บทที่ 3

วิธีการศึกษา

วิธีการศึกษา แบ่งออกเป็นสองส่วนหลัก ๆ คือส่วนที่หนึ่ง สารเคมี วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ และส่วนที่สองคือ วิธีการดำเนินการทดลอง

1) สารเคมี วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

ก. สารเคมี

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
Ammonium ferrous sulphate: $(NH_4)_2SO_4$. $FeSO_4.6H_2O$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Ammonium molybdate: $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Antimony potassium tartrate: $KSb.C_4H_4O_6.5H_2O$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Ascorbic acid: $C_6H_8O_6$	Analytical Reagent	Merck	Germany
Boric acid: H_3BO_3	Analytical Reagent	Fisher scientific	UK
Bromocresol green	Analytical Reagent	BHD	UK
Calcium hydroxide: $Ca(OH)_2$	Commercial grade	Ajax Finechem	Australia
Copper sulphate: $CuSO_4.5H_2O$	Analytical Reagent	Riedel-de-Haen	Netherland
95% Ethanol: CH_3CH_2OH	Analytical Reagent	Merck	Germany
Hydrochloric acid: HCl	Analytical Reagent	Fluka	Germany

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
Iron (II) sulfate: $FeSO_4.7H_2O$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Magnesium sulfate: $MgSO_4.7H_2O$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Methyl red	Analytical Reagent	Sigma	China
Mercury (II) sulfate ($HgSO_4$)	Analytical Reagent	Rankem	India
Phosphoric acid: H_3PO_4	Analytical Reagent	BHD	UK
Potassium sulfate: K_2SO_4	Analytical Reagent	Merck	Germany
Potassium dichromate: $K_2Cr_2O_7$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Potassium hydrogen phthalate: $KOOC.C_6H_4COOH$	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
1-10 Phenanthroline monohydrate	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Silver sulfate: Ag_2SO_4	Analytical Reagent	Merck	Germany
Sodium hydroxide: NaOH	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Sodium fluoride: NaF	Analytical Reagent	Ajax Finechem	Australia
Sulfuric acid : H_2SO_4	Analytical Reagent	Mallinchrodt chemicals	Thailand

ข. วัสดุอุปกรณ์

1) บิวเรต

2) เดซิเคเตอร์

3) เครื่องแก้วสามัญ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ค. เครื่องมือ

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

ชื่อเครื่องมือ	**รุ่น**	**บริษัทผู้ผลิต**	**ประเทศ**
1) เครื่องเขย่า (Vortex mixer)	232	Fisher Scientific	USA
2) เครื่องชั่ง (Analytical balance)	BT 224S	Sartorious	Germany
3) เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)	Libra S22	Biochrom	USA
4) ตู้อบ (Oven)	Isotemp	Fisher Scientific	USA
5) เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductometer)	Cond 315i	Wissenschaftich-Technisch Werkstatten	Singapore
6) เครื่องวัด pH (pH-meter)	pH WP-300	EUTECH Insrument	Singapore
7) เครื่องวัดปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahl Distillation and digestion)	Allegra 64R	BECKMAN	UK
8) เตาเผา (Muffle furnace)	UltraScan XE	HunterLab	USA
9) เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography)	8 A	Shimadzu	Japan

Prince of Songkla University Pattani Campus

ก. ชุดดักจับกรด

ข. เครื่องย่อย

ค. เครื่องกลั่น

รูปที่ 3.1 เครื่องวัดปริมาณไนโตรเจน (Beckman, UK)

Prince of Songkla University Pattani Campus

รูปที่ 3.2 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Biochrom, USA)

2) การเก็บตัวอย่าง

ก. สาหร่ายขนาดใหญ่

ทำการสำรวจข้อมูลชนิดของสาหร่ายที่พบได้ทั่วไปในบริเวณ อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ปรากฏว่า สาหร่าย *Cheatomorpha* sp. และ *Ulva intestinalis* เป็นสาหร่ายที่พบได้ทั่วไปในบริเวณแหล่งน้ำกร่อย

สาหร่ายทั้งสองชนิด ทำการเก็บบริเวณคลองระบายน้ำใกล้บ่อเลี้ยงกุ้ง อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา หลังจากเก็บตัวอย่าง นำสาหร่ายเก็บไว้ในบ่อพัก เพื่อเก็บไว้เป็นพันธุ์ สาหร่ายจะถูกนำมาแยกเศษไม้และ เศษขยะขนาดใหญ่ออกก่อนนำมาทำการหมัก

รูปที่ 3.3 สาหร่ายและบริเวณเก็บตัวอย่างสาหร่าย อ.จะนะ จ.สงลา

Prince of Songkla University Pattani Campus

ข. ซีรัมน้ำยางสกิม

ตัวอย่างซีรัมน้ำยางสกิมที่ใช้ในการทดลอง ใช้ซีรัมน้ำยางสกิมจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้นของบริษัทจะนะน้ำยาง จำกัด จังหวัดสงขลา ซึ่งเป็นโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำยางข้น โดยซีรัมน้ำยางสกิมได้จากกระบวนผลิตน้ำยางข้นด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงน้ำยาง ซึ่งผลิตภัณฑ์ ที่ได้จากขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงน้ำยางประกอบด้วยน้ำยางข้นและหางน้ำยาง นำหางน้ำยางที่ได้มาจับตัวยางด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20% จะได้ของเหลวส่วนใส คือ ซีรัมน้ำยางสกิมแสดงได้ดังรูปที่ 3.4

ค. กากตะกอน

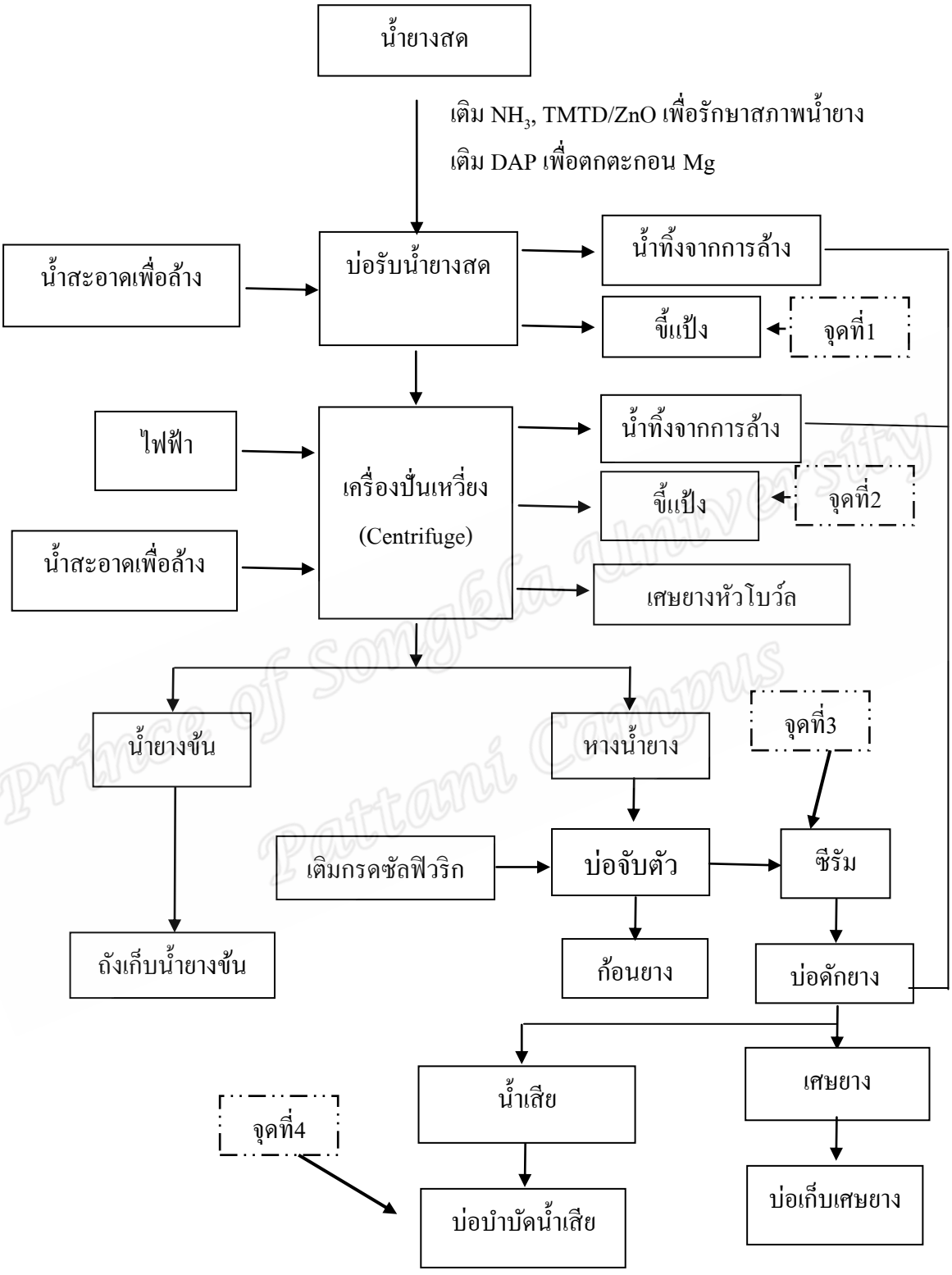
กากตะกอนในการทดลองครั้งนี้ ใช้ในการทดลองเกี่ยวกับประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของกากตะกอนที่ได้จากระบบบำบัดน้ำทิ้งแบบไม่ใช้อากาศของโรงงานผลิตน้ำยางข้น รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพเมื่อเติมกากตะกอนในระบบที่ใช้สาหร่ายขนาดใหญ่ร่วมกับซีรัมน้ำยางสกิม ซึ่งจุดเก็บกากตะกอนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้แสดงดังรูปที่ 3.4

ง. เศษยาง

เศษยางในการทดลองครั้งนี้ จะใช้สำหรับปรับสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในถังปฏิกรณ์ให้ได้ตามกำหนด ซึ่งเศษยางดังกล่าวเป็นวัสดุเศษเหลือ จากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น โดยกระบวนการผลิตน้ำยางข้นนั้นจะเกิดกากของเสียที่เป็นของแข็ง ได้แก่ กากขี้แป้ง ซึ่งในกากขี้แป้งนั้นมีน้ำยางที่จับตัวเป็นก้อนกลายเป็นเศษยางปะปนอยู่ โดยกากขี้แป้งที่ใช้ในการทดลองจะเก็บจากถังพักน้ำยางและจากหัวปั่นน้ำยาง หรือหัวโบว์ล (Centrifuge)

เศษยางถูกนำมาแยกออกจากกากขี้แป้งโดยการฉีดน้ำ และเพื่อเป็นการกำจัดสารอนินทรีย์ที่ตกค้างในกากขี้แป้ง ซึ่งอาจเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำเศษยางที่ได้ มาผึ่งลมให้แห้ง ประมาณ 24 ชั่วโมง ตัดเศษยางให้ได้ขนาดเล็กโดยมีความกว้างและความยาวประมาณ 1-2 ซม. เพื่อเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเชื้อจุลินทรีย์และซับสเตรต ก่อนนำมาเติมในถังปฏิกรณ์

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 3.4 กระบวนการผลิตน้ำยางข้นของโรงงานผลิตน้ำยางข้น และจุดเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง (กรมควบคุมมลพิษ, 2548)

จากรูปที่ 3.3 แสดงจุดเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง โดย

จุดที่ 1 ขี้แป้งจากถังพักน้ำยาง ซึ่งจุดเป็นที่เก็บเศษยาง

จุดที่2 ขี้แป้งหัวปั่นน้ำยาง ซึ่งจุดเป็นที่เก็บเศษยาง

จุดที่ 3 เป็นจุดที่เก็บซีรัมน้ำยางสกิม

จุดที่ 4 เป็นจุดเก็บกากตะกอนโดยเก็บกากตะกอนภายในบ่อบำบัดน้ำเสีย

นำตัวอย่างที่ได้ ศึกษาสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 3.3 และ ตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.3 วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของซีรัมน้ำยางสกิม

สมบัติ	วิธีมาตรฐาน
Electrochemical conductivity (EC)	APHA, AWWA and WEF (1998)
pH	AOAC Official Method 973.41
Total solid content (TSC)	AOAC Official Method 920.93 (2000)
Volatile solid content (VSC)	AOAC Official Method 920.93 (2000)
Total Kjeldahl nitrogen (TKN)	AOAC Official Method 973.48 (2000)
Total organic carbon (TOC)	Walkley and Black (1934)
Available phosphorus	Mehlich (1984)
Chemical oxygen demand (COD)	AOAC Official Method 973.46 (2000)

ตารางที่ 3.4 วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสาหร่าย

สมบัติ	วิธีมาตรฐาน
Total solid content (TSC)	AOAC Official Method 920.93 (2000)
Volatile solid content (VSC)	AOAC Official Method 920.93 (2000)
Total Kjeldahl nitrogen (TKN)	AOAC Official Method 973.48 (2000)
Total organic carbon (TOC)	Walkley and Black (1934)
Available phosphorus	Mehlich (1984)

Prince of Songkla University Pattani Campus

3) การออกแบบระบบการผลิตแก๊สชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

ระบบการผลิตผลิตแก๊สชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะดำเนินการหมักแก๊สแบบกะ และทำการวัดอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยใช้หลักการแทนที่น้ำด้วยแก๊สชีวภาพ ระบบหมักแก๊สชีวภาพประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

ก. ชุดหมักมีฝาปิดสนิท ซึ่งทำการปิดรอยรั่วด้วยกาวซิลิโคน

ข. ขวดพลาสติกรองรับแก๊สชีวภาพ เพื่อรองรับแก๊สชีวภาพที่ได้จากถังหมัก

ค. ขวดแก้วรองรับน้ำที่ล้นออกมาจากขวดพลาสติกรองรับแก๊สชีวภาพ ก่อนนำไปตวงด้วยกระบอกตวง

จากรูปที่ 3.5 เมื่อแก๊สชีวภาพเกิดขึ้นในชุดหมัก (ส่วนที่ 1) แก๊สนั้นจะเคลื่อนที่ไปยังขวดพลาสติกที่บรรจุน้ำ (ส่วนที่ 2) แล้วดันน้ำล้นไปยังขวดแก้วรองรับน้ำที่ล้น (ส่วนที่ 3) จากนั้นทำการวัดปริมาตรน้ำที่ล้นออกมาในขวดแก้วด้วยกระบอกตวง ทำให้สามารถทราบถึงปริมาตรแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นได้

การที่องค์ประกอบส่วนใหญ่ของแก๊สชีวภาพเป็นแก๊สมีเทน (CH_4) ประมาณ 50 - 70% และ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณ 30 - 50% ซึ่งแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มีสมบัติสามารถละลายได้ในน้ำ แต่ความสามารถในการละลายน้ำของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เวลาในการสัมผัสน้ำ และความดัน โดยที่อุณหภูมิต่ำโดยเฉพาะอุณหภูมิต่ำกว่า 20 ^{0}C แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายดีกว่าที่อุณหภูมิสูง (ที่อุณหภูมิ 20 ^{0}C แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำได้ 1.5 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม ส่วนที่อุณหภูมิ 30 ^{0}C สามารถละลายน้ำได้น้อยกว่า 1 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม) อีกทั้งถ้าสามารถสัมผัสน้ำได้นานกว่าความสามารถในการละลายน้ำจะเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มความดันความสามารถในการละลายน้ำของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นด้วย (El mhurst College, 2012) แต่การผลิตแก๊สชีวภาพทำการทดลองที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 ^{0}C ที่ความดันบรรยากาศ และระยะเวลาในการสัมผัสน้ำของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มีระยะเวลาที่สั้น ดังนั้นอัตราการละลายน้ำของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จึงสามารถละลายได้น้อย และไม่มีผลต่อการวัดปริมาตรแก๊สชีวภาพที่ผลิตได้จากการทดลอง นอกจากนี้แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเป็นแก๊สอีกชนิดหนึ่งที่เป็นองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ และมีสมบัติสามารถละลายน้ำได้เช่นเดียวกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แต่ปริมาณของแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ในแก๊สชีวภาพมีปริมาณน้อยมาก ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่า 1% (Stern *et al.,* 1998) ดังนั้นจึงไม่มีผลต่อการวัดอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพโดยวิธีการแทนที่น้ำเช่นกัน

รูปที่ 3.5 ระบบผลิตแก๊สชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ (พรเทพ, 2551)
ส่วนที่ 1 ชุดหมักพร้อมฝาปิด ปริมาตร 500 มิลลิลิตร
ส่วนที่ 2 ขวดพลาสติกรองรับแก๊สชีวภาพ ปริมาตร 750 มิลลิลิตร
ส่วนที่ 3 ขวดแก้ววัดปริมาตรน้ำ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.1 ประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของกากตะกอน

การทดลองผลิตแก๊สชีวภาพ โดยมีการเปรียบเทียบการเติมหัวเชื้อที่แตกต่างกันต่อปริมาณผลผลิตแก๊สชีวภาพ โดยใช้ชุดหมักขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งหัวเชื้อที่ใช้ได้แก่ มูลวัวสด และ สลัดจ์จากโรงงานผลิตน้ำยางข้น โดยชุดการทดลองจะต้องมีการคนเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยสาเหตุที่เปรียบเทียบการเติมหัวเชื้อต่อปริมาณผลผลิตแก๊สชีวภาพ เนื่องจากกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์หลายชนิด ดังนั้นการเติมหัวเชื้อให้เชื้อจุลินทรีย์มีการปรับตัวและเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์เข้าสู่ระบบ (Vergara-Fernández *et al*., 2008) นอกจากนี้นำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองถัดไป ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลองเป็นดังนี้

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 3.5 สูตรที่ใช้หมักแก๊สชีวภาพในการเปรียบเทียบการเติมหัวเชื้อต่างชนิดกัน

ชุดการทดลองที่	สัดส่วนมวลของซับสเตรต (น้ำหนักสด)		
	มูลวัวสด	กากตะกอน	น้ำ
1	2	-	1
2	1	1	1
3	-	2	1

ขั้นตอนการหมักหัวเชื้อในการผลิตแก๊สชีวภาพ

ก. เติมหัวเชื้อที่ใช้ในการหมัก ซึ่งได้แก่ มูลวัวสด และกากตะกอนจากโรงงานผลิตน้ำยางข้น สัดส่วนดังตารางที่ 3.5

ข. เติมน้ำดังตารางที่แสดงข้างต้นในแต่ละชุดการทดลอง

ค. ปิดฝาขวด พร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิดรอยรั่วด้วยกาวซิลิโคน เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ

ง. นำชุดการทดลองหมักที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C เป็นเวลา 14 วัน

จ. ตรวจวัดปริมาตรแก๊ส ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยวิธีการแทนที่น้ำ

ฉ. เปรียบเทียบศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของหัวเชื้อแต่ละชนิด และนำชุดที่ให้ผลผลิตแก๊สชีวภาพสูงสุด ใช้เป็นหัวเชื้อในขั้นตอนต่อไป

3.2 ผลของการเติมและไม่เติมกากตะกอนต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

การทดลองผลิตแก๊สชีวภาพ โดยมีการเปรียบเทียบการผลิตแก๊สชีวภาพเมื่อมีการเติมกากตะกอน และไม่เติมกากตะกอนเข้าสู่ระบบการหมักซึ่งแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการคนให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยกากตะกอนเติมลงไปเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์เข้าสู่ระบบ และเพื่อสังเกตปริมาตรแก๊สชีวภาพที่ได้ในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ ($L\ kgVS^{-1}_{added}$) นอกจากนี้นำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองถัดไป ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลองเป็นดังนี้

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 3.6 สูตรที่ใช้หมักแก๊สชีวภาพในระบบที่มีการเติมและไม่เติมกากตะกอน

สูตร	สัดส่วนมวลของซับสเตรต (น้ำหนักสด)	
	สาหร่าย	ซีรัมน้ำยางสกิม
1	3	-
2	2	1
3	1	2
4	-	3

หมายเหตุ การทดลองเพื่อศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพเมื่อเติมกากตะกอนในระบบ มีการเติมกากตะกอนร้อยละ1โดยน้ำหนักในทุก ๆ ระบบ

ขั้นตอนการหมักสาหร่ายร่วมกับซีรัมน้ำยางสกิมในระบบที่มีการเติมและไม่เติมกากตะกอน

ก. เติมสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม ที่แปรปริมาณตามสัดส่วนดังแสดงข้างต้น ตามตารางที่ 3.6 โดยให้มีปริมาณที่ใช้หมัก ประมาณ 350 มิลลิลิตร

ข. ปิดฝาขวด พร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิดรอยรั่วด้วยกาวซิลิโคน เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาวะปิด

ค. นำชุดการทดลองหมักที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C

ง. ตรวจวัดปริมาตรแก๊ส ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยวิธีการแทนที่น้ำ ในระยะเวลา 30 วัน

จ. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพระหว่างระบบที่มีการเติม และไม่เติมกากตะกอนจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น เพื่อเป็นหัวเชื้อในการหมัก และนำชุดที่ให้ผลผลิตแก๊สชีวภาพสูงสุด ใช้เป็นหัวเชื้อในขั้นตอนต่อไป

3.3 ความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพของสาหร่ายขนาดใหญ่และซีรัมน้ำยางสกิม

การทดลองผลิตแก๊สชีวภาพ โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพระหว่างสาหร่ายขนาดใหญ่ และ ซีรัมน้ำยางสกิมจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น ทำการทดลองสองส่วนหลักๆ ได้แก่

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.3.1 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของวัตถุดิบแต่ละชนิด

การทดลองประสิทธิภาพผลิตแก๊สชีวภาพของวัตถุดิบแต่ละชนิด โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพระหว่างสาหร่ายขนาดใหญ่ 2 ชนิดจาก *Chaetomorpha* sp., *Ulva intestinalis* และซีรัมน้ำยางจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น โดยแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสาเหตุที่เลือกสาหร่าย *Chaetomorpha* sp. และ*Ulva intestinalis* เนื่องจากมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) สูง หากในอนาคตโรงงานผลิตน้ำยางข้นทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดใหญ่ในบ่อบำบัดน้ำทิ้งสุดท้าย จะสามารถช่วยดูดซับสารต่างๆในน้ำออกไป และได้สาหร่ายเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ โดย Silva *et al*., 2008 รายงานอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Chaetomorpha indica* ประมาณร้อยละ 30ต่อวัน นอกจากมีอัตราการเจริญเติบโตสูง สาหร่ายตระกูลนี้มีอัตราการดูดซึมสารอาหารในอัตราที่สูง และสามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้ของเสีย ตัวอย่างเช่น *Ulva lactuca* สามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้มูลสัตว์ (Nielsen *et al*., 2011) ส่วน *Gracilaria crassa* and *Ulva reticulate* สามารถเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลา (Msuya and Neori, 2002) นอกจากนี้เป็นสาหร่ายที่สามารถพบได้ทั่วไปในท้องถิ่น

การทดลองนี้ เพื่อประเมินประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายขนาดใหญ่ และซีรัมน้ำยางสกิม ทำการหมักในระดับห้องปฏิบัติการ ถังปฏิกรณ์ขนาด 500 มิลลิลิตร ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C โดยประเมินประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ จากปริมาตรแก๊สชีวภาพที่ได้ในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ (L $KgVS^{-1}_{added}$) และหน่วยปริมาตรแก๊สชีวภาพต่อปริมาตรของซับสเตรตที่ใช้ (L $L^{-1}_{working\ volume}$) ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลอง เป็นดังนี้

ตารางที่ 3.7 สูตรที่ใช้ในการหมักแก๊สชีวภาพในการเปรียบเทียบความสามารถในผลิตแก๊สชีวภาพของสาหร่าย และซีรัมน้ำยางสกิม

ชุดการทดลองที่	สัดส่วนมวลของซับสเตรต (น้ำหนักสด)		
	***Chaetomorpha* sp.**	***U lva intestinalis***	**ซีรัมน้ำยางสกิม**
1	4	-	-
2	-	-	4
3		4	-

3.3.2 การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากการผสมวัตถุดิบ

ทำการศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพในระบบแบบผสมวัตถุดิบ (Codigestion system) โดยผสมระหว่างสาหร่ายขนาดใหญ่ทั้งสองชนิด *Chaetomorpha* sp. และ *Ulva intestinalis* กับซีรัมน้ำยางสกิมจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น ในสัดส่วนต่างๆ ทั้งหมด หกชุดการทดลอง โดยแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการวัดปริมาตรแก๊สชีวภาพในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ (L $kgVS^{-1}_{added}$) และหน่วยปริมาตรแก๊สชีวภาพต่อปริมาตรของซับสเตรตที่ใช้ (L $L^{-1}_{working\ volume}$) ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลอง เป็นดังนี้

ตารางที่ 3.8 สูตรที่ใช้หมักแก๊สชีวภาพในการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากการผสมวัตถุดิบ

ชุดการทดลองที่	สัดส่วนมวลของซับสเตรต (น้ำหนักสด)		
	***Chaetomorpha* sp.**	***Ulva intestinalis***	**ซีรัมน้ำยางสกิม**
1	3	-	1
2	2	-	2
3	1	-	3
4	-	1	3
5	-	2	2
6	-	3	1

ขั้นตอนการหมัก เพื่อประเมินการผลิตแก๊สชีวภาพของสาหร่ายขนาดใหญ่และซีรัมน้ำยางสกิม

ก. เติมสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม ที่แปรปริมาณตามสัดส่วนดังแสดงข้างต้น ตามตารางที่ 3.8 โดยให้มีปริมาณที่ใช้หมัก ประมาณ 350 มิลลิลิตร

ข. ปิดฝาขวด พร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นปิดรอยรั่วด้วยกาวซิลิโคน เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ

ค. นำชุดการทดลองหมักที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C ในระยะเวลา 30 วัน

ง. ตรวจวัดปริมาตรแก๊ส ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยวิธีการแทนที่น้ำ

Prince of Songkla University Pattani Campus

จ. ประเมินศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของวัตถุดิบแต่ละชนิด โดยเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตของวัตถุดิบแต่ละชนิด และระบบที่มีการผสมรวมของวัตถุดิบ

3.4 ผลของสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม

การทดลองผลของสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) ต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายและน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น โดยควบคุมสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 10, 15, 20 และ 30 สาเหตุที่เลือกทดลองในช่วงดังกล่าว เนื่องจาก Zubr (1986) ค้าการศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจากหญ้าหมัก (Silage) ได้รายงานสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สชีวภาพอยู่ในช่วง 15 – 30 ดังนั้นจึงกำหนด การทดลองให้ครอบคลุมกับช่วงสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมดังกล่าว โดยใช้เศษขี้ยาง ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น ในการปรับสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ใช้ระยะเวลาการทดลอง 30 วัน โดยแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเปรียบเทียบปริมาณการผลิตแก๊สชีวภาพ ในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ ($L\ kgVS^{-1}_{added}$) นอกจากนี้นำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองถัดไป

ขั้นตอนการหมัก เพื่อประเมินผลของสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

ก. เติมสาหร่าย และซีรัมน้ำยางสกิม ในสัดส่วนสาหร่ายต่อซีรัมน้ำยางสกิมเป็น 3 ต่อ 1 โดยน้ำหนักสด

ข. เติมเศษขี้ยางจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น เพื่อควบคุมสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต้องการ โดยกำหนดสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 10, 15, 20 และ 30

ค. ปิดฝาชุดหมักพร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิดรอยรั่วด้วยกาวซิลิโคน เพื่อให้อยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ

ง. นำชุดการทดลองหมักที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C เป็นเวลา 30 วัน

จ. ตรวจปริมาตรการผลิตแก๊สชีวภาพ ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยวิธีการแทนที่น้ำ

ฉ. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อนำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองครั้งต่อไป

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.5 ผลของปริมาณของแข็งทั้งหมด ต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม

การทดลองผลของของแข็งทั้งหมด (Total solid content) ต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ ซึ่งจะเลือกการควบคุมของแข็งในช่วงของการย่อยในระบบไร้อากาศแบบเปียก (wet anaerobic digestion) เนื่องจากสามารถเริ่มต้นการผลิตแก๊สชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว และสามารถผลิตแก๊สชีวภาพในแต่ละวันได้ในปริมาณที่สูง (Lianhua *et al.,* 2010) โดยจะควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมด 5, 8, 11, 14 และ 17% TSC ใช้ระยะเวลาการทดลอง 30 วัน โดยแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเปรียบเทียบปริมาณการผลิตแก๊สชีวภาพของแต่ละชุดการทดลองในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ (L $kgVS^{-1}_{added}$) และนำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองถัดไป ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลอง เป็นดังนี้

ตารางที่ 3.9 สูตรที่ใช้ในการหมักแก๊สชีวภาพในการศึกษาผลของของแข็งทั้งหมดต่อความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพ

ชุดการทดลองที่	สัดส่วนมวลของสาหร่าย ซีรัมน้ำยางสกิม (โดยน้ำหนักสด)	%TSC ในชุดหมัก
1	1:3	5
2	1:3	8
3	1:3	11
4	1:3	14
5	1:3	17

ขั้นตอนการหมัก เพื่อประเมินผลของปริมาณของแข็งทั้งหมดต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

ก. เติมสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม ที่แปรปริมาณตามสัดส่วนดังแสดงข้างต้น ตามตารางที่ 3.9 โดยให้มีปริมาณที่ใช้หมัก ประมาณ 350 มิลลิลิตร

ข. ควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง ได้แก่ 5, 8, 11, 14 และ 17% TSC

ค. ปิดฝาขวด พร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิดกาวซิลิโคน เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ

ง. นำชุดการทดลองหมักที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C

Prince of Songkla University Pattani Campus

จ. ตรวจวัดปริมาตรแก๊ส ทุก ๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 30 วัน เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้น โดยวิธีการแทนที่น้ำ

ฉ. เปรียบเทียบผลผลิตของแก๊สชีวภาพ เพื่อประเมินผลของปริมาณของแข็งทั้งหมดต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ จากนั้นนำสภาวะที่สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้สูงที่สุดไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

3.6 ผลของค่าพีเอชของวัตถุดิบ ต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายและซีรัมน้ำยางสกิม

การศึกษาผลของค่าพีเอชต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยควบคุมค่าพีเอชของวัตถุดิบ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ สาเหตุที่เลือกทดลองในช่วงดังกล่าว เนื่องจากค่าพีเอชของซีรัมน้ำยางสกิมที่ใช้ในการทดลอง มีค่าพีเอชประมาณ 5 นอกจากนี้ จากรายงานของ Yadvika *at al.* (2004) ระบุว่าควรควบคุมค่าพีเอชในถังปฏิกรณ์ให้อยู่ในช่วง 6.8 – 7.2 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อกาทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นเพื่อให้ครอบคลุมกับช่วงดังกล่าวจึงดำเนินการทดลองตามค่าที่ได้ระบุข้างต้น โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลาการทดลอง 30 วัน โดยแต่ละชุดการทดลองจะต้องมีการเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเปรียบเทียบปริมาณการผลิตแก๊สชีวภาพของแต่ละชุดการทดลองในหน่วยลิตรต่อกิโลกรัมต่อปริมาณของแข็งระเหยได้ ($L\ kgVS^{-1}_{added}$) และนำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองถัดไป ซึ่งสูตรที่ใช้ในการทดลอง เป็นดังนี้

ตารางที่ 3.10 สูตรที่ใช้ในการหมักแก๊สชีวภาพในการเปรียบการผลของผลของค่าพีเอชต่อความสามารถในการผลิตแก๊สชีวภาพ

ชุดการทดลอง	สัดส่วนระหว่าง สาหร่าย ต่อซีรัมน้ำยางสกิม (ร้อยละโดยน้ำหนักสด)	ค่าพีเอช
1	1:3	5.0±0.5
2	1:3	6.0±0.5
3	1:3	7.0±0.5
4	1:3	8.0±0.5

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขั้นตอนการหมัก เพื่อประเมินผลของค่าพีเอชต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

ก. เติมสาหร่ายและน้ำทิ้งตามสัดส่วนแสดงไว้ในตารางที่ 3.10

ข. ปรับพีเอชในถังปฏิกรณ์ด้วย สารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) หรือ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (1 M HCl)

ค. ปิดฝาชุดการหมัก พร้อมทั้งเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิดกาวซิลิโคน เพื่อให้อยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ

ง. นำชุดการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะแบบมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 32±3 ^{o}C เป็นเวลา 30 วัน

จ. วัดปริมาตรการผลิตแก๊สชีวภาพ ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณแก๊สทั้งหมดที่เกิดขึ้นโดยวิธีการแทนที่น้ำ

ฉ. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อนำสภาวะที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองครั้งต่อไป

3.7 ปริมาณแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพ

การหาปริมาณแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพที่ผลิตจากระบบที่พัฒนาจากสภาวะที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ขนาด 0.5 ลิตร โดยการทดลองครั้งนี้มีการขยายระดับการผลิต ซึ่งมีการเพิ่มขนาดของถังปฏิกรณ์ประมาณ 12 เท่า โดยเพิ่มจาก 0.5 ลิตร เป็น 6.0 ลิตร ทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการในระบบแบบกะ โดยใช้สัดส่วนระหว่างสาหร่ายต่อซีรัมน้ำยางสกิมประมาณสามส่วนต่อหนึ่งส่วนโดยน้ำหนัก รวมทั้งมีการควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมดในถังปฏิกรณ์ ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 15 และหมักที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ในสภาวะมีโซฟิลิก ระยะในการทดลอง 45 วัน

โดยมีการวัดอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพทุก ๆ 1วัน โดยใช้เทคนิคการแทนที่น้ำ และเก็บตัวอย่างแก๊ส ในช่องว่างของถังปฏิกรณ์ (Head space) ซึ่งในช่วง 25 วันแรก จะเก็บทุก ๆ 1 วัน หลังจากนั้นจะเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแก๊สมีเทนที่ผลิตได้ โดยใช้เครื่อง GC-TCD (Shimadzu, Japan)

หลักจากการหมักครบ 45 วัน ทำการเก็บตัวอย่างของเหลว เพื่อทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้ ด้วยวิธีไทเทรต (DiLallo and Albertson, 1961)

Prince of Songkla University Pattani Campus

การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สมีเทนด้วยเครื่องมือขั้นสูง

การวิเคราะห์ปริมาณแก๊สมีเทน วิเคราะห์โดยเครื่อง Gas Chromatography 8A, Shimadzu ประเทศญี่ปุ่นโดยใช้สภาวะ ดังนี้

Detector: Thermal Conductivity Detector

Column: Porapak Q, Shimadzu

Carrier gas: Helium gas (He)

Flow rate: 30 mL/min

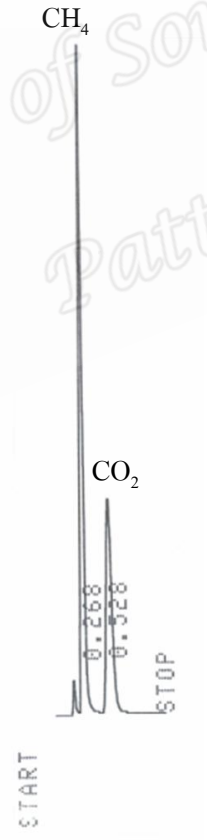
Injector temperature: 50 ºC

Column temperature: 30 ºC

Detector temperature: 50 ºC

Current: 70 mA

Injection volume : 0.5 mL



รูปที่ 3.6 โครมาโทแกรมของแก๊สมีเทนมาตรฐาน (Standard CH_4)

Prince of Songkla University Pattani Campus

จากรูปที่ 3.6 แสดงโครมาโทแกรมของแก๊สมีเทนมาตรฐาน จะปรากฏสองพีค (peak) หลัก โดยพีคที่ 0.268 นาที ได้แก่ แก๊สมีเทน ส่วนพีคที่ 0.528 นาที ได้แก่ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

รูปที่ 3.7 คอลัมน์ Porapak Q สำหรับวิเคราะห์แก๊สมีเทน (Shimadzu, Japan)

รูปที่ 3.8 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์แก๊สชีวภาพรุ่น GC-TCD 8A (Shimadzu, Japan)

Prince of Songkla University Pattani Campus