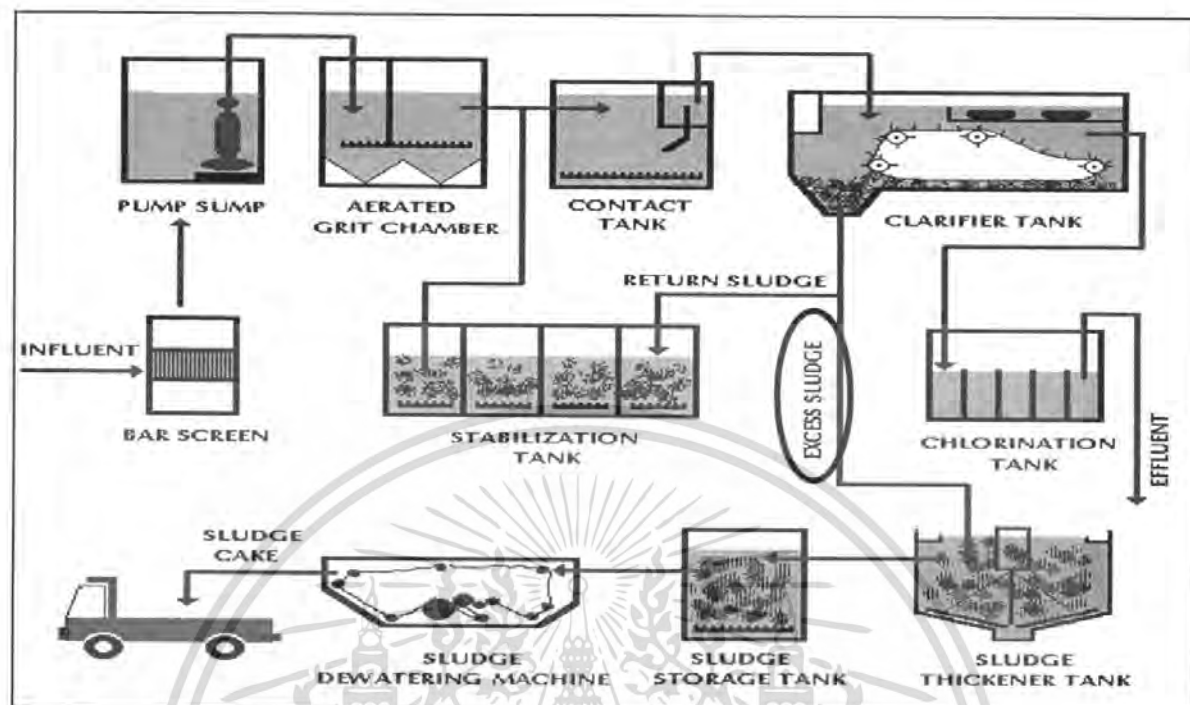
2. ทดสอบการเก็บก๊าซ โดยเติมก๊าซไนโตรเจนเข้าสู่ถังหมัก สังเกตก๊าซไนโตรเจนที่ไปแทนที่น้ำในกระบอกตวง

3.1.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน

การทดลองนี้ใช้เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชนของโรงควบคุมคุณภาพน้ำดินแดง กรุงเทพฯ ที่คัดแยกโดยวารุณี บัวลา (2551) การผลิตไบโอไฮโดรเจนจากแบคทีเรียที่แยกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางชีวภาพ

3.1.5 สลัดจ์ตัวอย่าง

สลัดจ์ที่ใช้ในการทดลองได้จากโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน ของโรงควบคุมคุณภาพน้ำดินแดง กรุงเทพฯ เก็บตัวอย่างในวันที่ 15 มกราคม พ.ศ. 2551 เป็นสลัดจ์จากระบบ Activated sludge ที่ผ่านการตกตะกอนในถังตกตะกอนด้วยวิธีการบำบัดทางชีวภาพและสารเคมี ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แผนผังกระบวนการเกิดสลัดจ์ของโรงควบคุมคุณภาพน้ำ

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองนี้ แบ่งออกเป็น 2 ตอน คือ ตอนที่ 1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของค่า Soluble chemical oxygen demand (SCOD) ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน ที่พีเอช 6.0, ความเข้มข้นของหัวเชื้อ *E. coli* ที่เดิม เท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรอาหาร, ความเข้มข้นเริ่มต้นของสลัดจ์ที่ Mixed liquor suspended solids (MLSS) เท่ากับ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสภาวะดังกล่าวได้จากผลการศึกษาของวารุณี บัวลา.2551.การผลิตไบโอไฮโดรเจนจากแบคทีเรียที่แยกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางชีวภาพ และตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดร่วมกับยูวีซี โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

3.2.1. การเตรียมหัวเชื้อ *E. coli*

นำหัวเชื้อ *E. coli* มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm (OD_{600}) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.8 โดยใช้อาหาร Reinforced Clostridial Media (RCM) ในการปรับความเข้มข้นของหัวเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.2.1 วิธีการเตรียมอาหารเหลว Reinforced Clostridium Medium RCM

- 1) ละลายอาหารสำเร็จ Reinforced Clostridium Medium (RCM) ในน้ำกลั่นอัตราส่วน 33 กรัมต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ประมาณ 500 มิลลิลิตร
- 2) นำไปเข้า Microwave เพื่อให้ RCM ละลาย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนได้ปริมาตรประมาณ 950 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับพีเอช ด้วย 2 N NaOH หรือ 2 N HCl จนได้พีเอช ประมาณ 6.8 ± 0.2 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร

3.2.2.2 วิธีการเตรียมอาหารแข็ง Reinforced Clostridium Agar (RCA) จากอาหารเหลว RCM

- 1) แบ่งอาหารเหลวในข้อ 3.2.2.1 ใส่ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 333 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด แล้วเติม Agar ขวดละ 5 กรัม (15 กรัมต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร)
- 2) นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 3) นำออกจากหม้อนึ่งอบไอน้ำ ปล่อยให้เย็นจนสามารถจับได้ แล้วเทใส่ในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนเย็นเพื่อให้วุ้นแข็งตัวดี
- 4) คว่ำจานอาหารเพาะเชื้อ ใส่ถุงแล้วติดฉลาก (ระบุชื่ออาหาร และวันที่เตรียมอาหาร) นำไปแช่ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บไว้ใช้ต่อไป

3.2.3 การเตรียมสลัดจ์

เตรียมสลัดจ์ที่ค่า MLSS เท่ากับ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กรณีที่มีค่า MLSS มากเกินไป ให้เจือจางโดยนำส่วนใสของสลัดจ์ที่ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจากขวดอื่น จากนั้นเขย่าให้ผสมกันแล้วนำมาหาค่า MLSS ในกรณีที่มีค่า MLSS น้อยเกินไป ให้ตั้งสลัดจ์ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน แล้วเทส่วนใสทิ้งไปบางส่วน จากนั้นเขย่าให้ผสมก่อนนำไปหาค่า MLSS อีกครั้ง การหาค่า MLSS ใช้วิธีการตกตะกอนโดยวิธี Standard Methods of Water and Wastewater Analysis (1998) (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก 1)

3.2.4 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM

- 1) ใส่อาหาร RCM 630 มิลลิลิตร ในขวดหมักขนาด 1,000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 2) นำหัวเชื้อที่เตรียมในข้อ 3.2.1 ถ่ายลงในขวดหมักในข้อ 1 ให้มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตรของอาหาร (Kotay และ Das, 2007; Wang และคณะ, 2003) เขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เข้ากัน คุณอาหารออกมาขวดละ 10 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นโดยวิธีวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และวิธีการนับจำนวนเซลล์โดยการ spread plate (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก2), ปริมาณน้ำตาล Somogyi Nelson's method (Nelson, 1940) (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก3) และวัดพีเอชในอาหาร

3) เตรียมสารละลาย NaOH 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 800 มิลลิลิตร กว่ากระบอกดวงที่บรรจุสาร NaOH ไว้เต็มในอ่างน้ำที่บรรจุ NaOH ที่เตรียม

4) จากนั้นต่ออุปกรณ์ดังแสดงในรูปที่ 3.1 แต่ยังไม่ต่อส่วนที่ 2 แล้วทำการพ่นก๊าซไนโตรเจน เป็นเวลา 5 นาที เพื่อไล่ออกซิเจนออกจากขวดหมัก

5) ต่อสายยาง Tygon เข้ากับกระบอกดวงที่บรรจุสารละลาย NaOH ที่เตรียมในข้อ 3 (ส่วนที่ 2) ดังรูปที่ 3.1 โดยสารละลาย NaOH ทำหน้าที่ดักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก ส่วนตัวอย่างก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บในกระบอกดวงโดยวิธีแทนที่น้ำ

6) บันทึกปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นทุกชั่วโมง จนมีปริมาตรก๊าซคงที่

7) เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์หาอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยวิธีการนับจำนวนเซลล์ วัดค่าพีเอช และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคส

8) เก็บตัวอย่างก๊าซเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซที่ผลิตขึ้นด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ-เทอร์มอลคอนดักติวิตีเทคเตอร์ (GC-TCD) โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 3.1

9) ชุดควบคุม (control) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-8 แต่ไม่ใส่เชื้อ *E. coli*

10) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-9 อีก 2 ชุด

ตารางที่ 3.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ห้องค้ำประกอบของก๊าซด้วยเครื่อง Gas Chromatograph - Thermal conductivity Detector (GC-TCD)

พารามิเตอร์	สภาวะในการเดินระบบ
Gas Chromatograph	Varian model GC-CP 3800
Detector	Thermal Conductivity Detector (TCD)
Column	Plot Fused Silica coating Molecular sieve 5A, 10 m x 0.53 mm i.d. x 50 μ m (film thickness) column (fused-silica capillary column) (Varian, USA)
Temperature program	Injector temperature : 100 $^{\circ}$ C Oven temperature : 50 $^{\circ}$ C (initial temperature), holding at 50 $^{\circ}$ C for 5 min, to 100 $^{\circ}$ C at 4 $^{\circ}$ C/min, holding at 100 for 2 min Detector temperature : 150 $^{\circ}$ C
He carrier gas	Flow rate 5 ml/min (99.999 % purity)

3.2.5 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของค่า SCOD ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน

- เตรียมสลัดจ์ให้มีค่า MLSS เริ่มต้นเท่ากับ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ได้จากข้อ 3.2.3 จำนวน 750 มิลลิลิตรใส่ในขวด Duran ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- ปรับค่าพีเอช ด้วย 2 N NaOH และ 2 N HCl ให้ได้พีเอช 6.0 ± 0.1 และควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
- นำสลัดจ์ไปกำจัดจุลินทรีย์โดยวิธีสเตอไลส์ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- วิเคราะห์หาพารามิเตอร์ในสลัดจ์ก่อนนำมาหมัก พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ ปริมาตรก๊าซสะสมที่เกิดขึ้นและ SCOD ในสลัดจ์ ดังแสดงในตารางที่ 3.2
- นำหัวเชื้อ *E. coli* ที่ได้จากข้อ 3.2.1. จำนวน 10 เพลอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เติมลงในสลัดจ์ที่เตรียมในข้อ 1
- ประกอบถังหมักดังรูปที่ 3.1 โดยหุ้มขวด Duran ด้วยกระดาษฟลอยด์เพื่อป้องกันแสงจากนั้นพ่นก๊าซไนโตรเจนผ่านเข้าทางหลอดแก้ว เป็นเวลา 5 นาที ก่อนหมักเพื่อไล่ก๊าซออกซิเจน

7) วิเคราะห์หาพารามิเตอร์ระหว่างการหมักทุก 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 ชั่วโมงและหลังการหมัก โดยพารามิเตอร์ที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น และ SCOD ในสลัดจ์ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

8) ชุดควบคุมทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-8 แต่ไม่เติมหัวเชื้อ *E. coli*

9) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-9 อีก 2 ชุด

ตารางที่ 3.2 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์	ความถี่
MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids)	วิธีการตกตะกอน (APHA, 1998)	ก่อนการหมัก
COD (Chemical Oxygen Demand)	วิธี Closed Reflux Titrimetric Method (APHA, 1998)	ทุก 3 ชั่วโมง
ก๊าซไฮโดรเจน	GC-TCD	ทุก 3 ชั่วโมง
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	Somogyi Nelson's Method (Nelson, 1940)	ทุก 3 ชั่วโมง

3.2.6 ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนโดยใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA), ยูวี (UV) และการใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ร่วมกับยูวี (UV)

3.2.6.1. การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซี (UV-C)

- นำสลัดจ์ 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- นำสลัดจ์จากข้อ 1 ใส่ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) ที่ให้แสงยูวีซี ความเข้มแสง 30 วัตต์ โดยจะต้องอุ่นเครื่องก่อนนำบีกเกอร์เข้าตู้ เป็นเวลา 15 นาที เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow)
- กวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 800 รอบต่อนาที
- บันทึกระยะห่างระหว่างบีกเกอร์กับหลอดยูวีซีและความสูงของสลัดจ์ในบีกเกอร์
- เปิดเครื่องให้แสงยูวีซีผ่านสลัดจ์ เป็นเวลา 30 นาที
- นำไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์หลังการบำบัดในสลัดจ์ โดยวิธี Spread plate (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก2)
- ทำชุดควบคุมเช่นเดียวกับข้อ 1-6 แต่ไม่บำบัดโดยใช้ยูวีซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 8) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-7 อีก 2 ซ้ำ
- 9) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-8 แต่เปลี่ยนระยะเวลาการให้แสงยูวีเป็น 15, 45, 60 นาที

3.2.6.2. การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA)

- 1) เตรียมเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) โดยใช้กรดอะซิติกเข้มข้นมาผสมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นในอัตราส่วน 1.5 ต่อ 1 และใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1.7 มิลลิลิตร เป็นตัวเร่งปฏิกิริยากวนด้วยเครื่องMagnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง
- 2) นำสลัดจ์ 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 3) เติมเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่เตรียมได้จากข้อ 1 ลงไปประมาณ 0.5 % โดยปริมาตร
- 4) กวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
- 5) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์หลังการบำบัดในสลัดจ์โดยวิธีการ Spread plate (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก2)
- 6) ทำชุดควบคุม โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2-5 แต่ไม่เติมเปอร์อะซิติกแอซิด
- 7) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2-6 อีก 2 ซ้ำ
- 8) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2-7 แต่เปลี่ยนปริมาณเปอร์อะซิติกแอซิดที่เติมลงไปเป็น 1.0% และ 1.5% โดยปริมาตร

3.2.6.3. การกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA)

- 1) นำสลัดจ์ 250 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- 2) เติมเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ลงในบีกเกอร์ซึ่งเป็นสถานะที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.6.2. กวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
- 3) นำบีกเกอร์เข้าไปไว้ในเครื่องให้แสงยูวีซีที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ เป็นเวลาที่ได้จากการทดลองข้อ 3.2.6.1 และกวนด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 800 รอบต่อนาที
- 4) บันทึกระยะห่างระหว่างบีกเกอร์กับหลอดยูวีซีและความสูงของสลัดจ์ในบีกเกอร์
- 5) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์หลังการบำบัดในสลัดจ์โดยวิธี Spread plate (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก)
- 6) ชุดควบคุมทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-5 แต่ไม่มีการกำจัดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 7) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-6 อีก 2 ซ้ำ
- 8) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนระยะเวลาในการให้แสงยูวีเป็น 5, 10, 15 นาที
- 9) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์หลังการบำบัดในสลัดจ์โดยวิธี Spread plate (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก2)
- 10) ทดสอบการผลิตก๊าซโดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร Luria-Bertani Medium (LB Medium) ที่บรรจุอยู่ในหลอดทดลองที่มีหลอดดักก๊าซบรรจุอยู่ (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก2)

3.2.6.4. การผลิตก๊าซไฮโดรเจนของ *E. coli* ในสลัดจ์ที่กำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ยูวีซีร่วมกับ เปอร์อะซิติกแอซิด

- 1) เตรียมสลัดจ์ให้มีค่า MLSS เริ่มต้นเท่ากับ 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ได้จากข้อ 3.2.3 จำนวน 750 มิลลิตรใส่ในขวด Duran ขนาด 1,000 มิลลิตร
- 2) กำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยเติมเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้นที่ได้จากการทดลอง 3.2.6.3. และให้แสงยูวีซีที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ ในระยะเวลาที่ได้จากการทดลอง 3.2.6.3. เติมน้ำเฟอรัสที่เตรียมจากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 12.10445 กรัมและไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 1.57085 กรัมต่อน้ำส่วนใสของสลัดจ์ 1 ลิตร เพื่อควบคุมพีเอชเท่ากับ 6.0 ± 0.1
- 3) ปรับค่าพีเอช ด้วย 2 N NaOH และ 2 N HCl ให้ได้พีเอช 6.0 ± 0.1 และควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
- 4) เติมหิวเชื้อ *E. coli* ที่ได้จากข้อ 3.2.1. จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ลงในสลัดจ์
- 5) ปิดจุกยางที่ปากขวด Duran ผ่านก๊าซไนโตรเจนในสลัดจ์เป็นเวลา 5 นาที
- 6) ประกอบชุดหมักดังรูปที่ 3.1 และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส
- 7) ชุดควบคุมทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-6 แต่ไม่ต้องกำจัดเชื้อจุลินทรีย์
- 8) วัดปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนทุกๆ ชั่วโมง และ SCOD ในสลัดจ์ ทุก 3 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตโดย *E. coli* ในสลัดจ์ที่กำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีสเตอร์ไลส์

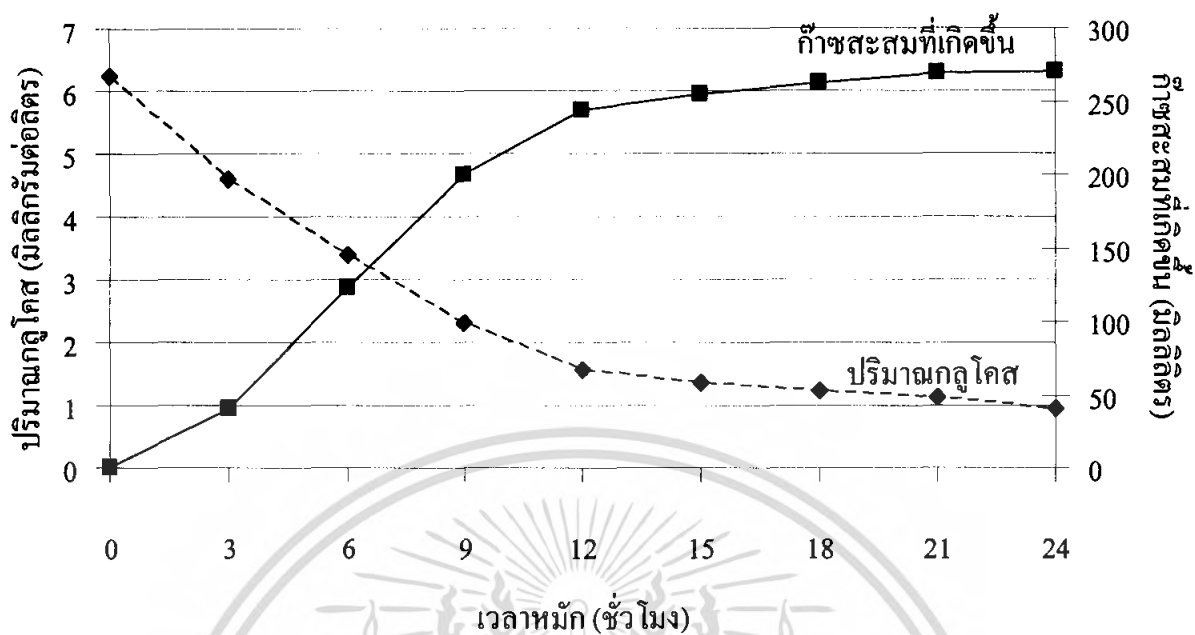
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

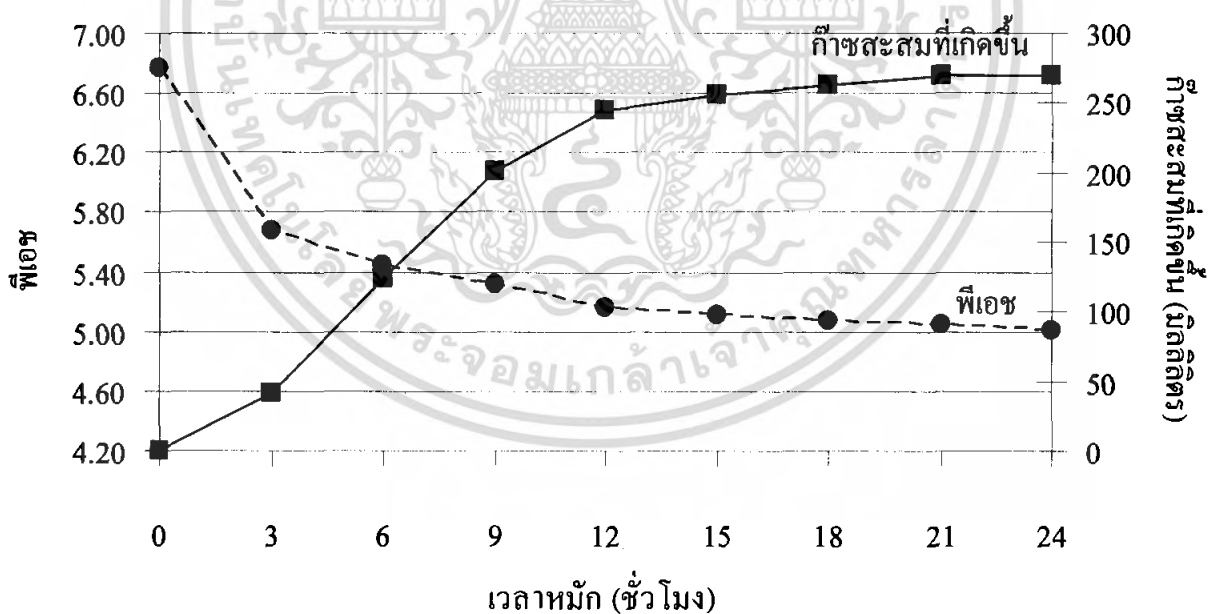
4.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM

จากรูปที่ 4.1 พบว่าปริมาณกลูโคสในถังหมักที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RCM มีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาตรไฮโดรเจนสะสมมีค่าเพิ่มสูงขึ้น จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ปริมาณของกลูโคสเริ่มจะคงที่ นั่นคือในระยะนี้กลูโคสจะถูกใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และผลิตก๊าซไฮโดรเจน ดังสมการที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงของ pH ดังรูปที่ 4.2 จากผลการทดลองพบว่า pH ในถังหมักจะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากในระหว่างกระบวนการผลิตไฮโดรเจนนั้น กลูโคสจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่ กรดบิวทิริก กรดโพรปิโอนิก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ และก๊าซไฮโดรเจน (Shin *et al.*, 2007, Chen *et al.*, 2005, Kumar and Das, 2000) ดังนั้น การที่อัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนสูงในช่วงแรก จากนั้นจะเริ่มคงที่ เนื่องจากการสะสมของกรดอินทรีย์ อาจมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มหยุดการเจริญเติบโตและตายลง ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนจุลินทรีย์ในถังหมักที่พบว่า ในช่วง 6 ชั่วโมงแรก จะมีจำนวนจุลินทรีย์ในถังหมักเพิ่มขึ้น หลังจาก 6 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์จะลดลง และคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 15 ชั่วโมง (รูปที่ 4.3)



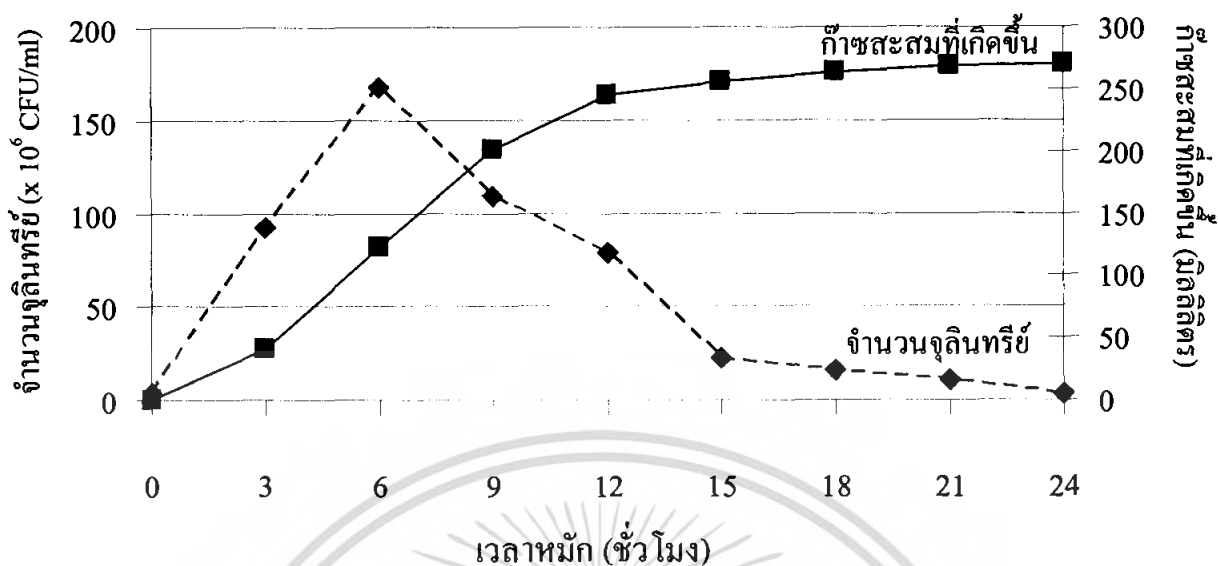


รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในถังหมักที่ช่วงเวลาต่างๆ



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซกับพีเอชที่ช่วงเวลาต่างๆ

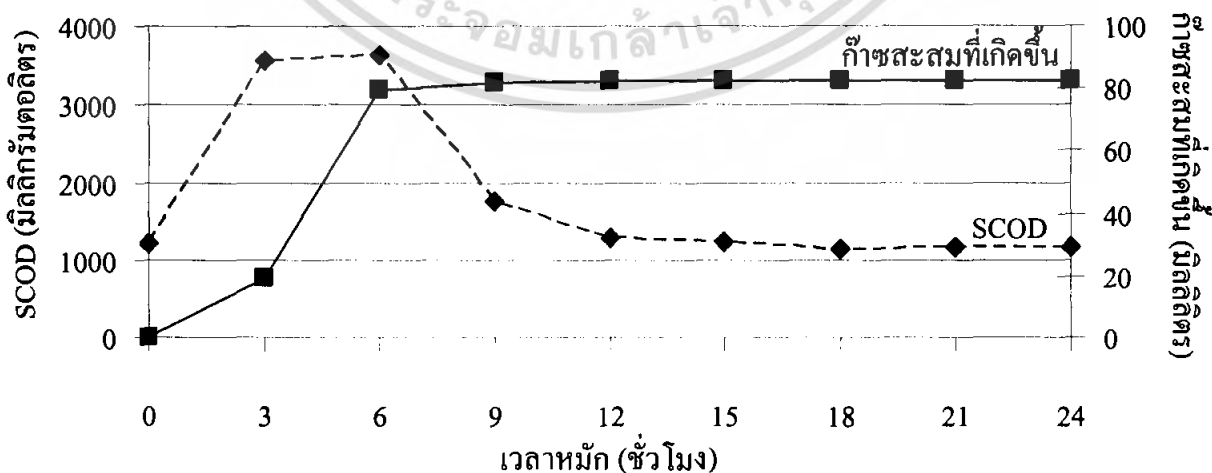
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ของการเกิดแก๊สกับจำนวนจุลินทรีย์ที่ช่วงเวลาต่าง ๆ

4.2 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตแก๊สไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* กับการเปลี่ยนแปลงของค่า SCOD ในสลัดจ์ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน

จากรูปที่ 4.4 พบว่า ในระยะแรก ค่า SCOD จะเพิ่มขึ้น หลังจากชั่วโมงที่ 6 ค่า SCOD จะลดลง และเริ่มคงที่ เมื่อเวลาหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง การที่ SCOD เพิ่มขึ้นในระยะแรก อาจเกิดจาก COD ที่อยู่ในรูปของแข็งแขวนลอย (Suspended COD) ถูกเปลี่ยนเป็น SCOD ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nasser *et al* (2006) จากนั้น SCOD จะลดลง เนื่องจากถูก *E. coli* ใช้ไปในการเปลี่ยนเป็นแก๊สไฮโดรเจน ซึ่งการลดลงของค่า SCOD สัมพันธ์กับปริมาณแก๊สไฮโดรเจนที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ของการเกิดแก๊สกับการเปลี่ยนแปลง SCOD ที่เวลาหมักต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนโดยใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA), ยูวีซี (UV-C) และการใช้เปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ร่วมกับยูวีซี (UV-C)

4.3.1 ผลการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซี (UV-C)

จากตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซี พบว่า เมื่อให้แสงยูวีซี 30 วัตต์ ผ่านสลัดจ์เป็นเวลาเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ลดลงด้วย จากผลการทดลองพบว่า เมื่อผ่านแสงยูวีซีเข้าไปในสลัดจ์เป็นเวลา 60 นาที ไม่พบจุลินทรีย์ (0 CFU/ml) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nebot Sanz, *et al.* (2007) ที่พบว่า การเพิ่มเวลาในการให้แสงยูวีซี จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนลดลง

ตารางที่ 4.1 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซี (UV-C) ที่เวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้ (นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนี, ทำการเจือจาง 100 เท่า)			เฉลี่ย (โคโลนี)	จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	งานอาหารที่ 1	งานอาหารที่ 2	งานอาหารที่ 3		
60	0	0	0	0±0.00	0
45	67	120	100	95.67±26.76	9.57x10 ⁵
30	100*	250	246	248±2.83	1.99x10 ⁶
15	>300	>300	>300	>300	TMTC**
Control	>300	>300	>300	>300	TMTC**

* = outlier, ** = too many too count

4.3.2 ผลการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA)

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิด และที่ความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิด 1.50% โดยปริมาตร ไม่พบจุลินทรีย์ (0 CFU/ml) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Koivunen and Heinonen-Tanski (2005) ที่พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิดจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนลดลง

ตารางที่ 4.2 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ PAA (โดยปริมาตร)	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนี, ทำการเจือจาง 100 เท่า)			เฉลี่ย (โคโลนี)	จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	จานอาหารที่ 1	จานอาหารที่ 2	จานอาหารที่ 3		
0.50%	>300	>300	>300	>300	TMTC**
1.00%	50*	250	242	246±5.66	1.81x10 ⁶
1.50%	0	0	0	0±0.00	0
Control	>300	>300	>300	>300	TMTC**

* = outlier, ** = too many too count

4.3.3 ผลการกำจัดจุลินทรีย์ในสลัดจ์ด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C Combined with PAA)

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA) ที่ความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิดที่ 1.50% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีเป็นเวลาต่าง ๆ คือ 10 และ 15 นาที จากการทดลองพบว่า จำนวนจุลินทรีย์ในการบำบัดด้วยยูวีซี 10 และ 15 นาที ไม่แตกต่างกัน จึงใช้เวลาที่ 10 นาที ที่ความเข้มแสง 30 วัตต์

ตารางที่ 4.3 ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซีร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA) ที่ความเข้มข้น 1.50% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีเป็นเวลาต่าง ๆ

เวลาที่ใช้ (นาที)	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนี, ทำการเจือจาง 10 เท่า)			เฉลี่ย (โคโลนี)	จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	จานอาหารที่ 1	จานอาหารที่ 2	จานอาหารที่ 3		
10	166	159	180	166±10.69	1.68x10 ⁴
15	167	158	162	167±4.51	1.62x10 ⁴
Control	>300	>300	>300	>300	TMTC**

** = too many too count

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4. ผลการทดสอบการผลิตก๊าซของเชื้อ *E. coli* ในสลัดจ์ที่กำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดที่ปริมาณต่างๆ (UV-C and PAA)

ตารางที่ 4.4 แสดงก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดคักก๊าซของสลัดจ์ที่กำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีนาน 10 นาทีร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากการทดลองพบว่า การกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีนาน 10 นาที ร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร เมื่อเติมเชื้อ *E. coli* ลงไปในหลอดทดลอง หมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จะเกิดก๊าซในหลอดคักก๊าซมากที่สุด ดังนั้น การบำบัดสลัดจ์ด้วยเพอร์อะซิติกแอซิดที่ความเข้มข้น 1.5% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีที่ความเข้มแสง 30 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที จึงไม่ใช่สภาวะที่เหมาะสม เนื่องจาก เพอร์อะซิติกแอซิดอาจตกค้างอยู่ในถังหมัก จึงกำจัดเชื้อ *E. coli* ที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วย

ตารางที่ 4.4 ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดคักก๊าซของสลัดจ์ที่กำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีนาน 10 นาที ร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดความเข้มข้นต่าง ๆ

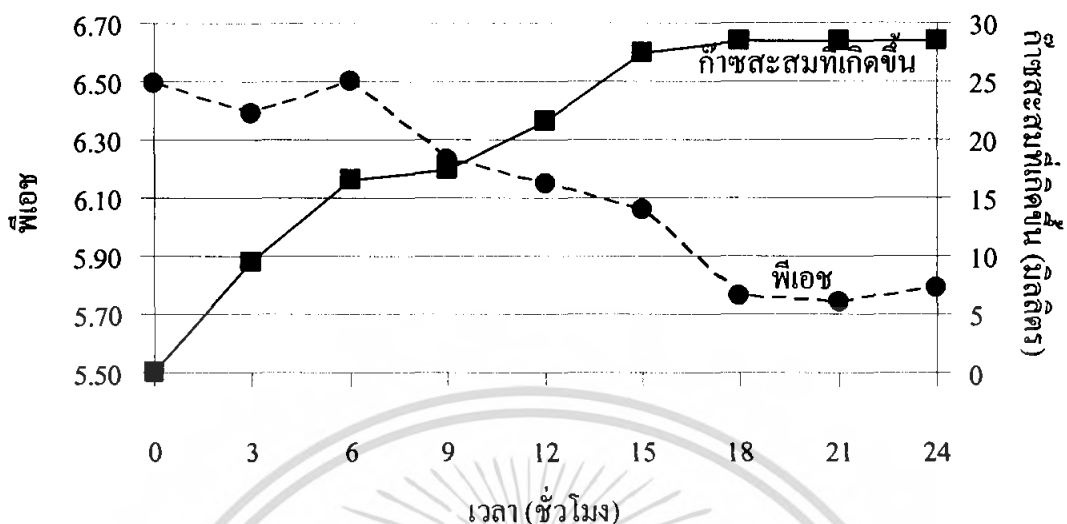
ความเข้มข้นของเพอร์อะซิติกแอซิด (โดยปริมาตร)	ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในหลอดคักก๊าซ
Control*	ไม่เกิดก๊าซ
0.5%	ไม่เกิดก๊าซ
0.3%	เกิดก๊าซเต็มหลอด
0.1%	เกิดก๊าซหนึ่งส่วนสี่ของหลอด

* Control ไม่ผ่านการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีและเพอร์อะซิติกแอซิด

4.4 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซีร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.3 และ 0.1% โดยปริมาตร

4.4.1 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* ในสลัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยยูวีซี ร่วมกับเพอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร

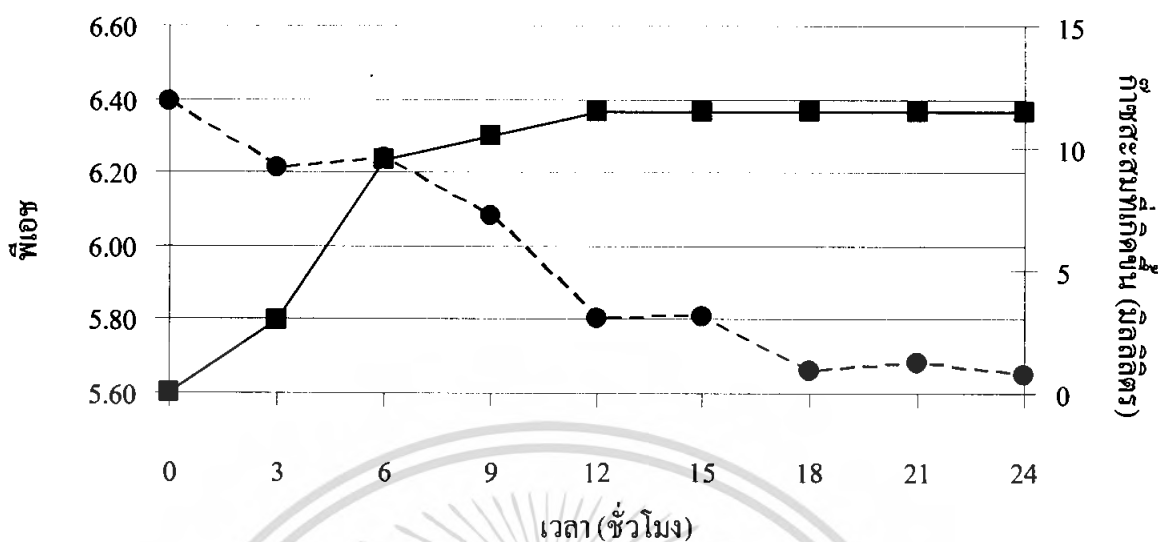
จากรูปที่ 4.5 พบว่า ในขณะที่ปริมาณก๊าซสะสมเพิ่มขึ้น พีเอชมีค่าค่อนข้างจะคงที่ในช่วง 5.7-6.5 เนื่องจากมีการใส่บัฟเฟอร์ลงไปในถังหมัก อย่างไรก็ตาม พีเอชมีแนวโน้มลดลงลงช้า ๆ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น อาจจะเป็นเพราะมีการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในสลัดจ์เป็นกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นก่อนที่จะเปลี่ยนกรดอินทรีย์ไปเป็นก๊าซ



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซของสตัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยวิธีที่ความเข้มข้น 30 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร

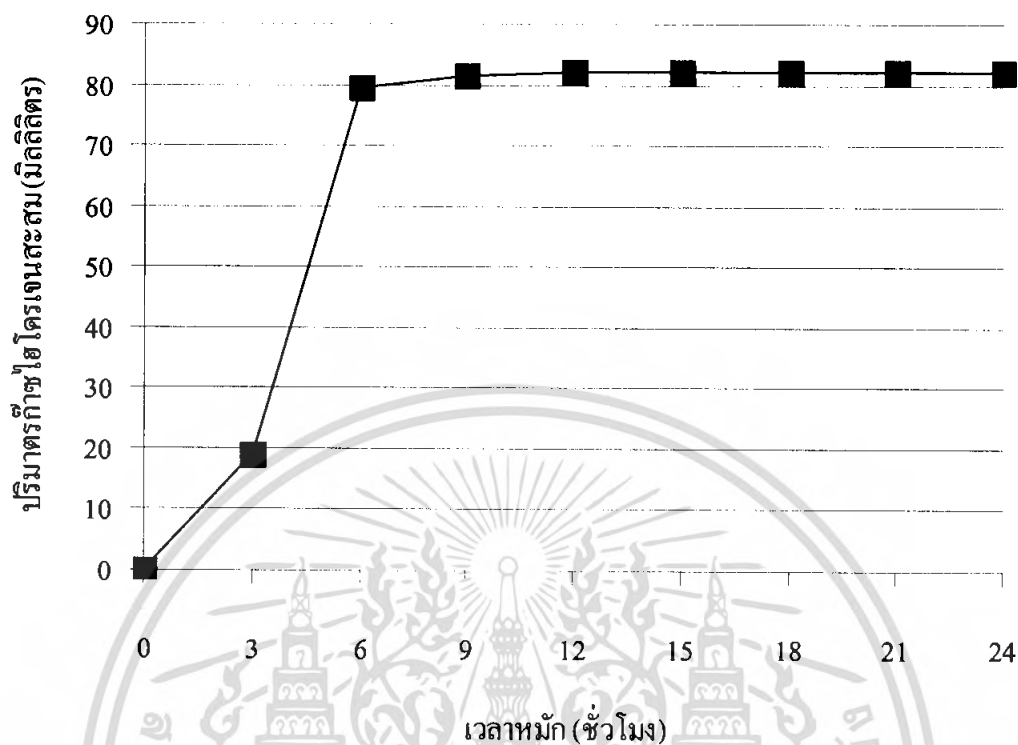
4.4.2 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผลิตก๊าซไฮโดรเจนของเชื้อ *E. coli* ในสตัดจ์ของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยวิธี ร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร

จากรูปที่ 4.6 พบว่า ในขณะที่ปริมาตรก๊าซสะสมเพิ่มขึ้น พีเอชมีค่าค่อนข้างจะคงที่ในช่วง 5.6-6.4 เนื่องจากมีการใส่บัฟเฟอร์ลงไปในถังหมัก อย่างไรก็ตาม พีเอชมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับการบำบัดสตัดจ์ที่ความเข้มข้นกรดเปอร์อะซิติกแอซิด 0.3% โดยปริมาตร อย่างไรก็ตาม ปริมาณก๊าซสะสมของสตัดจ์ที่ผ่านการบำบัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร มีปริมาณมากกว่าการบำบัดสตัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดที่ความเข้มข้น 0.3% โดยปริมาตร ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะเปอร์อะซิติกแอซิดตกค้างในอาหารน้อยกว่า ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีกว่า นั่นคือความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิดมีผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ของการเกิดก๊าซของสลัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยวิธีที่ความเข้มข้น 30 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร

ก๊าซที่ได้จากการทดลองข้อ 4.4.1 และ 4.4.2 นำไปวิเคราะห์หาก๊าซไฮโดรเจน จากการทดลองพบว่า โดยเครื่อง GC-TCD ไม่พบก๊าซไฮโดรเจน อาจเป็นเพราะการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์โดยใช้เปอร์อะซิติกแอซิดที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3% โดยปริมาตร ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสลัดจ์ได้ทั้งหมด เป็นเหตุให้เหลือเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่มีความสามารถเปลี่ยนก๊าซไฮโดรเจนเป็นก๊าซอื่น ๆ ได้ เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ หรืออาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือในสลัดจ์เจริญเติบโตได้ดีกว่า *E. coli* ที่เดิมลงไป ทำให้ *E. coli* ไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ เมื่อเปรียบเทียบกับ การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีสเตอร์ไลส์ โดย วารุณี (2551) พบว่า *E. coli* สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 82.2 มิลลิลิตร แสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ปริมาณก๊าซสะสมที่เกิดขึ้นของเชื้อ *E. coli* เมื่อใช้สลัดจ์ที่ผ่านการสเตอร์ไลส์ เป็นอาหาร ที่เวลาต่างๆ (วารุณี, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

- 1) การเกิดก๊าซไฮโดรเจนกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในถังหมักที่ช่วงเวลาต่างๆ เริ่มมีการผลิตก๊าซขึ้นที่ชั่วโมงที่ 2 และมีการผลิตขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 2-8 หลังจาก ชั่วโมงที่ 8 มีการผลิตก๊าซไฮโดรเจนลดลง ส่วนปริมาณกลูโคสในถังหมักที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RCM มีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาตรไฮโดรเจนสะสมมีค่าเพิ่มสูงขึ้น จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ปริมาณของกลูโคสและปริมาตรไฮโดรเจนสะสมเริ่มคงที่
- 2) ค่า SCOD จะเพิ่มขึ้นในตอนแรก แต่หลังจากชั่วโมงที่ 6 มีการลดลงของค่า SCOD ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาตรก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตได้เพิ่มขึ้น
- 3) ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยยูวีซี (UV-C) ที่เวลาต่าง ๆ พบว่าเมื่อให้แสงยูวีซีผ่านสลัดจ์เป็นเวลาเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ลดลงด้วย นั่นคือ ที่เวลา 60 นาที พบจำนวนจุลินทรีย์น้อยที่สุด เท่ากับ 0 CFU/ml
- 4) ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิด และที่ความเข้มข้น 1.50% โดยปริมาตร เหลือจำนวนจุลินทรีย์ 0 CFU/ml
- 5) ปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ที่ถูกกำจัดด้วยเปอร์อะซิติกแอซิด (UV-C and PAA) ที่ความเข้มข้น 1.50% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซีเป็นเวลาต่าง ๆ คือ 10 และ 15 นาที พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้เวลาที่ 10 นาที
- 6) การบำบัดสลัดจ์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดความเข้มข้น 1.5% โดยปริมาตร ร่วมกับยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการทดสอบการเกิดก๊าซ พบว่า ไม่มีการผลิตก๊าซ
- 7) การกำจัดจุลินทรีย์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% ร่วมกับยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที ปริมาตรก๊าซสะสมเพิ่มขึ้น พีเอชมีค่าค่อนข้างจะคงที่เนื่องจากมีการใส่บัฟเฟอร์ลงไป แต่เมื่อเวลาผ่านไปที่ ชั่วโมงที่ 6 พีเอชมีค่าลดต่ำลง และเมื่อเปรียบเทียบกับสลัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% และ 0.3% พบว่าปริมาณก๊าซสะสมของสลัดจ์ที่ผ่านการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดเข้มข้น 0.1% มีปริมาณมากกว่า แสดงว่า ความเข้มข้นของเปอร์อะซิติกแอซิดมีผลต่อปริมาตรของก๊าซที่ผลิตขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการกำจัดจุลินทรีย์ด้วยเปอร์อะซิติกแอซิดร่วมกับยูวีซี
- 2) ศึกษาปริมาณหัวเชื้อที่เติมลงในถังหมักเพื่อให้มีปริมาณมากพอที่จะสามารถแข่งขันกับเชื้อชนิดอื่นๆ ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์ noble print
- ประวิช รัตนเพียร. 2548. การดักจับเทคโนโลยีเชื้อเพลิงอนาคตกกลุ่มเอเปคมองไกลใช้ “ไฮโดรเจน”.
<http://www.manager.co.th/Science/ViewNews.aspx?NewsID=9480000152318>.
- มันสิน ตันกุลเวศน์. 2542. เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วารุณี บัวลา. 2551. การผลิตไบโอไฮโดรเจนจากแบคทีเรียที่แยกได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางชีวภาพ. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และ สรวง อุดมวรภักดิ์. 2536. เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์สารานุกรมจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม. 2538. โครงการศึกษาเพื่อจัดลำดับความสำคัญการจัดการน้ำเสียชุมชน. กรุงเทพฯ.
- Aiyuk, S., Forrez, I., Lieven, D.K., Haandel, A.V. and Verstraete, W. 2006. **Anaerobic and Complementary Treatment of Domestic Sewage in Regions with Hot Climates-A Review.** Bioresource Technology, 97, 2225-2241.
- APHA, 1998. **American Public Health Association (APHA)**. Standard Method of Water and Wastewater Analysis, 20th ed. Washington, DC
- Angenent, L.T., Karim, K., Al-Dahhan, M.H., Wrenn, B.A. and Domiguez-Espinosa, R. 2004. **Production of Bioenergy and Biochemicals from Industrial and Agricultural Wastewater.** TRENDS in Biotechnology, 22(9), 477-485.
- Chen, C.C., Lin, C.Y. and Lin, M.C. 2002. **Acid-base Enrichment Enhances Anaerobic Hydrogen Production Process.** Appl. Microbiol. Biotechnol., 58, 224-228.
- Chen, X., Sun, Y., Xiu, Z., Li, X. and Zhang, D. 2006. **Stoichiometric Analysis of Biological Hydrogen Production by Fermentative Bacteria.** Int. J. Hydrogen Energy, 31, 539-549.
- Chittibabu, G., Nath, K. and Das, D. 2006. **Feasibility Studies on the Fermentative Hydrogen Production by Recombinant *Escherichia coli* BL-21.** Process Biochemistry, 41, 682-688.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Eddy, M., 1991. **Wastewater Engineering Treatment, Disposal and Reuse**. 3rd ed. New York, USA : McGraw Hill.
- Evvyernie, D., Morimoto, K., Karita, S., Kimura, T., Sakka, K. and Ohmiya, K. 2001. **Conversion of Chitinous Waste to Hydrogen Gas by *Clostridium paraputrificum* M-21**. J. Biosci. Bioeng., 91, 339-343.
- Fan, Y.T., Zhang, G.S., Guo, X.Y., Xing, Y. and Fan, M.H. 2006. **Biohydrogen-Production from Beer Lees Biomass by Cow Dung Compost**. Biomass and Bioenergy, 30(5), 493-496.
- Gehr, R., Wagner, M., Veerasubramanian, P. and Payment, P. 2003. **Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and Ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater**. Water reseach, 37, 4573-4586
- Granovskii, M., Dincer, I. and Rosen, M.A. 2006. **Life Cycle Assessment of Hydrogen Fuel Cell and Gasoline Vehicles**. Int. J. Hydrogen Energy, 31, 337-352.
- Hallenbeck, P.C. and Benemann, J.R. 2002. **Biological Hydrogen Production ; Fundamentals and Limiting Processes**. Int. J. Hydrogen Energy, 27, 1185-1193.
- Kapdan, I.K. and Kargi, F. 2006. **Bio-hydrogen Production from Waste Materials**. Enzyme and Microbial Technology, 38, 569-582.
- Khanal, S.K., Chen, W.H., Li, L. and Sung S. 2004. **Biological Hydrogen Production : Effects of pH and Intermediate Products**. Int. J. Hydrogen Energy, 29, 1123-1131.
- Kim, S.H., Han, S.K. and Shin, H.S. 2004. **Feasibility of Biohydrogen Production by Anaerobic Co-digestion of Food waste and sewage sludge**. Int. J. Hydrogen Energy, 29, 1607-1616.
- Koivunen, J. and Heinonen-Tanski, H. 2005. **Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical / UV treatments**. Water reseach, 39, 1519-1526
- Kotay, S.M. and Das, D. 2007. **Microbial Hydrogen Production with *Bacillus coagulans* IIT-BT S1 Isolated from Anaerobic Sewage Sludge**. Bioresource technology, 98, 1183-1190.
- Kumar, N. and Das, D. 2000. **Enhancement of Hydrogen Production by *Enterobacter coacae* IIT-BT 08**. Process Biochemistry, 35, 589-593.

- Lay, J.J. 2001. **Biohydrogen Generation by Mesophilic Anaerobic Fermentation of Microcrystalline Cellulose.** *Biotechnol. Bioeng.*, 74, 280-287.
- Lay, J.J., Lee, Y.J. and Noike, T. 1999. **Feasibility of Biological Hydrogen Production from Organic Fraction of Municipal Solid Waste.** *Wat. Res.*, 33(11), 2579-2586.
- Lay, J., Li, Y.Y. and Noike, T. 1997. **Influences of pH and Moisture Content on the Methane Production in High-solids Sludge Digestion.** *Wat. Res.*, 31(6), 1518-1524.
- Lay, J.J. and Noike, T. 1999. **Hydrogen Production and Conversion of Cellulose by Anaerobic Digested Sludge.** *J. Environ. Syst. Engng.*, (636/VII-13), 97-104.
- Levin, D.B., Pitt, L. and Love, M. 2004. **Biohydrogen Production Prospects and Limitations to Ractical Application.** *Int. J. Hydrogen Energy*, 29, 173-185.
- Logan, B.E., Oh, S.E. and Van Ginkel, S.W. 2002. **Biological Hydrogen Production Measured in Batch Anaerobic Respirometers.** *Environ Sci Technol*, 36(11), 2530-2535.
- Lopez, F., Diaz, M.J., Eugenio, M.E., Ariza, J., Rodriguez, A. and Jimenez, L. 2003. **Optimization of Hydrogen Peroxide in Totally Chlorine Free Bleaching of Cellulose Pulp from Olive Tree Residues.** *Bioresource Technology*, 87, 255-261.
- Manzel, J. 1989. **Sevar-Trocknungsverfahren mit Du"nnbett [Sevar drying process in a thin bed].** In : *Kla rschlammensorgung.* Du sseldorf: VDI-Bildungswerk, 74-81.
- Martines-Perez, N., Cherryman, S.J., Premier, G.C., Dinsdale, R.M., Hawkes, D.L., Hawkes, F.R., Kyazze, G. and Guwy, A.J. 2007. **The Potential for Hydrogen-Enriched Biogas Production from Crops : Scenarios in the UK .** *Biomass and Bioenergy*, 31, (2-3), 95-104.
- Nandi, R. and Sengupta, S. 1998. **Microbial Production of Hydrogen: An Overview.** *Crit. Rev. Microbiol.*, 24, 61-84.
- Nebot Sanz, E-N., Davila, I-S., Balzo, J-A. and Alonso, J-M. 2007. **Modelling of reactivation after UV disinfection : Effect of UV-C dose on subsequent photoreactivation and dark repair.** *Water reseach*, 41, 3141-3151
- Nelson, N. 1944. **A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose.** *Journal of Biological Chemistry*, 153, 375-380.
- Ni, M., Leung, D.Y.C., Leung, M.K.H. and Sumathy, K. 2006. **An Overview of Hydrogen Production from Biomass.** *Fuel Processing Technology*, 87, 461-472.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Okamoto, M., Miyahara, T., Mizuno, O. and Noike, T. 2000. **Biological Hydrogen Potential of Materials Characteristic of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes.** *Water Sci. Technol*, 41(3), 25-32.
- Soboh, B., Linder, D. and Hedderich, R. 2002. **Purification and Catalytic Properties of a CO-Oxidizing : H₂-evolving Enzyme Complex from Carboxydotherrmus hydrogenoformans.** *Europe Journal of Biochemistry*, 269, 5712-5721.
- Tanisho, S. and Ishiwata, Y. 1995. **Continuous Hydrogen Production from Molasses by Fermentation using Urethane Foam as a Support of Flocks.** *Int. J. Hydrogen Energy*, 20 (7), 541-545.
- Ueno, Y., Otsuka, S. and Morimoto, M. 1996. **Hydrogen Production from Industrial Wastewater by Anaerobic Microflora in Chemostat Culture.** *J. Fermentation and Bioengineering*, 82 (2), 194-197.
- Van Ginkel, S., Sung, S. and Lay, J.J. 2001. **Biohydrogen Production as a Function of pH and Substrate Concentration.** *Environ. Sci. Technol.*, 35, 4726-4730.
- Wang, C.C., Chang, C.W., Chu, C.P., Lee, D.J., Chang, B.-V. and Liao, C.S. 2003. **Producing Hydrogen from Wastewater Sludge by *Clostridium bifermentans*.** *J. Biotechnology*, 102, 83-92.
- Yokoi, H., Saito, A., Uchida, H., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. 2001. **Microbial Hydrogen Production from Sweet Potato Starch Residue.** *J. Bioscience and Bioengineering*, 91 (1), 58-63.
- Yokoi, H., Maki, R., Hirose, J. and Hayashi, S. 2002. **Microbial Production of Hydrogen from Starch-Manufacturing Wastes.** *Biomass and Bioenergy*, 22, 389-395.
- Zhu, H. and Béland, M. 2006. **Evaluation of Alternative Methods of Preparing Hydrogen Producing Seeds from Digested Wastewater Sludge.** *Int. J. Hydrogen Energy*, 31(14), 1980-1988.

<http://ozone.tmd.go.th/uvbasic.htm>

<http://www.upsuper.com>

<http://www.techno.msu.ac.th/bt/pdfdocxls/b.doc>

<http://www.chlorine-eng.co.jp/.../puretron/img/p10.gif>



ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก1 การหาค่า MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids)

ตามวิธี Standard Methods of Water and Wastewater Analysis (1998)

1. ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองใยแก้วขนาดที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
2. นำสลัดจ์มากรองผ่านกระดาษกรองใยแก้วที่ผ่านการอบไล่ความชื้นในข้อ 1
3. นำกระดาษกรองที่ผ่านการกรองจากข้อ 2 ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
4. นำไปชั่งน้ำหนักนำไปคำนวณหาค่า MLSS จากสูตร

$$\text{MLSS (g/L)} = \frac{(\text{น้ำหนักกระดาษกรอง} + \text{น้ำหนักสลัดจ์}) - \text{น้ำหนักกระดาษกรองเริ่มต้น (g)}}{\text{ปริมาตรสลัดจ์เริ่มต้น (ml)}} \times 10^6$$

ก2 การทดสอบปริมาณจุลินทรีย์หลังการบำบัด

ก2.1 วิธีการ Spread plate

- 1.1 นำสลัดจ์มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani Medium (LB Medium) เตรียมโดยนำยีสต์แอสเทค 5 กรัมต่อลิตร ผสมกับเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 10 กรัมต่อลิตร แล้วปรับพีเอชเท่ากับ 6.8 เติมน้ำ 1.5% โดยปริมาตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- 1.2 ใช้ spreader ที่ฆ่าเชื้อแล้ว เกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร โดยให้เกลี่ยหลาย ๆ ครั้ง จนกว่าจะแห้ง
- 1.3 นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.4 นับจำนวนโคโลนีจุลินทรีย์จากจานอาหาร
- 1.5 นำสลัดจ์หลังการบำบัดมาทำเช่นเดียวกับข้างต้น
- 1.6 เปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ในสลัดจ์ทั้งก่อนและหลังการบำบัด

ก2.2 การทดสอบการผลิตก๊าซโดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร LB Medium ที่บรรจุหลอดดักก๊าซ

- 2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani Medium (LB Medium) เตรียมโดยนำยีสต์แอสเทค 5 กรัมต่อลิตร ผสมกับเปปโตน 10 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ 10 กรัมต่อลิตร แล้วปรับพีเอชเท่ากับ 6.8 นำไปผ่านการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

- 2.2 นำสลัดจ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มา 1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เติมนลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ LB Medium อยู่ 6 มิลลิลิตร และมีหลอด
ดักก๊าซโดยอุปกรณ์ทั้งหมดผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา
15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

2.4 ปิดฝาตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ในตู้บ่มที่ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และมีดสนิท

2.5 ตรวจสอบก๊าซที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด

ก3 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Somogyi Nelson's method (Nelson, 1940)

(วัฒนาลัย และ สรวง, 2536)

อุปกรณ์และสารละลายเคมี

- (1) สารละลาย Copper reagent
- (2) สารละลาย Nelson's reagent
- (3) สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร
- (4) สารละลายตัวอย่างน้ำตาล
- (5) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- (6) อ่างน้ำเย็น
- (8) ลูกแก้ว
- (9) เครื่องแก้วต่างๆ

การเตรียมสารละลาย

การเตรียมสารละลาย copper reagent

- (1) ละลาย $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 70.5495 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร
- (2) เติมน Sodium potassium tartrate (tetrahydrate) ปริมาณ 40 กรัม
- (3) เติมน 1N NaOH จำนวน 100 มิลลิลิตร
- (4) เติมน Na_2SO_4 (anhydrous) จำนวน 120 กรัม
- (5) เติมน 10 % copper sulfate จำนวน 100 มิลลิลิตร (เตรียมได้จาก $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 10
กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร)
- (6) ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วเก็บใส่ไว้ในขวดสีชา
- (7) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4

การเตรียมสารละลาย Nelson's reagent

- (1) โดยละลาย ammonium molybdate ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร
- (2) เติม conc. H_2SO_4 ปริมาตร 21 มิลลิลิตร
- (3) ละลาย disodium hydrogen arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร แล้วค่อย ๆ ผสมสารละลายเข้าด้วยกัน
- (4) ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วเก็บใส่ไว้ในขวดสีชา
- (5) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4

วิธีการทดลอง

- (1) ปิเปตสารละลายกลูโคสและสารละลายตัวอย่างน้ำตาล และน้ำกลั่นดังตารางที่ ก-1
- (2) ปิเปต Copper reagent ลงไป 2 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอด
- (3) นำหลอดไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ควรวางลูกแก้วไว้บนฝาหลอดเพื่อลดการระเหยของน้ำ
- (4) นำหลอดไปวางในอ่างน้ำเย็นทันที
- (5) ปิเปต Nelson's reagent ลงไป 2 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอด และผสมให้เข้ากัน
- (6) เติมน้ำ 5 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน
- (7) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้หลอดที่ไม่มีน้ำตาลเป็น blank พร้อมบันทึกผล

ตารางที่ ก-1 ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาตรของสารละลาย	หลอดที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น (100 ไมโครกรัมต่อลิตร)	-	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	-	-
2. สารละลายตัวอย่างน้ำตาล	-	-	-	-	-	-	0.5	1.0
3. น้ำกลั่น	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	-	0.5	-
4. Copper reagent	2	2	2	2	2	2	2	2
5. Nelson's reagent	2	2	2	2	2	2	2	2
6. น้ำกลั่น	5	5	5	5	5	5	5	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก4 การวิเคราะห์หาซีโอดีด้วยวิธีฟลักซ์แบบปิด (Closed Reflux, Titrimetric Method)

(APHA, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- (1) หลอดที่ใช้ในการย่อยสลาย (Digestion vessels) ขนาด 16 X 100 มิลลิลิตร พร้อมทั้งฝาจุก
- (2) ฮีตติ้งบล็อก (Heating block)
- (3) เครื่องให้ความร้อนหรือเตาอบให้ความร้อน 150 องศาเซลเซียส

สารเคมี

(1) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตสำหรับย่อยสลาย (Standard potassium digestion solution, $K_2Cr_2O_7$) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยนำ $K_2Cr_2O_7$ อบแห้งที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น จากนั้นชั่งมา 4.913 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ประมาณ 500 มิลลิลิตร, กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc H_2SO_4) 167 มิลลิลิตร, และปรอทซัลเฟต ($HgSO_4$) 33.3 กรัม เมื่อสารต่าง ๆ ละลายจนหมด และเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

(2) สารละลายกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid reagent) เตรียมโดยเติมซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ลงในกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc H_2SO_4) ในอัตราส่วน 5.5 กรัม ของ Ag_2SO_4 ต่อ 1 กิโลกรัม ของกรด H_2SO_4 เข้มข้น ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน ให้ Ag_2SO_4 ละลาย

(3) สารละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ (Ferroun indicator solution) เตรียมโดยละลายสาร 1, 10-ฟีแนนโทรลีน โมโนไฮเดรต (1, 10-phenanthroline monohydrate) จำนวน 1.485 กรัม และสารเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) จำนวน 695 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

(4) สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Standard ferrous ammonium sulfate, FAS) 0.10 โมลาร์ เตรียมโดยนำสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($Fe (NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) มา 39.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc H_2SO_4) 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร (เก็บไว้ใช้งาน 1 เดือน) โดยสารละลายนี้ต้องเทียบมาตรฐานกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ในการย่อยสลายทุกครั้งที่จะนำมาใช้คือ นำหลอดทดสอบมา 3 หลอด เติมสารต่าง ๆ ตามลำดับ ในแต่ละหลอดดังนี้

1) น้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร

2) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate digestion)

0.0167 โมลาร์จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3) สารละลายกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid reagent) 3.5 มิลลิลิตร
- 4) ปิดฝาให้สนิท กลับหลอดไปมาหลายๆ ครั้งเพื่อให้สารผสมเข้ากันทำให้เป็นจัน
อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลายสารละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ (Ferroun Indicator) 1-2 หยด
- 5) นำไปไทเทรต (Titrate) ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS)
จนถึงจุดยุติ สีจะเปลี่ยนจากสีฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดง

$$\text{ความเข้มข้นของ FAS (M)} = \frac{\text{ปริมาตรของ } 0.0167 \text{ M K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ ที่ใช้ (มล.)} \times 0.10}{\text{ปริมาตรของ FAS (มล.)}}$$

(5) กรดซัลฟามิก (Sulfamic Acid)

(6) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate, KHP) เตรียมโดยนำ KHP ไปอบที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น แล้วชั่งมา 425 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีค่าซีไอดีเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการทดลอง

- (1) ล้างหลอดย้อยสลายนและฝาด้วยกรดซัลฟูริก 20 เปอร์เซ็นต์ ก่อนใช้ทุกครั้งเพื่อป้องกันการเปื้อน
- (2) นำตัวอย่างน้ำมาใส่หลอดย้อยสลายน 2.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโคเมตสำหรับการย้อย 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- (3) ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟูริก 3.5 มิลลิลิตร ให้เกิดชั้นของกรดที่กั้นหลอดแก้ว ปิดฝาให้สนิท แล้วเขย่าให้เข้ากัน
- (4) ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น นำหลอดแก้วไปใส่ในเครื่องย้อยสลายนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- (5) เทสารละลายลงในขวดรูปชมพู่ แล้วเติมสารละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ 1-2 หยด แล้วไทเทรตด้วย FAS 0.1 M จุดยุติจะเปลี่ยนอย่างรวดเร็วจากฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดง
- (6) ทำแบลนด์ด้วยทุกครั้ง โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ซีไอดี (มก./ล.)} = \frac{(A - B) \times M \times 8,000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มล.)}}$$

- โดย A = มล.ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตเบสลงค์
B = มล.ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรต
M = โมลาลิตีของ FAS



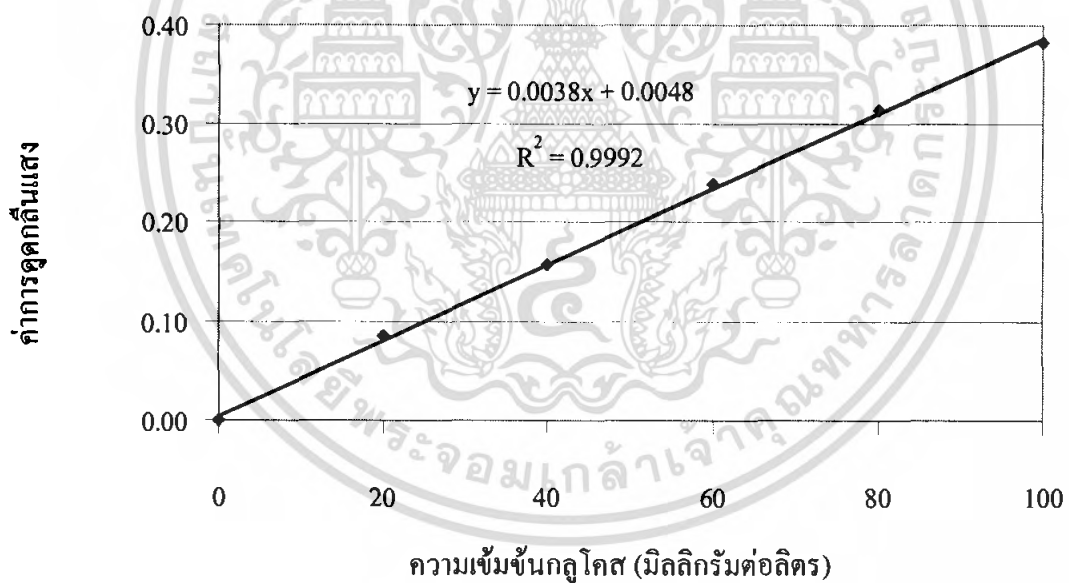
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกลูโคส (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.000	0.000	0.000	0.000±0.000
20	0.085	0.084	0.089	0.086±0.003
40	0.165	0.157	0.146	0.156±0.010
60	0.245	0.244	0.241	0.243±0.003
80	0.314	0.315	0.307	0.312±0.004
100	0.379	0.376	0.394	0.383±0.010



รูปที่ ข1.1 กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.2 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารละลายกลูโคสที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

เชื้อจุลินทรีย์	เวลา (ชม.)	ค่าการดูดกลืนแสง			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
<i>E. coli</i>	0	0.240	0.243	0.241	0.241±0.002
	3	0.177	0.179	0.181	0.179±0.002
	6	0.130	0.135	0.134	0.133±0.003
	9	0.094	0.096	0.087	0.092±0.005
	12	0.062	0.067	0.065	0.065±0.003
	15	0.058	0.054	0.056	0.056±0.002
	18	0.053	0.052	0.051	0.052±0.001
	21	0.048	0.047	0.049	0.048±0.001
	24	0.042	0.040	0.041	0.041±0.001
Control	0	0.244	0.243	0.241	0.243±0.002
	3	0.239	0.239	0.240	0.239±0.001
	6	0.238	0.239	0.240	0.239±0.001
	9	0.236	0.238	0.237	0.237±0.001
	12	0.236	0.234	0.235	0.235±0.001
	15	0.235	0.234	0.233	0.234±0.001
	18	0.233	0.235	0.233	0.234±0.001
	21	0.234	0.233	0.235	0.234±0.001
	24	0.236	0.234	0.233	0.234±0.001

หมายเหตุ : ทั้งหมดเจือจาง 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข 1.3 ความเข้มข้นกลูโคสที่ได้จากการคำนวณในสมการจากราฟมาตรฐานสารละลาย
กลูโคส

เชื้อจุลินทรีย์	เวลา (ชม.)	ความเข้มข้นกลูโคส (mg/l)			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
<i>E. coli</i>	0	6189.47	6268.42	6215.79	6224.56±40.20
	3	4531.58	4584.21	4636.84	4584.21±52.63
	6	3294.74	3426.32	3400.00	3373.68±69.63
	9	2347.37	2400.00	2163.16	2303.51±124.36
	12	1505.26	1636.84	1584.21	1575.44±66.23
	15	1400.00	1294.74	1347.37	1347.37±52.63
	18	1268.42	1242.11	1215.79	1242.11±26.32
	21	1136.84	1110.53	1163.16	1136.84±26.32
	24	978.95	926.32	952.63	952.63±26.32
Control	0	6294.74	6268.42	6215.79	6259.65±40.20
	3	6155.57	6155.42	6189.47	6166.82±19.62
	6	6136.84	6163.16	6189.47	6163.16±26.32
	9	6080.03	6136.84	6110.53	6109.13±28.43
	12	6084.21	6031.58	6057.89	6057.89±26.32
	15	6057.89	6031.58	6005.26	6031.58±26.32
	18	6005.26	6057.89	6005.26	6022.81±30.39
	21	6031.58	6005.26	6057.89	6031.58±26.32
	24	6080.03	6043.50	6004.80	6042.78±37.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.4 การวัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ในช่วงเวลาหมักต่างๆ
โดยวิธีการนับจำนวนเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM

เชื้อจุลินทรีย์	เวลาบ่ม (ชม.)	จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ (CFU/ml) ($\times 10^6$)			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
<i>E. coli</i>	0	2.94	2.96	2.90	2.93±0.03
	3	89.00	92.00	94.00	91.67±2.52
	6	176.00	151.00	176.00	167.67±14.43
	9	110.00	104.00	112.00	108.67±4.16
	12	78.00	81.00	76.00	78.33±2.52
	15	21.50	22.00	22.40	21.97±0.45
	18	16.20	15.40	17.10	16.23±0.85
	21	10.00	10.20	11.00	10.40±0.53
	24	2.80	3.20	3.50	3.17±0.35
Control	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.00	0.00	0.00
	6	0.00	0.00	0.00	0.00
	9	0.00	0.00	0.00	0.00
	12	0.00	0.00	0.00	0.00
	15	0.00	0.00	0.00	0.00
	18	0.00	0.00	0.00	0.00
	21	0.00	0.00	0.00	0.00
	24	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ: 0 = ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ ข1.5 ค่า pH ของเชื้อจุลินทรีย์ E.coli ในช่วงเวลาหมักต่างๆในอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM

เชื้อจุลินทรีย์	เวลา(ชั่วโมง)	pH อาหาร			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
		6.59	6.62	6.55	6.59±0.04
<i>E. coli</i>	0	6.78	6.76	6.75	6.76±0.02
	3	5.26	5.71	6.06	5.68±0.40
	6	5.42	5.39	5.54	5.45±0.08
	9	5.33	5.25	5.36	5.31±0.06
	12	5.12	5.13	5.23	5.16±0.06
	15	5.08	5.07	5.2	5.12±0.07
	18	5.03	5.04	5.14	5.07±0.06
	21	5.01	5.03	5.09	5.04±0.04
	24	4.99	5	5.04	5.01±0.03
	Control	0	6.77	6.79	-
3		6.7	6.81	-	6.76±0.08
6		6.7	6.81	-	6.76±0.08
9		6.7	6.8	-	6.75±0.07
12		6.68	6.78	-	6.73±0.07
15		6.68	6.77	-	6.73±0.06
18		6.69	6.77	-	6.73±0.06
21		6.69	6.77	-	6.73±0.06
24		6.68	6.78	-	6.73±0.07

หมายเหตุ: 0 = ไม่มีผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.6 เปรียบเทียบก๊าซสะสมที่เกิดเมื่อใช้สลัดจ์เป็นแหล่งอาหาร

เวลา (ชั่วโมง)	ก๊าซสะสมที่เกิด (มล.)	
	<i>E. coli</i>	Control
0	0.00±0.00	0.00
1	0.00±0.00	0.00
2	0.00±0.00	0.00
3	19.06±9.24	0.00
4	50.39±14.42	0.00
5	77.45±1.43	0.00
6	79.52±3.21	0.00
7	80.41±4.54	0.00
8	81.59±5.41	0.00
9	81.59±5.41	0.00
10	82.18±5.53	0.00
11	82.18±5.53	0.00
12	82.18±5.53	0.00
13	82.18±5.53	0.00
14	82.18±5.53	0.00
15	82.18±5.53	0.00
16	82.18±5.53	0.00
17	82.18±5.53	0.00
18	82.18±5.53	0.00
19	82.18±5.53	0.00
20	82.18±5.53	0.00
21	82.18±5.53	0.00

หมายเหตุ: 0 = ไม่เกิดก๊าซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.6 (ต่อ) เปรียบเทียบก๊าซสะสมที่เกิดเมื่อใช้สลัดจ์เป็นแหล่งอาหาร

เวลา (ชั่วโมง)	ก๊าซไฮโดรเจนสะสม (มล.)	
	<i>E.coli</i>	Control
22	82.18±5.53	0.00±0.00
23	82.18±5.53	0.00±0.00
24	82.18±5.53	0.00±0.00

หมายเหตุ: 0 = ไม่เกิดก๊าซ

ตารางที่ ข1.7 การเปลี่ยนแปลงซีโอดีในน้ำหมักเมื่อใช้สลัดจ์เป็นแหล่งอาหาร

รหัสเชื้อ	เวลาบ่ม (ชม.)	COD (mg/l)		
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
<i>E. coli</i>	0	3395.92	3585.54	3490.73±134.08
	3	5877.55	5746.94	5812.24±92.36
	6	5877.55	5746.94	5812.24±92.36
	9	3918.37	3853.06	3885.71±46.18
	12	3395.92	3395.92	3395.92±0.00
	15	3306.00	3315.00	3310.50±6.36
	18	3200.00	3200.00	3200.00±0.00
	21	3200.00	3200.00	3200.00±0.00
	24	3195.78	3200.00	3197.89±2.98
Control	0	2220.41	2304.93	2262.67±59.77
	3	2220.00	2304.90	2262.65±59.74
	6	2155.10	2220.41	2187.76±46.18
	9	2057.14	2220.41	2138.78±115.13
	12	2048.39	2190.00	2119.20±100.13
	15	2034.23	2124.43	2079.33±63.78
	18	2027.25	2068.64	2047.95±29.27
	21	2023.49	2023.49	2023.49±0.00
	24	2024.49	2024.49	2024.49±0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1.8 ค่า pH ของคอนบ้ำบักด้วยยูวีซี เป็นเวลา 10 นาที ร่วมกับเปอร์อะซิติกแอซิด (PAA)เข้มข้น 0.3 และ 0.1% โดยปริมาตร

เวลา (ชม.)	pH		
	control	PAA 0.3 %	PAA 0.1%
0	6.41	6.39	6.49
3	6.39	6.21	6.39
6	6.36	6.24	6.50
9	6.37	6.08	6.23
12	6.37	5.80	6.15
15	6.38	5.81	6.06
18	6.28	5.66	5.76
21	6.31	5.68	5.74
24	6.31	5.65	5.79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้