การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

Biogas Production from Co-digestion of Pretreated Biodiesel Processing Wastewater and Decanter Cake from Palm Oil Mill

เมธิยา หมวดฉิม

Maytiya Muadchim

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management Prince of Songkla University

2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

หมู่ TD745 .M73 2555
Bib Key 361189

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ผู้เขียน เมธิยา หมวดฉิม

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยศรี สุขสาโรจน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธันวดี สุขสาโรจน์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ดร.อรมาศ สุทธินุ่น)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีระศักดิ์ ทองลิมป์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะรัตน์ บุญแสวง)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยศรี สุขสาโรจน์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธันวดี สุขสาโรจน์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ผู้เขียน เมธิยา หมวดฉิม

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

กระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มและน้ำมันพืชใช้แล้วด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชั่น ก่อให้เกิดน้ำเสียที่มีลักษณะเป็นอิมัลชัน มีค่าพีเอช สารอินทรีย์ ปริมาณไขมันและน้ำมันสูง น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลยากต่อการบำบัดด้วยวิธีทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบำบัดทางชีวภาพ เนื่องจากลักษณะของน้ำเสียยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการบำบัดน้ำเสียขั้นต้นก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้ใช้น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นด้วยกระบวนการร่วมระหว่างการปรับค่าพีเอชให้เป็นกรด กระบวนการสร้างตะกอนและกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ ระบบดังกล่าวสามารถกำจัด ซีโอดี ไขมันและน้ำมันในน้ำเสียได้ 80-90% และ 95-99.5% ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามซีโอดีสุดท้ายยังมีค่าเท่ากับ 15 g/L และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำมาก ซึ่งน้อยกว่าค่าแนะนำในการเดินระบบแบบไม่ใช้อากาศ (COD/N=150:1) ดังนั้นการหาแหล่งไนโตรเจนเพิ่มเติมจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ในการย่อยสลายทางชีวภาพ กากตะกอนดีแคนเตอร์ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการสกัดน้ำมันปาล์ม ที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงจึงถูกนำมาใช้เป็นวัสดุหมักร่วม

การศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตมีเทนและศักยภาพในการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแคนเตอร์ ในระดับห้องปฏิบัติการเดินระบบแบบกะ ที่อุณหภูมิ 35 °C ทำการทดลองที่ค่าของแข็งของกากตะกอนดีแคนเตอร์เท่ากับ 0, 1, 2.5, 5 และ 10 %w/v ผลการทดลองพบว่ากากตะกอนดีแคนเตอร์สามารถใช้เป็นวัสดุหมักร่วมได้โดยไม่ต้องเติมสารอาหารอื่น และปริมาณกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่เหมาะสมเท่ากับ 2.5 %w/v ให้ผลผลิตมีเทนสูงสุดเท่ากับ 0.27 L CH_4/g $VS_{removed}$ และสามารถกำจัดของแข็งระเหยง่ายได้ 43.35 %

ส่วนการทดลองในถังปฏิกรณ์ CSTR เดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง ทำการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 6, 12, 24 และ 36 วัน (OLR 0.71-4.29 gVS/L/day) ควบคุมปริมาณกากตะกอนดีแคนเตอร์เท่ากับ 2.5 %w/v พบว่าผลผลิตมีเทนเท่ากับ 0.35 L CH_4/gVS $_{added}$ ที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน (OLR 2.14 gVS/L/day) ปริมาณธาตุอาหารในกากตะกอนที่ได้จากการหมักร่วม พบว่ามีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเหมาะสมในการผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์แต่ยังขาดแคลนโพแทสเซียม (N-P-K=1-1-0.25) ซึ่งตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2527) กำหนดไว้ เท่ากับ 1-1-0.5 แต่อย่างไรก็ตาม แหล่งโพแทสเซียมอาจหาได้จากโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสกัดกลีเซอรอลให้บริสุทธิ์หรือใช้ขี้เถ้าที่เกิดขึ้นจากการเผาปาล์มน้ำมัน ดังนั้นกากตะกอนที่เหลือทิ้งจากการหมักสามารถนำมาปรับปรุงคุณสมบัติเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นปุ๋ยหรือวัสดุปรับปรุงดินได้

Thesis Title	Biogas Production from Co-digestion of Pretreated Biodiesel Processing Wastewater and Decanter Cake from Palm Oil Mill
Author	Miss Maytiya Muadchim
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2011

ABSTRACT

The manufacturing process of biodiesel from palm and vegetable oil with the transesterification reaction usually generate an emulsion, high pH, COD, grease & oil process contaminated wastewater. Biodiesel wastewater is difficult to treat by conventional method especially the biological wastewater treatment caused by its characteristic which contains difficultly biodegradable contents. Therefore it needs the appropriate technique especially pretreatment prior to be decomposed in biological digestion process. The biodiesel processing wastewater used in this study was pretreated by the combination of acidification, coagulation and dissolved air flotation. The removal efficiency of COD and grease and oil of this pretreatment process were in the range of 80-90% and 95-99.5% respectively. However, the COD residue found was 15 g/L whereas total nitrogen residue found was rather low. The value of COD/N was less than recommended values for the anaerobic system (COD/N=150:1). It is necessary to find the nitrogen source for microorganisms biodegradation. The decanter cake (DC), the residue waste from palm oil mill is an attractive alternative nitrogen source due to it contains high nitrogen content. Therefore it was used as a co-substrate in this study. The methane gas production efficiency and a potential of an anaerobic co-digestion of pretreated biodiesel processing wastewater (PBW) and DC were investigated on laboratory-scale in batch digesters operated at 35°C. The digesters were fed by the PBW which was used as a main substrate and the co-substrate, DC at 0, 1, 2.5, 5 and 10 %w/v. The result showed that the DC could compensate the lack of nitrogen in PBW digestion without the need of other substances addition. The optimal total solid of decanter cake found in this study was 2.5 %w/v. Under the optimal condition, the co-digestion of these substrates gave the maximal methane yield and volatile solids (VS) removal efficiency by 0.27 L CH_4/g $VS_{removed}$ and 43.35 %, respectively.

The semi-continuous experiment for co-digestion of PBW and DC had also done in completely stirred tank reactor (CSTR) (35°C). The HRT was varied in the range 6-36 days (OLR 0.71-4.29 gVS/L/day) whereas the DC content was fixed at 2.5 %w/v for all experiments. The result was found that the maximum methane yield obtained was 0.39 L CH_4 /gVS $_{added}$ from the experiment operated with HRT 12 days (OLR 2.14 gVS/L/day).

Finally, the quality of remaining sludge was determined. The concentrations of mineral element in the remaining sludge generated at the end of the co-digestion. Standard nitrogen and phosphorus were in the optimum range of organic fertilizer but it lacks potassium (N-P-K=1-1-0.25). The recommended (N-P-K) values in organic compost of Thai Industrial Standard Institute, Ministry of Industry (1984) was 1-1-0.5. However the potassium source may be found from potassium phosphates, a by-product from glycerol purification or ash from palm oil incinerator. The remaining sludge was very rich in mineral element that could be valorized to be used as a compost or fertilizer.

Keywords: biodiesel; decanter cake; palm oil mill; anaerobic co-digestion; biogas; methane

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผศ.ดร.ชัยศรี สุขสาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ซึ่งได้ให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่ สนับสนุน และให้กำลังใจตลอดมา ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ธันวดี สุขสาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ร่วมถึงกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและเสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ตลอดช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณอาจารย์ในคณะการจัดการสิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ทางด้านวิชาการตลอดจนข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการอบรมเทคนิค PCR-DGGE

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณกองทุนส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน (สนพ.) ที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณครอบครัวหมวดฉิมทุกคน รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจด้วยดีตลอดมา ความดีและคุณประโยชน์ที่ได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุก ๆท่าน

เมธิยา หมวดฉิม

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
รายการตาราง	(12)
รายการภาพประกอบ	(14)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(16)
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร	3
1.3 วัตถุประสงค์	49
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	49
1.5 ขอบเขตการวิจัย	50
2 วิธีการวิจัย	
2.1 วัสดุ/อุปกรณ์	51
2.1.1 น้ำเสียไบโอดีเซล	
2.1.2 กากตะกอนดีแคนเตอร์	52
2.1.3 ตะกอนจุลินทรีย์ (Inoculums)	52
2.1.4 ถังปฏิกรณ์ในการเดินระบบระดับห้องปฏิบัติการ	53
2.1.4.1 ถังปฏิกรณ์แบบกะ	
2.1.4.2 ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง	54
2.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	56
2.2.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำเสียจากจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้น	
2.2.2 การทดลองที่ 2 การหมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่อัตราส่วนต่างๆด้วยระบบแบบกะ (Batch)	58
2.2.3 การทดลองที่ 3 การหมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง	59

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญ	หน้า
2.3 การวัดปริมาณก๊าซชีวภาพและวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซ	66
2.4 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย น้ำทิ้ง และกากตะกอนจากระบบหมักไม่ใช้อากาศ	66
2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	68
3 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	
3.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้น กากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และหัวเชื้อจุลินทรีย์จากการโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	70
3.2 การหมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกะ (Batch)	74
3.2.1 ผลของพีเอชต่อต่อระบบในถังปฏิกรณ์	75
3.2.2 ผลการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพการเกิดมีเทนของการหมักร่วมน้ำเสียจากการ ผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นกับกากตะกอนดีแคนเตอร์	77
3.2.3 ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย (VS removal efficiency)	80
3.2.4 เปอร์เซ็นมีเทนของก๊าซชีวภาพ	80
3.2.5 ผลผลิตมีเทน (Biogas production and methane yield)	81
3.3 การหมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ระยะเวลากักเก็บ ต่างๆด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง	85
3.3.1 ความเสถียรภาพ (The stability of digester)	85
3.3.2 ผลของวัสดุหมักต่อการผลิตมีเทนและผลผลิตมีเทน (The role of substrate on methane productivity and yield)	89
3.3.3 ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการผลิตมีเทนและผลผลิตมีเทน	90
3.3.4 ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการกำจัดของแข็งระเหยง่ายและซีโอดี	94

สารบัญ (ต่อ)

สารบัญ	หน้า
3.4 ผลศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ด้วยเทคนิค PCR-DGGE	98
3.5 การวิเคราะห์สมบัติของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศระหว่างน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดข้างต้นแล้วและกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	104
4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	
4.1 บทสรุป	106
4.2 ข้อเสนอแนะ	108
เอกสารอ้างอิง	109
ภาคผนวก	121
ประวัติผู้เขียน	148

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1-1	ลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	5
1-2	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมัน	12
1-3	องค์ประกอบทางเคมีของขี้เถาจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	13
1-4	ความเข้มข้นอิออนบวก ที่กระตุ้นและยับยั้ง	23
1-5	ระดับความเป็นพิษของแอมโมเนีย	24
1-6	ข้อดี ข้อเสีย เดินระบบด้วยระบบถังหมักกวนสมบูรณ์	29
1-7	ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียแบบไม่ใช้อากาศ	31
1-8	เกณฑ์การออกแบบระบบถังกวนสมบูรณ์	32
1-9	ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลากักเก็บ กับการกำจัดของแข็งระเหยของถังหมักตะกอน	33
1-10	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นตะกอน กับเวลาเก็บกักและอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ของถังหมักตะกอน	34
1-11	องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ	37
1-12	ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพในด้านต่างๆ	37
1-13	การจัดหมวดหมู่ของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน	41
1-14	General characteristics of some methanogenic bacteria	42
2-1	ชนิดของวัสดุหมัก และปริมาณกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ใช้ในการทดลองการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบแบบกะ (Batch)	58
2-2	ชนิดของวัสดุหมัก ระยะเวลากักเก็บ และปริมาตรของเสียที่เติม-ออก ในแต่ละวันในการทดลองการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง	60
2-3	ไพรเมอร์ที่ใช้ในเทคนิค PCR-DGGE ในงานวิจัยนี้	64
2-4	พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัด วิธีการวิเคราะห์ ความถี่ ตัวอย่างคุณภาพน้ำเสียและน้ำทิ้งจากระบบการหมักไม่ใช้อากาศ	67
2-5	วิธีการวิเคราะห์ลักษณะวัสดุหมักกากตะกอนดีแคนเตอร์และกากตะกอนที่เกิดขึ้นจากการหมักแบบใช่อากาศ	67

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
3-1	สมบัติทางกายภาพ-เคมี ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว	73
3-2	สมบัติทางกายภาพ-เคมี ของกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และหัวเชื้อตะกอนจุลินทรีย์จากการโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	74
3-3	ค่าพีเอชเริ่มต้นและสิ้นสุดและประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย	76
3-4	อัตราส่วนระหว่าง COD:TKN ของวัสดุหมักในการทดลอง	77
3-5	การเปลี่ยนแปลงของมีเทนที่เกิดขึ้นของแต่ละชุดการทดลอง	82
3-6	ผลผลิตมีเทน (Methane yield in the literature) ในการเดินระบบแบบ Batch	84
3-7	ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียแต่ละแหล่ง	95
3-8	ผลผลิตมีเทน (Methane yield in the literature)ด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR	96
3-9	ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการผลิตก๊าซชีวภาพในการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่องของการหมักร่วมระหว่าง PBW+DC2.5%, DC2.5% และ PBW	97
3-10	ชนิดของจุลินทรีย์และจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบ	100
3-11	ชนิดของ Bacteria และ Archaea ที่พบในตัวอย่างน้ำทิ้ง	101
3-12	ลักษณะสมบัติต่างๆ ของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักไม่ใช้อากาศ และมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์	104

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ		หน้า
1-1	แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตเมทิลเอสเตอร์ (ไบโอดีเซล) จากน้ำมันปาล์ม	4
1-2	การผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำด้วยเครื่องแบบสกรู	11
1-3	ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพไม่ใช้อากาศ	18
1-4	จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในแต่ละขั้นตอนของการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ	19
1-5	ไดอะแกรมระบบถังกวนสมบูรณ์	28
1-6	ไดอะแกรมแสดงหลักการของ DGGE	39
1-7	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 20 เท่า	46
2-1	ลักษณะของน้ำเสียไบโอดีเซลก่อนการบำบัดเบื้องต้น	51
2-2	ลักษณะกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	52
2-3	ลักษณะตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย	52
2-4	แบบจำลองระบบหมักไม่ใช่อากาศแบบกะในห้องปฏิบัติการ	53
2-5	ลักษณะชุดอุปกรณ์และวิธีการเดินระบบ การควบคุมอุณหภูมิและการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการทดลอง	53
2-6	ไดอะแกรมแสดงการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง	55
2-7	ลักษณะชุดอุปกรณ์และวิธีการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง	56
2-8	ขั้นตอนการเตรียมน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล	57
2-9	ขั้นตอนการเก็บก๊าซและเติมเข้า-ออกน้ำเสีย	61
2-10	การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)	62
2-11	ลักษณะอุปกรณ์ของเทคนิค DGGE และเครื่อง GEL-DOC	69
2-12	กรอบแนวคิดและขั้นตอนการวิจัย	71
3-1	ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัด	72
3-2	ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล	78
3-3	ปริมาณมีเทนสะสมของการหมัก	79

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ		หน้า
3-4	ปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมและมีเทนสะสมจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศระยะเวลา 45 วัน	79
3-5	ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย ของแต่ละชุดการทดลอง	80
3-6	ปริมาณมีเทนสูงสุดในการหมักแบบไม่ใช่อากาศด้วยระบบกะ	81
3-7	ประสิทธิภาพผลผลิตมีเทน (methane yield)ของแต่ละชุดการทดลอง	83
3-8	ผลของพีเอชในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	86
3-9	ผลของกรดไขมันระเหยง่ายในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	87
3-10	ผลของสภาพความเป็นด่างในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	88
3-11	ผลของกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่าง (VFA/Alk) ในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	89
3-12	กราฟแสดงการผลิตมีเทนเฉลี่ยของแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	90
3-13	กราฟแสดงเปอร์เซ็นมีเทนสูงสุดของแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆของแต่ละระยะเวลากักเก็บ	91
3-14	กราฟแสดงผลผลิตมีเทนเฉลี่ย (Methane yield in term L CH4/g VS $_{added}$) ของแต่ละระยะเวลากักเก็บ	92
3-15	กราฟแสดงผลผลิตมีเทนเฉลี่ย (Methane yield in term L CH4/g VS $_{removed}$)	92
3-16	ประสิทธิภาพการกำจัด VS แต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	94
3-17	ประสิทธิภาพการกำจัด COD แต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ	94
3-18	โครงสร้างประชากรแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำทิ้ง	99
3-19	ลักษณะกากตะกอนจุลินทรีย์ (sludge) ที่เหลือจากการหมักไม่ใช้อากาศ	103

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

A	=	แอมแปร์ คือ หน่วยของค่ากระแสไฟฟ้า
Al_2O_3	=	Aluminium oxide
Alk	=	Alkalinity คือ ความสามารถของน้ำในการรับอนุภาคโปรตอน ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากองค์ประกอบของสารละลายคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต
CaO	=	Calcium oxide
C/N Ratio	=	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน
COD	=	Chemical oxygen demand คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ด้วยวิธีทางเคมีทั้งในรูปของแข็งและรูปที่ละลายอยู่ในน้ำ
DC	=	Decanter cake คือ กากตะกอนดีแคนเตอร์
DGGE	=	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
Eff	=	Effluent คือ น้ำเสียที่ออกจากระบบ
Fe_2O_3	=	Iron oxide
Inf	=	Influent คือ น้ำเสียที่เข้าระบบ
K_2O	=	Potassium oxide
kg VS/m^3/d	=	กิโลกรัมของแข็งระเหยง่ายต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน
MgO	=	Magnesium oxide
mg/L	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
mL	=	มิลลิลิตร
mL CH_4/mg $VS_{removed}$	=	มิลลิลิตรมีเทนต่อมิลลิกรัมของแข็งระเหยง่ายที่ถูกกำจัด
mL CH_4/mg VS_{added}	=	มิลลิลิตรมีเทนต่อมิลลิกรัมของแข็งระเหยง่ายที่ถูกเติม
Na_2O		Sodium oxide
OC	=	Organic carbon คือ สารอินทรีย์คาร์บอน
OLR	=	Organic loading rate คือ ปริมาณสารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบในแต่ละวัน

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ (ต่อ)

PBW	=	Pretreated Biodiesel Processing Wastewater คือน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว
PCR	=	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง
SiO_2	=	Silicon dioxide
SO_3	=	Sulfur trioxide
PBW	=	Pretreated Biodiesel Wastewater คือ น้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นแล้ว
Temp.	=	Temperature คือ อุณหภูมิ
TK	=	Total potassium คือ โพแทสเซียมทั้งหมด
TKN	=	Total kjeldahl nitrogen คือ ปริมาณไนโตรเจนที่ประกอบด้วยอินทรีย์ไนโตรเจนและแอมโมเนียไนโตรเจน
TN	=	Total nitrogen คือ ไนโตรเจนทั้งหมด
TP	=	Total phosphorus คือ ฟอสฟอรัสทั้งหมด
TS	=	Total solids คือ ของแข็งทั้งหมดที่อยู่ในน้ำ
V	=	โวลต์ คือ หน่วยความต่างศักย์ไฟฟ้า
VFA	=	Volatile fatty acid คือ กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 6 ตัว สามารถละลายน้ำได้น้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถกลั่นได้ที่ความดันบรรยากาศ
VS	=	Volatile solids คือ ของแข็งระเหยง่ายทั้งหมดที่อยู่ในน้ำ หรืออาจเรียกว่า Total volatile solids
VSPP	=	Very Small Power Producer

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ในปัจจุบันประเทศไทยมีความต้องการการใช้น้ำมันดีเซลปริมาณมากขึ้น เนื่องจากจำเป็นต้องใช้ในกระบวนการผลิตและขนส่งทั้งในภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม รัฐบาลต้องเสียเงินนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศเป็นเงินปีละหลายแสนล้านบาท ดังนั้นหลังจากที่คณะรัฐมนตรีได้มีมติเห็นชอบแผนปฏิบัติการพัฒนาและส่งเสริมการผลิตและการใช้ไบโอดีเซลแทนน้ำมันดีเซลร้อยละ 10 ในปี 2555 หรือ 8.5 ล้านลิตร/วัน (Sailasuta, 2005) ส่งผลให้ปัจจุบันมีผู้สนใจและหน่วยงานต่างๆ ผลิตไบโอดีเซลมากขึ้น ซึ่งของเสียและผลพลอยได้จากการผลิตไบโอดีเซลได้แก่ น้ำเสียและกลีเซอรอลดิบ หากขาดการจัดการที่ดีจะทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้โดยเฉพาะน้ำเสียที่มีลักษณะเป็นอิมัลชัน มีน้ำมันและไขมันปนอยู่มากและยากต่อการแยกออกโดยวิธีทั่วไปหรือการนำไปบำบัดโดยทางชีววิทยา วัตถุดิบสำคัญที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล คือ น้ำมันพืชดิบหรือน้ำมันพืชใช้แล้วซึ่งพืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญ คือ ปาล์มน้ำมัน ดังนั้นโรงงานทั้งสองประเภทนี้เป็นโรงงานที่มักเกี่ยวเนื่องกันดังที่ปรากฏให้เห็นทั่วไปในภาคใต้ของประเทศไทย กากตะกอนดีแคนเตอร์ (Decanter cake) เป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์ม ซึ่งประกอบไปด้วยไนโตรเจนตามธรรมชาติในปริมาณสูง จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะเป็นวัตถุดิบหมักร่วมในการหมักน้ำเสียจากไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นเนื่องจากน้ำเสียไบโอดีเซลหลังการบำบัดยังมีความสกปรกสูงแต่ยังขาดธาตุอาหารเสริมที่เหมาะสมในการหมัก (จารุวรรณี เรืองคง, 2551) ดังนั้นการนำกากตะกอนดีแคนเตอร์มาใช้ประโยชน์เป็นการช่วยลดของเสียจากโรงงาน และยังสามารถนำก๊าซมีเทนที่เกิดจากการหมักกลับไปใช้ในโรงงานเป็นการลดค่าใช้จ่ายเรื่องพลังงานที่ต้องใช้ในการผลิตและลดก๊าซเรือนกระจกที่ส่งผลให้เกิดโลกร้อนได้อีกด้วย

โดยทั่วไปลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล พบว่าปริมาณไขมันและน้ำมัน (Grease & Oil) คือมีค่าสูงกว่า 10,000 mg/L ผลจากการปนเปื้อนไขมันและน้ำมันปริมาณมากและเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารไฮโดรคาร์บอน (Wade, 2003; Jones, 2005) เป็นสาเหตุให้ค่าตัวแปรลักษณะสมบัติอื่นๆ สูงตามไปด้วย คือ ค่าซีโอดี (COD) และบีโอดี (BOD) ประมาณ 100,000 mg/L และ 50,000 mg/L หลังจากผ่านวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด

(Acidification) พบว่าน้ำเสียมีค่าไขมันและน้ำมัน และซีโอดีลดลงเป็น 2,000 mg/L และ 36,000 mg/L ตามลำดับ ซึ่งน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวยังมีปริมาณไขมันและน้ำมันสูง จึงจำเป็นต้องนำน้ำเสียดังกล่าวมาผ่านกระบวนการ โคแอกกูเลชัน (Coagulation) และกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (Dissolved air flotation) พบว่าน้ำเสียดังกล่าวมีค่าไขมันและน้ำมัน และซีโอดีลดลงเป็น 100 mg/L และ 20,000 mg/L ตามลำดับ (อเนก สาวะอินทร์, 2552)

งานวิจัยนี้เป็นการต่อยอดการวิจัยที่พยายามลดสภาพอิมัลชันและกำจัดไขมันและน้ำมันบางส่วนของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากน้ำเสียดังกล่าวไม่สามารถนำไปบำบัดโดยตรงด้วยกระบวนการทางชีวภาพได้ เพราะมีปริมาณมลสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ยากในปริมาณสูง มลสารปนเปื้อนในน้ำเสียที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการล้างหรือ Washing step เพื่อกำจัดกลีเซอรอล แอลกอฮอล์ และโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ตกค้างอยู่ในไบโอดีเซลซึ่งต้องใช้น้ำปริมาณมากถึง 90% ของไบโอดีเซลที่ผลิตได้ในขั้นตอนดังกล่าว ทำให้น้ำเสียไบโอดีเซลมีปริมาณไขมันและน้ำมัน ซีโอดี เมทานอล และกลีเซอรอลในปริมาณสูงซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียได้ จึงจำเป็นต้องทำการบำบัดขั้นต้น (Pre-treatment) ซึ่งทีมวิจัยได้เคยศึกษาโดยวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด การโคแอกกูเลชัน และกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ เพื่อลดค่าความสกปรกในน้ำเสีย แต่มีปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการย่อยสลายทางชีววิทยาที่ต่ำมาก แม้ว่าน้ำที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นนี้จะดูใสแล้วก็ตาม แสดงให้เห็นว่าต้องการการบำบัดเพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์เหล่านี้ลงอีกก่อนปล่อยทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้นการหมักร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มซึ่งมีสารอาหารที่จำเป็นในการบำบัดทางชีวภาพอยู่แล้วจึงเป็นการเพิ่มแหล่งคาร์บอนและอีกนัยหนึ่งคือเป็นการเพิ่มสารอาหารให้กับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล เช่น ไนโตรเจน ตามธรรมชาติและสารอินทรีย์ต่างๆในการหมักแทนการเติมสารเคมีต่างๆ ที่มีราคาแพง ซึ่งทางทฤษฎีแล้วการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์สูง วิธีการนี้มีข้อดีคือ ประหยัดพลังงานในการเติมอากาศ ให้ก๊าซมีเทนที่สามารถนำไปเป็นเชื้อเพลิงได้ อีกทั้งมีความต้องการสารอาหารต่ำและเกิดมวลจุลชีพน้อย จึงนับว่าการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ นอกจากจะกำจัดสิ่งปนเปื้อนในน้ำเสียได้ ยังสามารถผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งนำกลับมาใช้เป็นพลังงานทดแทนหมุนเวียนในโรงงานได้อีกด้วย วิธีการดังกล่าวสามารถแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อาจจะเกิดขึ้นจากการขยายตัวของการผลิตไบโอดีเซลในอนาคตได้

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 ไบโอดีเซล

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกหนึ่งของเครื่องยนต์ดีเซล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์กับแอลกอฮอล์และต้องการตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งมักใช้เบสแก่ โดยปฏิกิริยาดังกล่าวเรียกว่า "ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification)" (Gerpen, 2005) ตัวอย่าง เช่น สถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมันคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ มีขั้นตอนการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยเน้นการใช้น้ำมันพืชที่ผ่านการใช้แล้วและน้ำมันปาล์มดิบเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2544) โดยมีรายละเอียดดังนี้ (ภาพประกอบ 1-1)

1) การขจัดยางเหนียวและลดกรด (กรณีน้ำมันปาล์มดิบ) นำน้ำมันปาล์มดิบใส่ในถังลดกรด ไขมันอิสระ ให้ความร้อนเพื่อเพิ่มอุณหภูมิน้ำมันปาล์มดิบให้อยู่ในช่วง 80 – 85 °C ใส่โซดาไฟ และเช็คกรดไขมันอิสระให้เหลือไม่เกิน 1%

2) การขจัดน้ำออก โดยให้ความร้อนกับน้ำมัน (น้ำมันปาล์มดิบและน้ำมันใช้แล้วที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำกว่า 1 %) ที่อุณหภูมิ 120 °C ประมาณ 20 นาที

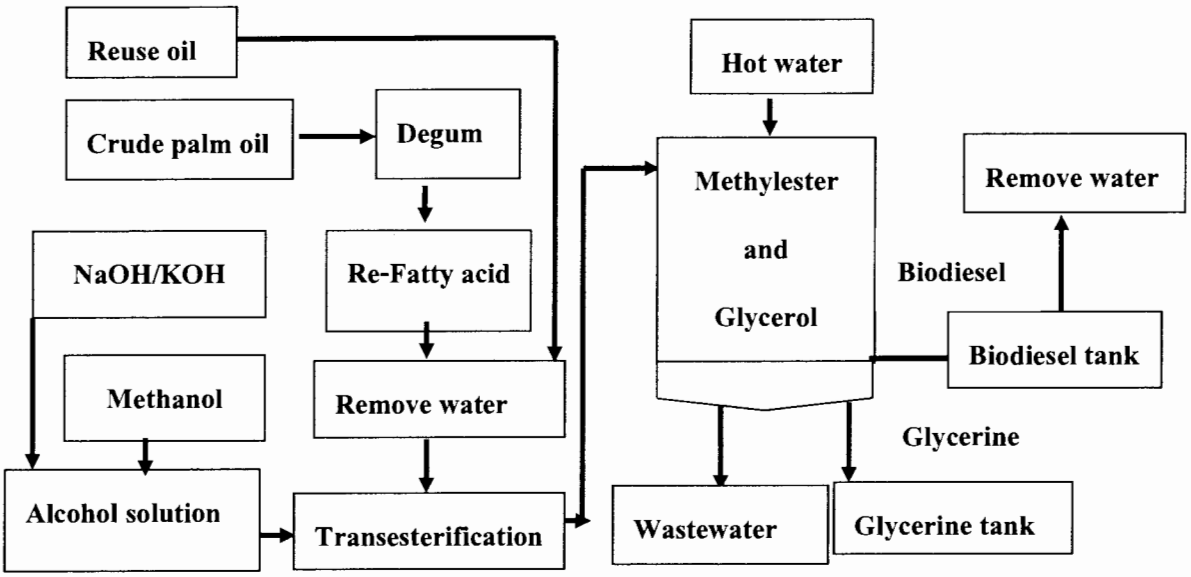
3) ปฏิกิริยาทรานเอสเตอร์ริฟิเคชัน น้ำมันที่ถูกขจัดน้ำออกแล้ว จะถูกทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 80 °C จากนั้นเติมเมทานอลและโซดาไฟ ทิ้งไว้ประมาณ 3 – 4 ชั่วโมง

4) การถ่ายกลีเซอรีน กลีเซอรอลจะแยกตัวจากน้ำมันโดยจะอยู่ที่ก้นถัง ถ่ายกลีเซอรีนใส่ภาชนะตั้งทิ้งไว้ เมื่อเย็นตัวลงจะแข็งตัวเป็นของแข็ง

5) การล้างสิ่งปนเปื้อนออก ล้างด้วยน้ำอุ่นหลายครั้ง ซึ่งการล้างครั้งแรกกระทำโดยการพ่นละอองน้ำลงด้านบนของถังเพื่อให้หยดน้ำเล็กๆ พาสิ่งปนเปื้อนตกลงด้านล่างของถัง

6) การขจัดน้ำออกครั้งสุดท้าย โดยการให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 120 °C อย่างน้อย 20 นาที เป็นการขจัดน้ำที่หลงเหลือในชั้นเมทิลเอสเตอร์

7) การถ่ายน้ำมันเก็บในภาชนะ ถ่ายน้ำมันที่ผ่านการขจัดน้ำออกครั้งสุดท้าย หลังจากที่ตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลง บรรจุใส่ถัง เมทิลเอสเตอร์ที่ได้จะมีค่าต่างๆ ใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล



ภาพประกอบ 1-1 แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตเมทิลเอสเตอร์ (ไบโอดีเซล)จากน้ำมันปาล์ม

ที่มา : อเนก สาวะอินทร์ (2552)

1.2.2 น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการล้างไบโอดีเซลเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน เช่น สบู่ และสารตั้งต้นอื่นๆที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาที่ไม่สมบูรณ์ (ชาคริต ทองอุไร และคณะ, 2544; วิศรุต ประยูรคำ และคณะ, 2551) ซึ่งโดยปกติใช้น้ำล้างในอัตราส่วนระหว่างน้ำสะอาดต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร (น้ำล้าง:ผลผลิตไบโอดีเซล = 1:1) ดังนั้นปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นจะเท่ากับปริมาณการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลปนเปื้อนไขมันและน้ำมันปริมาณมาก เป็นผลให้ปริมาณสารอินทรีย์ในรูปค่า ซีโอดีและบีโอดี สูง (ดารินทร์ ภู่กิ่งงาม และคณะ, 2551; จารุวรรณี เรืองคง และคณะ, 2551) ผลจากการปนเปื้อนสารอินทรีย์สูงประกอบกับมีแหล่งไนโตรเจนน้อย ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เป็นสาเหตุให้น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลยากต่อการบำบัดโดยวิธีชีวภาพ (Biological treatment) เพราะองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Suehara *et al.*, 2005) อีกทั้งผลจากการใช้ด่าง (NaOH หรือ KOH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้น้ำเสียมีค่าพีเอชสูง สำหรับลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล (เอนก สาวะอินทร์, 2552) แสดงดังตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 ลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

Parameters	Unit	Value
Color	-	White (Emulsion)
pH	-	8.5 – 10.5
Oily Sludge	(mg/L)	1,500 – 5,000
Chemical Oxygen demand (COD)	(mg/L)	60,000 – 150,000
Biological Oxygen demand (BOD_5)	(mg/L)	30,000 – 60,000
Grease & Oil (mg/L)	(mg/L)	7,000 – 15,000
Saponification Number	(mg.KOH/g)	4.77 – 18.79
Free Fatty Acid (FFA)	% Palmitic acid	0.14

ที่มา : อเนก สาวะอินทร์ (2552)

น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสภาพเป็นอิมัลชัน (Emulsion) โดยมีสาเหตุของการเกิดสภาพอิมัลชัน คือ การปนเปื้อนสบู่ที่เกิดจากปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันซึ่งเป็นปฏิกิริยาข้างเคียงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตไบโอดีเซล (Gerpen *et al.*, 2004) สบู่เป็นสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) สามารถรวมตัวกับไขมันและน้ำมันกลายเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ (Micelle) (Wade, 2003; Jones, 2005) สารดังกล่าวสามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำ เกิดการตกจมหรือลอยแยกออกจากน้ำได้ยาก เป็นผลทำให้น้ำเสียมีสภาพเป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Zaki, 1997; Ichikawa *et al.*, 2006; Calderon and Schmitt, 2008)

1.2.2.1 การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีทางเคมี

จากการศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่มีสภาพเป็นอิมัลชัน พบว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมี คือ วิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรดและกระบวนการโคแอกกูเลชัน ด้วยการเติมสารช่วยรวมตะกอน เป็นวิธีการที่นิยมใช้ลดสภาพอิมัลชัน หรือก่อให้เกิดการรวมตะกอนไขมันและน้ำมัน เพื่อง่ายต่อการแยกไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสียด้วยวิธีการทางกายภาพ แสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

1) วิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด

การเติมกรดแก่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างของสบู่ทั้งที่อยู่ในรูปโมเลกุลเดี่ยวและอยู่ในรูปของไมเซลล์ ให้กลายเป็นกรดคาร์บอกซิลิกและรวมตัวกันกลายเป็นหยดน้ำมัน เมื่อหยดน้ำมันมีปริมาณมากและอยู่ชิดติดกันจนเกิดการรวมตัวกันระหว่างหยดน้ำมัน (Coalescence) กลายเป็นหยดน้ำมันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Chen *et al.*, 2000; Dukhin *et al.*, 2001; Ichikawa *et al.*, 2004; Wengi *et al.*, 2006; Ichikawa, 2007) เป็นผลให้แรงลอยตัวของหยดน้ำมันมากพอที่จะเอาชนะแรงดึงดูดระหว่างหยดน้ำมันกับน้ำ เนื่องจากน้ำมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ ดังนั้นหยดน้ำมันที่มีขนาดใหญ่จึงลอยขึ้นสู่ผิวน้ำ จากรายงานการวิจัยของ Fujiia *et al.* (2007) ได้อธิบายปรากฏการณ์การเกิดอิมัลชันที่ค่าพีเอชสูง และการรวมตัวหลังจากการปรับค่าพีเอชให้ต่ำลง เรียกว่าการลดอิมัลชัน (Demulsification) โดยปฏิกิริยาดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ (Reversible) ด้วยการปรับค่าพีเอช (Emulsion–demulsification cycle) คือ ถ้าค่าพีเอชมีค่าสูง (มากกว่า 7.7) จะเป็นอิมัลชันที่มีเสถียรภาพสูง (Stable emulsion) แต่เมื่อค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.0 – 6.1 จะอยู่ในช่วงของการเปลี่ยนแปลง หรือเป็นอิมัลชันที่ไม่มีเสถียรภาพ (Unstable emulsion) และที่ค่าพีเอชต่ำ (ต่ำกว่า 4.0) จะเกิดการเปลี่ยนเฟสกลายเป็นหยดน้ำมันขนาดใหญ่และลอยขึ้นสู่ผิวน้ำ (Fujiia *et al.*, 2007)

การใช้วิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด (Acidification) มีการใช้งานบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันหรือมีสภาพเป็นอิมัลชันเพื่อแยกน้ำมันออกจากน้ำเสีย (Patterson, 1975;

Eckenfelder, 2000; Wengi *et al.*, 2006) ซึ่งอาจใช้เป็นวิธีการบำบัดขั้นต้น (Pretreatment) เนื่องจากมีผลทำให้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีนี้มีความเป็นกรด โดยจะต้องทำให้น้ำเสียมีสภาพเป็นกลางหลังจากแยกน้ำมันออกจากน้ำ โดยค่าพีเอชที่ต้องการสำหรับการทำลายเสถียรภาพอิมัลชันขึ้นอยู่กับธรรมชาติของน้ำเสียนั้นๆ มีรายงานการวิจัยบำบัดน้ำเสียด้วยการปรับค่าพีเอชลดต่ำลงเท่ากับ 2 – 3 (Vaughn and Mccurdy, 1973) โดยการใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) หรือกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) สามารถทำให้หยดน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียรวมตัวกันและลอยแยกออกจากน้ำเสียได้ (Werner, 1972) วิธีการปรับค่าพีเอชของน้ำเสียด้วยการเติมกรดเพื่อแยกน้ำมันออกจากน้ำเสียเป็นวิธีการที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย ซึ่งน้ำมันที่ได้จากกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีนี้อาจนำกลับมาใช้ใหม่ได้ในรูปของกรดไขมัน เช่นใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ (คู่จันทร์ จันทร์ทองอ่อน, 2549)

2) กระบวนการโคแอกกูเลชัน

การเติมสารประกอบเกลือของโลหะบางชนิดลงในน้ำในปริมาณที่เพียงพอจะมีการตกผลึกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว อนุภาคคอลลอยด์อาจเป็นแกนในผลึกดังกล่าวเพื่อทำให้ผลึกมีขนาดใหญ่หรืออาจจับตัวรวมกับผลึก ลักษณะที่เกิดขึ้นดังกล่าวนี้ อาจถือว่าเป็นการเพิ่มขนาดหรือน้ำหนักให้กับอนุภาคคอลลอยด์ เป็นผลให้คอลลอยด์สูญเสียเสถียรภาพและสามารถตกตะกอนได้ (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542) ดังเช่นกระบวนการทำลายเสถียรภาพ (Destabilization) ของอนุภาคแขวนลอยด้วยการเติมเกลือของเหล็กและอลูมิเนียม เช่น สารส้ม, เฟอร์ริกคลอไรด์, แมกนีเซียมคาร์บอเนต และปูนขาว สามารถทำให้เกิดโคแอกกูเลชันได้โดยการสร้างไอออนคอมเพล็กซ์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxo metal complex) คือ $Al(OH)_3$, $Fe(OH)_3$, $Mg(OH)_3$, และ $CaCO_3$ ซึ่งล้วนแต่เป็นผลึกสาร (Precipitate) ไม่ละลายน้ำ ลักษณะของกระบวนการทำลายเสถียรภาพแบบนี้เรียกว่า กลไกแบบ Sweep floc coagulation หรือ Sweep coagulation

กระบวนการบำบัดน้ำและน้ำเสียทั่วไป ให้ความสำคัญกับกระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยการเติมสารช่วยรวมตะกอน (Coagulant) ประเภทเกลืออนินทรีย์ (Inorganic Coagulant) เช่น เกลืออะลูมิเนียมและเหล็ก (Ahmad, 2006; Fenault, 2009) เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและราคาไม่สูงมากและมีประสิทธิภาพสูงสำหรับการทำลายเสถียรภาพอิมัลชัน แต่ตะกอนไขมันและน้ำมันที่ประกอบด้วยสารประกอบอะลูมิเนียมหรือเหล็ก (Hydroxide sludge) กำจัดน้ำออกได้ยาก อีกทั้งอาจสร้างปัญหาจากการมีปริมาณของแข็งละลายปริมาณมากในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัด ซึ่งการเลือกใช้สารอินทรีย์เป็นสารช่วยรวมตะกอนเพื่อทำลายเสถียรภาพอิมัลชันเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง แต่มีค่าใช้จ่ายสูง ซึ่งมีผลต่อการพิจารณาใช้งาน โดยอาจเลือกใช้กับน้ำเสียที่มีปริมาณ

น้อย หรือมีการปนเปื้อนน้ำมันน้อย (Patterson, 1975) ดังนั้นการเลือกใช้สารช่วยรวมตะกอนจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการโคแอกกูเลชัน เนื่องจากมีผลต่อค่าใช้จ่ายสำหรับการบำบัดน้ำเสีย รวมถึงการพิจารณาการจัดการน้ำเสียหลังจากผ่านกระบวนการโคแอกกูเลชันและตะกอนไขมันและน้ำมันที่เกิดขึ้น จากการศึกษาเกี่ยวกับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันและน้ำมันและมีสภาพเป็นอิมัลชันในอุตสาหกรรมบางประเภท พบว่าปัจจุบันการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการโคแอกกูเลชันมีอยู่ 2 แบบ แบบแรก คือ การใช้กระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยการเติมสารช่วยรวมตะกอน (Rios *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Bratskaya *et al.*, 2006) และแบบที่สอง คือ การใช้กระบวนการโคแอกกูเลชันทางไฟฟ้า (Electrochemical coagulation) (Canizares *et al.*, 2007; Yang, 2007; Bensadok *et al.*, 2008) ซึ่ง โรงบำบัดน้ำเสียทั่วไปนิยมใช้กระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยการเติมสารช่วยรวมตะกอน เนื่องจากควบคุมดูแลระบบง่าย และมีประสิทธิภาพสูงกว่ากระบวนการโคแอกกูเลชันทางไฟฟ้า (Canizares *et al.*, 2008; Canizares *et al.*, 2009) มีรายงานการวิจัยผลการศึกษาการเติมสารช่วยรวมตะกอนหลากหลายชนิดเพื่อเพิ่มทางเลือกสำหรับการนำไปใช้งาน และผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการโคแอกกูเลชันหลังเติมสารช่วยรวมตะกอนชนิดต่างๆ เป็นการควบคุมเพื่อให้กลไกการทำงานของกระบวนการโคแอกกูเลชันเกิดขึ้นได้ดีที่สุดและมีประสิทธิภาพการบำบัดสูงสุด

3) การบำบัดโดยวิธีทางกายภาพด้วยระบบตะกอนลอยแบบอัดอากาศ

Dissolved Air Flotation (DAF) เป็นระบบที่ทำงานโดยอัดอากาศเข้าไปในน้ำภายใต้ ความดันสูงกว่าความดันบรรยากาศเพื่อให้อากาศละลายในน้ำมากขึ้น เมื่อลดความดันของน้ำลงไปที่ความดันบรรยากาศอย่างรวดเร็ว อากาศส่วนที่เกินจากจุดอิ่มตัวจะแยกตัวออกมาเป็นฟองก๊าซขนาดเล็ก (อนุรักษ์ ปิติรักษ์กุล, 2538) เป็นวิธีการทางกายภาพที่มีการใช้งานสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันและน้ำมันมีอยู่หลากหลายวิธีดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น แต่วิธีการที่นิยมใช้และมีประสิทธิภาพสูงในการแยกไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย คือ กระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2542; ภานุพันธ์ มั่นถึง และคณะ 2546; อนุรักษ์ ปิติรักษ์สกุล, 2538; Eckenfelder, 2000; Metcalf & Eddy, 2004) นอกจากนี้ยังมีการใช้งานกระบวนการตะกอนลอยร่วมกับวิธีการทางเคมีเพื่อลดสภาพอิมัลชันของน้ำเสีย หรือก่อให้เกิดการรวมตะกอนไขมันและน้ำมันเพื่อง่ายต่อการแยกออกจากน้ำเสียด้วยกระบวนการตะกอนลอย เช่น กระบวนการโคแอกกูเลชั่น ทั้งนี้เนื่องจากหยดน้ำมันหรือตะกอนไขมันและน้ำมันมีความหนาแน่นต่ำจึงง่ายต่อการทำให้ลอยขึ้น ซึ่งงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้กระบวนการตะกอนลอยทดสอบบำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล รวมถึงการทดสอบร่วมกับวิธีการทางเคมี ก่อนการบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพ

ต่อไปหลักการของระบบตะกอนลอยแบบอัดอากาศ คือ การเป่าอากาศลงในน้ำเสียภายใต้ความดันมากกว่าความดันบรรยากาศ จากนั้นจึงปล่อยให้เข้าสู่สภาวะของความดันบรรยากาศ ซึ่งวิธีที่นิยมใช้กันมากในปัจจุบันมีอยู่ 2 ระบบด้วยกัน คือระบบแบบไม่มีการหมุนเวียน และระบบแบบมีการหมุนเวียนกลับ ความดันภายในถังอัดอากาศประมาณ 3 – 5 bar gauge และระยะเวลากักพักในถังความดันประมาณ 1 – 4 นาที (Eckenfelder, 2000; Metcalf & Eddy, 2004) เพื่อปล่อยโอกาสให้อากาศละลายอยู่ในน้ำ จากนั้นจึงปล่อยน้ำออกจากถังความดันไปยังถังลอยตะกอน (Flotation tank) โดยมี Pressure Reducing Valve (PRV) เพื่อควบคุมความดันน้ำที่ไหลเข้าถังลอยตะกอน ระบบแบบไม่มีการหมุนเวียนนิยมใช้กับน้ำที่มีตะกอนชนิดไม่เปราะแตกง่าย ส่วนระบบแบบมีการหมุนเวียนกลับนิยมใช้กับน้ำเสียที่มีตะกอนชนิดเปราะแตกง่าย ซึ่งไม่เหมาะที่จะให้น้ำเสียไหลเข้าสู่ถังความดันโดยตรง เพราะตะกอนอาจแตกกระจายไป (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2535; Eckenfelder, 2000; Metcalf & Eddy, 2004)

1.2.3 โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

อุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันปาล์มมีการขยายตัวอย่างรวดเร็วซึ่งโรงงานที่สกัดน้ำมันโดยนึ่งผลปาล์มด้วยไอน้ำ และแยกเมล็ดในปาล์มออกแล้วสกัดน้ำมันจากส่วนเปลือก ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยของกำลังการผลิตต่อชั่วโมงนั้นจะแปรเปลี่ยนไปตามฤดูกาลของผลผลิตจากสวนปาล์มและขนาดของโรงงาน โดยขั้นตอนต่างๆของกระบวนการผลิต ได้แก่ การนึ่ง การหีบ การแยกสิ่งปนเปื้อนออกจากน้ำมัน และ การแยกกากปาล์มในขั้นตอนสุดท้ายต้องอาศัยน้ำเข้ามามีส่วนร่วมจนสิ้นสุดของการผลิต (ธนกฤต พรหมทอง, 2552) ทั้งนี้ปริมาณและคุณลักษณะของน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากน้ำใช้มีความแตกต่างกันตามลักษณะที่เฉพาะของในขั้นตอนการผลิต อย่างไรก็ตามสามารถกล่าวได้ว่าน้ำเสียที่เกิดขึ้นมาจาก 2 ส่วน คือ น้ำเสียจากหม้อนึ่งและน้ำเสียจากการแยกน้ำมัน ปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 60 ของปริมาณทะลายปาล์ม หรือมีปริมาณน้ำเสีย 2.50-3.50 เท่าของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (ปรีชา มุณีศรี, 2539)

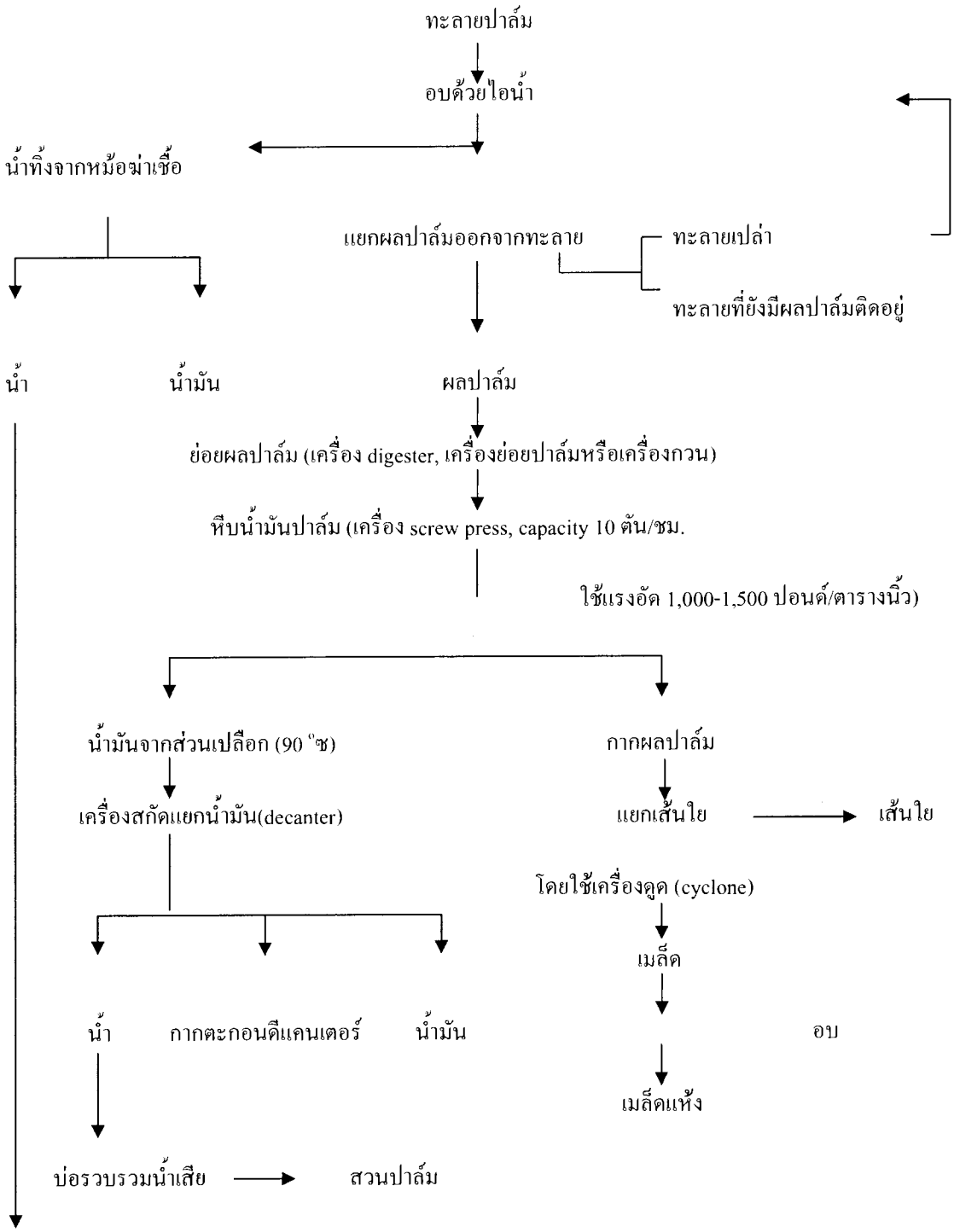
น้ำเสียจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบมีสารอินทรีย์สูง และมีการใช้น้ำเป็นจำนวนมากในการผลิต รวมถึงเศษวัสดุเหลือจากกระบวนการผลิต อาทิเช่น เส้นใยจากเนื้อผลปาล์ม ทะลายเปล่า กะลาจากเมล็ดปาล์ม รวมถึงกากตะกอนอีกจำนวนมาก ในส่วนของวัสดุเหลือทิ้งที่เป็นเส้นใยและกะลานั้นสามารถนำไปเป็นเชื้อเพลิงให้กับหม้อไอน้ำในกระบวนการผลิตได้ แต่ในส่วนของน้ำเสียที่เกิดจากขั้นตอนของการนึ่งผลปาล์ม และจากขั้นตอนของการแยกน้ำออกจากน้ำมันนั้น เป็นน้ำเสียที่มีสิ่งสกปรกในรูปของไขมัน น้ำมัน กากตะกอน และสารอินทรีย์

ปนเปื้อนอยู่มาก โรงงานจำเป็นต้องมีการบำบัดหรือจัดการน้ำเสียเหล่านี้ให้ดีก่อนที่จะระบายลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ เพราะถ้าไม่มีการจัดการที่ดี ก็จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

1.2.3.1 กระบวนการสกัดน้ำมันจากผลปาล์ม

กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแบ่งเป็น 3 วิธี (ผาสุก กุลละวณิชย์, 2528) คือ กระบวนการสกัดแบบใช้น้ำหรือที่เรียกว่าแบบมาตรฐาน กระบวนการสกัดแบบย่างผลปาล์มและกระบวนการสกัดแบบทอดผลปาล์ม แต่วิธีการสกัดที่สามารถรองรับวัตถุดิบได้ในปริมาณมาก และให้ผลผลิตในรูปน้ำมันปาล์มดิบที่มีคุณภาพ คือ กระบวนการสกัดแบบใช้น้ำ

กระบวนการสกัดแบบใช้น้ำ แบ่งย่อยเป็น 2 ลักษณะคือ เครื่องสกัดแยกน้ำมันแบบสกรู (ภาพประกอบ 1-2) และเครื่องสกัดแยกน้ำมันแบบหมุนเหวี่ยง ขั้นตอนโดยทั่วไปของการสกัดน้ำมันแบบใช้น้ำเริ่มจากการอบทะลายปาล์มสดด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิระหว่าง 120-130 °C ที่ความดันประมาณ 40-50 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลาประมาณ 40-60 นาที การอบผลปาล์มจะช่วยยับยั้งปฏิกิริยาไลโปไลซิส (lipolysis) ที่จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในผลปาล์มซึ่งส่งผลให้เกิดกลิ่นหืน นอกจากนี้ไอน้ำยังทำให้ผลปาล์มอ่อนนุ่ม ขั้วหลุดออกจากทะลายได้ง่าย สะดวกต่อการย่อยและการหีบ ทะลายปาล์มที่ผ่านการนึ่งแล้วจะมีการนำไปป้อนเข้าเครื่องแยกผลปาล์มซึ่งเป็นทรงกระบอกกลวง หมุนด้วยความเร็วประมาณ 23 รอบต่อนาที ในส่วนของทะลายจะถูกลำเลียงเข้าสู่เตาเผาเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง และในปัจจุบันนำไปเพาะเห็ดและทำปุ๋ยหมัก (Chavalparit, 2006) ส่วนผลปาล์มที่แยกได้จะถูกนำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยผลปาล์ม โดยส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นรูปถังทรงกระบอกซึ่งภายในมีใบพัด และจะมีการเติมน้ำร้อนลงไปเล็กน้อย สำหรับการกวนผลปาล์มให้เส้นใยฉีกแยกจากเมล็ดและให้เซลล์น้ำมันเกิดการแตกตัว การกวนจะเกิดขึ้นประมาณ 15-20 นาที จากนั้นจึงป้อนเข้าเครื่องหีบแบบอัดเกลียว และน้ำมันจะถูกแยกออกจากน้ำ เศษเส้นใย รวมทั้งสิ่งสกปรกอื่นๆ โดยการใช้เครื่อง decanter หรือเครื่อง separator อย่างไรก็ตามน้ำมันดิบที่ผ่านเครื่อง separator โดยส่วนใหญ่ยังคงมีสิ่งเจือปนอยู่อีกมาก โดยเฉพาะอนุภาคของแข็ง จึงต้องมีการนำมาผ่านเข้าเครื่องแยกเหวี่ยงความเร็วสูงเพื่อบำบัดอนุภาคของแข็ง หลังจากนั้นจึงผ่านเข้าสู่เครื่องดูดสูญญากาศเพื่อไล่ความชื้น แล้วจะถูกลำเลียงไปเก็บในถังเก็บน้ำมันขนาดใหญ่ รอเข้าสู่ขั้นตอนการทำน้ำมันให้บริสุทธิ์หรือเตรียมจำหน่ายโรงงานผลิตน้ำมันบริสุทธิ์ (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533)



ภาพประกอบ 1-2 การผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำด้วยเครื่องแบบสกรู

ที่มา: พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)

1.2.4 กากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เมื่อผลผลิตปาล์มน้ำมันเข้าสู่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม แล้วผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบ ก่อให่เกิดวัสดุเหลือใช้ที่เป็นของแข็งจำนวนมาก ได้แก่ ทะลายเปล่าปาล์มน้ำมัน (Empty fruit bunches) เส้นใยปาล์ม (Pericarp fiber) กะลาผลปาล์ม (Palm shell) และกากตะกอนดีแคนเตอร์ (decanter cake) นอกจากนั้นส่วนที่เป็นของเหลว คือ น้ำทิ้ง (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2544) ดีแคนเตอร์ที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการแยกน้ำมันปาล์ม สามารถที่จะนำไปทิ้ง หรือ จำหน่ายให้กับชาวไร่ชาวสวน เพื่อใช้เป็นปุ๋ย หรือเป็นส่วนผสมอาหารสัตว์ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2552) ทะลายปาล์มเปล่าที่เกิดขึ้นจากกระบวนการแยกผลปาล์มมีปริมาณสูงถึง 2,000,000 ตันต่อปี จากผลปาล์มสดทั้งทะลายที่ป้อนเข้าสู่กระบวนการสกัดทั้งหมด 7,200,000 ตันต่อปี เส้นใยปาล์มที่เกิดจากการแยกเส้นใยมีปริมาณสูงถึง 800,000 ตันต่อปี กะลาปาล์มที่เกิดจากขั้นตอนการแยกเมล็ดในปาล์มมีปริมาณ 460,000 ตันต่อปี กากตะกอนดีแคนเตอร์ที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการเหวี่ยงน้ำมันด้วยดีแคนเตอร์มีปริมาณ 1,800,000 ตันต่อปี (ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และคณะ, 2551) ซึ่งองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมันแสดงดังตารางที่ 1-2

ตารางที่ 1-2 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการสกัดปาล์มน้ำมัน

ธาตุ	หน่วย	วัสดุเหลือทิ้ง			
อาหาร		ทะลายปาล์ม[1]	เส้นใยปาล์ม[2]	กะลาปาล์ม[2]	ตะกอนดีแคนเตอร์[3]
N	%	0.80-0.93	1.1	0.4	2.18
P	%	0.10-0.27	9.12	0.07	1.40
Ca	%	0.25-0.36	1.08	0.24	-
C	%	42.8-49.6	45.2	49.7	45.01
Mg	%	0.14-0.30	0.49	0.24	-
K	%	1-3.42	1.48	2.20	2.55
Br	mg/kg	10-13	3.63	5.84	-
Zn	mg/kg	23	-	-	-

ที่มา: [1] กรมพัฒนาที่ดิน (2548); Saletes *at el.* (2004); [2]Azali *at el.*(2005); [3]วธิดา คะนะแนม (2552)

กากตะกอนดีแคนเตอร์เป็นวัสดุเหลือใช้ที่เป็นของแข็งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่งมีค่าไนโตรเจนสูงคือ 2.18 เปอร์เซ็นต่อน้ำหนักแห้ง ดังนั้นสามารถนำกากตะกอนดีแคนเตอร์มา

เป็นวัสดุร่วมในการหมัก โดยมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 20.65:1 และมีปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เท่ากับ 2.18, 1.40 และ 2.55 เปอร์เซ็นต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (วธิดา คะนะแนม, 2552) และนอกจากนั้นจากการศึกษาขี้เถ้าจากปาล์มน้ำมันที่เกิดจากการเผาไหม้ของเส้นใยปาล์ม, กะลาปาล์ม และทลายปาล์มร่วง ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการให้ความร้อนในการผลิตไฟฟ้าจากชีวมวล (Thermal power plants) พบว่าองค์ประกอบทางเคมี (ตารางที่ 1-3) มีปริมาณธาตุอาหารสูง เช่น ซิลิคอนไดออกไซด์ 57.7-65.3% โพแทสเซียมออกไซด์ 5.7-8.3% แคลเซียมไดออกไซด์ 6.4-7.6 % เป็นต้น

ตารางที่ 1-3 องค์ประกอบทางเคมีของขี้เถ้าจากปาล์มน้ำมัน (Palm oil ash)

องค์ประกอบทางเคมีของขี้เถ้าจากปาล์มน้ำมัน (%)								
SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	CaO	MgO	Na_2O	K_2O	SO_3	
63.6	1.6	1.4	7.6	3.9	0.1	6.9	0.2	Chindaprasirt *et al.*, 2088
57.7	4.5	3.3	6.5	4.2	0.5	8.2	0.2	Jaturapitakkul *et al*, 2007
65.3	2.5	1.9	6.4	3.0	0.3	5.7	0.4	Tangchirapat., 2009
57.8	4.6	3.3	6.6	4.2	0.5	8.3	0.3	Chindaprasirt *et al.*, 2007
65.3	2.6	2.0	6.4	3.1	0.3	5.7	0.5	Sata *et al.*, 2007
57.7	4.6	3.3	6.6	4.2	0.4	8.3	0.3	Tangchirapat *et al.*, 2007

1.2.5 การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ (Anaerobic digestion)

1.2.5.1 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ

การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศเป็นกระบวนการทางชีววิทยาของแบคทีเรียในสภาพปราศจากออกซิเจนอิสระเพื่อเปลี่ยนสารอินทรีย์ไปเป็นก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซอื่นๆ ดังแสดงในสมการที่ 1 โดยสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายแล้วจะมีมวลลดลงและมีสภาพคงตัวมากขึ้น กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศมีแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องอยู่ 2 กลุ่ม ที่ทำงานร่วมกัน คือ แบคทีเรียที่สร้างกรด (Acidogenic bacteria) และแบคทีเรียที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria)

$$\text{Organic matter} \xrightarrow{\text{Anaerobic Digestion}} CH_4 + CO_2 + H_2 + NH_3 + H_2S \qquad (1)$$

หลักการของระบบนี้ คือ แบคทีเรียจะย่อยสลายสารอินทรีย์ในวัสดุหมักที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลงเพื่อที่จะผ่านเข้าสู่เซลล์ เมื่อสารอินทรีย์อยู่ในเซลล์แล้วจะถูกออกซิไดซ์หลายครั้งจนในที่สุดกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน และก๊าซอื่นๆ ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศดังแสดงในภาพประกอบ 1-2 สามารถแบ่งขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาได้เป็น 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นที่ 1 การย่อยสลายสารอินทรีย์ (Hydrolysis)

ขั้นตอนนี้อาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า กระบวนการแตกสลายโพลีเมอร์ (Polymer break-down) สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนและมีขนาดโมเลกุลใหญ่ (Polymer) ทั้งที่สามารถละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เช่น โปรตีนคาร์โบไฮเดรต และไขมัน ถูกทำให้ละลายน้ำโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ซึ่งใช้เอนไซม์ที่ขับออกมาสู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ของแบคทีเรียจำพวก Hydrolytic bacteria

ในขั้นตอนนี้สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ได้แก่ โปรตีนคาร์โบไฮเดรต และไขมัน ร่วมทั้งคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยสลายยาก ได้แก่ เซลลูโลส (Cellulose) และสารประกอบประเภทไฟเบอร์พืช เช่น ลิกนิน (Lignin) และเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) จะถูกย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ให้กลายสภาพเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก โดยกลุ่มของจุลินทรีย์ในขั้นตอนนี้อาจแบ่งได้ตามชนิดของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารต่างชนิดได้ดังนี้ คือ เซลลูไลติกไลโปไลติก และ โปรทีโอไลติก ความเร็วของกระวนการย่อยสลายในขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาจากจุลินทรีย์ เอ็นไซม์ที่ปล่อยออกมาจะมีความจำเพาะเจาะจงมากในการเข้าทำปฏิกิริยาโดยจะเลือกชนิดของปฏิริยา และชนิดของสารที่เข้าทำปฏิริยา รวมถึงการทำงานของเอ็นไซม์ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ อุณหภูมิ และการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น

โปรตีน ⟶ กรดอะมิโน + แอมโมเนีย

ไขมัน ⟶ กรดไขมัน กลีเซอรอล

เซลลูโลส ⟶ น้ำตาล

ขั้นที่ 2 การหมักกรดอินทรีย์ระเหย (Acidogenesis)

สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างของโมเลกุลไม่ซับซ้อนในขั้นตอนแรกและละลายน้ำได้ดีที่สร้างขึ้นโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสจะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรด (Acidogenic bacteria) ประเภทที่สามารถดำรงชีพอยู่ได้ทั้งสภาพมีและไม่มีออกซิเจนดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่เซลล์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานโดยกระบวนการหมัก (Fermentation) ผลของปฏิกิริยาจะได้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่มีคาร์บอนไม่เกิน 5 อะตอม เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดฟอร์มิค (Formic acid) กรดบิวทิริค (Butyric acid) กรดโพรพิโอนิค (Propionic acid) เป็นต้น (Banerjee *et al.*, 1998) นอกจากนี้ยังจะได้แอลกอฮอล์ ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย โดยชนิดของแบคทีเรียพวกสร้างกรดนั้นจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและสภาพแวดล้อมของปฏิกิริยาด้วย

ขั้นที่ 3 การเปลี่ยนกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอะซิติก (Acetogenesis)

กรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่เกิดขึ้นจากกระบวนการอะซิโดเจเนซิส (Acidogenesis) จะถูกเปลี่ยนโดยแบคทีเรียโฮโมอะซิโตเจนิค (Homoacetogenic bacteria) ให้กลายเป็นกรดอะซิติกในขั้นตอนสุดท้ายดังสมการที่ 2 และ 3 ซึ่งเรียกรวมกันว่ากรดอินทรีย์ระเหยง่าย รวมทั้งยังเกิดก๊าซไฮโดรเจน (H_2) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในการย่อยสลายด้วย ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน ซึ่งขั้นตอนนี้ถือว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการหลีกเลี่ยงการสะสมของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย แต่หากไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นมีปริมาณที่สูงเกินไปจะยับยั้งกระบวนการสร้างก๊าซมีเทนได้

$$CH_3CH_2COOH\ (\text{Propionic Acid}) + 2H_2O \xrightarrow{\text{Acetogenic bacteria}} CH_3COOH + 3H_2O \qquad (2)$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH\ (\text{Butylic Acid}) + 2H_2O \xrightarrow{\text{Acetogenic bacteria}} CH_3COOH + 2H_2O \qquad (3)$$

แบคทีเรียกลุ่มนี้อาจเรียกว่า แบคทีเรียสร้างไฮโดรเจน (Hydrogen forming bacteria) เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนมักสร้างกรดอินทรีย์ได้ แต่ชนิดที่สร้างกรดได้อาจไม่สามารถสร้างไฮโดรเจนได้ จึงถือว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเป็นชนิดหนึ่งของแบคทีเรียที่สร้างกรด แบคทีเรียทั้งสองชนิดอาจรวมเรียกได้ว่าเป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน (Non-methanogenic bacteria)

จุลินทรีย์ที่เป็นตัวสร้างกรดนี้มีอัตราการเจริญเติบโตและทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดีทั้งที่เป็นผลสืบเนื่องมาจากการร่วมกันของจุลินทรีย์หลายสปีชีส์ จุลินทรีย์สร้างกรดอาจจะสร้างปัญหาแก่ระบบโดยรวม หากมีการสร้างกรดอินทรีย์ในปริมาณมากเกินกว่าที่จุลินทรีย์สร้างมีเทนจะ

นำไปใช้ได้ทันที ค่าพีเอชของระบบจะลดลงและส่งผลกระทบต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์สร้างมีเทน

ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งได้แก่ เนื้อเยื่อสัตว์ พืชและสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ เช่น สารอินทรีย์ในกลุ่มโปรตีน จะเกิดก๊าซแอมโมเนียเป็นผลิตภัณฑ์ เรียกว่า กระบวนการสร้างแอมโมเนีย (Ammonification) ดังแสดงในสมการที่ 4 ปริมาณของก๊าซแอมโมเนียที่จะเกิดขึ้นอยู่ในสัดส่วนของไนโตรเจนของวัสดุที่ใช้หมัก หากมีก๊าซแอมโมเนียเกิดขึ้นในระบบมากจะเกิดการยับยั้งปฏิกิริยา โดยระดับความเป็นพิษของแอมโมเนียจะเกิดขึ้นเมื่อมีความเข้มข้น 1,500-3,000 mg/m^3 (อภิสิทธิ์ แสนคำ, 2545) การเกิดก๊าซแอมโมเนียในขั้นตอนนี้เกิดได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ในระบบ สารประเภทกลูโคสจะถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาไกลโคไลซีส (Glycolysis) กรดไขมันจะถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาเบต้าออกซิเดชั่น (Beta-oxidation) และสารประเภทกรดอะมิโนจะถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาดีอะมิเนชั่น (Deamination)

$$\text{Organic Nitrogen} \xrightarrow{\text{Microorganism}} NH_3/NH_4^+ \qquad (4)$$

ทั้งนี้อัตราการย่อยสลายโมเลกุลของปฏิกิริยาในขั้นตอนการสร้างกรดและชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับลักษณะสมบัติของสารที่ป้อนเข้าสู่ระบบและสภาพแวดล้อมของระบบด้วยกรดอินทรีย์ระเหยที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ในถังหมักกรด ได้แก่ กรดอะซิติก (Acetic acid) มีกรดโพรพิโอนิค (Propionic acid) กรดบิวทิริค (Butyric Acid) และกรดไอโซวาเลอริค (Isovaleric acid) เพียงเล็กน้อย

ขั้นที่ 4 การสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenesis)

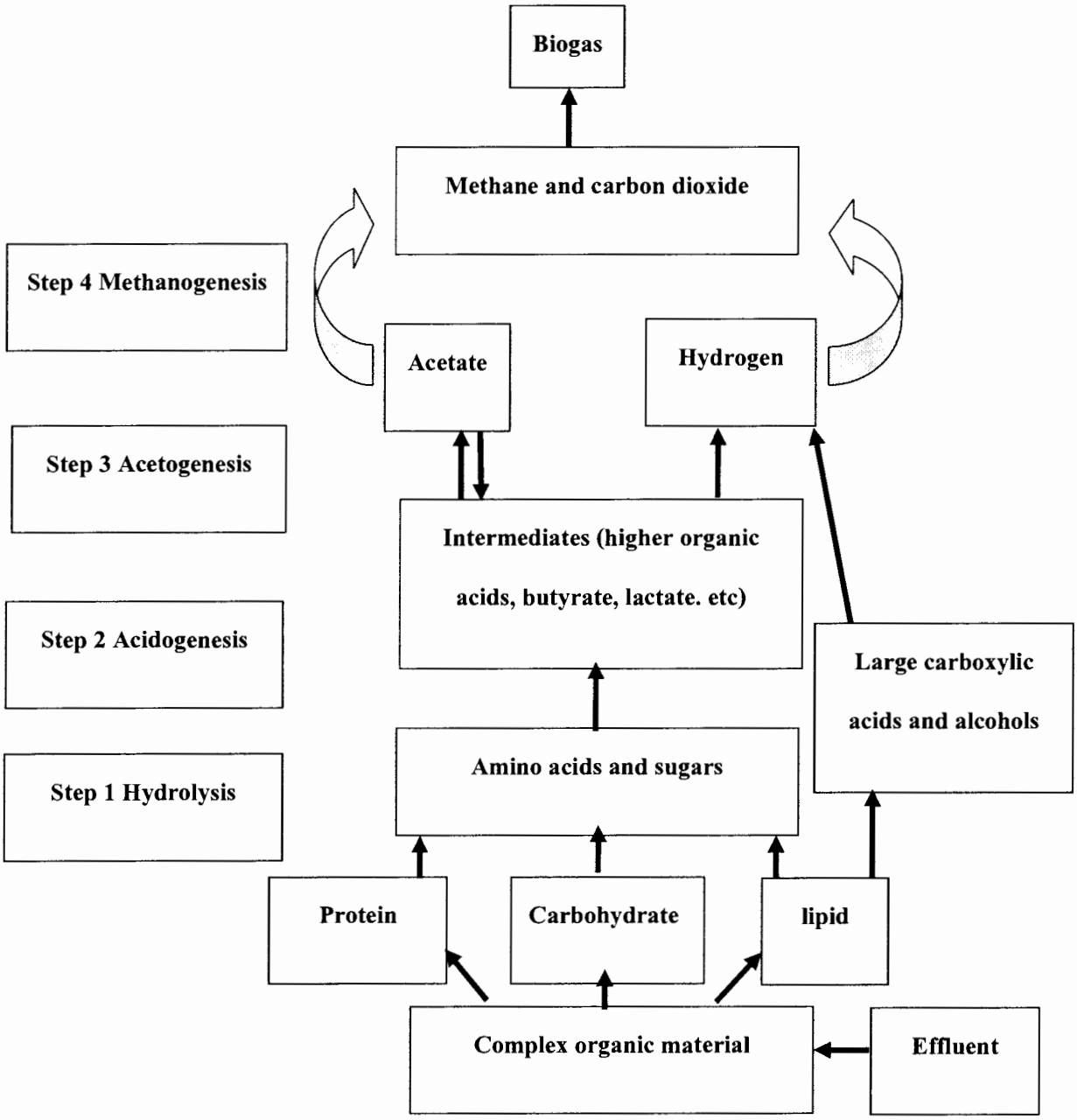
ผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนการสร้างกรด คือ อะซิเตท ฟอร์เมท ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะถูกใช้เพื่อสร้างก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียพวกสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenic bacteria) ย่อยสลายแล้วเปลี่ยนให้เป็นก๊าซต่างๆ ซึ่งก๊าซที่สำคัญได้แก่ ก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณสองในสามของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นทั้งหมดมาจากการใช้อะซิเตท (Polprasert, 1983) โดยการทำงานของ Acetoclastic bacteria ดังสมการที่ 5 และส่วนที่เหลือเกิดจากปฏิกิริยาชีวเคมีระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนโดยการทำงานของกลุ่มแบคทีเรียชนิดไฮโดรเจนยูทิไลซิ่งมีเทน (Hydrogen-utilizing methane bacteria) โดยที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายในขั้นตอนการสร้างกรดจะละลายอยู่ในน้ำและทำปฏิกิริยากับไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ในระบบซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของแอมโมเนียจากการย่อย

สลายโปรตีนเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะได้ไฮดรอกไซด์ไอออนซึ่งเป็นแหล่งไฮดรอกไซด์ไอออนที่สำคัญ ดังสมการที่ 6 ซึ่งการทำปฏิกิริยาระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับไฮดรอกไซด์ไอออนในระบบจะเกิดกรดคาร์บอนิก ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับก๊าซไฮโดรเจนโดยจุลินทรีย์ชนิดไฮโดรเจน ยูติไลซิ่งมีเทนเป็นก๊าซมีเทนดังสมการที่ 7

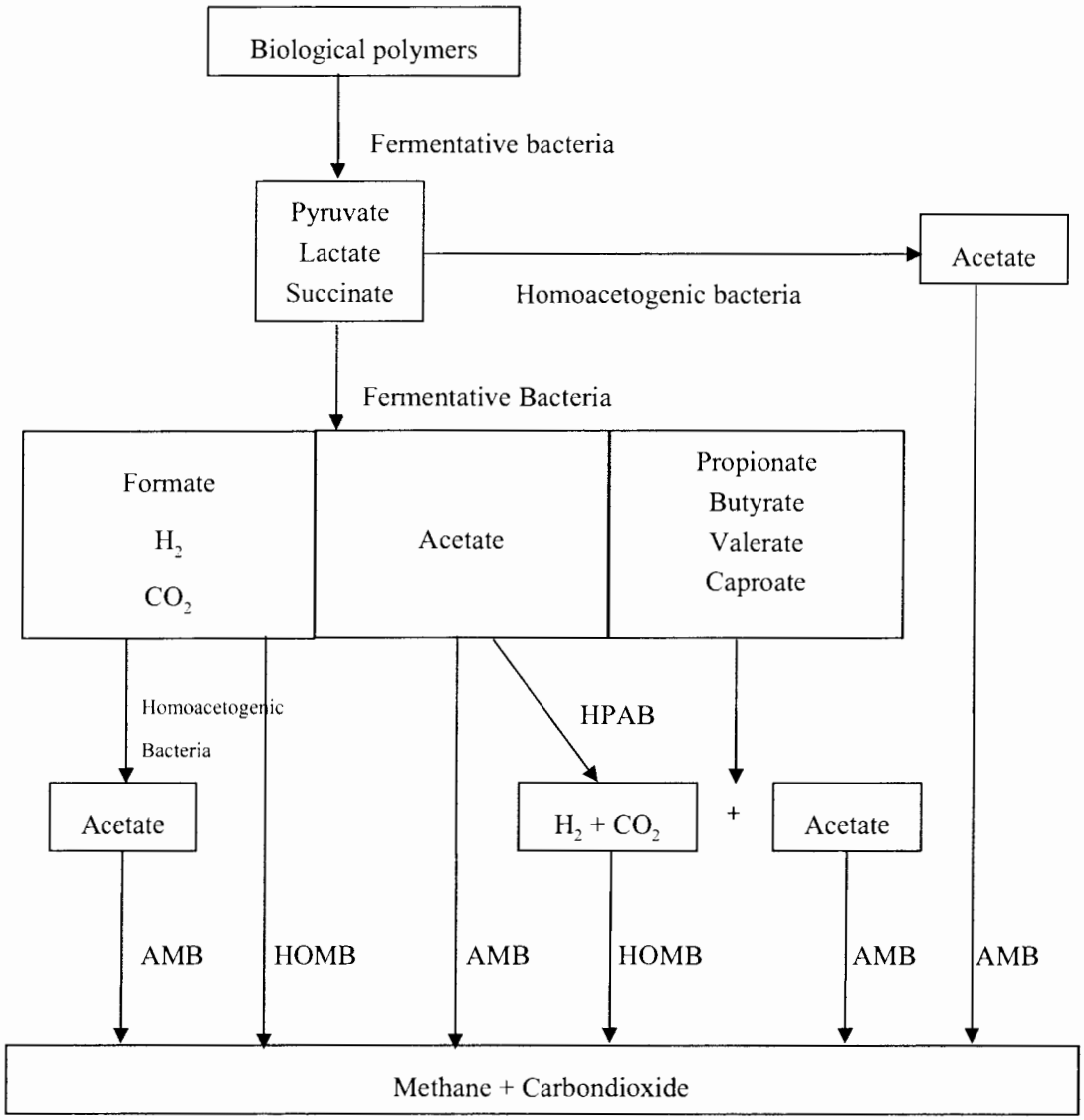
$$CH_4COO^- + H_2O \longrightarrow CH_4 + HCO_3^- + \text{พลังงาน} \qquad (5)$$

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^- \qquad (6)$$

$$H_2CO_3 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 3H_2O \qquad (7)$$



ภาพประกอบ 1-3 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาพไม่ใช้อากาศ



HAB: Homoacetogenic bacteria

HPAB: Hydrogen producing acetogenic bacteria

AMB: Acetoclastic methanogenic bacteria

HOMB: Hydrogen oxidizing methanogenic bacteria

ภาพประกอบ 1-4 จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในแต่ละขั้นตอนของการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ

ที่มา: Garcia (1982)

สำนักทรัพยากรการเรียนรู้ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ

เนื่องจากในระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศประกอบด้วยจุลินทรีย์ 2 กลุ่ม ที่เกี่ยวข้องกันได้แก่ แบคทีเรียพวกที่ไม่สร้างก๊าซมีเทนและแบคทีเรียพวกที่สร้างก๊าซมีเทน ซึ่งหากเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในแบคทีเรียกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งขึ้นย่อมมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานทั้งระบบ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องรักษาสภาวะแวดล้อมให้มีสภาพที่เหมาะสมที่จะทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ด้วยกันได้เป็นอย่างดี ในการที่จะควบคุมระบบให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพจะต้องทำให้จุลินทรีย์นี้อยู่ในสภาวะสมดุลกัน ซึ่งการเกิดเสถียรภาพในการทำงานของระบบการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้อากาศนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการคือ ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางด้านการทำงาน (Price and Cheremisinoff, 1981; Grady *et al.*, 1999)

ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental factor)

(1) อัตราส่วน C/N

อัตราส่วน C/N มีความสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีววิทยามาก เพราะคาร์บอนและไนโตรเจนจะถูกแบคทีเรียนำไปสร้างเป็นโปรโตพลาสซึมของเซลล์ใหม่และสร้างกำลังบัฟเฟอร์ให้กับระบบ อัตราส่วนของ C/N ที่เหมาะสมในการย่อยสลายในสภาพไร้ออกซิเจน คือ 20-30 ถ้าอัตราส่วน C/N สูงเกินไป ไนโตรเจนจะถูกใช้หมดอย่างรวดเร็ว ผลคืออัตราการเกิดเซลล์แบคทีเรียลดลง ทำให้ก๊าซที่ผลิตได้ลดน้อยลง แต่ถ้าอัตราส่วน C/N ต่ำเกินไป ไนโตรเจนที่มากเกินความจำเป็นของแบคทีเรียจะเปลี่ยนมาสะสมอยู่ในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจนซึ่งจะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของระบบได้เนื่องจากเกิดความเป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบ แต่การมีแอมโมเนียไนโตรเจนในระดับที่เหมาะสมก็เป็นสิ่งจำเป็นเพราะสามารถลดปัญหาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างได้จากการที่แอมโมเนียมไอออนทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเกิดเป็นแอมโมเนียมไบคาร์บอเนตควบคุมสมดุลความเป็นกรด-ด่างในระบบ ซึ่งไนเตรทจะสามารถเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมไอออนได้ในระบบย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างภายในระบบ ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เกิน 7.2 แอมโมเนียไนโตรเจนจะอยู่ในรูปแอมโมเนียมไอออน แต่ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 7.2 แอมโมเนียไนโตรเจนจะอยู่ในรูปก๊าซแอมโมเนีย

(2) อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่ออัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ 2 ช่วง คือ อุณหภูมิระหว่าง 30-40 °C (Mesophilic temperature) จุลินทรีย์ที่ทำงานในช่วงนี้เรียกว่า Mesophilic Bacteria และอุณหภูมิระหว่าง 50-60 °C

(Thermophilic temperature) จุลินทรีย์ที่ทำงานในช่วงนี้เรียกว่า Thermophilic bacteria (Kim *et al.*, 2002) แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทนจะหยุดการทำงานเมื่ออุณหภูมิต่ำหรือสูงเกินไป

โดยอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในช่วงเทอร์โมฟิลิกจะสูงกว่าอัตรการย่อยสลายที่ช่วง เมโซฟิลิกอยู่ประมาณ 1.9 เท่า (Bryant, 1979) ดังนั้นสำหรับประเทศในเขตหนาวจึงจำเป็นต้องเพิ่มอุณหภูมิให้กับระบบ แต่สำหรับประเทศไทยนั้นระบบการผลิตก๊าซชีวภาพจะทำงานอยู่ในช่วงเมโซฟิลิกได้เองโดยไม่ต้องใช้ความร้อนช่วย แม้ว่าประสิทธิภาพของระบบในช่วงเมโซฟิลิกจะด้อยกว่าแต่เปรียบเทียบในเรื่องของค่าใช้จ่ายในการทำความร้อนจะแพงมาก ทำให้ไม่นิยมที่จะออกแบบระบบบำบัดในช่วงเทอร์โมฟิลิก

เนื่องจากจุลินทรีย์จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ การลดหรือเพิ่มอุณหภูมิเพียง 2-3 °C จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของก๊าซมีเทนอย่างมาก ดังนั้นการรักษาอุณหภูมิให้สม่ำเสมอ จึงมีความสำคัญมากกว่าการควบคุมให้ระบบมีอุณหภูมิอยู่ในจุดที่ให้อัตราการย่อยสลายสูงสุด โดยในการเดินระบบควรมีการป้องกันไม่ให้อุณหภูมิของระบบเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 °C ต่อวัน (เฉลิมเดช ณ ลำพูน, 2553)

(3) ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยที่สำคัญของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ เนื่องจากแบคทีเรียสร้างกรดและแบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถทำงานร่วมกันได้ดี จึงต้องรักษาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมประมาณ 6.5-7.5 (Acher and Kirsop, 1991) ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าสูงหรือต่ำกว่านี้ประสิทธิภาพของระบบจะลดลง และถ้า pH มีค่าต่ำกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงต่ำอย่างรวดเร็ว เพราะที่สภาวะนี้จะเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียพวกที่สร้างก๊าซมีเทน เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้ใช้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายไม่ทัน ทำให้ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายถูกสะสมเพิ่มมากขึ้น

(4) กรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid, VFA)

กรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลสั้นที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนการไฮโดรไลซีสและการสร้างกรดของแบคทีเรียพวกสร้างกรด เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทาริก ซึ่งจะถูกแบคทีเรียพวกสร้างก๊าซมีเทนนำไปใช้เป็นสารอาหารและแหล่งพลังงาน โดยปกติกรดอินทรีย์ระเหยง่ายในระบบควรมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกประมาณ 50-500 mg/L ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจะมีส่วนสำคัญต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบ คือ เมื่อมีปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายสูงขึ้นค่าความเป็นกรด-ด่างจะต่ำลง ระดับของกรดอะซิติกที่มีค่าเกิน 800 mg/L หรืออัตราส่วนของกรด โพรพิโอนิคต่อกรดอะซิติกเกิน 1.4 จะทำให้ระบบเกิดการล้มเหลวได้ (Marchaim and Krause, 1993) และเมื่อปริมาณกรดระเหย

ง่ายเพิ่มสูงเกินไป แสดงว่าระบบเสียสมดุล โดยปกติปริมาณกรดระเหยง่ายในถังหมักควรไม่เกิน 4,000 mg/L ระบบที่ปกติควรมีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่เกิน 2,000 mg/L แต่ถ้าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 8,000-10,000 mg/L ก็เกิดเป็นพิษขึ้นโดยตรงกับระบบ

กรดอินทรีย์ระเหยง่ายมีผลต่อจุลินทรีย์ในระบบเนื่องจากปริมาณของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายนั้นมีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ถ้ามีกรดอินทรีย์ระเหยง่ายสะสมอยู่ในระบบในปริมาณมากจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบลดลงเกิดความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ แต่ถ้าในระบบมีบัฟเฟอร์ที่ดีแล้วเหตุการณ์นี้ก็จะไม่เกิดขึ้น การแก้พิษของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายทำได้โดยลดอัตราการป้อนสารอินทรีย์ลง การเติมสารปรับสภาพ และเพิ่มระยะเวลาในการเก็บกัก

(5) ความเป็นด่าง (Alkalinity)

สภาพความเป็นด่างในระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศนั้นมีความสำคัญต่อการหมักวัสดุหมักที่มีความเป็นกรดสูงเพราะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากหลังจากมีการเติมวัสดุหมัก ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไบคาร์บอเนต ที่เกิดมาจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างแอมโมเนียกับคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต ความเป็นด่างนี้เป็นบัฟเฟอร์ที่ดีให้แก่ระบบที่จะควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายภายในระบบเพิ่มสูงขึ้น ความเป็นด่างไบคาร์บอเนตก็จะถูกทำลายไป การทำลายความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์นี้เป็นสาเหตุทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง โดยทั่วไปแล้วระบบหมักในสภาวะไม่ใช้อากาศควรมีสภาพความเป็นด่างทั้งหมดประมาณ 1,000-5,000 mg/L as $CaCO_3$ (Metcalf and Eddy, 1991) สภาพความเป็นด่างของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ถูกควบคุมโดยระบบกรด-ด่าง โดยความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์จะสูงเฉพาะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบใกล้เคียงค่า pKa ของระบบกรด-ด่างนั้น ดังนั้นในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-7.5 ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการทำงานของระบบในสภาวะไม่ใช้อากาศมีเพียงระบบไบคาร์บอเนต ซัลไฟด์และฟอสเฟตที่สำคัญและโดยปกติทั่วไประบบไบคาร์บอเนตเท่านั้นที่เป็นส่วนสำคัญในการควบคุมสภาพด่างของระบบ ซึ่งการปรับสภาพความเป็นด่างสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเติมสารเคมีต่างๆ ได้แก่ ปูนขาว โซเดียมไบคาร์บอเนต การใช้วัสดุหมักร่วมกับวัสดุอื่นๆที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบสูง เป็นต้น

(6) สารอาหาร (Nutrient)

สารอาหารแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ สารอาหารหลัก (Macronutrient) ได้แก่ คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และกำมะถัน (S) และสารอาหารรอง (Micronutrient) ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สังกะสี (Zn) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co)

เหล็ก (Fe) และนิเกิล (Ni) ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่จุลินทรีย์ต้องการในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศอย่างน้อยที่สุดต้องมีอัตราส่วน BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 และ COD:N:P เท่ากับ 150:1:0.2 โดยใช้คาร์บอนในการสังเคราะห์พลังงาน ไนโตรเจนในการสังเคราะห์โปรตีนและฟอสฟอรัสในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

(7) สารพิษ (Toxic substance)

สารบางอย่างถ้ามีความเข้มข้นสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งระดับความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารพิษ ตัวอย่างสารพิษ ได้แก่ ไอออนประจุบวกของโลหะเบา (Light metal cation) ไอออนประจุบวกของโลหะเบา ได้แก่ โซเดียม (Na^+) โพแทสเซียม (K^+) แคลเซียม (Ca^{2-}) และแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ซึ่งเกิดขึ้นมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือการเติมสารเคมีเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบ มีผลเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ซึ่งความเป็นพิษของมันเป็นปฏิกิริยาที่ซับซ้อนและขึ้นอยู่กับปริมาณของไอออนประจุบวกของโลหะเบาด้วยว่ามีปริมาณมากน้อยเท่าใด (ตารางที่ 1-4)

ตารางที่ 1-4 ความเข้มข้นอิออนบวก ที่กระตุ้นและยับยั้ง

ชนิดของอิออนบวก	ความเข้มข้น (mg/L)		
	กระตุ้น	ยับยั้งปานกลาง	ยับยั้งมาก
Na^+	100-200	3,500-5,500	>8,000
K^+	200-400	2,500-4,500	>12,000
Ca^{2+}	100-200	2,500-4,500	>8,000
Mg^{2+}	75-150	1,000-1,500	>3,000

ที่มา: McCarty (1964)

(8) ก๊าซบางชนิด

8.1) แอมโมเนีย (Ammonia) เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยไนโตรเจนภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ (ตารางที่ 1-5) เช่น โปรตีน เป็นแอมโมเนียไนโตรเจนซึ่งไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) หรือก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 7.2 จะมี NH_4^+ มากกว่า แต่ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 7.2 จะมี NH_3 มากกว่า ซึ่งจะยับยั้งการทำงานและมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์มากกว่า NH_4^+ แอมโมเนียเมื่ออยู่ในรูปของ NH_3 จะเป็นพิษก็ต่อเมื่อมีความเข้มข้นประมาณ 100 mg/L แต่ในรูปของ NH_4^+ จะเป็นพิษ

เมื่อมีความเข้มข้นสูงเท่ากับ 7,000-9,000 mg/L Sterling และคณะ (2001) ศึกษาการย่อยสลายมูลวัวนมภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ พบว่า แอมโมเนียไนโตรเจนมีผลต่อการสร้างก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซมีเทน และการลดลงของของแข็งระเหยในถังหมัก โดยแอมโมเนียไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยมีผลทำให้ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้น แต่เมื่อมีแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นจะมีผลยับยั้งการสร้างก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซมีเทน การผลิตก๊าซชีวภาพทั้งหมดจะลดลงไปร้อยละ 50 ของอัตราการผลิตเดิม

ตารางที่ 1-5 ระดับความเป็นพิษของแอมโมเนีย

แอมโมเนียไนโตรเจน (mg/L)	ผลต่อระบบ
50-200	ปริมาณพอเหมาะ
200-1,000	ยังไม่เกิดผลชัดเจน
1,500-3,000	เริ่มยับยั้งเมื่อมีค่าพีเอชสูง
>3,000	เป็นพิษโดยตรง

ที่มา: Pachauri and He (2006)

8.2) ซัลไฟด์ (Sulfide) เกิดขึ้นในระบบไม่ใช้อากาศจากซัลเฟต (Sulfate) ที่มีอยู่ในน้ำทิ้งที่เข้าสู่ระบบ หรือเกิดจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่มีซัลเฟอร์ เช่น โปรตีน ซึ่งซัลไฟด์ที่ละลายน้ำเท่านั้นและมีความเข้มข้นสูงกว่า 200 mg/L ที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์โลหะหนักทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์สร้างผลึกที่ไม่ละลายน้ำขึ้น ความเข้มข้นของซัลไฟด์ละลายน้ำโดยที่จุลินทรีย์สามารถทนได้มีค่าอยู่ระหว่าง 50-160 mg/L ดังนั้นการเติมโลหะบางชนิด เช่น เหล็ก สามารถลดความเป็นพิษของซัลไฟด์ละลายได้ ซัลไฟด์จะถูกแยกออกมาอยู่ในรูปของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ดังนั้นความเข้มข้นของซัลไฟด์ละลายขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของของเหลวและส่วนประกอบของก๊าซ

(9) โลหะหนัก (Heavy metal)

โลหะหนัก ได้แก่ เหล็ก ดีบุก ตะกั่ว สังกะสี ทองแดง แคดเมียม โคบอล โครเมียม และนิเกิล เป็นต้น ซึ่งอิออนของโลหะหนักเหล่านี้เป็นพิษต่อจุลินทรีย์และพิษของโลหะหนักก็ขึ้นอยู่กับว่าเกลือของโลหะหนักนั้นจะละลายน้ำได้มากน้อยเพียงใด และพิษของโลหะหนักจะมากหรือน้อยเพียงใดก็ขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีอยู่ในของเสียนั้น

(10) คุณลักษณะสารอาหาร (Substrate characteristic)

องค์ประกอบของสารอาหารจะเป็นตัวกำหนดลักษณะของระบบภายในถังหมัก โดยจะทำหน้าที่เป็นตัวคัดเลือกจุลินทรีย์ที่จะใช้สารประกอบต่างๆ ซึ่งของเสียที่จะนำมาย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ มักประกอบด้วยองค์ประกอบต่างๆ เหล่านี้เป็นหลัก ได้แก่ ไขมัน กรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกลุ่มของสารประกอบไนโตรเจนจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

ปัจจัยทางด้านการทำงาน (Operational factor)

(1) อัตราการป้อนสารอินทรีย์ (Organic loading rate, OLR) เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่ใช้ในการกำหนดความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ การปรับอัตราการป้อนสารอินทรีย์ให้มีค่าแตกต่างกัน ทำได้โดยเปลี่ยนอัตราการไหลของของเสียที่ไหลผ่านถังหมัก หรือเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของของแข็งหรือความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ใส่เข้าไป ภาระบรรทุกสารอินทรีย์มีหน่วยเป็น กิโลกรัมซีโอดีหรือกิโลกรัมวีเอสเอสต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน ถ้าภาระบบทุกที่สูงเกินไปจะทำให้กรดไขมันระเหยเกิดมากเกินไป ทำให้พีเอชของถังหมักมีค่าต่ำ แต่ถ้าภาระบรรทุกที่ต่ำเกินไปจะทำให้เกิดก๊าซชีวภาพจำนวนน้อยไม่เพียงพอ ซึ่งการเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอินทรีย์มีผลต่อระยะเวลาเก็บกักด้วย

การป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบสามารถจำแนกตามลักษณะการป้อนอาหารมีอยู่ด้วยกัน 3 วิธี คือ

1) การป้อนอาหารแบบครั้งคราว (Batch)

เป็นการป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบเพียงครั้งเดียว หลังจากนั้นจะปล่อยให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียในระบบและไม่มีการป้อนสารอินทรีย์เพิ่มเข้าไปอีก สารอินทรีย์ถูกย่อยสลายจนหมด ระบบนี้เหมาะกับวัตถุดิบที่มีปริมาณมากๆ แต่ใช้เวลานานมาก การหมักแบบนี้ระบบจะไม่คงที่ และปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นไม่สม่ำเสมอ

2) การป้อนอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous)

เป็นลักษณะการป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบ โดยจะมีการป้อนอาหารเป็นช่วงๆ ให้สอดคล้องกับการทำงานของระบบ หลังจากนั้นจึงมีการถ่ายน้ำเสียออกก่อนที่จะเติมน้ำเสียเข้าไปใหม่อีกครั้ง ซึ่งเหมาะกับกรณีที่มีวัตถุดิบเป็นประจำ ซึ่งปกติจะมีการเติมสารอินทรีย์ใหม่ทุกๆวัน การหมักแบบนี้จะส่งผลดีต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ช่วยลดปัญหาจากการที่มีสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบจำนวนมากแบบกะทันหัน (Shock load) และปริมาณที่เกิดขึ้นค่อนข้างที่จะคงที่

3) การป้อนอาหารแบบต่อเนื่อง (Continuous)

เป็นลักษณะการป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา คือ มีน้ำเสียเข้าออกจากระบบตลอดเวลา ดังนั้นวัสดุหมักจะถูกย่อยสลายภายในระบบช่วงเวลาหนึ่งและถูกถ่ายออกจากระบบอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกัน ทำให้ประสิทธิภาพของระบบนี้สูง เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เพื่อต้องการให้ระบบสามารถดำเนินไปอย่างสม่ำเสมอ

(2) ระยะเวลาเก็บกัก (Hydraulic retention time, HRT) เป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ อัตราเร็วของการย่อยสลายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บกักสารอินทรีย์จนถึงค่าสูงสุดค่าหนึ่ง ต่อจากนั้นก็จะลดลงจนกระทั่งถึงขั้นหนึ่งที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบ (Wash out) ในอัตราที่เร็วกว่าจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้น (Yilmazer and Yenigun, 1999) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ระบบล้มเหลวได้ สามารถแก้ไขการที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบได้โดยการเพิ่มระยะเวลาเก็บกักให้นานขึ้น (Wen *et al.*, 1999) นอกจากนี้ระยะเวลาเก็บกักจะเป็นปัจจัยหลักในการออกแบบระบบการหมัก กล่าวคือ ระยะเวลาเก็บกักเป็นระยะเวลาที่ของเสียอยู่ในถังหมักสามารถหาได้โดยการหารปริมาตรถังหมักด้วยปริมาตรของเสียที่เติมลงในถังหมักต่อหน่วยเวลาระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบ (Solid retention time, SRT) หมายถึงมวลของของแข็งภายในระบบหารด้วยมวลของของแข็งที่ปล่อยออกจากระบบต่อวัน ในถังหมักแบบธรรมดาที่ไม่มีการหมุนเวียนตะกอน มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ภายในระบบจะเท่ากับระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย (SRT=HRT) แต่ในถังหมักที่มีการหมุนเวียนตะกอน มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ภายในระบบมากกว่าระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย (SRT>HRT)

$$HRT = SRT = \text{volume/flow rate} = V/Q$$

(3) การกวน (Mixing) การกวนเป็นสิ่งสำคัญในระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ โดยมีหลักการ คือ ทำให้สารอินทรีย์อยู่ในสภาพแขวนลอย เพื่อให้เกิดการสัมผัสกันระหว่างสารอาหารกับจุลินทรีย์ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบด้วย และป้องกันการเกิดการสะสมของสารอินทรีย์ตามจุดต่างๆ ของถังหมัก และทำให้ของเหลวภายในถังหมักมีสภาพเป็นเนื้อเดียวกัน วิธีในการกวนของเหลวในถังหมักมีหลายวิธี เช่น ใช้เครื่องกวน สูบอัดก๊าซไปทางด้านก้นของถังหมัก หมุนเวียนตะกอนด้วยปั๊ม และใช้การสูบผ่านท่อน้ำ เป็นต้น

1.2.6 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศมีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพ เพราะมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์ช้ามาก ทำให้การเริ่มระบบเป็นไปได้ช้า ต้องใช้ระยะเวลาในการกักเก็บนาน ถังปฏิกรณ์ที่ใช้จึงมีขนาดใหญ่ทำให้ค่าลงทุนสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายกลุ่มและแต่ละกลุ่มมีความต้องการสภาวะที่แตกต่างกัน โดยจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของก๊าซชีวภาพ ซึ่งมีการเจริญเติบโตและไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสาวะแวดล้อมอย่างมาก ต้องอาศัยการดูแลอย่างใกล้ชิด

ในงานวิจัยนี้จะใช้ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนสมบูรณ์ (Completely stirred tank reactor) เป็นการเรียกตามลักษณะของสสารที่อยู่ในถังซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากันทุกจุด (Completely mixed) ถังปฏิกรณ์แบบนี้ถือเป็นถังปฏิกรณ์ในอุดมคติ (Ideal reactor) แบบหนึ่งและเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ โดยถังกวนสมบูรณ์นี้ถูกพัฒนาขึ้นมาจากถังย่อยสลัดจ์ซึ่งเป็น conventional anaerobic digester ที่มีประสิทธิภาพต่ำสุด เนื่องจากการกวนผสมไม่ดี ทำให้ระยะเวลาย่อยสลายยาวนาน จึงได้มีการพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสัมผัสกันของสารอาหารในน้ำเสียและจากถังย่อยสลัดจ์ (Septic tank) โดยมีการติดตั้งใบกวน เพื่อให้จุลินทรีย์และสารอาหารในถังปฏิกรณ์มีการสัมผัสกันมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น

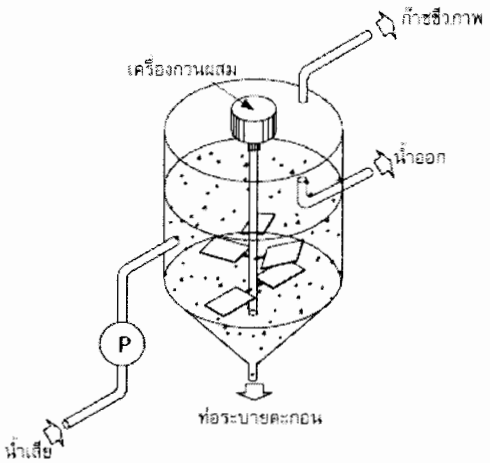
1.2.6.1 ระบบถังหมักกวนสมบูรณ์

ถังหมัก (Anaerobic digester) ทำงานในลักษณะที่แบคทีเรียและสารอาหารอยู่ในสภาพแขวนลอย (Suspended -growth) จึงต้องมีการกวนผสมน้ำเสียกับสารอาหารองค์ประกอบของระบบ ระบบถังแบบกวนสมบูรณ์หรือซีเอสทีอาร์ นิยมมีทั้งรูปทรงกระบอก สี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือคลองวนเวียน มีลักษณะทางชลศาสตร์ (Hydraulic pattern) แบบกวนสมบูรณ์เป็นเนื้อเดียวกันทั่วทั้งถัง และไม่มีการหมุนเวียนเซลล์แบคทีเรียกลับเข้าระบบ การพัฒนาถังปฏิกรณ์บำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศแบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือ

1) ถังปฏิกรณ์ระยะแรก (First generation reactor) ถังปฏิกรณ์ชนิดนี้เป็นถังที่พัฒนาขึ้นจากการนำเอาข้อเสียของระบบแบบเปิดมาพัฒนาเป็นระบบแบบปิด เพื่อป้องกันกลิ่นและสามารถเก็บกักก๊าซชีวภาพที่ผลิตขึ้นมาใช้งาน มีลักษณะการทำงานง่ายๆไม่ยุ่งยาก เช่น ถังปฏิกรณ์แบบถังกวน (stirred tank reactor) และถังปฏิกรณ์แบบ anaerobic contact เป็นต้น

2) ถังปฏิกรณ์ระยะที่สอง (Second generation reactor) มีการเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์ในถังปฏิกรณ์บำบัดน้ำเสียโดยวิธีการตกตะกอนและวนตะกอนจุลินทรีย์กลับไปใช้ถัง

ใหม่ ซึ่งมีกระบวนการที่ค่อนข้างยุ่งยาก แต่มีประสิทธิภาพสูง เช่น ถังปฏิกรณ์แบบตรึงเซลล์บนผิววัสดุ (Anaerobic filter/Fixed film reactor) และถังปฏิกรณ์แบบ up flow anaerobic sludge blanket (UASB) เป็นต้น



ภาพประกอบ 1-5 ไดอะแกรมระบบถังกวนสมบูรณ์
ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549)

ระบบนี้มีเวลากักเก็บน้ำ เท่ากับเวลากักเก็บของแข็ง เพื่อให้มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียมากพอในการทำปฏิกิริยาจึงต้องการเวลากักเก็บค่อนข้างสูงเพื่อให้แบคทีเรียเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้ทัน แบคทีเรียจะไหลออกไปกับน้ำออก ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหย ด้านของถังมีฝาปิดเพื่อรวบรวมก๊าซชีวภาพนำไปใช้งาน การกวนเป็นปัจจัยสำคัญของระบบเพื่อให้เกิดการผสมกันระหว่างแบคทีเรียกับสารอาหาร ป้องกันการเกิดฝ้าไข (Scum) และป้องกันการตกตะกอน การกวนทำได้หลายวิธีเช่น ใช้เครื่องกวนแบบเพลาแนวตั้ง ใช้เครื่องกวนแบบจุ่ม (Submersible mixer) ใช้เครื่องสูบน้ำหมุนเวียนหรือใช้ Blower ดูดก๊าซชีวภาพจากด้านบนเป่าลงกวนผสม

ถังกวนสมบูรณ์ที่ใช้งานแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ดังนี้

- ถังหมักตะกอน (Sludge digester) ระบบกลุ่มนี้ มีใช้งานจำนวนมาก ใช้หมักตะกอนจากระบบบำบัดแบบใช้อากาศ ส่วนใหญ่จะเป็นแบบ low-rate digester ไม่มีการกวนผสม (การกวนเกิดเองจากก๊าซชีวภาพที่ลอยขึ้นเท่านั้น) สำหรับก๊าซชีวภาพ ส่วนใหญ่ระบายทิ้ง ทางท่อระบายอากาศด้านบนของถังหมัก ถังหมักตะกอนใช้เพื่อย่อยสลายตะกอน ส่วนใหญ่มีการดูแลโดยผู้ควบคุมระบบบำบัดถือเป็นส่วนประกอบไม่สำคัญ มักไม่มีการตรวจวิเคราะห์ใดๆ เช่น พีเอช ของแข็งแขวนลอย ฯลฯ ต่างจากระบบบำบัดน้ำเสียหลักที่ได้รับการดูแลสม่ำเสมอกว่าถังกวนสมบูรณ์บำบัด

น้ำเสียอุตสาหกรรม ระบบบำบัดกลุ่มนี้มีใช้งานน้อย ใช้บำบัดขั้นต้นน้ำเสียอุตสาหกรรมที่มี ซีโอดี และของแข็งแขวนลอยสูง ซึ่งข้อดี ข้อเสีย เดินระบบด้วยระบบถังหมักกวนสมบูรณ์ แสดงดังตารางที่ 1-6

ตารางที่ 1-6 ข้อดี ข้อเสีย ของการเดินระบบด้วยระบบถังหมักกวนสมบูรณ์

ข้อดี	ข้อเสีย
ใช้ได้ดีกับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์และของแข็งแขวนลอยสูง ง่ายต่อการตรวจสอบการท้างานง่ายต่อการตรวจสอบการทำงาน	เวลาเก็บกักของแข็ง เท่ากับเวลาเก็บกักน้ำ จึงมีปริมาตรขนาดใหญ่ท้าให้ค่าก่อสร้างสูงเวลาเก็บกักของแข็ง เท่ากับเวลาเก็บกักน้ำ จึงมีปริมาตรขนาดใหญ่ท้าให้ค่าก่อสร้างสูง
รักษาความสม่ำเสมอของแบคทีเรีย สารอาหาร อุณหภูมิ และ พีเอชให้เท่ากันทั่วทั้งถังได้ดี	มีค่าใช้จ่ายในการเดินระบบเพื่อกวนผสมเช่นค่ากระแสไฟฟ้า ค่าซ่อมบำรุง
การกวนผสมจะลดการไหลลัดวงจร ป้องกันการตกตะกอนของแบคทีเรีย และป้องกันการสะสมตัว ของน้ำเสียในจุดอับ	น้ำออกมีของแข็งแขวนลอยสูงเพราะไม่มีระบบตกตะกอนก่อนปล่อยออก
ถ้ามีสารพิษในน้ำเข้า จะถูกเจือจางเกิดผลกระทบต่อระบบน้อย	ไม่อาจเดินระบบที่เวลาเก็บกักของแข็งสูงๆได้ ทำให้เสถียรภาพของระบบมีขีดจำกัด

ที่มา: Metcalf and Eddy (2004)

1.2.6.2 การออกแบบ

การออกแบบถังกวนกวนสมบูรณ์ทำได้ 2 วิธี คือใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์หรือใช้เกณฑ์การออกแบบ

1) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

วิธีนี้จะใช้สมการคณิตศาสตร์ซึ่งมี 2 ประเภทคือ สมการ Empirical และสมการที่พัฒนาจากปฏิกิริยา Monod ในถังที่มีลักษณะทางชลศาสตร์แบบกวนสมบูรณ์ (สมการที่ 8-9)

$$X = \frac{\mu m(So-S)}{K(1+Kd\theta)} = \frac{Y(So-S)}{1+Kd\theta} \qquad (8)$$

$$S = \frac{Ks\ (1+\theta Kd)}{\theta(YK-Kd)-1} \quad (9)$$

เมื่อ

So = ความเข้มข้นของสารอาหาร(ซีโอดี)ในน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบ, mg/L

S = ความเข้มข้นของซีโอดีกรอง (SCOD) ในถังปฏิกรณ์ และในน้ำออก, mg/L

m = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด, mg VSS/mgCOD/day

Kd = สัมประสิทธิ์การสลายตัวของจุลินทรีย์, mg VSS/mgVSS/day

Y = สัมประสิทธิ์การเจริญเติบโตสูงสุดของจุลินทรีย์ หรือมวลจุลินทรีย์ที่เกิด,mg VSS/mgCOD/day

Ks = ความเข้มข้นของซีโอดีจุดที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด, mgCOD/L.mgCOD/L

k = μm/Y = อัตราการใช้สารอาหารสูงสุดต่อหนึ่งหน่วยจุลินทรีย์, mgCOD/gVSS/day

θ = เวลากักเก็บน้ำ ,วัน

X = ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในน้ำเสียในถังปฏิกรณ์และในน้ำออก, mgVSS/L

ในการออกแบบจะต้องเลือกค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ (Kinetic coefficient) ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ ระหว่างน้ำเสียชนิดนั้นๆ กับแบคทีเรียซึ่งแตกต่างกันในน้ำเสียแต่ละชนิด การหาค่าคงที่ทางจลนศาสตร์หาได้จากรายงานวิจัย เอกสารวิชาการ กรณีทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ หรือโรงงานต้นแบบซึ่ง จะได้ข้อมูลที่ถูกต้องที่สุด แต่ต้องใช้เวลาและเสียค่าใช้จ่ายมาก บางครั้งผู้ออกแบบนิยมตั้งสมมติฐานค่าเหล่านี้ขึ้น ซึ่งในกรณีสมมติค่าในภาพรวมบางครั้งก็ไม่ได้ให้ผลที่มีความถูกต้องมากนัก ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ได้แสดงใน ตารางที่ 1-7

ตารางที่ 1-7 ค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียแบบไม่ใช้อากาศ

พารามิเตอร์	หน่วย	ค่าคงที่	
		ช่วงค่า	นิยมใช้
μ_m			
25 °C	mgVSS/mgCOD/day	0.18-0.24	0.20
30 °C	mgVSS/mgCOD/day	0.22 – 0.28	0.25
35 °C	mgVSS/mgCOD/day	0.30 – 0.38	0.35
Y			
ปฏิกิริยาการสร้างกรด	mgVSS/mgCOD	0.06 – 0.12	0.10
ปฏิกิริยาการสร้างมีเทน	mgVSS/mgCOD	0.02 – 0.06	0.04
ปฏิกิริยารวม	mgVSS/mgCOD	0.05 – 0.10	0.08
Kd			
ปฏิกิริยาการสร้างกรด	mgVSS/mgVSS/day	0.02 -0.06	0.04
ปฏิกิริยาการสร้างมีเทน	mgVSS/mgVSS/day	0.01 -0.04	0.02
ปฏิกิริยารวม	mgVSS/mgVSS/day	0.02 – 0.04	0.03
Ks			
25 °C	mgCOD/L	800-1,100	900
30 °C	mgCOD/L	300 -500	360
35 °C	mgCOD/L	60 -200	160
ก๊าซมีเทน			
อัตราการเกิดที่35 °C	$m^3/kgCOD_{removed}$		0.4
ความหนาแน่น	Kg/m3		0.6346
สัดส่วนในก๊าซชีวภาพ	%	60 – 70	65
สัดส่วนพลังงาน	KJ/g		50.1

ที่มา: Metcalf and Eddy (2004)

สำหรับ ปริมาณมีเทน ประเมินได้จากสมการที่ 10 และ 11

$$P_X = \frac{QY(So-S)}{1+Kd\theta c} \quad (10)$$

$$V_{CH4} = 0.35\ \{Q(So-S)-1.42\ Px\} \quad (11)$$

เมื่อ P_X = มวลจุลินทรีย์ที่เกิด, ก./วัน

V_{CH4} = ปริมาณมีเทนที่เกิด (ที่สภาวะมาตรฐาน 0 °C , 1 atm)

0.35 = อัตราส่วนทางทฤษฎี การเกิดมีเทน ที่ 0 °C, $L/gCOD_{removed}$

2) เกณฑ์การออกแบบ วิธีนี้จะเลือกเกณฑ์การออกแบบที่เหมาะสม ซึ่งอาจหาจากรายงานวิจัย เอกสารวิชาการ ผลการทดลอง หรือการดำเนินงานจริง เกณฑ์การออกแบบที่นิยมใช้คือ อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (ซึ่งมีทั้งจากค่า ซีโอดี และของแข็งแขวนลอยระเหย) และเวลากักเก็บน้ำ ดังตารางที่ 1-8

ตารางที่ 1-8 เกณฑ์การออกแบบระบบถังกวนสมบูรณ์

ชนิดของเสีย	อุณหภูมิ (°C)	อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์	SRT และ HRT (วัน)
น้ำเสีย	30	1 – 5 kgCOD /m^3/day	15 - 30[1]
ตะกอน	18	-	28[2]
ตะกอน	24	-	20[2]
ตะกอน	30	-	14[2]
ตะกอน	40	-	10[2]
ตะกอน	30-35	1.6 – 4.8 kgVSS / m^3/day	15 – 20[3]
ตะกอน	-	High-rate 2.4 – 6.4 kgVSS / m^3/day	10-20[4]
ตะกอน	-	Low-rate 2.4 – 6.4 kgVSS / m^3/day	30-60[4]

ที่มา: (1) Metcalf and Eddy, 2004, (2) McCarty, 1968 , (3) U.S. EPA, 1979 (4) Qasim, 1985; แบบ Low-rate ไม่มีการกวนในถัง

ในกรณีถังหมักตะกอน WEF (1998) เสนอความสัมพันธ์ระหว่าง เวลาเก็บกัก กับการกำจัดของแข็งระเหย (volatile solids) ขณะที่ Liptak (1974) เสนอความสัมพันธ์ในรูปสมการ Empirical (สมการที่ 12) ทั้งนี้ ความเข้มข้นตะกอนมีผลต่ออัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 1-9 (สำหรับการหมักตะกอน บางครั้งจะใช้ของแข็งแขวนลอยระเหย แทนของแข็งระเหยโดยอนุโลม)

$$V_d = 13.7 \ln(SRT) + 18.9 \qquad (12)$$

เมื่อ V_d = การกำจัดของแข็งระเหย, %

SRT = HRT (เวลากักเก็บ 15 – 20 วัน) , วัน

ตารางที่ 1-9 ความสัมพันธ์ระหว่าง เวลากักเก็บ กับการกำจัดของแข็งระเหยของถังหมักตะกอน

SRT และ HRT, วัน	การกำจัดของแข็งระเหย,%
15	56.0
20	60.0
30	65.5

ที่มา: WEF (1998)

และความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นตะกอน กับเวลาเก็บกักและอัตราภาระบรรทุก สารอินทรีย์ของถังหมักตะกอน แสดงดังตารางที่ 1-10

ตารางที่ 1-10 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นตะกอน กับเวลาเก็บกักและอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ของถังหมักตะกอน

ของแข็งใน	อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (kgVS / m^3/day)			
ตะกอนเข้า(%)	HRT 10 วัน	HRT 12 วัน	HRT 15 วัน	HRT 20 วัน
2	1.4	1.2	0.95	0.70
3	2.1	1.8	1.4	1.1
4	2.9	2.4	1.9	1.4
5	3.6	3.0	2.4	1.8
6	4.3	3.6	2.9	2.1
7	5.0	4.2	3.3	2.5
8	5.7	4.8	3.8	2.9

หมายเหตุ : ที่สภาวะ ตะกอนมี VS = 70% TS, มี ถ.พ. 1.02

ที่มา: Metcalf & Eddy (2004)

4.2.3 ข้อพิจารณาในการออกแบบ ก. รูปทรง รูปทรงที่ดี จะช่วยให้การกวนเกิดประสิทธิภาพ ไม่มีของแข็งแขวนลอยตกตะกอนได้ง่าย

ในประเทศไทย ถังหมักตะกอนนิยมรูปทรงทรงกระบอก โดยก้นถังมีความลดชันลงกลางถัง ถังแบบนี้จะมีพื้นที่หน้าตัดมาก ทำให้เกิดคราบฝ้าไข และการตกตะกอนสะสมของ grit สำหรับถังรูปหน้าตัดสี่เหลี่ยมจัตุรัส (ซึ่งก่อสร้างง่ายกว่า) ควรใช้กับน้ำเสียที่มีของแข็งแขวนลอยค่าต่ำๆ ในต่างประเทศปัจจุบันนิยมใช้ถังรูปไข่ และถังทรงกระบอกที่มีก้นถังและฝาถังหน้าตัดเล็กลง เรียก german design (คล้ายรูปไข่ แต่ก่อสร้างง่ายกว่า) ถังกลุ่มนี้ทำให้การกวนดีขึ้นและไม่เกิดฝ้าไขด้านบนของถัง นอกจากนี้ถังรูปทรงคลองวนเวียนที่ใช้การกวนด้วย submersible mixer และมีแผ่น PVC คลุมเก็บก๊าซ ก็ใช้ได้ดี มีค่าก่อสร้างถูก แต่ต้องออกแบบให้มีความเร็วกระแสน้ำสูงพอเพียงเพื่อไม่ให้เกิดการตกตะกอน

1.2.7 อัตราส่วน COD: N ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ

ปริมาณสารอาหารในน้ำเสียมีความสัมพันธ์กับชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบ และประสิทธิภาพในการย่อยสลาย ซึ่งพบว่าสารอาหารที่ต่างชนิดกันมีอัตราการย่อยสลายช้าเร็วที่แตกต่างกัน โดยสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตจะให้อัตราย่อยสลายที่เร็วกว่าโปรตีนและไขมัน ในขณะที่ไขมันมักย่อยสลายได้ช้า แม้ไขมันที่อยู่ในรูปสารละลายจะสามารถย่อยสลายได้เร็ว แต่ไขมันส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปที่ไม่ลำลายในน้ำ นอกจากนั้นจุลินทรีย์ยังต้องการสารอาหารจำพวกไนโตรเจนและฟอสฟอรัส เพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากในเซลล์ของจุลินทรีย์ทุกชนิดจะประกอบไปด้วยธาตุที่สำคัญได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ ซัลเฟอร์

ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ใช้ในการเดินระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ โดยความต้องการไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเซลล์ ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสภายในเซลล์และในน้ำเสีย ซึ่งในเซลล์จุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทนจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 6-12 และมีปริมาณฟอสฟอรัสปริมาณร้อยละ 14 ของไนโตรเจนในการสร้างเซลล์ร้อยละของเซลล์ทั้งหมด ซึ่งจะต้องการไนโตรเจนและฟอสฟอรัสประมาณ 6 กิโลกรัม และ 0.8 กิโลกรัมตามลำดับ ต่อปริมาณซีโอดี 1,000 กิโลกรัม (COD:N:P เท่ากับ 300:1.8:0.24) (Speece and McCarty, 1964)

Speece ได้พัฒนาสมการที่ใช้ในการคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่จุลินทรีย์ในระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศต้องการ เป็นดังสมการที่ 13

$$C_nH_aO_bN_c + \left(2n+c-b-\frac{9sd}{20}-\frac{ed}{4}\right)H_2O \longrightarrow \left(\frac{de}{8}\right)CH_4+\left(n-c-\frac{sd}{5}-\frac{de}{8}\right)CO_2+\left(\frac{sd}{20}\right)C_5H_7O_2N + \left(C-\frac{sd}{20}\right)NH_4^+ + \left(c-\frac{sd}{20}\right)HCO_3^- \qquad (13)$$

เมื่อ $d = 4n+a-2b-3c$

S = fraction of waste synthesized

$C_nH_aO_bN_c$ = สูตรอย่างง่ายของจุลินทรีย์

จากสมการแสดงให้เห็นว่าปริมาณไนโตรเจนที่ระบบย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศต้องการมีสัดส่วนที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ โดยปริมาณฟอสฟอรัสที่จุลินทรีย์ต้องการมีค่าประมาณร้อยละ 15 ของไนโตรเจนที่จุลินทรีย์ต้องการ

การคำนวณหาอัตราส่วนของสารอาหาร (COD:N:P) ที่เหมาะสมที่จำทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งค่าอัตราส่วนนี้จะสามารถหาได้จากสูตรโมเลกุลของจุลินทรีย์และสมการการย่อยสลาย (Busewll's equation) โดยสูตรของจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในการคำนวณคือ $C_5H_7O_2N$ (Hoover and Porges, 1952) หรือ $C_{60}H_{87}0_{23}N_{12}P$ (Lima *et al.*, 2008)

Annachhatre *at el.* (1996) พบว่า คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส มีความสามารถต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยอัตราของสารอาหาร (COD:N:P)ในระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศต้องการในช่วงเริ่มต้นระบบเท่ากับ 300:5:1 และมีค่าเท่ากับ 600:5:1 ในช่วงที่ระบบคงตัว

Stronach *at el.* (1986) พบว่าสัดส่วนของสารอาหาร (COD:N)ที่ระบบย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศต้องการมีค่าเท่ากับ 400:7 ที่อัตราป้อนอาหารสูง(0.8-1.2 gCOD/gVSS.day)และมีค่าเท่ากับ 1,000:7 ที่อัตราป้อนอาหารต่ำ (<0.5 gCOD/gVSS.day)

1.2.9 ก๊าซชีวภาพ (Biogas)

ก๊าซชีวภาพ หมายถึง ก๊าซที่ได้มาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนโดยมีจุลินทรีย์หลายชนิดทำหน้าที่ย่อยสลาย ก๊าซชีวภาพเป็นก๊าซผสมระหว่างก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังอาจจะมีก๊าซไนโตรเจน ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ปนอยู่บ้างเล็กน้อย แต่ก๊าซชีวภาพที่เกิดจากกระบวนการหมักจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้และสภาวะของกระบวนการหมักด้วย โดยองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพแสดงดังตารางที่ 1-11

ตารางที่ 1-11 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

องค์ประกอบ	ร้อยละ
ก๊าซมีเทน (CH_4)	50-75
ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)	36-39
ก๊าซไฮโดรเจน (H_2)	1-3
ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)	1-3

ที่มา: Polprasert (1996)

1.2.9.1 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพสามารถนำมาใช้แทนพลังงานในรูปแบบต่างๆ ได้จากการเปรียบเทียบกับเชื้อเพลิงชนิดอื่นๆ ดังนั้น ก๊าซชีวภาพจึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการดังตารางที่ 1-12

ตารางที่ 1-12 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพในด้านต่างๆ

ด้าน	ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ
ด้านพลังงาน	ใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อให้ความร้อน ทดแทนการใช้น้ำมันเตา ใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า ใช้ในรูปของพลังงานร่วม โดยใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าและให้ความร้อนกับกระบวนการผลิตร่วมกัน เป็นเทคโนโลยีในการบำบัดขยะมูลฝอยซึ่งสามารถให้พลังงานสุทธิ มีศักยภาพในการผลิตพลังงานจาก “ขยะเปียก” ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการเผาเพื่อผลิตพลังงาน มีศักยภาพที่จะได้รับผลตอบแทนทางการเงินและเศรษฐศาสตร์สูง โดยเฉพาะเมื่อพลังงานชนิดอื่นมีราคาสูง และรัฐมีมาตรการส่งเสริมการผลิตพลังงานจากก๊าซชีวภาพ
ด้านเศรษฐกิจ	สามารถลดต้นทุนการผลิต มีรายได้จากการขายไฟฟ้าของผู้ผลิตไฟฟ้าขนาดเล็กมาก (VSPP) มีรายได้จากการขายคาร์บอนเครดิต

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549)

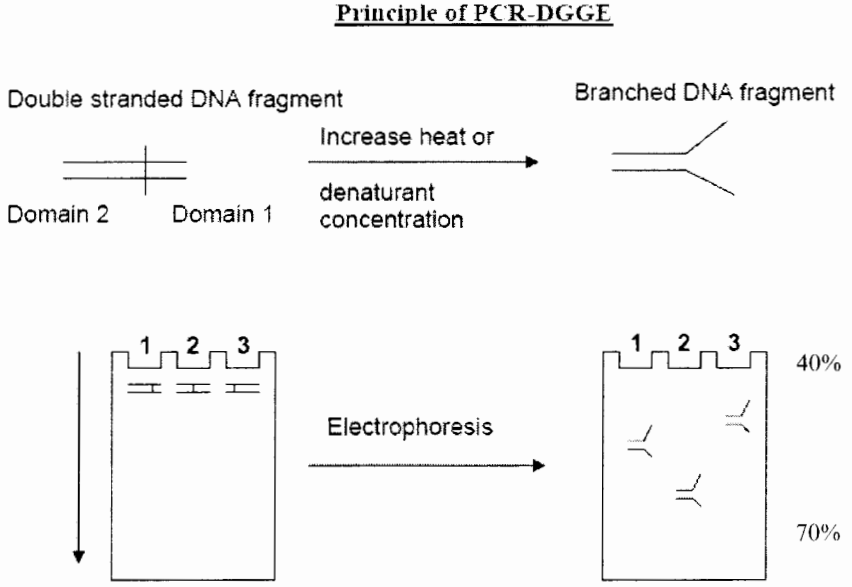
ตารางที่ 1-12 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพในด้านต่างๆ

ด้าน	ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ
ด้านสิ่งแวดล้อมและการจัดการของเสีย	สามารถใช้บำบัดขยะมูลฝอยอินทรีย์ในที่ซึ่งการฝังกลบขยะมูลฝอยอินทรีย์ในพื้นที่ฝังกลบแบบถูกหลักสุขาภิบาลไม่เป็นที่ยอมรับ
	สามารถใช้บำบัดขยะมูลฝอยอินทรีย์ในที่ซึ่งการฝังกลบขยะมูลฝอยอินทรีย์ในพื้นที่ฝังกลบแบบถูกหลักสุขาภิบาลไม่เป็นที่ยอมรับ
	ลดเขม่าจากการใช้ฟืนในการหุงต้ม
	ลดการตัดไม้ทำลายป่า
	เป็นเทคโนโลยีการบำบัดขยะมูลฝอยที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
	สามารถแก้ปัญหากลิ่นเหม็น สัตว์พาหะนำโรคที่เกิดจากการกำจัดขยะมูลฝอยที่ไม่ถูกหลักวิชาการ
	เป็นการหมุนเวียนขยะมูลฝอยอินทรีย์กลับมาใช้ใหม่ในรูปของสารปรับสภาพดิน
	ลดการใช้พื้นที่ในการกำจัดขยะมูลฝอย เมื่อเทียบกับระบบฝังกลบแบบถูกหลักสุขาภิบาล และระบบหมักปุ๋ยแบบใช้อากาศแบบดั้งเดิม (Conventional anaerobic composting)
	เป็นเทคโนโลยีการบำบัดขยะมูลฝอยที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
	สามารถลดปริมาณขยะมูลฝอยที่จะต้องกำจัดในขั้นตอนสุดท้าย
	สามารถหมักร่วมกับของเสียอินทรีย์ประเภทอื่น (Co-digestion) เช่น เศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มูลสัตว์ต่างๆ และของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม
ด้านอื่นๆ	น้ำที่ผ่านการบำบัดจากระบบนำไปใช้เป็นปุ๋ยน้ำ
	การนำกากตะกอนที่ผ่านย่อยสลายนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2549) (ต่อ)

1.2.10 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ปีนเทคนิคใช้ในการตรวจสอบกลุ่มจุลินทรีย์ผสม (Muyzer *et al.*, 1993) ซึ่งอาศัยหลักการแยกความแตกต่างของโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้าโดยอาศัยตัวกลางเป็นเจล โดยจะแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสต่างกันได้แม้ว่าขนาดความยาวของดีเอ็นเอจะเท่ากัน ซึ่งจะอาศัยความแตกต่างของความเข้มข้นของสารที่มีคุณสมบัติในการแยกสายดีเอ็นเอ (Denaturant) ที่มีสัดส่วนความเข้มข้นของสาร (Gradient) จากส่วนบนของเจลที่มีความเข้มข้นน้อยไปสู่ส่วนล่างของเจลที่มีความเข้มข้นมาก รวมไปถึงการใช้อุณหภูมิสูงในการทำลายพันธะระหว่างคู่เบส G-C ซึ่งเป็นการจับกันโดยใช้พันธะที่เหนียวแน่น ซึ่งความเข้มข้นหรือปริมาณของคู่เบส G-C ที่มีในดีเอ็นเอแต่ละคู่ที่แตกต่างกันนี้ทำให้การเคลื่อนที่ในตัวกลางดังที่กล่าวมาข้างต้นแตกต่างกัน จึงสามารถมองเห็นรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจลต่างกัน ดังนั้น DGGE จึงเป็นเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถแยกชนิดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจได้



ภาพประกอบ 1-6 ไดอะแกรมแสดงหลักการของ DGGE

ที่มา: ดัดแปลงจาก Muyzer *et al.* (1993)

DGGE ใช้ประเมินโครงสร้างของกลุ่มจุลินทรีย์ในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมได้โดยไม่ต้องเพาะเลี้ยงและเพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากร การตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม แม้สิ่งมีชีวิตดังกล่าวจะมีลำดับเบสต่างกันเพียงหนึ่งตำแหน่งก็ตาม นอกจากนี้ยังสามารถตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจไปทำการวิเคราะห์หาลำดับเบส เพื่อใช้ศึกษาในระดับที่ลึกลงไปได้ คุณภาพของดีจีจีอีขึ้นอยู่กับคุณภาพของพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในส่วนที่ต้องการศึกษา โดยพีซีอาร์ที่ได้เป็นดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์ มีขนาดที่เหมาะสม และมีปริมาณเพียงพอ

1.2.11 โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ใช้อากาศ (Microbial community in anaerobic digestion)

กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ จุลินทรีย์มีหน้าที่เปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์เป็นก๊าซมีเทน โดยเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปของสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน หรือมีน้ำหนักมวลโมเลกุลสูง ซึ่งโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ของระบบแบบไม่ใช้อากาศแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ Bacteria และ Archaca การย่อยแบบไม่ใช้อากาศที่มีความเสถียรภาพดีจะต้องประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ 4 กลุ่ม คือ Hydrolytic fermentative bacteria, Proton-reducing acetogenic bacteria, Hydrogenotrophic methaogens และ aceticlastic methanogens (Zinder *et al.*, 1994)

ในกระบวนการไฮโดรไลซีสจะถูกกระตุ้นด้วยแบคที่เรียกลุ่มที่ใช้อากาศ (Aerobic) กลุ่มที่ใช้หรือไม่ใช้อากาศ (Facultative anaerobic) และกลุ่มที่ไม่ใช้อากาศ (Stictly anaerobic) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวเกี่ยวข้องโดยตรงกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ในของเสีย เพื่อเป็นสารตั้งต้นให้จุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนใช้ต่อไป *Clostridium sp.* สามารถผลิตเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถไฮโดรไลซีสกลุ่มเฮมิเซลลูโลส (Hemi-cellulose)

กลุ่มสร้างมีเทนมี 3 กลุ่ม คือ Methanobacteriales, Methanococcales และ Methanomicrobiales (ตารางที่ 1-13,1-14) ซึ่งอยู่ภายในกลุ่ม Archaca จากการศึกษาของ Liu *et al.*, (2002) ซึ่งได้ทำการติดตาม rRNA probes ของจุลินทรีย์ระหว่างการเดินระบบของถังปฏิกรณ์ไม่ใช้อากาศ (Acidogenic anaerobic reactors) พบว่า Methanomicrobiales เป็นจุลินทรีย์ที่มีจำนวนมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนอื่นๆ ในตะกอนจุลินทรีย์ (Seed sludge) สำหรับออเดอร์ (Order) Methanobacteriales และ Methanococcales ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบจากการทำ Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) คือ *Methanosaeta sp.* และ *Methanobacterium sp.*

ตารางที่ 1-13 การจัดหมวดหมู่ของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน (Classification of methanogenic bacteria)

Class I. Methanobacteria (known to grow on H_2/CO_2 and formate as C source)
Order I. Methanobacteriales
Family I. Methanobacteriaceae
Genus I. Methanobacterium
Genus II. Methanobrevibacter
Genus III. Methanosphaera
Genus IV. Methanothermobacter
Family II. Methanothermaceae
Genus I. Methanothermus
Class II. Methanococci (known to grow on H_2/CO_2 and formate as C source)
Order I. Methanococcales
Family I. Methanococcaceae
Genus I. Methanococcus
Genus II. Methanothermococcus
Family II. Methanocaldococcaceae
Genus I. Methanocaldococcus
Genus II. Methanotorris
Class III. Methanomicrobia (known to grow on H_2/CO_2 and formate as C source)
Order I. Methanomicrobiales
Family I. Methanomicrobiaceae
Genus I. Methanomicrobium
Genus II. Methanoculleus
Genus III. Methanofollis
Genus IV. Methanogenium
Genus V. Methanolacinia
Genus VI. Methanoplanus
Family II. Methanocorpusculaceae
Genus I. Methanocorpusculum
Family III. Methanospirillaceae (known to be hydrogenotrophic)
Genus I. Methanospirillum

ที่มา: Whitman *et al.* (2001) and Garrity *et al.* (2004)

ตาราง 1-13 การจัดหมวดหมู่ของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน (Classification of methanogenic bacteria) (ต่อ)

Class III. Methanomicrobia (known to grow on H_2/CO_2 and formate as C source)
Order II. Methanosarcinales (known to be acetato- and methylotrophic)
Family I. Methansarcinaceae
Genus I. Methanosarcina
Genus II. Methanococcoides
Genus III. Methanohalobium
Genus IV. Methanohalophilus
Genus V. Methanolobus
Genus VI. Methanomethylovorans
Genus VII. Methanimicrococcus
Genus VIII. Methanosalsum
Family II. Methanosaetaceae
Genus I. Methanosaeta

ที่มา: Whitman *et al.* (2001) and Garrity *et al.*(2004)

ตารางที่ 1-14 ลักษณะสมบัติโดยทั่วไปของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน (General characteristics of some methanogenic bacteria)

Species	Morphology	Cell width/length (μm)	Substrate	Optimal temperature	Optimum pH range
Methanobacterium bryantii	Long rods tofilaments	0.5–1.0/1.5	H_2/CO_2	37	6.9–7.2
Methanobacterium formicicum	Long rods tofilaments	0.4–0.8/2–15	H_2/CO_2, formate	37–45	6.6–7.8
Methanobacterium thermoalcaliphilum	Rods	0.3–0.4/3–4	H_2/CO_2	58–62	8.0–8.5
Methanothermobacter thermoautotrophicum	Long rods tofilaments	0.3–0.6/2–7	H_2/CO_2	65–70	7.0–8.0
Methanothermobacter wolfeii	Rods	0.4/2.4–2.7	H_2/CO_2	55–65	7.0–7.5
Methanobrevibacter smithii	Short rods, short chains	0.6–0.7/1.0–1.5	H_2/CO_2, formate	37–39	-
Methanobrevibacter ruminantium	Short rods, short chains	0.7/ 0.8–1.7	H_2/CO_2, formate	37–39	-
Methanothermus fervidus	Short rods	0.3–0.4/1–3	H_2/CO_2, formate	83	7.0
Methanothermococcus thermolithotrophicus	Regular to irregular cocci	-	H_2/CO_2, formate	65	-
Methanococcus voltaei	Regular to irregular cocci	1.5 (diameter)	H_2/CO_2, formate	35–40	6.0–7.0
Methanococcus vannielii	Regular to irregular cocci	1.3 (diameter)	H_2/CO_2, formate	65	7–9 (pH range)
Methanomicrobium mobile	Short rods	0.7/1.5–2.0	H_2/CO_2, formate	40	6.1–6.9
Methanolacinia paynteri	Short irregular rods	0.6/1.5–2.5	H_2/CO_2	40	7.0
Methanospirillum hungatei	Regular curved rods to long spiralfilaments	0.5/7.4	H_2/CO_2, formate	30–40	-

ที่มา : Vogels *et al.* (1988) and Boone *et al.* (1993a)

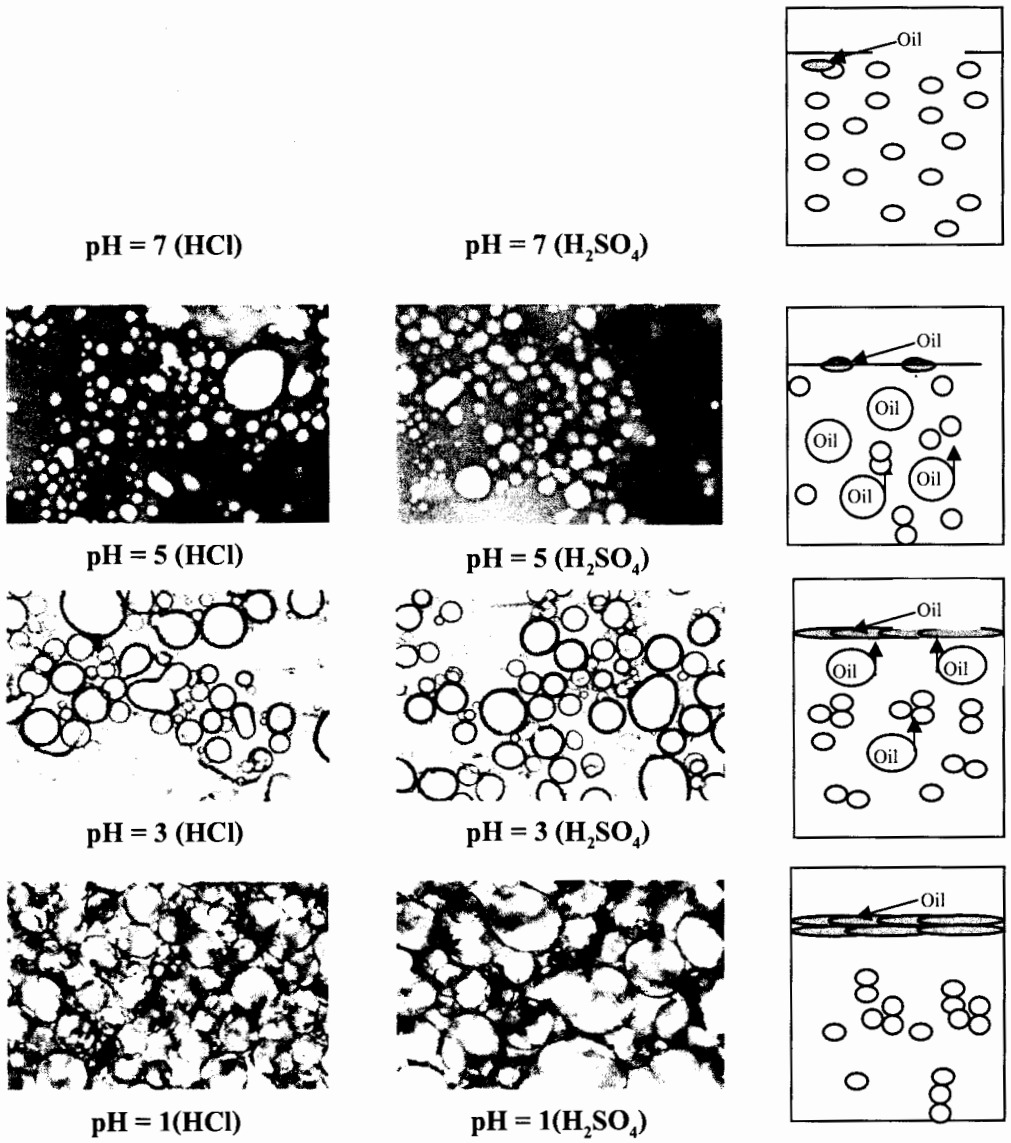
ตารางที่ 1-14 ลักษณะสมบัติโดยทั่วไปของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน General characteristics of some methanogenic bacteria (ต่อ)

Species	Morphology	Cell width/length (lm)	Substrate	Optimal temperature	Optimum pH range
Methanosarcina acetivorans	Irregular cocci	-	Methanol, acetate	35–40	6.5
Methanosarcina barkeri	Irregular cocci, forming irregular packets	-	H_2/CO_2, methanol, methyamines, acetate	35–40	5–7
Methanosarcina mazeii	Irregular cocci, forming cysts and packets	-	Methanol, methyamines, acetate	30–40	6–7
Methanosarcina thermophila	Irregular cocci, forming aggregates	-	H_2/CO_2 methanol, methyamines, acetate	50	6–7
Methanococcoides methylutens	Irregular cocci	0.8–1.2 (diameter)	Methanol	42	7.0–7.5
Methanosaeta concilii (soehngenii)	Rod	0.8 9 2.5–6.0 (dimensions)	Acetate	35–40	7.0–7.5
Methanosaeta thermophila	Rod	0.8–1.3 9 6.0 (dimensions)	Acetate	55–60	7

ที่มา: Vogels *et al.* (1988); Boone *et al.* (1993a)

1.2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยตรงนั้นไม่สามารถทำได้เนื่องจากลักษณะสมบัติของน้ำเสียไบโอดีเซลไม่เหมาะสมต่อการเจริญต่อจุลินทรีย์ เช่น จากการศึกษาของดารินทร์ ภู่กิ่งงาม (2551) ได้ทำการศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียไบโอดีเซล โดยใช้น้ำเสียจริงจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้สารด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยา-ทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันพืชที่ใช้แล้ว โดยน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุด ได้แก่ ชุดที่ 1 น้ำเสียดิบ ชุดที่ 2 น้ำเสียเจือจางร้อยละ 50 และชุดที่ 3 น้ำเสียเจือจางร้อยละ 10 มีค่าซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 63,200, 31,600 และ 6,320 mg/L ตามลำดับ ทำการทดลองในสภาวะไม่ใช้อากาศที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้ขวดซีรัมขนาด 125 mL ปริมาตรใช้งาน 50 mL ซึ่งจากการทดลองพบว่าเมื่อพิจารณาปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมสูงสุด (mL) ต่อซีโอดีเริ่มต้น (g)น้ำเสียเจือจางร้อยละ 10 จะผลิตก๊าซชีวภาพได้สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 396 mL/COD_{added} เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียในแหล่งอื่นๆ พบว่าน้ำเสียไบโอดีเซลมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพสูง เห็นได้ว่าถ้าต้องการหมักน้ำเสียไบโอดีเซลต้องทำการเจือจางน้ำเสียจำนวนมากซึ่งในทางปฏิบัติเป็นเรื่องยากที่จะดำเนินการ นอกจากนั้นน้ำเสียไบโอดีเซลเองก็ยังขาดสารอาหารที่จำเป็นเช่นจากการศึกษาของจารุวรรณี เรืองคง (2551) ได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงเทคนิคและเศรษฐศาสตร์ในการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซล โดยทางเทคนิคศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นแบบกะเท่ากับ 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ในระดับห้องปฏิบัติการ ใช้ถังปฏิกรณ์แบบปิดขนาด 10 ลิตร ใช้น้ำเสีย 5 ลิตร โดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน จากนั้นศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน เท่ากับ 100:1, 100:0.8, 100:0.5 และไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน (100:0.07) จากนั้นจึงศึกษาผลของอัตราภาระสารอินทรีย์ที่เหมาะสม เท่ากับ 2, 3, 4 และ 5 gCOD/L/day และจากนั้นจึงศึกษาผลร่วมของระยะเวลาเก็บกักและอัตราภาระสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในระดับ 3, 2, 1.5 และ 1 วัน ซึ่งมีค่าอัตราภาระสารอินทรีย์จะเท่ากับ 3, 4.5, 6 และ 9 gCOD/L/day ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 7.0 อัตราส่วน COD:TKN เท่ากับ 100:1 อัตราภาระสารอินทรีย์เท่ากับ 6 gCOD/L/day และระยะเวลาเก็บกักน้ำเสียเท่ากับ 1.5 วัน เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนเป็นการเพิ่มภาระต้นทุนและค่าใช้จ่ายในระดับอุตสาหกรรม



ภาพประกอบ 1-7 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 20 เท่า แสดงพฤติกรรมการรวมตัวของหยดน้ำมันในน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล เมื่อปรับค่าพีเอชของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลลดลงเท่ากับ 7, 5, 3 และ 1 (กรดไฮโดรคลอริก 1 N HCl; กรดซัลฟิวริก 1 N H_2SO_4)

ที่มา: อเนก สาวะอินทร์ (2552)

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการบำบัดน้ำเสียไบโอดีเซลเบื้องต้นก่อนเข้าสู่ระบบการบำบัดทางชีวภาพเพื่อลดความสกปรกและสามารถนำไขมันและน้ำมันกลับไปใช้ประโยชน์อีกครั้ง เช่น เอนก สาวะอินทร์ (2552) ได้ทำการศึกษาการบำบัดขั้นต้นในการกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล โดยใช้วิธีการทางกายภาพ คือ กระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ และวิธีการทางเคมี คือ วิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรดและกระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยการเติมสารช่วยรวมตะกอน เนื่องจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีไขมันและน้ำมันปริมาณมากกว่า 7,000 mg/L จึงเป็นสาเหตุหลักทำให้น้ำเสียมีความสกปรกในรูปค่าซีโอดีและบีโอดีสูง จากการศึกษาพบว่าการบำบัดน้ำเสียโดยกระบวนการตะกอนลอยร่วมกับวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรดและกระบวนการโคแอกกูเลชัน เนื่องจากการใช้วิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรดคือ กรดไฮโดรคลอริก (1 N HCl) และกรดซัลฟิวริก (1 N H_2SO_4) เพื่อปรับค่าพีเอชให้ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 3 มีผลทำให้ไขมันและน้ำมันเกิดการรวมตัวและลอยขึ้นสู่ผิวน้ำได้มาก (ภาพประกอบ 1-6) ช่วยลดปริมาณไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย ทำให้ปริมาณการใช้สารส้มลดลงต่ำกว่า 250 mg/L แต่พบว่ามีตะกอนไขมันและน้ำมันในน้ำมากกว่า 150 mg/L หลังจากกระบวนการโคแอกกูเลชันซึ่งไม่สามารถลอยหรือตกจมได้ จึงต้องใช้กระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศกำจัดตะกอนไขมันและน้ำมันที่เกิดขึ้นดังกล่าว และพบว่าระบบ Recycle-stream pressurization พบว่ามีความเหมาะสมสำหรับการใช้งานเมื่อใช้ค่าความดันในถังอัดความดันเท่ากับ 4 bar gauge ระยะเวลากักพักในถังอัดความดันเท่ากับ 4 นาที และที่ค่าอัตราส่วนการ *Recycle* (R) เท่ากับ 20 และ 40 % ของน้ำเข้า สามารถกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสียได้สูงถึง 98 – 99.6 %

นอกจากนั้นยังมีเทคนิคที่สามารถกำจัดไขมันและน้ำมัน เช่น กระบวนการทางไฟฟ้า-เคมี จากการศึกษาของ Siles (2010) ได้ทำการหมักร่วมแบบไม่ใช้อากาศระหว่างกลีเซอรอลและน้ำเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล โดยกลีเซอรอล (ซีโอดี เท่ากับ 1,054 g/l)และน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่มีซีโอดีเริ่มต้น เท่ากับ 428 g/l โดยน้ำเสียไบโอดีเซลที่ใช้มีการทำ pre-treatment ด้วยการทำให้เป็นกรดที่พีเอชเท่ากับ 4 ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไขมันที่เกิดการแยกส่วนออก ซึ่ง ซีโอดีทั้งหมด เท่ากับ 252 g/L และSCOD เท่ากับ 213 g/L จากนั้นทำให้เป็นกลางโดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วเข้าสู่กระบวนการ electrocoagulation เป็นเวลา 30 นาที (12 V ,1.5 A) น้ำเสียหลังเสร็จสิ้นกระบวนการมีค่าซีโอดีเท่ากับ 185 กรัมต่อลิตร ทำการหมักโดยใช้อัตราส่วนในการผสมระหว่างกลีเซอรอลและน้ำเสียหลังการบำบัดเบื้องต้นเท่ากับ 15: 85 ซึ่งมีค่า COD รวม เท่ากับ 185 g/L ผลจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศพบว่า ประสิทธิภาพการเกิดมีเทน เท่ากับ 310 $mLCH_4/gCOD_{removed}$

ซึ่งก่อนหน้านี้มีผู้สนใจนำน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมาหมักร่วมกับวัสดุหมักอื่นๆ เช่น Sulaiman (2009) ได้ทำการศึกษาการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนร่วมระหว่างน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำล้างจากการกลั่นกลีเซอรอล โดยใช้ถังปฏิกรณ์และถังตกตะกอน มีการหมุนเวียนสลัดจ์ 6 m^3/day ภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงสุด เท่ากับ 5.25 kgCOD/m^3/day ทำการทดลองทั้งหมด 85 วัน ระยะเวลากักเก็บเท่ากับ 10 วัน MLVSS เท่ากับ 8.14-8.83 g/L และเปอร์เซ็นการผสมน้ำเสียจากน้ำล้างในการกลั่นกลีเซอรอลเท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5 และ 5.25 % ตามลำดับ ซึ่งประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในรูปของซีโอดีมากกว่า 90 % ปริมาณก๊าซชีวภาพเกิดมากที่สุดที่ 1 m^3/day ของน้ำล้างในการกลั่นกลีเซอรอล เกิดมีเทนเท่ากับ 505 m^3/day และลดลงเหลือ 307 m^3/day ที่ 5.25 % น้ำล้างในการกลั่นกลีเซอรอล เนื่องจากการสะสมของโซเดียมคลอไรด์ที่มากจนเข้าใกล้ 4,000 mg/L

ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศมีการใช้วัสดุหมักร่วมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและเพิ่มผลผลิตมีเทน ซึ่งตามธรรมชาติน้ำเสียไบโอดีเซลเองยังขาดแคลนสารอาหารที่จำเป็นต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอื่นๆ ซึ่งในการทดลองนี้ผู้วิจัยมีความสนใจใช้กากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เนื่องจากมีผู้ศึกษาแล้วว่ากากตะกอนดีแคนเตอร์สามารถหมักผลิตก๊าซมีเทนได้ เช่น จากการศึกษาของ เพ็ญศิริ ประชากิตติกุล (2551) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารเสริมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพของกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าศักยภาพในการเกิดก๊าซมีเทนจากการทดลองที่อุณหภูมิ 30 และ 55 °C เท่ากับ 160 และ 190 $mLCH_4/gCOD_{added}$ ตามลำดับ และเมื่อดำเนินการทดลองการย่อยสลายกากตะกอนปาล์ม โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบแอนแอโรบิกเอสบีอาร์ที่อุณหภูมิมีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิกที่ภาระสารอินทรีย์ 0.5-3 kgCOD/m^3/day พบว่าถังปฏิกรณ์มีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิกมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีมากกว่าร้อยละ 90 โดยที่ภาระสารอินทรีย์ 0.5 kgCOD/m^3/day ไม่สามารถเห็นความแตกต่างในการผลิตก๊าซชีวภาพของถังปฏิกรณ์มีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิก เมื่อเพิ่มภาระสารอินทรีย์ 1 kgCOD/m^3/day ถังปฏิกรณ์มีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิกมีปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพเท่ากับ 0.50 และ 0.51 $L/gCOD_{removed}$

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการหมักน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นแล้วและกากตะกอนดีแคนเตอร์ สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้ดี และเป็นการบำบัดน้ำเสียไบโอดีเซลได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อศึกษาลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังผ่านการบำบัดขั้นต้น

1.3.2 เพื่อศึกษาหาสัดส่วนและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ ของน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในการเดินระบบแบบกะและกึ่งต่อเนื่อง

1.3.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ ปริมาณก๊าซมีเทน จากการบำบัดสารอินทรีย์ของน้ำเสียผสมระหว่างน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

1.3.4 เพื่อศึกษาลักษณะสมบัติของกากตะกอนที่เกิดขึ้นจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศ เพื่อต่อยอดเป็นปุ๋ยอินทรีย์ต่อไป

1.3.5 เพื่อศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ของน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถนำน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นมาหมักร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เพื่อลดปัญหาน้ำเสียดังกล่าวที่มีปริมาณคาร์บอนอยู่สูงแต่มีปริมาณสารอาหารที่ต่ำ และเป็นการเพิ่มปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ และลดปริมาณของเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

1.4.2 เป็นแนวทางเพื่อลดการใช้สารเคมีราคาแพงเพื่อเป็นอาหารเสริมให้แก่จุลินทรีย์ ในการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

1.4.3 สามารถลดการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกสู่สิ่งแวดล้อมจากการจัดการที่ไม่เหมาะสมและไม่มีประสิทธิภาพ

1.4.4 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนารูปแบบและประยุกต์ใช้ในการจัดการน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่เกิดขึ้น โดยการนำมาใช้ประโยชน์สูงสุด เพื่อลดของเสียที่ปล่อยทิ้งสู่สิ่งแวดล้อมและเหตุร้องเรียนจากประชาชน

1.4.5 เพื่อเป็นแนวทางในการนำกากตะกอนที่เกิดขึ้นจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศ เพื่อต่อยอดเป็นปุ๋ยอินทรีย์

1.4.6 เพื่อเป็นแนวทางในการนำกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่เกิดขึ้นจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมาใช้ประโยชน์ให้มากขึ้น นอกเหนือจากการนำมาเป็นวัสดุบำรุงดิน

1.4.7 เพื่อตรวจสอบติดตามโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่เกิดขึ้นจากการหมักร่วมแบบไม่ใช้อากาศ

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1.5.1 ศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพของน้ำเสียจากจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว กากตะกอนดีแคนเตอร์และตะกอนจุลินทรีย์

1.5.2 หมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่อัตราส่วนต่างๆที่ 0, 1, 2.5, 5 และ 10%w/v น้ำหนักแห้งของกากตะกอนดีแคนเตอร์ และทำการป้อนวัสดุหมักแบบกะ (Batch) เป็นระยะเวลา 45 วัน อุณหภูมิ 35± 1 °C

1.5.3 หมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและกากตะกอนดีแคนเตอร์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมจากหัวข้อ 1.5.2 ที่ระยะเวลากักเก็บ 36, 24, 12 และ 6 วัน ด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous) ใช้ถังปฏิกรณ์ CSTR (Completely stirred tank reactor) เดินระบบอุณหภูมิคงที่ 35± 1 °C

1.5.4 วิเคราะห์สมบัติของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักเพื่อนำมาปรับปรุงและประยุกต์ใช้เป็นวัสดุบำรุงดิน โดยทำการเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์หมักของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

1.5.5 ศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ของน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลหลังการบำบัดเบื้องต้นร่วมกับกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมจากหัวข้อ 1.5.3

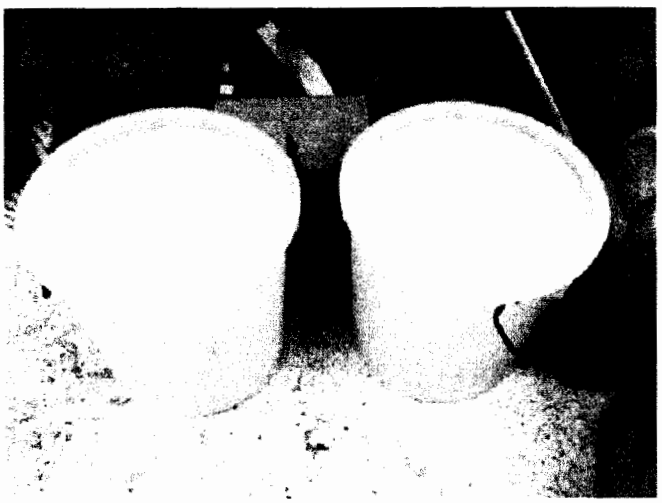
บทที่ 2

วิธีการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองทางห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว (PBW) กับกากตะกอนดีแคนเตอร์ (DC) จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูลที่คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ซึ่งมีรายละเอียดการวิจัยดังนี้

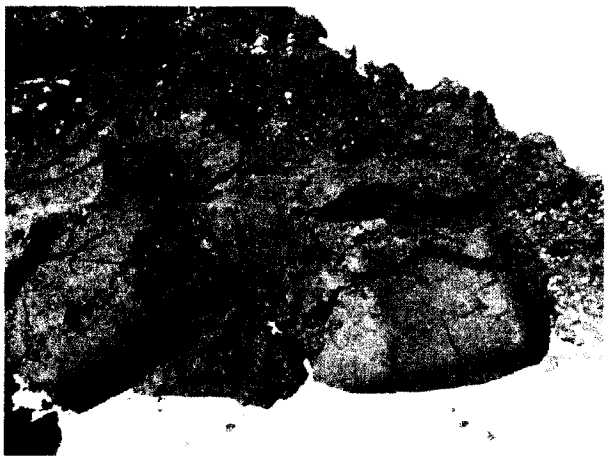
2.1 วัสดุ/อุปกรณ์

2.1.1 น้ำเสียไบโอดีเซล ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลัก (Main substrate) ในการหมักได้รับการสนับสนุนจากสถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมันคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ (ภาพประกอบ 2-1) หลังจากนำ PBW ด้วยวิธีการร่วมระหว่างการปรับค่าพีเอชด้วยกรด กระบวนการโคแอกกูเลชัน และระบบตะกอนลอยแบบอัดอากาศ จากนั้นเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่ 4 °C ก่อนการนำไปใช้ในการบำบัดทางชีวภาพต่อไป



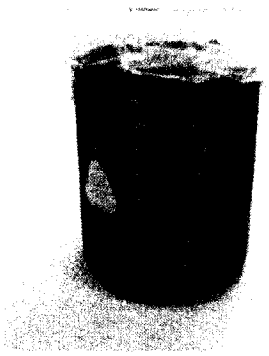
ภาพประกอบ 2-1 ลักษณะของน้ำเสียไบโอดีเซลก่อนการบำบัดขั้นต้น

2.1.2 กากตะกอนดีแคนเตอร์ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหมักร่วม (Co-substrate) ได้รับการสนับสนุนจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแห่งหนึ่งในจังหวัดกระบี่ (ภาพประกอบ 2-2) จากนั้นเก็บรักษาในถุงดำหรือถุงโพลิเอทิลลีน (polyethylene bags) โดยการแช่เย็นที่ 4 °C



ภาพประกอบ 2-2 ลักษณะกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

2.1.3 ตะกอนจุลินทรีย์ (Inoculums) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแห่งหนึ่ง (ภาพประกอบ 2-3) จากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียที่เกิดขึ้น ก่อนนำมาใช้ในงานวิจัยนำกากตะกอนจุลินทรีย์มาทำให้ข้นด้วยนำมาพักไว้ให้ตกตะกอนจากนั้นเทน้ำส่วนใสทิ้งจากนั้นเก็บรักษาในถังโพลิเอทิลลีน (polyethylene tank) โดยการแช่เย็นที่ 4 °C

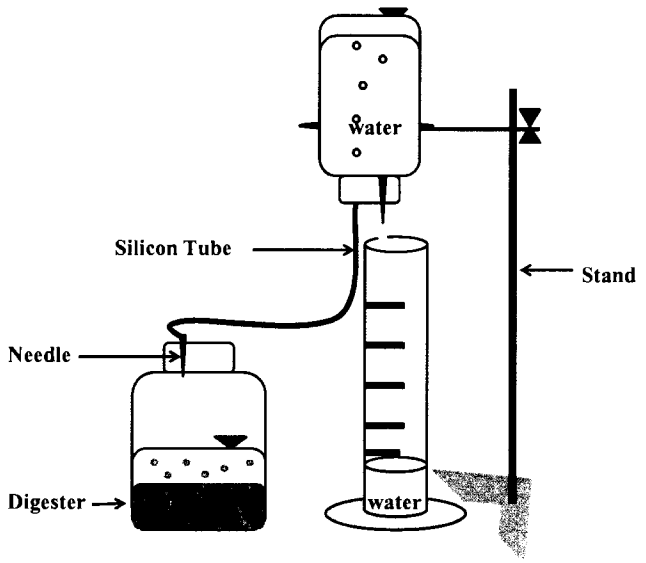


ภาพประกอบ 2-3 ลักษณะตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

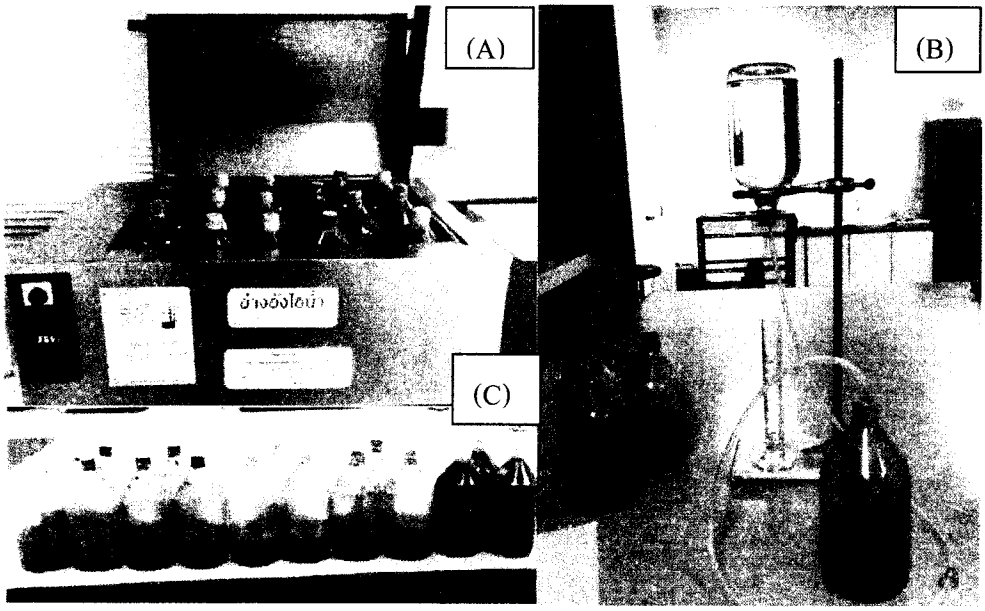
2.1.4 ถังปฏิกรณ์ในการเดินระบบระดับห้องปฏิบัติการ

2.1.4.1 ถังปฏิกรณ์แบบกะ

ในระบบหมักไม่ใช้อากาศทำมาจากขวดแก้ว ขนาด 1 ลิตร ปริมาตรการหมัก (working volume) 0.5 ลิตร ปิดปากขวดด้วยจุกยาง (septum) พันทับด้วยแผ่นพาราฟิน ทำการหมักภายใต้อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 45 วัน กวนผสมโดยการเขย่าขวดวันละ 1 ครั้ง ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภายในขวดหมักจะถูกส่งผ่านสายยางซิลิโคนไปยังขวดแก้วบรรจุน้ำเพื่อแทนที่น้ำ (fluid displacement method) น้ำที่ถูกแทนที่จะไหลลงสู่ภาชนะรองรับน้ำ ปริมาตรน้ำที่แทนที่ดังกล่าวเป็นปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน (ภาพประกอบ 2-4 และ 2-5) เก็บก๊าซเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซต่อไปด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) ทุกๆ 15 วัน โดยนำเปอร์เซ็นมีเทนที่วัดได้ในแต่ละช่วงไปคูณกับก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นเพื่อคำนวณหาปริมาณก๊าซมีเทนในแต่ละวัน ซึ่งชนิดของวัสดุหมัก และปริมาณ DC ที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 2-1



ภาพประกอบ 2-4 แบบจำลองระบบหมักไม่ใช่อากาศแบบกะ (Batch) ในห้องปฏิบัติการ



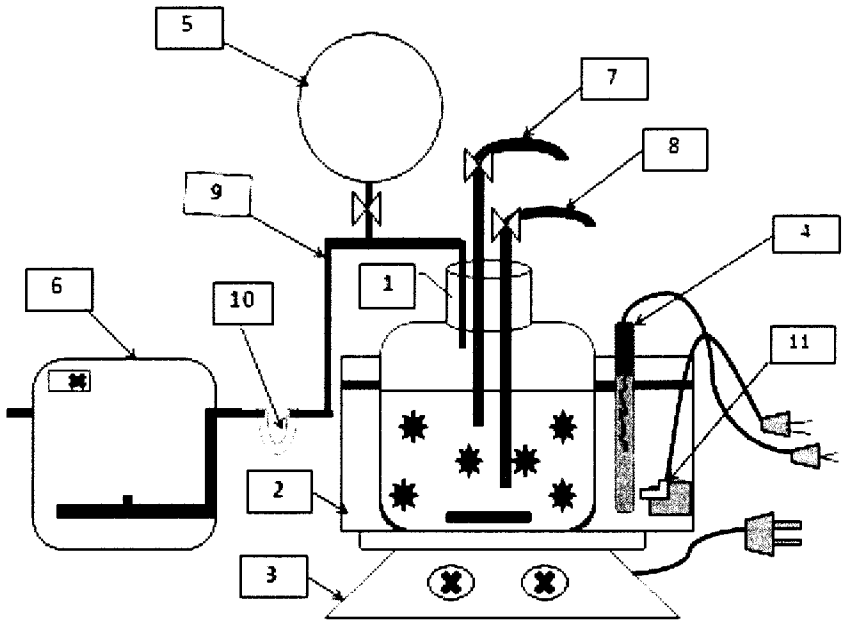
ภาพประกอบ 2-5 ลักษณะชุดอุปกรณ์และวิธีการเดินระบบ การควบคุมอุณหภูมิและการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการทดลอง

2.1.4.2 ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง

ขั้นตอนการผลิตก๊าซชีวภาพโดยกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ โดยประกอบชุดถังปฏิกรณ์ (ภาพประกอบ 2-6 และ 2-7) เข้าระบบและเริ่มการทดลองในระบบ CSTR (completely stirred tank reactor) แบบ semi-continuous โดยควบคุมสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบไม่ใช้อากาศเดินระบบอุณหภูมิคงที่ 35± 1 °C โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิและอ่างน้ำเพื่อรักษาระดับของอุณหภูมิให้คงที่

การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ระบบกวนสมบูรณ์ จะเลือกเกณฑ์การออกแบบที่เหมาะสม ซึ่งอาจหาจากรายงานวิจัย เอกสารวิชาการ เกณฑ์การออกแบบที่นิยมใช้คือ อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และเวลากักเก็บน้ำ (ตารางที่ 1-8) ซึ่งบำบัดของเสียประเภทตะกอน การทดลองนี้ออกแบบให้ระบบมีภาระบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 0.71-4.29 kgVS/m^3/day

ชุดการทดลองศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการแบบกึ่งต่อเนื่อง ประกอบไปด้วยถังหมักแก้วสีชารูปทรงกระบอกขนาด 4 ลิตร สาเหตุที่ใช้ถังหมักขนาด 4 ลิตร เนื่องจากต้องการให้กวนผสมของวัตถุดิบหมักอย่างสมบูรณ์ขึ้น ปริมาตรใช้จริง 3 ลิตร และระบบกักเก็บก๊าซชีวภาพมีขนาด 1ลิตร กวนผสมโดยใช้เครื่องกวนมีแท่งแม่เหล็กทำหน้าที่เป็นใบกวน ซึ่งมีหลักการในติดตั้งและการดำเนินการของแต่ละส่วนดังต่อไปนี้

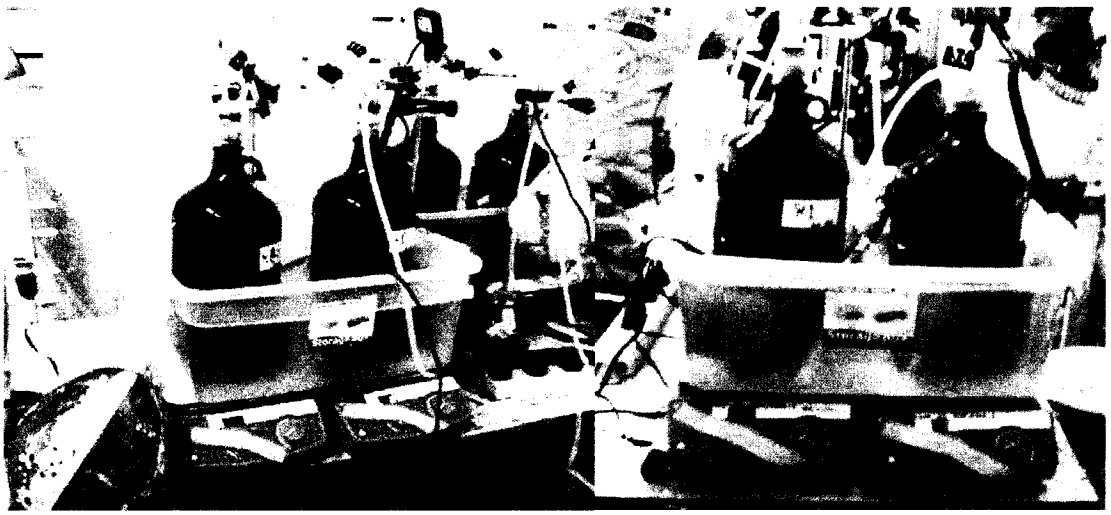


ภาพประกอบ 2-6 ไดอะแกรมแสดงการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous)

(1) ถังปฏิกรณ์ขนาด 4 ลิตร (reactor) (2) อ่างน้ำ (water bath) (3) เครื่องกวน (stirrer) (4) เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (heater 35 ° C) (5) บอลลูน (gas collection balloon) (6) เครื่องตรวจนับก๊าซ (gas counter) (7) ท่อป้อนอาหาร (8) ท่อเก็บตัวอย่าง (9) ท่อนำก๊าซ (gas port) (10) จุกยางและหลอดตัวยู (septum and U-tube) (11) ปั๊มใต้น้ำ (submerge pump)

1. ถังหมักร่วม (Digester) ถังหมักประกอบไปด้วยท่อสำหรับป้อนวัตถุดิบ ท่อสำหรับเก็บตัวอย่าง ท่อสำหรับลำเลียงก๊าซที่ผลิตไปยังชุดกักเก็บก๊าซ ซึ่งส่วนปลายของท่อมีลักษณะโค้งงอ เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศเข้าไปในระบบแทนที่น้ำ

2. ชุดกักเก็บก๊าซ (Gas collector) เป็นชุดที่ต่อจากท่อนำก๊าซมีลักษณะคล้ายบอลลูน ซึ่งการเก็บและวัดปริมาตรก๊าซชีวภาพทำได้โดยอาศัยหลักการแทนที่น้ำ โดยอาศัย Gas counter ซึ่งระหว่างท่อนำก๊าซและ Gas counter จะมีหลอดตัวยูพร้อมจุกยาง สามารถใช้กระบอกเก็บก๊าซเก็บก๊าซที่เกิดขึ้นใส่ในหลอดเก็บก๊าซเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซต่อไปด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC)



ภาพประกอบ 2-7 ลักษณะชุดอุปกรณ์และวิธีการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่องในการทดลอง

2.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.2.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและ PBW

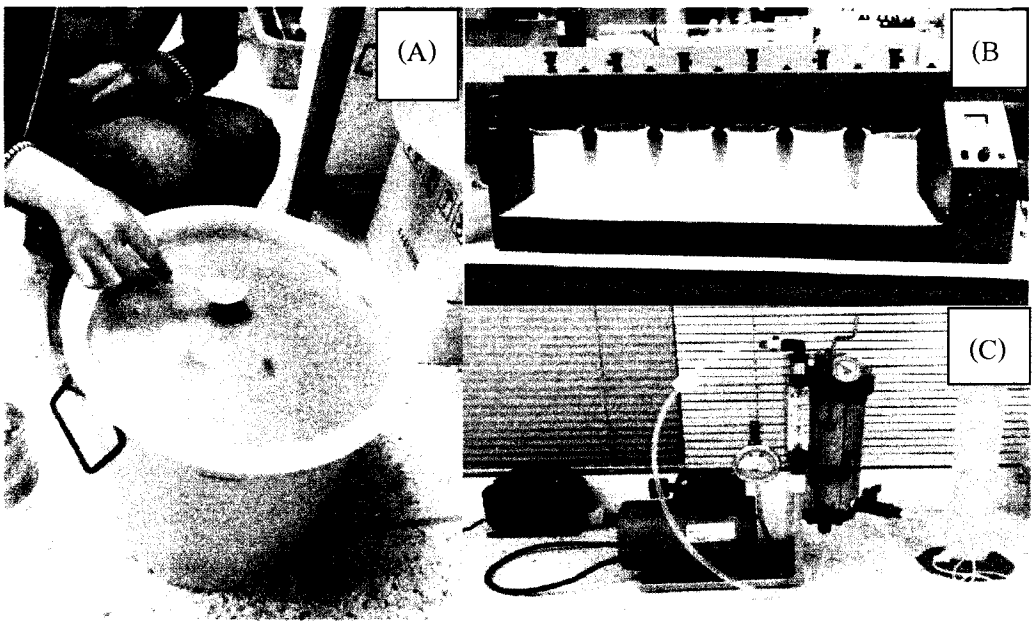
วิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยขั้นตอนการเตรียมน้ำเสียก่อนการบำบัดทางชีวภาพด้วยกระบวนการการบำบัดโดยกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศร่วมกับวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรดและกระบวนการโคแอกกูเลชันและกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (DAF) (อเนก สาวะอินทร์, 2552) ดังรายละเอียดดังต่อไปนี้ (ภาพประกอบ 2-8, 2-12)

1) ทำการปรับค่าพีเอชของน้ำเสียเท่ากับ 3 ด้วยกรด 1 N กรดไฮโดรคลอริค ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน หลังจากนั้นกำจัดไขมันที่ลอยอยู่ด้านบนทิ้ง

2) นำน้ำเสียจากกระบวนการทำให้เป็นกรดผ่านกระบวนการโคแอกกูเลชันด้วยการทำ Jar-test โดยใช้สารส้ม 100-250 mg/ L ที่กวนเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที กวนช้า 30 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ควบคุมพีเอช เท่ากับ 6 ระยะเวลากักพัก 1 ชั่วโมง

3) นำน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการโคแอกกูแลชันมาผ่านกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (DAF) ด้วยระบบ Recycle-stream pressurization ที่ 4 บาร์ ระยะเวลากักพักในถังอัดความดันเท่ากับ 4 นาทีค่าการ Recycle ร้อยละ 20

วิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆก่อนและหลังการทดลอง ได้แก่ pH, COD, BOD, TKN, NH_3-N, Grease and Oil จากนั้นเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่ 4 °C ก่อนการนำไปใช้ในการบำบัดทางชีวภาพต่อไป



ภาพประกอบ 2-8 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยกระบวนการวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด (A) กระบวนการโคแอกกูเลชัน (B) และกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (C)

2.2.2 การทดลองที่ 2 การหมักน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่อัตราส่วนต่างๆด้วยระบบแบบกะ (Batch)

การทดลองการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว ซึ่งเป็นวัตถุดิบหลัก และกากตะกอนดีแคนเตอร์ซึ่งเป็นวัตถุดิบหมักร่วม ทำการทดลองผลิตก๊าซชีวภาพในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการแบบกะเพื่อหาปริมาณของกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่เหมาะสม และนำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวที่มีประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตมีเทนสูงสุด (Maximum methane yield)

การศึกษานี้เป็นการหมัก PBW และ DC โดยผสมในอัตราส่วนที่ 0 (ชุดควบคุม), 1, 2.5, 5 และ 10%w/v (ตารางที่ 2-1) และทำการป้อนวัสดุหมักแบบกะหรือการเติมวัสดุหมักครั้งเดียวในระบบหมักไม่ใช้อากาศ โดยในการทดลองปริมาตรรวมทั้งหมดในการหมัก 0.50 L และใช้ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น 50 mL มีชุดควบคุมเป็นการหมักตะกอนจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวโดยปรับปริมาตรรวมด้วยน้ำกลั่น ปริมาณ DC ที่ใช้ในแต่ละการทดลองแสดงการคำนวณใน ภาคผนวก ข

ตารางที่ 2-1 ชนิดของวัสดุหมัก และปริมาณ PBW และ DC ที่ใช้ในการทดลองการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบแบบกะ (Batch)

การทดลอง	ชนิดของวัตถุดิบในการหมัก	ปริมาตรรวมทั้งหมดในการหมัก (mL)	ปริมาตรตะกอนจุลินทรีย์ (mL)	*ปริมาณ DC (g)
1	PBW	500	50	-
2	PBW+DC 1%	500	50	16
3	PBW+DC 2.5%	500	50	40
4	PBW+DC 5%	500	50	80
5	PBW+DC 10%	500	50	160
6	DC 5%	500	50	80
7	Control	500	50	-

* เป็นค่าประมาณจากน้ำหนักเปียกของกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ใช้ (ความชื้น~ 70%)

2.2.3 การทดลองที่ 3 การหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC ที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง

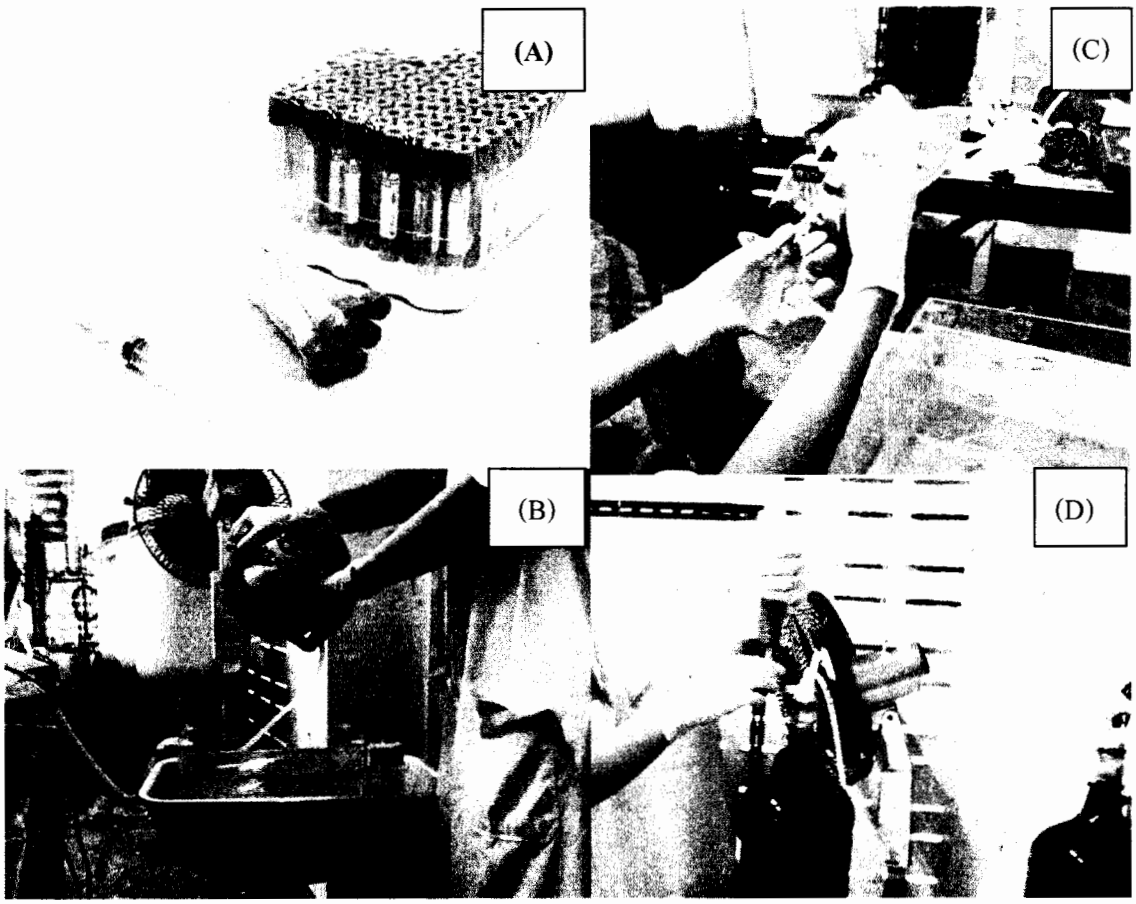
นำสภาวะที่เหมาะสมจากการเดินระบบแบบกะที่มีประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตมีเทนสูงสุด (Maximum methane yield) มาทำการทดลองระดับห้องปฏิบัติการแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous) โดยทำการศึกษาระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมที่มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ ขั้นตอนการผลิตก๊าซชีวภาพโดยกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ โดยประกอบชุดถังปฏิกรณ์ เข้าระบบและเริ่มการทดลองในระบบ CSTR (completely stirred tank reactor) แบบ semi-continuous โดยควบคุมสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบไม่ใช้อากาศเดินระบบอุณหภูมิคงที่ 35± 1 °C โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิและอ่างน้ำเพื่อรักษาระดับของอุณหภูมิให้คงที่ วิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซต่อไปด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) ทุกๆ 12 วัน โดยนำเปอร์เซ็นมีเทนที่วัดได้ในแต่ละช่วงไปคูณกับก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นเพื่อคำนวณหาปริมาณก๊าซมีเทนในแต่ละวัน

ทำการหมัก PBW และ DC ที่ระยะเวลากักเก็บระดับต่างๆ ด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่องโดยแต่ละถังปฏิกรณ์ทำการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 36, 24,12 และ 6 วัน ตามลำดับ ทำการถ่ายน้ำทิ้งวันละครั้ง ครั้งละ 83, 125, 250 และ 500 mL ตามลำดับ (ตารางที่ 2-2) ซึ่งปริมาตรในการถ่ายน้ำทิ้งขึ้นกับระยะเวลาการกักเก็บของเหลวในระบบ ซึ่งสามารถทำได้โดยเปิดวาล์วบอลลูน ก๊าซที่อยู่ในบอลลูนจะเข้าแทนที่น้ำเสียในระบบที่ถูกถ่ายออกมาผ่านทางท่อ น้ำทิ้งจะถูกถ่ายออกโดยการดูดผ่านกระบอกปั๊อนอาหารก่อนเติมน้ำเสียใหม่ (ภาพประกอบ 2-9) ระหว่างทำการถ่ายมีการกวนผสมด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลา เพื่อให้น้ำทิ้งมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ทำการเก็บตัวอย่างน้ำวิเคราะห์ลักษณะทางเคมี เมื่อทำการถ่ายน้ำทิ้งเสร็จแล้ว ปิดวาล์วท่อน้ำทิ้ง และเปิดวาล์วของน้ำเข้าซึ่งอยู่บริเวณด้านบนของระบบ เพื่อเติมวัสดุหมักเข้าสู่ระบบเท่ากับปริมาตรน้ำทิ้งที่ถูกถ่ายออกมา ปิดวาล์วท่อน้ำเข้าและบอลลูน จากนั้นเปิดวาล์วบอลลูน เพื่อรวบรวมก๊าซชีวภาพต่อไป เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมักนานขึ้น เดินระบบจนเข้าสู่สภาวะคงที่ (Stable condition) โดยพิจารณาจากปริมาณก๊าซชีวภาพ และองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง ±15% โดยมีชุดการทดลองที่ใช้เป็นชุดควบคุมโดยเติมปริมาตรอาหารเช่นเดียวกับชุดทดลองแต่เปลี่ยนวัตถุดิบที่ใช้เป็น PBW และน้ำเสียจาก DC 2.5%w/v (ชุดควบคุม) เพื่อสามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการหมักร่วมกับการหมักที่ใช้วัตถุดิบอย่างใดอย่างหนึ่ง

ตารางที่ 2-2 ชนิดของวัสดุหมัก ระยะเวลากักเก็บ และปริมาตรของเสียที่เติม-ออกในแต่ละวันในการทดลองการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous)

การทดลอง	ชนิดของวัตถุดิบในการหมัก	ปริมาตรของของเหลวในการหมัก (ml)	ระยะเวลากักเก็บ (HRT) วัน	ปริมาตรของเสียที่เติม-ออกในแต่ละวัน
1	PBW+DC 2.5%	3000	36	83
2	PBW+DC 2.5%	3000	24	125
3	PBW+DC 2.5%	3000	12	250
4	PBW+DC 2.5%	3000	6	500
5	DC 2.5%	3000	36	83
6	DC 2.5%	3000	24	125
7	DC 2.5%	3000	12	250
8	DC 2.5%	3000	6	500
9	PBW	3000	36	83
10	PBW	3000	24	125
11	PBW	3000	12	250
12	PBW	3000	6	500

*กากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ใช้ 2.5% เท่ากับ 40g/L โดยประมาณ (ความชื้น~70%)



ภาพประกอบ 2-9 ขั้นตอนการเก็บก๊าซและเติมเข้า-ออกน้ำเสีย

(A) ลักษณะหลอดเก็บก๊าซและกระบอกเก็บก๊าซที่ใช้ในการทดลอง

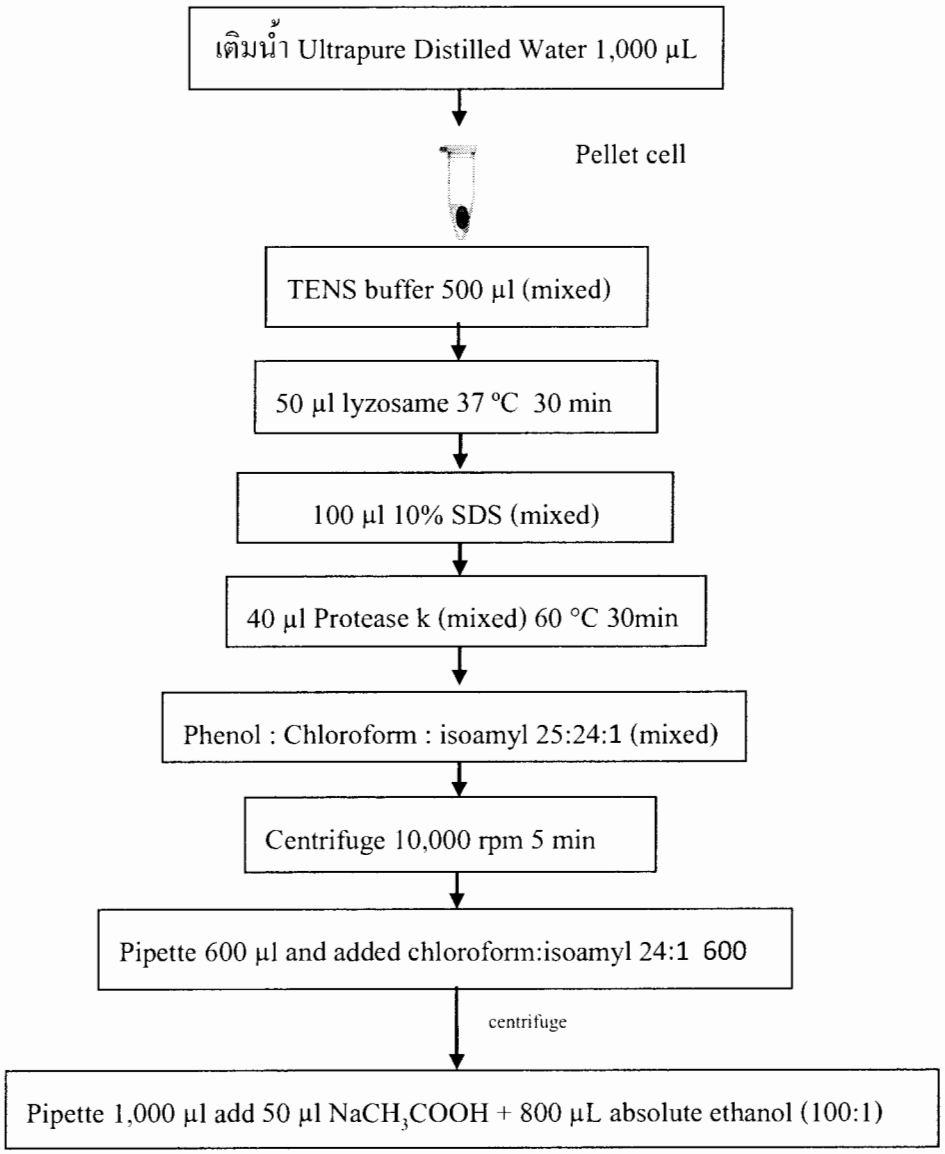
(B) วิธีวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นโดยอาศัยก๊าซ Gas counters

(C) การเก็บก๊าซจากหลอดตัวยู

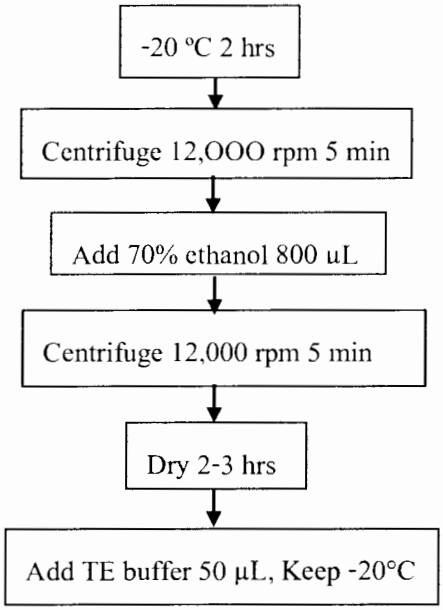
(D) วิธีการป้อนและเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

2.2.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA) นำตัวอย่างน้ำทิ้งมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนเซลล์ไว้ (Cell pellet) จากนั้นนำไปสกัดดีเอ็นเอ (Burrell *et al.*, 1998)(ภาพประกอบ 2-10)



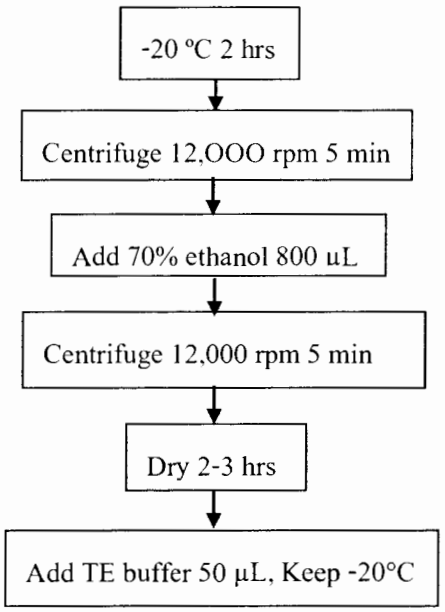
ภาพประกอบ 2-10 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)



ภาพประกอบ 2-10 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)(ต่อ)

โครงสร้างของประชากรจุลินทรีย์ที่ศึกษาใช้เทคนิค PCR-DGGE (Prasertsan *et al.*, 2009) (ภาพประกอบ 2-11) ชนิดของไพรเมอร์ที่ใช้แสดงดังตาราง การเพิ่มปริมาณ 16S rDNA โดยวิธี PCR (Polymerase chain reaction) โดยในการทำ PCR ใช้ไพรเมอร์ คือ Universal primer 1492r และ 27f. Amplification mixtures ที่ใช้คือ TopTaq_ Master Mix Kit (Qiagen) โปรแกรม PCR แรก ประกอบด้วย Pre-denaturation ที่ 95 °C 5 min สำหรับ Denaturation ที่ 95 °C 5 min 1 min Annealing ที่ 54 °C 40 s Elongation ที่ 72 °C 1 min รวมทั้งหมด 30 cycle และ Post-elongation ที่ 72 °C 10 min

ในการทำ PCR ครั้งที่ 2 ใช้ไพรเมอร์ คือ K517r และ L340f-GC โปรแกรม PCR ครั้งที่ 2 ประกอบด้วย Pre-denaturation ที่ 95 °C 5 min สำหรับ Denaturation ที่ 95 °C 5 min 1 min Annealing ที่ 54 °C 40 s Elongation ที่ 72 °C 1 min รวมทั้งหมด 30 Cycle และ Post-elongation ที่ 72 °C 10 min ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เก็บรักษาที่ 4 °C และวิเคราะห์บน 1.0% Agarose gel electrophoresis ก่อนการทำ DGGE



ภาพประกอบ 2-10 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)(ต่อ)

โครงสร้างของประชากรจุลินทรีย์ที่ศึกษาใช้เทคนิค PCR-DGGE (Prasertsan *et al.*, 2009) (ภาพประกอบ 2-11) ชนิดของไพรเมอร์ที่ใช้แสดงดังตาราง การเพิ่มปริมาณ 16S rDNA โดยวิธี PCR (Polymerase chain reaction) โดยในการทำ PCR ใช้ไพรเมอร์ คือ Universal primer 1492r และ 27f. Amplification mixtures ที่ใช้คือ TopTaq_ Master Mix Kit (Qiagen) โปรแกรม PCR แรก ประกอบด้วย Pre-denaturation ที่ 95 ºC 5 min สำหรับ Denaturation ที่ 95 ºC 5 min 1 min Annealing ที่ 54 ºC 40 s Elongation ที่ 72 ºC 1 min รวมทั้งหมด 30 cycle และ Post-elongation ที่ 72 ºC 10 min

ในการทำ PCR ครั้งที่ 2 ใช้ไพรเมอร์ คือ K517r และ L340f-GC โปรแกรม PCR ครั้งที่ 2 ประกอบด้วย Pre-denaturation ที่ 95 ºC 5 min สำหรับ Denaturation ที่ 95 ºC 5 min 1 min Annealing ที่ 54 ºC 40 s Elongation ที่ 72 ºC 1 min รวมทั้งหมด 30 Cycle และ Post-elongation ที่ 72 ºC 10 min ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เก็บรักษาที่ 4 ºC และวิเคราะห์บน 1.0% Agarose gel electrophoresis ก่อนการทำ DGGE

ตารางที่ 2-3 ไพรเมอร์ที่ใช้ในเทคนิค PCR-DGGE ในงานวิจัยนี้

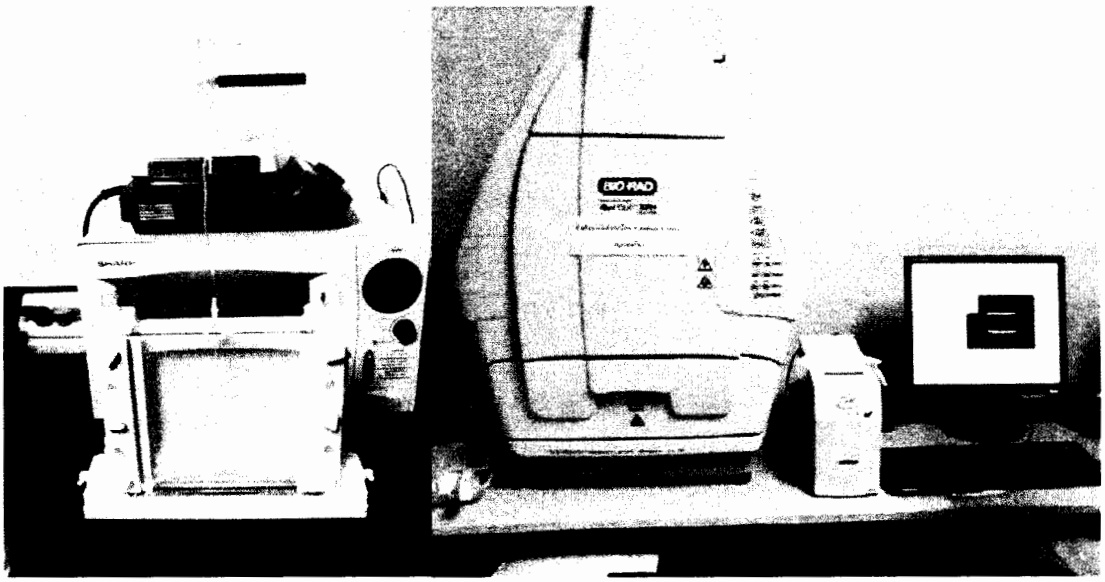
Group	Primer name	Sequence (50->30)	Target
Bacteria	1492r	GAAAGGAGGTGATCCAGCC	16S rDNA
	27f	GAGTTTGATCCTTGGCTCAG	16S rDNA
	K517r	ATTACCGCGCTGCTGG	V3 region
	L340f	CCTACGGGAGGCAGCAG	V3 region
	L340f-GC	GC clamp-CCTACGGGAGGCAGCAG	V3 region
Archaea	Arch958r	YCCGGCGTTGAMTCCAATT	16S rDNA
	Arch21f	TTCCGGTTGATCCYGCCGGA	16S rDNA
	PARCH519r	TTACCGCGGCKGCTG	V3 region
	PARCH340f-GC	GC-clamp-CCTACGGGGYGCASCAG	V3 region
	GC clamp	CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCG GGGCGGGGG CACGGGGGG	

Amplification ของ Archaea 16S rDNA sequences ด้วย Archaea-specific primers (ตาราง 2-3) ใช้ไพรเมอร์ คือ Arch958r and Arch21f โปรแกรม PCR แรกประกอบด้วย Pre-denaturation ที่ 95 °C 5 min สำหรับ denaturation ที่ 95 °C 5 min 1 min annealing ที่ 54 °C 40 s elongation ที่ 72 °C 1 min รวมทั้งหมด 35 cycle และ post-elongation ที่ 72 °C 10 min ในการทำ PCR ครั้งที่ 2 ใช้ไพรเมอร์ คือ PARCH519r และ PARCH340f-GC ในการทำ PCR ครั้งที่ 2 ใช้ไพรเมอร์ คือ K517r และ L340f-GC โปรแกรม PCR ครั้งที่ 2 ประกอบด้วย pre-denaturation ที่ 95 °C 5 min สำหรับ denaturation ที่ 95 °C 5 min 1 min annealing ที่ 54 °C 40 s elongation ที่ 72 °C 1 min รวม

ทั้งหมด 30 cycle และ post-elongation ที่ 72 °C 10 min ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้เก็บรักษาที่ 4 °C และวิเคราะห์บน 1.0% Agarose gel electrophoresis ก่อนการทำ DGGE

วิเคราะห์ DGGE ด้วย DGGE unit, V20-HCDC (Scie-Plas limited, UK) ด้วย 8% (v/v) polyacrylamide gels และ adenaturant gradient 40-70% DGGE gels ย้อมสีด้วย Sybr-Gold เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และถ่ายภาพด้วย Gel DocXR system (Bio-Rad Laboratories) จากนั้นตัดแถบดีเอ็นเอใส่ในน้ำกลั่นเก็บรักษาที่ 4 °C เป็นเวลา 1ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำ PCR อีกครั้งด้วยไพรเมอร์ 357f (without a GC clamp) และ reverse primer หลังจาก re-amplification แล้วทำให้บริสุทธิ์ sequence โดยใช้ไพรเมอร์ 518r (bacteria) and PARCH519r (archaea) ชนิดของไพรเมอร์ที่ใช้แสดงดังตารางที่ 2-3

ส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ ที่ The Macrogen sequencing facility (Macrogen Inc., Seoul, Korea) ผลที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของจุลินทรีย์อ้างอิง (reference microorganisms) ที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้ BLAST: ribosomal database project (http://rdp.cme.msu.edu)



ภาพประกอบ 2-11 ลักษณะอุปกรณ์ของเทคนิค DGGE และเครื่อง GelDoc XP 1708170 (Bio-Rad Laboratories, Hertfordshire, UK)

2.2.5 การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์สมบัติของกากตะกอนที่เหลือจากการหมัก

การทดลองนี้ใช้กากตะกอนที่เหลือจากการหมักที่ระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมในการหมักในการทดลองที่ 3 มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารพืช เพื่อนำมาปรับปรุงและประยุกต์ใช้เป็นวัสดุบำรุงดิน โดยทำการเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์หมักของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2527)

2.3 การวัดปริมาณก๊าซชีวภาพและวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซ

ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจะถูกวัดปริมาตรโดยการแทนที่น้ำ และทำการเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในก๊าซชีวภาพโดยทำการวิเคราะห์ทุกๆ 12 วัน ด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) รุ่น GC 7890A พร้อมตัววัดสัญญาณ Thermal conductivity detector (TCD) คอลัมน์ที่ใช้ คือ Shin Carbon ST 100/120 micropacked ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ยาว 2 เมตร มีก๊าซฮีเลียมเป็น carrier gas และอุณหภูมิในตัวฉีด (Injector) ตัวตรวจวัด (Detector) และ ตู้อบให้ความร้อน (Oven temperatures) เท่ากับ 150,200 และ120 ºC ตามลำดับ

2.4 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย น้ำทิ้ง และกากตะกอนจากระบบหมักไม่ใช้อากาศ

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียและน้ำทิ้งจากระบบไม่ใช้อากาศจะใช้วิธีการศึกษาตาม Standard methods for the examination of water and wastewater 20th edition (APHA, AWWA and WEF, 1998) สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย และ World Environmental Center (2535) โดยวิเคราะห์พารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งระเหยง่าย (VS) กรดไขมันระเหยง่าย (VFA) พีเอช (pH) สภาพด่าง (Alkalinity) และ ซีโอดี (COD) (ตารางที่ 2-4)

สำหรับกากตะกอนดีแคนเตอร์และกากตะกอนที่เหลือทิ้งจากการหมักจะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(TN) ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP) ปริมาณโพแทสเซียม (TK) อัตราส่วน C/N (C/N Ratio) ความชื้น (Moisture) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (OC) แสดงดังตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-4 พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัด วิธีการวิเคราะห์ ความถี่ ตัวอย่างคุณภาพน้ำเสียและน้ำทิ้งจากระบบการหมักไม่ใช้อากาศ

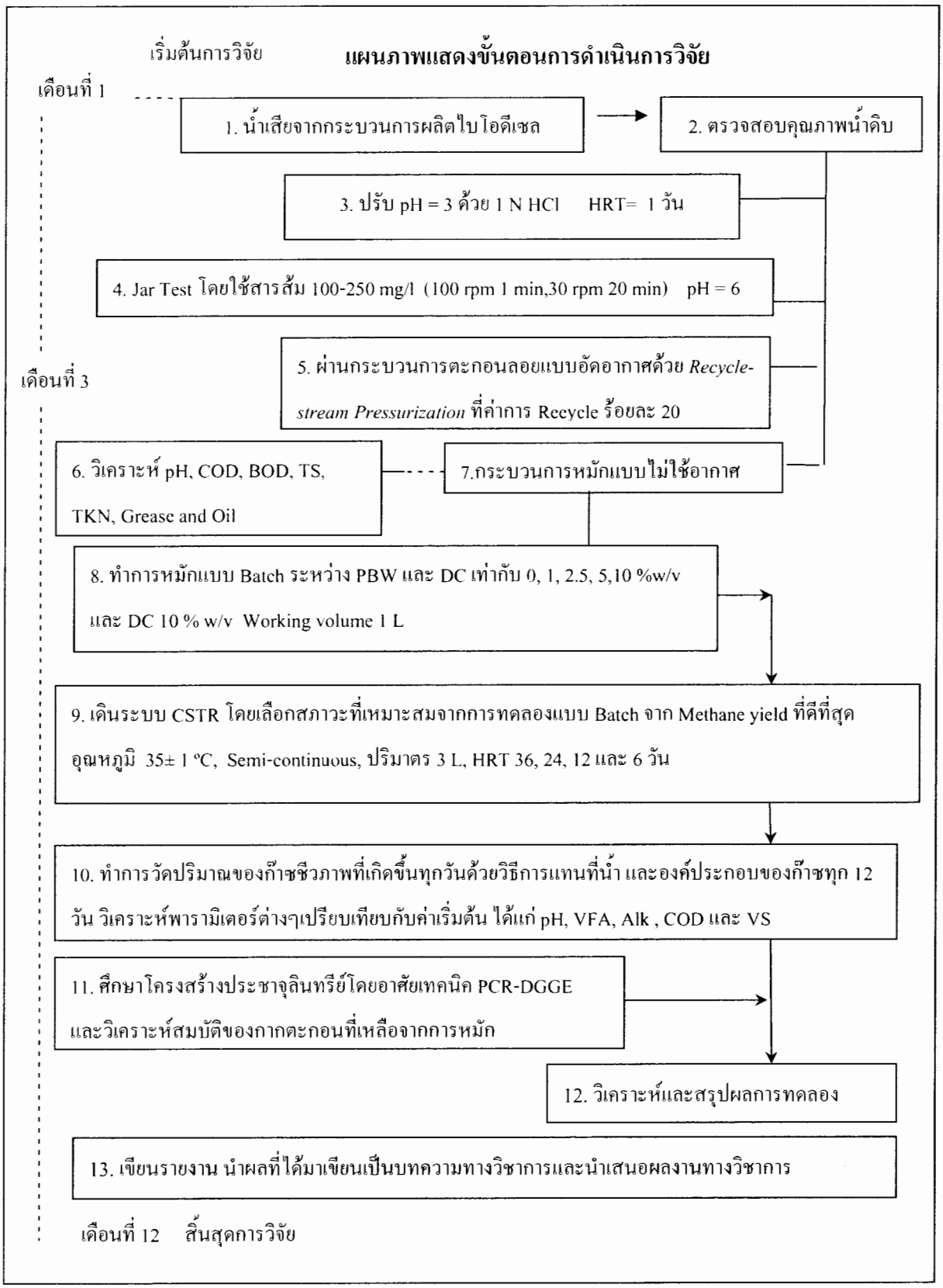
Parameters	**Method**	**Frequency of monitoring**
ปริมาณของแข็งทั้งหมด	อบในเตาอบ 103-105^{O}C 1-2 วัน	3 วัน/ครั้ง
ซีโอดี (COD)	Close reflux,Titrimrtric method	3 วัน/ครั้ง
อุณหภูมิ	Thermometer	ทุกวัน
ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH)	pH meter	ทุกวัน
Alkalinity	Direct titration method	6 วัน/ครั้ง
VFA	Direct titration method	6 วัน/ครั้ง
ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น	Fluid displacement method	ทุกวัน
องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ	GC-TCD	12 วัน/ครั้ง

ตารางที่ 2-5 วิธีการวิเคราะห์ลักษณะวัสดุหมักกากตะกอนดีแคนเตอร์และกากตะกอนที่เกิดขึ้นจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศ

Parameters	**Method**
Moisture	อบในเตาอบ 103-105 °C
Total Nitrogen	photometric method
Total Carbon	photometric method
Total Phosphorus	photometric method
Total Potassium	ICP-OES
Organic Carbon	Walkley & Black Method

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการหมัก PBW และ DC แบบไม่ใช้อากาศ ในรูปของร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และใช้ One-way ANOVA สำหรับเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง



ภาพประกอบ 2-12 กรอบแนวคิดและขั้นตอนการวิจัย

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว (PBW) กากตะกอนดีแคนเตอร์ (DC) จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และหัวเชื้อจุลินทรีย์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะสมบัติของน้ำเสียเริ่มต้น ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียไบโอดีเซลเบื้องต้น รวมถึงลักษณะสมบัติน้ำเสียหลังการบำบัดเบื้องต้นเพื่อเข้าสู่กระบวนการบำบัดทางชีวภาพต่อไป

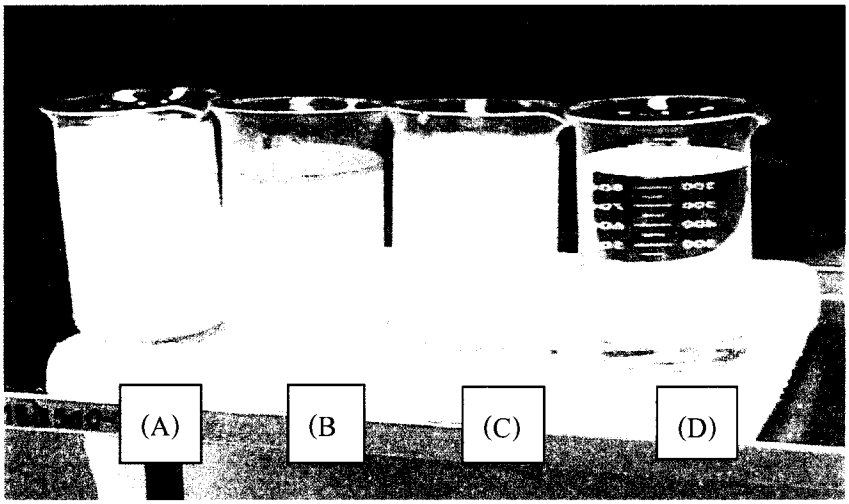
3.1.1 สมบัติน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว

น้ำเสียไบโอดีเซลที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ใช้น้ำมันพืชที่ผ่านการใช้แล้วและน้ำมันปาล์มดิบเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล โดยน้ำเสียส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากกระบวนการล้างเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนซึ่งโดยปกติใช้น้ำล้างในอัตราส่วนระหว่างน้ำสะอาดต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลในอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร ดังนั้นปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นจะเท่ากับปริมาณการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ซึ่งน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสภาพเป็นอิมัลชัน ปนเปื้อนไขมันและน้ำมันปริมาณมาก เป็นผลให้ปริมาณสารอินทรีย์ในรูปค่า ซีโอดีและบีโอดี สูง ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เป็นสาเหตุให้น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลยากต่อการบำบัดโดยวิธีชีวภาพ เพราะองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และน้ำเสียมีค่าพีเอชสูงเนื่องจากผลจากการใช้ด่าง เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการผลิต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการบำบัดน้ำเสียไบโอดีเซลก่อนเข้าสู่กระบวนการย่อยทางชีวภาพต่อไป ผลจากการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้น (ภาพประกอบ 3-1 และ 3-2) พบว่าปริมาณไขมันและน้ำมัน (Grease & Oil) ซึ่งเป็นผลรวมของไขมันและน้ำมันทั้งหมดที่ปนเปื้อนมีค่าสูง คือมีค่าอยู่ในช่วง 11 ± 4 .05 g/L ปริมาณการปนเปื้อนสารอินทรีย์ในรูปค่าซีโอดี (COD) และบีโอดี (BOD_5) อยู่ในช่วง 105 ± 45 g/L และ 45±1.52 g/L น้ำเสียจากการผลิต

ไบโอดีเซลปนเปื้อนสบู่เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาข้างเคียงระหว่างการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เป็นผลจากการปนเปื้อนกรดไขมันอิสระในน้ำมันที่ใช้เป็นสารตั้งต้นและการใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Gerpen *et al.*, 2004) ทำให้น้ำเสียไบโอดีเซลมีสภาพเป็นอิมัลชัน

จากการคำนวณอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี (BOD_5/COD) มีค่าประมาณ 0.43 ซึ่งค่อนข้างต่ำ โดยอัตราส่วน BOD:COD ของน้ำเสียเป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความสามารถในการถูกย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ หากอัตราส่วน BOD:COD มีค่าต่ำกว่า 0.1 แสดงว่าสารนั้นเป็นย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพ (Badawy and Ali, 2006) น้ำเสียไบโอดีเซลถึงแม้ว่าสารที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ แต่ยังขาดธาตุอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการ การบำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลโดยวิธีชีวภาพ (Biological treatment) จึงมีประสิทธิภาพต่ำหรือบำบัดได้ยาก เพราะองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Suehara *et al.*, 2005) จากการศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสีย พบว่าการใช้วิธีการทางกายภาพและเคมีสามารถบำบัดน้ำเสียที่มีสภาพเป็นอิมัลชันได้และมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดไขมันและน้ำมัน ซึ่งสามารถช่วยลดความสกปรกของน้ำเสียลงในระดับหนึ่งได้ก่อนทำการบำบัดขั้นตอนต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้วิธีการทางกายภาพและเคมีทดสอบบำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการประยุกต์ใช้ประโยชน์สำหรับการบำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลในขั้นต้น (Pretreatment)

ภาพประกอบ 3-1 ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัด



ภาพประกอบ 3-2 ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล (A) โดยกระบวนการวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด (B) กระบวนการโคแอกกูเลชัน(C) และกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (D)

ในการงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธีการบำบัดทางกายภาพ-เคมี(Physico-chemical) ด้วยวิธีการร่วมระหว่างวิธีการปรับค่าพีเอชด้วยกรด (Acidification) กระบวนการโคแอกกูเลชัน (Coagulation) และระบบตะกอนลอยแบบอัดอากาศ (DAF) (อเนก สาวะอินทร์, 2552) ด้วยวิธีการตามหัวข้อ 2.1.2.1 พบว่าสามารถกำจัดไขมันและน้ำมันได้มากกว่า 99 % และสามารถกำจัดของเสียในรูปของบีโอดีและซีโอดีได้มากกว่า 80-90% และ BOD_5:COD ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่าน การบำบัดขั้นต้นแล้วมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.53 ซึ่งน้ำเสียไบโอดีเซลเดิมมีค่า BOD:COD เท่ากับ 0.43 ซึ่งจากอัตราส่วน BOD:COD ของน้ำเสียในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าน้ำเสียที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้มีความสามารถในการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจากผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียหลังการบำบัด พบว่ามีค่าน้อยมากซึ่งเป็นผลให้อัตราส่วนของซีโอดีต่อไนโตรเจนทั้งหมด (COD:TKN) เท่ากับ 150:0.0001 ซึ่งน้อยกว่าค่าแนะนำในการเดินระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ ซึ่งค่าที่เหมาะสมอยู่ที่ COD:TKN เท่ากับ 150:1 (Metcalf and Eddy, 2004) ดังนั้นในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศนั้น นอกจากเชื้อจุลินทรีย์จะต้องการอาหารที่มีปริมาณคาร์บอนสูงแล้ว ยังต้องการสารอาหารอื่นๆ ด้วย เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ จึงจำเป็นต้องหาแหล่งไนโตรเจนเพิ่มเติม เพื่อ

ประสิทธิภาพในการทำงานและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ สำหรับลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลและ PBW แสดงดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 สมบัติทางกายภาพ-เคมี ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและ PBW

พารามิเตอร์	ชนิดของของเสีย		ประสิทธิภาพการกำจัด (%)
	น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล	PBW	
pH	10 ± 0.95	6 ± 0.53	-
TSS (g/L)	3.25 ± 1.75	< 0.015	99.55±0.50
TCOD (g/L)	105 ± 45	15 ± 0.70	83.57±7.73
BOD (g/L)	45±1.52	8±2.50	81.84±0.80
Grease & Oil (g/L)	11 ± 4 .05	0.065±0.04	99.27±0.27
NH^{+}_{4}-N (g N/L)	1.12±0.50	<0.007	99.27±3.56
TKN(g TKN/L)	1.84±0.25	<0.010	99.39±0.61

ในงานวิจัยนี้ใช้กากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นวัสดุหมักร่วมเพื่อเป็นแหล่งสารอาหารเพิ่มเติมให้แก่ระบบการหมักแบบไม่ใช้อากาศ สำหรับลักษณะของกากตะกอนดีแคนเตอร์มีลักษณะเป็นเนื้อละเอียดซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการหีบน้ำมันปาล์ม ลักษณะสมบัติของกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และตะกอนจุลินทรีย์จากการโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม แสดงดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 สมบัติทางกายภาพ-เคมี ของกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และหัวเชื้อตะกอนจุลินทรีย์จากการ โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

พารามิเตอร์	DC	กากตะกอนจุลินทรีย์
pH	4.85±0.22	6.84±0.33
TSS (g/L)	-	30.80±0.70
TKN (g/L)	-	3.08
NH_4^+-N (g/L)	-	0.70
TS (g/L)	-	40.76±1.23
VS (g/L)	-	26.99±0.79
VSS (g/L)	-	22.09±1.98
Alkalinity (g/L)	-	3.50±0.50
Moisture (%)	74.30±4.65	-
Carbon (%w/w)*	11.56	-
Nitrogen (%w/w)*	0.19	-
Phosphorus (%w/w)*	0.03	-
Potassium (%w/w)*	0.23	-

*analyzed by the Laboratory of Central Equipment Unit, Prince of Songkla University;

- : non measurement

3. 2 การหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC ด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกะ (Batch)

ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา เสถียรภาพของระบบในถังปฏิกรณ์ ประสิทธิภาพการบำบัด ปริมาตรมีเทนสะสมและผลผลิตมีเทนที่เกิดขึ้นจากการหมัก PBW และDC ของแต่ละชุดการทดลอง เพื่อหาปริมาณ DC ที่เหมาะสมในการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่องต่อไป

การศึกษาครั้งนี้เป็นการหมัก PBW กับ DC และทำการป้อนวัสดุหมักแบบกะหรือการเติมวัสดุหมักครั้งเดียว ซึ่งถังปฏิกรณ์ในการทดลองนี้ทำมาจากขวดแก้ว ขนาด 1 ลิตร ปริมาตรการหมัก (working volume) เท่ากับ 0.5 ลิตร ปิดปากขวดด้วยจุกยาง (septum) พันทับด้วยแผ่นพาราฟิน ทำการหมักภายใต้อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 45 วัน กวนผสมโดยการเขย่าขวดวันละ 1 ครั้ง ก๊าซชีวภาพ

ที่เกิดขึ้นภายในขวดหมักจะถูกส่งผ่านสายยางซิลิโคนไปยังขวดแก้วบรรจุน้ำเพื่อแทนที่น้ำ น้ำที่ถูกแทนที่จะไหลลงสู่ภาชนะรองรับน้ำ ปริมาตรน้ำที่แทนที่ดังกล่าวเป็นปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวันและนำมาวิเคราะห์หาสัดส่วนของก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพทั้งหมดด้วยเครื่อง Gas Chromatography และในระหว่างการทดลองได้ทำการวิเคราะห์ค่า พีเอช ของแข็งระเหยง่าย ก๊าซชีวภาพ และปริมาณมีเทน ซึ่งมีรายละเอียดในการวิเคราะห์ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.2.1 ผลของพีเอชต่อระบบในถังปฏิกรณ์ (pH of digester)

เสถียรภาพของระบบสามารถประเมินได้จากค่า พีเอช, สภาพความเป็นด่าง (Alk), กรดไขมันระเหยง่าย (VFA), และอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่าง (VFA/Alk) ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศประกอบไปด้วยขั้นตอนต่างๆ หลายขั้นตอนการสร้างมีเทนเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญ เนื่องจากในขั้นตอนนี้จะเป็นการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์สองกลุ่ม คือ จุลินทรีย์สร้างกรดและจุลินทรีย์ที่สร้างมีเทน เมื่อในระบบมีปริมาณสารอินทรีย์สูงขึ้น จะทำให้จุลินทรีย์ที่สร้างกรดมีการเจริญเติบโตได้มากขึ้นดังนั้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทนก็เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน เพื่อที่จะสามารถใช้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่ผลิตขึ้นมาโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดได้ทัน แต่อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน โดยที่จุลินทรีย์ผลิตก๊าซมีเทนมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าจุลินทรีย์ที่สร้างกรด เพราะฉะนั้นอัตราการใช้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทนจึงมีค่าน้อยกว่าอัตราการผลิตกรดอินทรีย์ของจุลินทรีย์สร้างกรด ทำให้เกิดการสะสมขอองกรดอินทรีย์ระเหยง่ายมากขึ้น ถ้ามีการควบคุมระบบบัฟเฟอร์ไม่เพียงพอจะทำให้ความเข้มข้นกรดอินทรีย์ระเหยง่ายมากขึ้น จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทน ทำให้มีการผลิตก๊าซมีเทนน้อยลง

จากการทดลองในช่วงแรก การย่อยสลายทางชีวภาพของสารประกอบอินทรีย์เป็นสาเหตุให้เกิดการสะสมของกรดไขมันระเหยง่ายจำนวนมาก ซึ่งเป็นผลให้ค่าพีเอชลดลงและค่ากรดไขมันระเหยง่ายต่อค่าสถานะความเป็นด่างเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระบบ ซึ่งค่าเฉลี่ยของพีเอชที่เกิดขึ้นหลังการทดลองเป็น 4.59±0.18 ดังตารางที่ 3-3 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน โดยทั่วไปสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนควรอยู่ในช่วงพีเอช 7-8 (Elhussein, 2003) ส่งผลให้การผลิตมีเทนต่ำกว่าผลผลิตมีเทนตามทฤษฎี ซึ่งค่าพีเอชที่ลดต่ำลงเป็นสัญญาณที่แสดงถึงความไม่สมดุลของเมทตาบอลิซึมในระบบ ทำให้เป็นพิษต่อการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน เมื่อค่าพีเอชลดลงต่ำกว่า 6 หรือค่าพีเอชสูงกว่า 8 ซึ่ง

อาจจะพบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงจนยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนได้ ระบบที่ดีควรมีค่าอยู่ในช่วงที่เป็นกลางคือมีค่าในช่วง 7-8 ซึ่งแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยง่าย

แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Jain และ Mattiasson (1998) พบว่า methanogen สามารถปรับสภาพการทำงานที่ค่าพีเอชต่ำได้ ตั้งแต่พีเอช 4.0-6.0 ซึ่งการหมักในช่วงแรกสังเกตเห็นการลดลงในการผลิตก๊าซมีเทน แต่หลังจากที่การปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อมใหม่ก็สามารถผลิตมีเทนได้เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตก๊าซชีวภาพที่พีเอช 5.0, 4.5, และ 4.0 ได้เท่ากับ 67, 37 และ 34% เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักที่พีเอชเป็นกลาง

ซึ่งจากการทดลองเกิดข้อจำกัดไม่สามารถปรับพีเอชให้เป็นกลางตลอดการทดลองได้ จึงส่งผลให้ผลผลิตทีเทนที่เกิดขึ้นลดลง

ตารางที่ 3-3 ค่าพีเอชเริ่มต้นและสิ้นสุดและประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย

Condition	พีเอช		ความเข้มข้นของ VS (g/L)		ประสิทธิภาพการ
	เริ่มต้น	สิ้นสุด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	กำจัด VS (%)
PBW	7.47	4.48	6.48	3.79	41.51
DC 5%	7.51	4.88	26.55	15.30	42.37
PBW +DC 1%	7.50	4.99	8.59	3.91	45.52
PBW+DC 2.50%	7.46	4.58	15.18	8.60	43.35
PBW +DC 5%	7.31	4.54	36.11	18.696	48.22
PBW +DC 10%	7.46	4.46	68.71	47.45	30.94

* ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการทดลอง

3.2.2 ผลการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพการเกิดมีเทนของการหมักร่วม PBW กับ DC (Biogas production and biochemical methane potential)

การทดลองในตอนนี้เป็นการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของ PBW และปริมาณของ DC ที่เหมาะสมโดยปริมาณของของแข็งทั้งหมดของ DC เป็น 0 (กลุ่มควบคุม), 1, 2.5, 5 และ 10 %w/v และน้ำเสียจากกากตะกอนดีแคนเตอร์ 5 %w/v (กลุ่มควบคุม) ซึ่ง COD:TKN หลังจากการผสมกันระหว่างหัวเชื้อตะกอนจุลินทรีย์และวัสดุหมักต่างๆในแต่ละชุดการทดลองแสดงดังตารางที่ 3-4

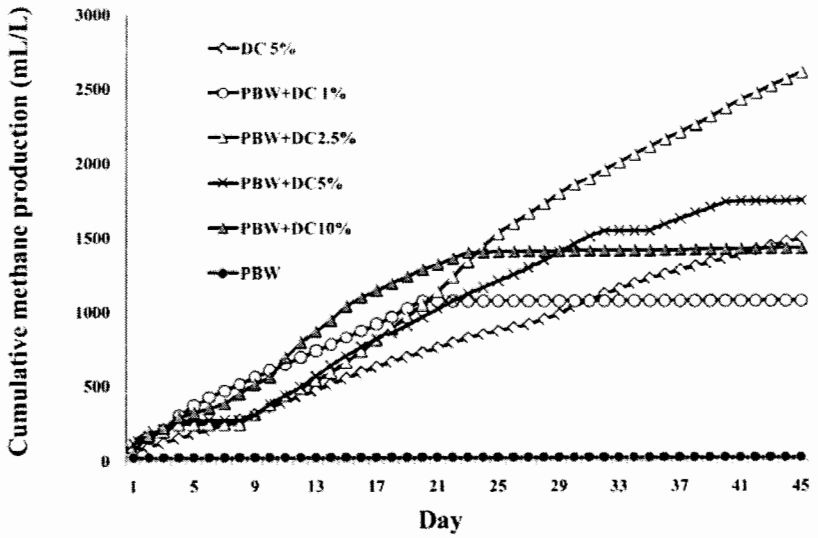
ตารางที่ 3-4 COD:TKN ของวัสดุหมักในการทดลอง

Conditions	COD:TKN (g/L) (mean values)	อัตราส่วนอย่างต่ำ COD:TKN
PBW	$15.70{:}1_{x}10^{-5}$	$150{:}1x10^{-4}$
DC 5%	30.10:0.50	150:2.06
PBW+DC 1%	21.72:0.11	150:0.77
PBW + DC 2.5%	30.75:0.23	150:1.14
PBW + DC 5%	45.81:0.44	150:1.45
PBW + DC 10%	75.02:0.86	150:1.69

เมื่อพิจารณาการผลิตก๊าซชีวภาพที่สภาวะต่างๆพบว่า ในช่วงแรกมีอัตราการผลิตสูง สังเกตได้จากความชัน (Slop) ที่สูงชัดกว่าช่วงอื่นๆ ทั้งปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมและก๊าซมีเทนสะสมที่อัตราส่วน COD:TKN ต่างๆกัน มีรูปแบบกราฟที่แบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นช่วงที่จุลินทรีย์สามารถย่อยสารอาหารได้อย่างรวดเร็ว (ภาพประกอบ 3-3) เช่น ผลการเกิดก๊าซมีเทนของสภาวะการหมักของ PBW, PBW+(DC 1, 5 และ 10%) เนื่องจากในช่วงนี้ในระบบจะมีปริมาณสารอาหารปริมาณมากเพียงพอต่อความต้องการของจุลินทรีย์ทั้งหมด ทำให้กราฟมีแนวโน้มมากขึ้นและส่วนที่สองเป็นช่วงที่อาหารในระบบเริ่มถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายจนหมด ส่งผลให้อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพเริ่มลดลง ทำให้รูปกราฟไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงท้ายของการทดลอง เนื่องจากในช่วงแรกของการหมักจุลินทรีย์จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายง่ายได้ก่อน เช่น น้ำตาล แป้ง กรดอะมิโน หลังจากนั้นจึงย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยาก เช่น Cellulose และ Hemi-cellulose กิจกรรมของจุลินทรีย์จึงค่อยๆลดลง และเหลือน้อยมาก เมื่อเหลือสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ยากมาก เช่น lignin และ ไขมัน เป็นต้น ส่งผลให้มีการผลิตก๊าซชีวภาพสูงในช่วงแรกและลดลง

ตามระยะเวลาการทดลอง ส่วนผลการเกิดก๊าซมีเทนของสภาวะการหมักของ DC 5% และ PBW+DC 2.5% ไม่สามารถสังเกตเห็นลักษณะช่วงกราฟคงที่ เนื่องจากยังไม่ถึงสภาวะที่อาหารในระบบเริ่มถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายจนหมด

จากผลการศึกษาพบว่าการผลิตก๊าซมีเทนของ PBW เกิดมีเทนน้อยมากเฉลี่ยเท่ากับ 19.28 mL และระยะเวลาในการเกิดก๊าซเพียงหนึ่งวัน ซึ่งน้ำเสียดังกล่าวมีค่าซีโอดีต่อทีเคเอ็นเท่ากับ $150:1x10^{-4}$ ทำให้ไม่ส่งเสริมต่อการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ต่างๆในระบบ ส่งผลให้ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นน้อย

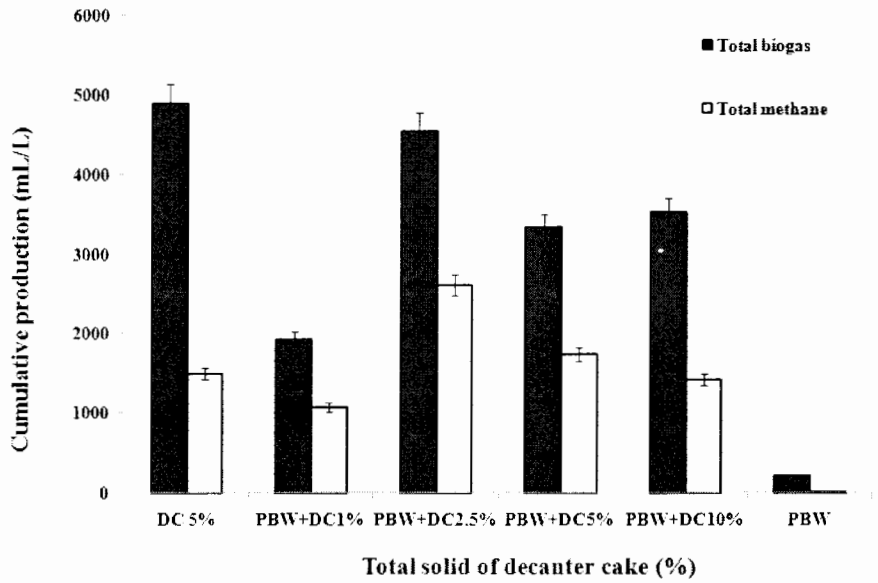


ภาพประกอบ 3-3 ปริมาณมีเทนสะสมของการหมัก DC (ชุดควบคุม 5%w/v) , PBW+DC 1 %w/v, PBW+DC 2.5 %w/v , PBW+DC 5 %w/v, PBW+DC 10 %w/v และ PBW(ชุดควบคุม)

ส่วนการผลิตก๊าซมีเทนจากน้ำเสียจากการผสมระหว่างน้ำกลั่นและ DC ที่มีค่าของแข็งทั้งหมด 5 %w/v พบว่าเกิดก๊าซมีเทนสะสมตลอด 45 วัน เฉลี่ย เท่ากับ 1,429.29 mL ซึ่งน้ำเสียดังกล่าวมีค่าซีโอดีต่อไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 150:2.06 ทั้งนี้ปริมาณมีเทนของการหมักดังกล่าวน้อยกว่าการหมักของ PBW+DC 5% (COD/TKN: 150:1.45) และ PBW กับ DC ที่มีค่าของแข็งเป็น 1, 2.5, 5 และ 10 %w/v สามารถผลิตมีเทนได้ตลอด 45 วันเท่ากับ 1,069.41, 2,604.86, 1,743.89 และ 1,422.45 mL ตามลำดับ (ภาพประกอบ 3-3 และ 3-4) โดยที่การผลิตมีเทนสูงสุดอยู่ที่การใช้ DC 2.5%w/v ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวมีค่าซีโอดีต่อทีเคเอ็นเท่ากับ 150:1.14 ซึ่งช่วงอัตราส่วนดังกล่าว

ใกล้เคียงกับค่าค่าแนะนำในการเดินระบบแบบไม่ใช้อากาศ (Metcalf & Eddy, 2004)

ระยะเวลากักเก็บในการทดลองนี้จำกัดอยู่ที่ 45 วันจากกราฟเส้นแสดงแนวโน้มของก๊าซชีวภาพสะสมของทุกๆการทดลองพบว่าชุดควบคุมของน้ำเสียจาก DC 5 %w/v และชุดการทดลองของ PBW+DC 2.5%w/v ปริมาณก๊าซชีวภาพยังไม่ใช่ก๊าซชีวภาพสะสมสูงสุดซึ่งสังเกตได้จากเส้นแนวโน้มที่ยังไม่คงที่ (ภาพประกอบ 3-3) แสดงว่าระบบยังสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ต่อไปอีก และเมื่อวัดพีเอชที่ 45 วัน ทุกชุดการทดลองค่าพีเอชมีค่าใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 5 ซึ่งแสดงว่าจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนสามารถปรับสภาพให้คุ้นชินกับสภาวะที่เป็นกรดได้ แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตมีเทนที่ได้จะน้อยกว่าระบบที่มีสภาวะที่พีเอชเป็นกลาง แต่การศึกษาในครั้งนี้จะศึกษาถึงศักยภาพในการผลิตมีเทนของ PBW เปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆที่ระยะเวลากักเก็บ 45 วัน โดยไม่ควบคุมพีเอชระหว่างการทดลอง เพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ในการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่องต่อไป

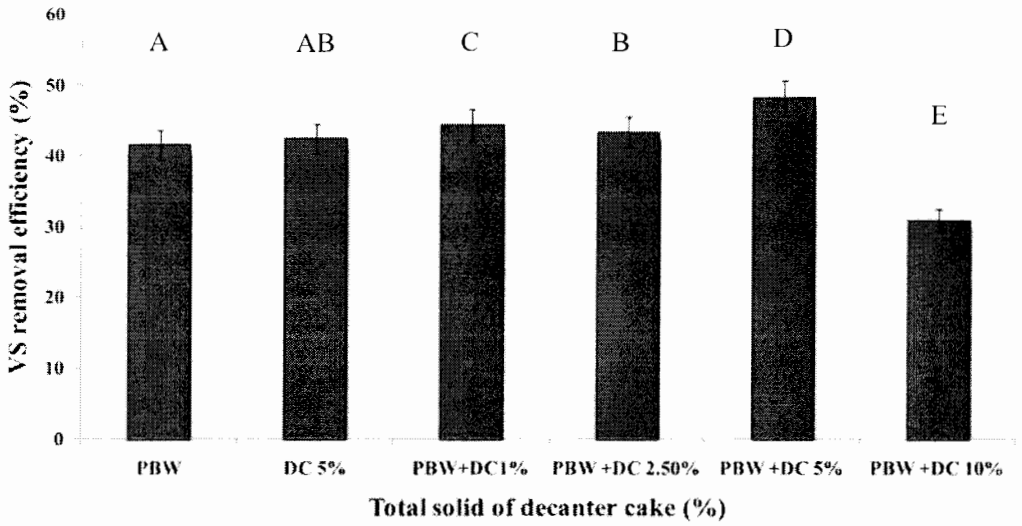


ภาพประกอบ 3-4 ปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมและมีเทนสะสมจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศ ระยะเวลา 45 วัน

3.2.3 ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย (VS removal efficiency)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่ายของวัสดุหมักพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่ายมีค่าใกล้เคียงกันที่ 40% ซึ่งจากประสิทธิภาพการกำจัดน้อยมากเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งระเหยง่ายในช่วง 60% (WEF, 1998)

ในการหมักแบบไม่ใช้อากาศ เมื่อปริมาณ DC เท่ากับ 10% ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่ายลดลงเป็น 30% ทั้งนี้เนื่องจากภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่มากเกินไปทำให้จุลินทรีย์ยากที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่ายแสดงดังตารางที่ 3-4 ภาพประกอบ 3-5

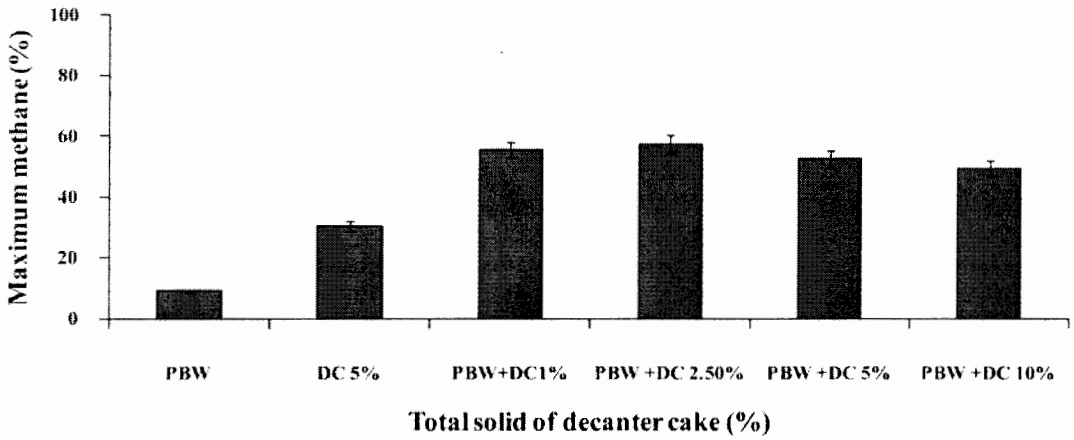


หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (α=0.05) จากการใช้ One-way ANOVA ความหมายของอักษรที่ต่างกัน หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ภาพประกอบ 3-5 ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่าย ของแต่ละชุดการทดลอง

3.2.4 เปอร์เซ็นมีเทนของก๊าซชีวภาพ (Methane percentage of biogas)

การผลิตก๊าซชีวภาพและการย่อยสลายเป็นผลจากกิจกรรมจากการทำงานของจุลินทรีย์ ความเข้มข้นของมีเทนในก๊าซชีวภาพเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีที่สุดของกิจกรรมที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์และประสิทธิภาพทางเศรษฐศาสตร์ความเข้มข้นของมีเทนจะลดต่ำลงเมื่อเกิดปฏิกิริยาการยับยั้งต่อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน (Chynoweth and Isaacson, 1987) โดยทั่วไปความเข้มข้นของมีเทนจะอยู่ที่ 50-75% (Polprasert, 1996) ที่จะสามารถนำไปเป็นเชื้อเพลิงให้ความร้อนหรือนำไปผลิตเป็นกระแสไฟฟ้า ดังนั้นคุณภาพของก๊าซชีวภาพสามารถบ่งบอกได้จากเปอร์เซ็นความเข้มข้นของก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพทั้งหมด โดยในการศึกษาในครั้งนี้เปอร์เซ็นมีเทนสูงสุดเป็น 57.30% จากการเดินระบบของ PBW และ DC 2.5%w/v (ตารางที่ 3-5 และ ภาพประกอบ 3-6)



ภาพประกอบ 3-6 ปริมาณมีเทนสูงสุดในการหมักแบบไม่ใช่อากาศด้วยระบบกะ (Batch)

3.2.5 ผลผลิตมีเทน (Biogas production and methane yield)

จากผลการศึกษาพบว่า ผลผลิตของก๊าซมีเทนและค่าความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ จะแสดงในรูปของผลผลิตก๊าซมีเทน (Methane yield) (ตารางที่ 3-5 และภาพประกอบ 3-6) เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์ Methane yield ที่ได้จากการทดลองกับค่าแนะนำ (0.50 L CH_4/g $VS_{removed}$) พบว่า ปริมาณก๊าซมีเทน ตลอดระยะเวลาการทดลองที่สภาวะต่างๆ มีอัตราผลิตก๊าซมีเทนต่ำกว่าค่าแนะนำมาก ทั้งนี้สาเหตุประการหนึ่งมาจากสภาวะในระบบหมักไม่ใช้อากาศที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการทำงานของจุลินทรีย์ โดยคาดว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์สร้างกรด จึงทำให้มีอัตราการผลิตกรดสูงในระบบ จนจุลินทรีย์สร้างมีเทนไม่สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้ทัน ส่งผลให้มีค่ากรดไขมันระเหยง่ายสะสมเป็นจำนวนมากสังเกตได้จากค่าพีเอชที่ลดลง ทำให้สัดส่วนมีเทนในก๊าซชีวภาพจึงมีค่าต่ำ ประกอบกับปริมาณของแข็งระเหยง่ายที่ถูกกำจัดมีค่าต่ำ

เนื่องจากจุลินทรีย์สร้างกรดนำไปใช้ในการผลิตกรด แต่ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นก๊าซมีเทนได้หมด โดยอัตราการผลิตก๊าซมีเทนของน้ำเสียผสมระหว่าง PBW กับ DC เป็น 1, 2.5, 5 และ 10 %w/v เท่ากับ 0.23, 0.27, 0.10 และ 0.067 L CH_4 /g $VS_{removed}$ ตามลำดับ

การผลิตมีเทนสะสมและผลผลิตมีเทนสูงสุด (ภาพประกอบ 3-4 และ 3-7) เกิดขึ้นที่สภาวะการหมักร่วมระหว่าง PBW กับ DC 2.5% w/v เท่ากับ 0.27 L CH_4/g $VS_{removed}$ หรือ 0.17 L CH_4/g VS_{added} เมื่อเพิ่มปริมาณ DC มากกว่าหรือเท่ากับ 5 %w/v เป็นผลให้การผลิตก๊าซ

ชีวภาพลดลงและผลผลิตมีเทนลดลงตามไปด้วย เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของภาระบรรทุกสารอินทรีย์มากเกินไปส่งผลให้สูญเสียสภาวะบัฟเฟอร์ในระบบทำให้ระบบขาดความเสถียรภาพ

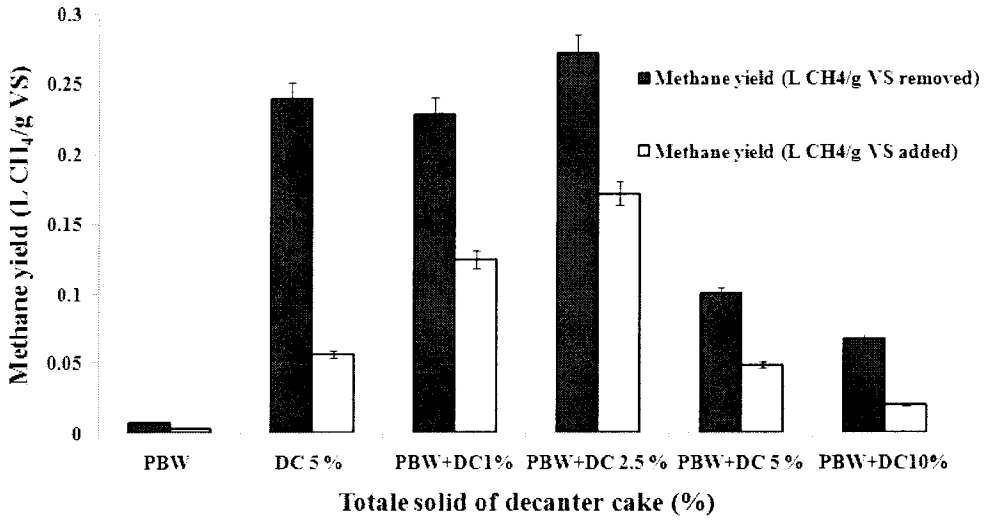
จากตารางแสดงค่าผลผลิตมีเทนทั้งในหน่วย L CH_4/gVS $_{removed}$ เพื่อแสดงให้เห็นถึงปริมาณมีเทนที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในวัสดุหมัก และหน่วย L CH_4/gVS $_{added}$ เพื่อแสดงให้เห็นถึงปริมาณมีเทนที่เกิดขึ้นจากวัสดุหมักทั้งหมดซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์และส่วนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ (วิธีคำนวณแสดงใน ภาคผนวก ข)

ตารางที่ 3-5 การเปลี่ยนแปลงของมีเทนที่เกิดขึ้นของแต่ละชุดการทดลอง

Conditions	เปอร์เซ็นมีเทนสูงสุด (%)	ปริมาณก๊าซมีเทน (mL/L)	ผลผลิตมีเทน (Methane yield)	
			L CH_4/gVS removed	L CH_4/gVS added
PBW	9.18	19.28	0.0072	0.0030
DC 5%	30.54	1,429.29	0.24	0.056
PBW+DC1%	55.41	1,069.41	0.23	0.12
PBW+DC2.5%	57.30	2,604.86	0.27	0.17
PBW +DC 5%	52.39	1,743.89	0.10	0.048
PBW +DC 10%	49.38	1,422.45	0.067	0.021

อย่างไรก็ตามผลผลิตมีเทนในการศึกษานี้ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของผู้วิจัยอื่นๆ ก่อนหน้านี้เช่น ผลผลิตมีเทนของการหมักแบบไม่ใช้อากาศของแป้งสาลี (Wheat straw) เท่ากับ 0.16 L CH_4/g VS $_{added}$ (Sharma *et al.*, 1988) ผลผลิตมีเทนจากการหมักของใบแคฝรั่ง *(Gliricidia maculate)* เท่ากับ 0.18 L CH_4/g VS $_{added}$ (Gunaseelan, 1988) เป็นต้น (ตารางที่ 3-6)

จากการศึกษาพบว่าการใช้ DC เป็นวัสดุหมักร่วมสามารถเพิ่มผลผลิตมีเทนได้ 97.35% และ 12.17% เมื่อเปรียบเทียบกับการหมัก PBW หรือ DC เพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง



ภาพประกอบ 3-7 ประสิทธิภาพผลผลิตมีเทน (methane yield) ของแต่ละชุดการทดลอง

ตารางที่ 3-6 ผลผลิตมีเทน (Methane yield in the literature) ในการเดินระบบแบบ Batch

Kinds of waste	experiment	HRT (day)	Temp. (C)	Methane yield L CH_4/g VS_{added}	Reference
PBW+DC2.5%	batch	45	35	0.17	This study
wheat straw	batch	NA	37	0.16	(Sharma *et al.*, 1988)
gliricidia maculate leaves	batch	29-35	29-35	0.18	(Gunaseelan, 1988)
sargassum fluitans (bladder)	batch	NA	54.6	0.18	(Ghosh *et al.*, 1981)
Macrocystis pyrifera (raw kelp)	batch	NA	54.6	0.14	(Ghosh *et al.*, 1981)
utricularia reticurata	batch	NA	37	0.13	(Abbasi *et al*, 1990)
azolla pinnata	batch	NA	37	0.12	(Abbasi *et al.*, 1990)
sargassum fluitans (whole)	BMP assay	NA	35	0.17	(Chynoweth *et al.*, 1993)
Sargassum pteropleuron bladder)	BMP assay	NA	35	0.17	(Chynoweth *et al.*, 1993)
Napier grass	BMP assay	NA	35	0.19	(Chynoweth *et al.*, 1993)

*NA, not available

3. 3 การหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC ที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous)

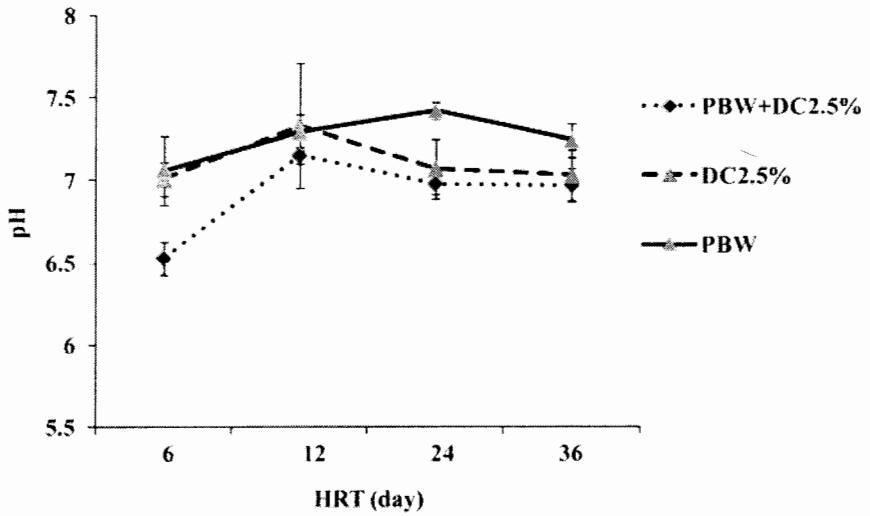
ในการทดลองส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมในการเดินระบบเสถียรภาพของระบบในถังปฏิกรณ์ ประสิทธิภาพการบำบัด ผลผลิตมีเทนที่เกิดขึ้นจากการหมัก PBW และ DC ของแต่ละชุดการการทดลอง

ขั้นตอนการผลิตก๊าซชีวภาพโดยกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ โดยประกอบชุดถังปฏิกรณ์ เข้าระบบและเริ่มการทดลองในระบบ CSTR (Completely stirred tank reactor) แบบ semi-continuous โดยควบคุมสภาวะอุณหภูมิคงที่ 35± 1 °C โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิและอ่างน้ำเพื่อรักษาระดับของอุณหภูมิให้คงที่ ทำการหมัก PBW และ DC ที่ระยะเวลากักเก็บระดับต่างๆ ด้วยระบบแบบกึ่งต่อเนื่องโดยแต่ละถังปฏิกรณ์ทำการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 36, 24, 12 และ 6 วัน ตามลำดับ โดยมีชุดการทดลองที่ใช้เป็นชุดควบคุมโดยเติมปริมาตรอาหารเช่นเดียวกับชุดทดลองแต่เปลี่ยนวัตถุดิบที่ใช้เป็น PBW เพียงชนิดเดียว และน้ำเสียจาก DC 2.5 %w/v (ชุดควบคุม) เพื่อสามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการหมักร่วมกับการหมักที่ใช้วัตถุดิบอย่างใดอย่างหนึ่ง ผลการทดลองเป็นดังนี้

3.3.1 ความเสถียรภาพของระบบในถังปฏิกรณ์ (The stability of digester)

ความเสถียรภาพของระบบสามารถประเมินได้จากค่าพีเอช สภาพความเป็นด่าง กรดไขมันระเหยง่ายและกรดไขมันระเหยง่ายต่อค่าสภาพความเป็นด่างระหว่างการเดินระบบ ซึ่งตามทฤษฎีแล้วค่าพีเอชที่เหมาะสมของความเสถียรภาพของระบบอยู่ที่ 7.5±0.2 เป็นสภาวะที่จุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนสามารถใช้กรดไขมันระเหยง่ายได้ดีที่สุด (Fannin, 1987 and Wheatley, 1990)โดยค่าพีเอชของระบบทุกระยะเวลากักเก็บมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.53-7.42 (ภาพประกอบ 3-8) ซึ่งอยู่ในช่วงที่จุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนทำงานได้ดี

จากการทดลองพบว่าระบบมีปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายในช่วง 800-1,300 mg/L ซึ่งอยู่ในช่วงปกติในการเดินระบบ (ภาพประกอบ 3-9) โดยกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลสั้นที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนการไฮโดรไลซีสและการสร้างกรดของแบคทีเรียพวกสร้างกรด เช่น กรดอะซิติก กรดโพไพโอนิกและกรดบิวทาริก ซึ่งจะถูกแบคทีเรียพวกสร้างก๊าซมีเทนนำไปใช้เป็นสารอาหารและแหล่งพลังงาน โดยปกติกรดอินทรีย์ระเหยง่ายใน



ภาพประกอบ 3-8 ผลของพีเอชในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ

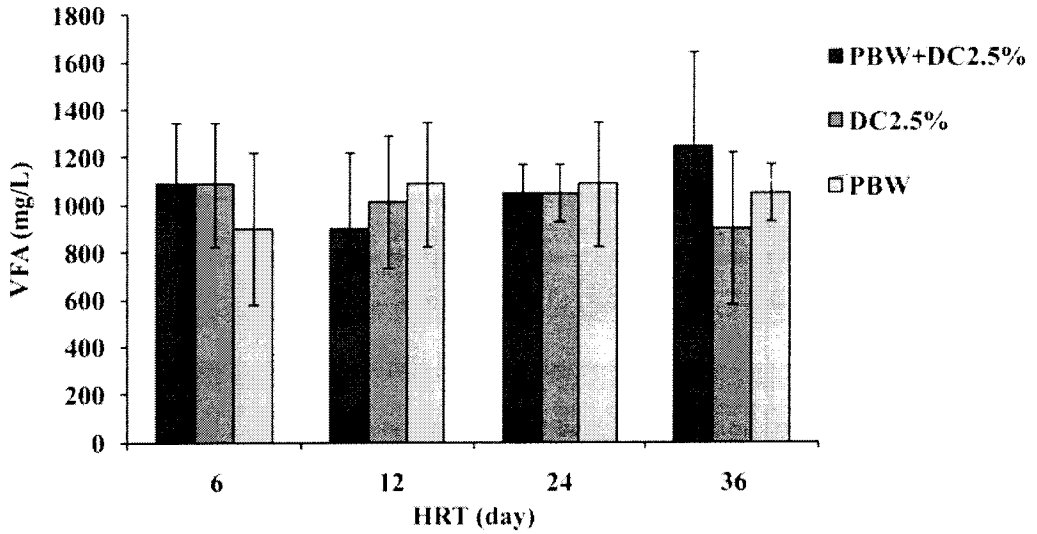
ระบบควรมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกประมาณ 50-500 mg/L ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายจะมีส่วนสำคัญต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบ คือ เมื่อมีปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายสูงขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างจะต่ำลง ระดับของกรดอะซิติกที่มีค่าเกิน 800 mg/L หรือ อัตราส่วนของกรดโพรพิโอนิคต่อกรดอะซิติกเกิน 1.4 จะทำให้ระบบเกิดการล้มเหลวได้ (Marchaim and Krause, 1993) และเมื่อปริมาณกรดระเหยง่ายเพิ่มสูงเกินไป แสดงว่าระบบเสียสมดุล โดยปกติปริมาณกรดระเหยง่ายในถังหมักควรไม่เกิน 4,000 mg/L ระบบที่ปกติควรมีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่เกิน 2,000 mg/L แต่ถ้าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 8,000-10,000 mg/L ก็เกิดเป็นพิษขึ้นโดยตรงกับระบบ

ส่วนสภาพความเป็นด่างในระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศนั้นมีความสำคัญต่อการหมักวัสดุหมักที่มีความเป็นกรดสูงเพราะทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงมากหลังจากมีการเติมวัสดุหมัก ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไบคาร์บอเนต ที่เกิดมาจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างแอมโมเนียกับคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต ความเป็นด่างนี้เป็นบัฟเฟอร์ที่ดีให้แก่ระบบที่จะควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายภายในระบบเพิ่มสูงขึ้น ความเป็นด่างไบคาร์บอเนตก็จะถูกทำลายไป การทำลายความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์นี้เป็นสาเหตุทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง โดยทั่วไปแล้วระบบหมักในสภาวะไม่ใช้อากาศควรมีสภาพความเป็นด่างทั้งหมดประมาณ 1,000-5,000 mg/L ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต (Metcalf and Eddy, 1991) จากการทดลองพบว่าค่าสภาพความเป็นด่างอยู่ในช่วง 1,300-1,800 mg/L as $CaCO_3$ (ภาพประกอบ 3-10) โดยสภาพความเป็นด่าง

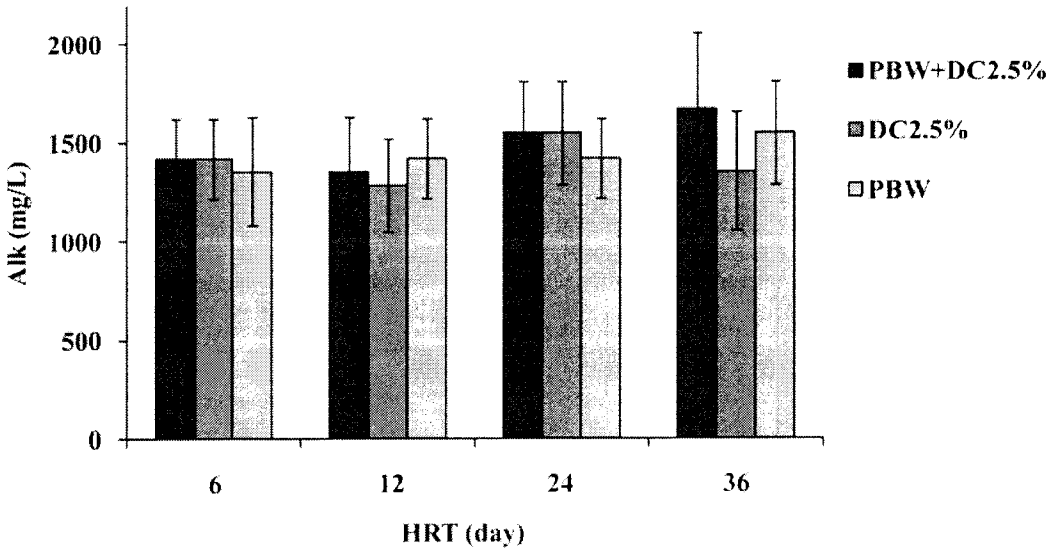
ของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ถูกควบคุมโดยระบบกรด-ด่าง ดังนั้นในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-7.5 จึงมีความเหมาะสมต่อการทำงานของระบบในสภาวะไม่ใช้อากาศ

ค่าอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่างควรมีค่าต่ำกว่า 0.4 (Balaguer, 1992) หรือ 0.5 (Fanin, 1987) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศนี้ปราศจากการสะสมของกรดไขมันระเหยง่าย ซึ่งค่ากรดไขมันระเหยง่าย เป็นค่าแสดงถึงปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้น โดยที่สภาพความเป็นด่าง จะทำหน้าที่รักษาสมดุลของระบบเปรียบเสมือนบัฟเฟอร์ของระบบมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของระบบมีค่าอยู่ในช่วงที่เป็นกลางคือมีค่าในช่วง 7-8 และแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยง่าย ถ้ากรดไขมันระเหยง่ายในระบบมีมากเกินไปจะมีผลทำให้ค่ากรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่สร้างมีเทน

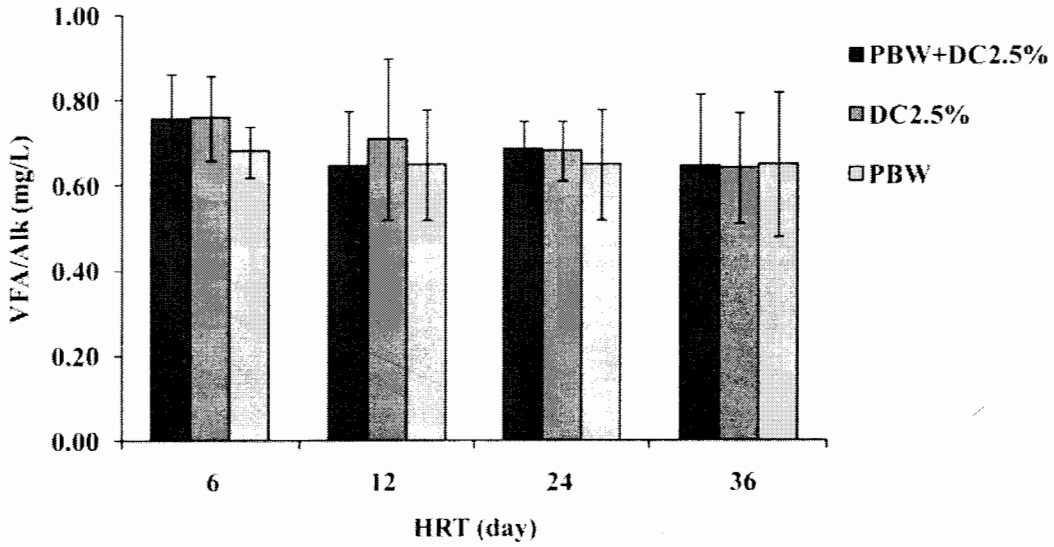
โดยทั่วไปแล้วค่าอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่างควรอยู่ในช่วงระหว่าง 0.3-0.4 ถ้าอัตราส่วนนี้น้อยกว่า 0.4 แสดงว่าระบบมีความเป็นบัฟเฟอร์สูงและสามารถรับค่าความเป็นกรดมากๆในช่วงสั้นๆได้ โดยระบบสามารถรักษาพีเอชให้คงที่ ไม่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่าพีเอชอย่างรวดเร็ว (Balaguer, 1992) และถ้าอัตราส่วนนี้มีค่าสูงกว่า 0.8 แสดงว่าระบบกำลังอยู่ในขั้นที่พีเอชสามารถลดลงได้อย่างรวดเร็ว เมื่อกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (นราพร และคณะ, 2546) ซึ่งจากการทดลองพบว่าค่าอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่างอยู่ในช่วง 0.6-0.8 (ภาพประกอบ 3-11) โดยค่าดังกล่าวยังอยู่ในช่วงที่ไม่เป็นอันตรายในการเดินระบบแบบไม่ใช้อากาศตามที่กล่าวมาขั้นต้นแล้ว



ภาพประกอบ 3-9 ผลของกรดไขมันระเหยง่ายในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ



ภาพประกอบ 3-10 ผลของสภาพความเป็นด่างในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ



ภาพประกอบ 3-11 ผลของกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่าง (VFA/Alk) ในแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ

3.3.2 ผลของวัสดุหมักต่อการผลิตมีเทนและผลผลิตมีเทน (The role of substrate on methane productivity and yield)

จากการศึกษาพบว่าชนิดของวัสดุหมักมีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งการหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุด 0.99±0.074 L/day การหมักของ PBW สามารถผลิตมีเทนได้ 0.19±0.080 L/day และการหมักของน้ำเสีย DC 0.92±0.067 L/day ที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน (ตารางที่ 3-8) ขณะที่ผลผลิตมีเทนของการหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC เป็น 0.35±0.019 L CH_4/gVS_{added} (0.82±0.063 L $CH_4/gVS_{Removed}$) การหมักของ PBW ได้ผลผลิตมีเทนเป็น 0.19±0.016 L CH_4/gVS_{added} (0.34±0.028 L $CH_4/gVS_{Removed}$) และการหมักของน้ำเสีย DC เป็น 0.37±0.027 L CH_4/gVS_{added} (0.27±0.020 L $CH_4/gVS_{Removed}$) ที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วันเช่นกัน (ภาพประกอบ 3-14) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้วัสดุหมักแต่ละชนิดให้ผลผลิตมีเทนที่ต่างกัน

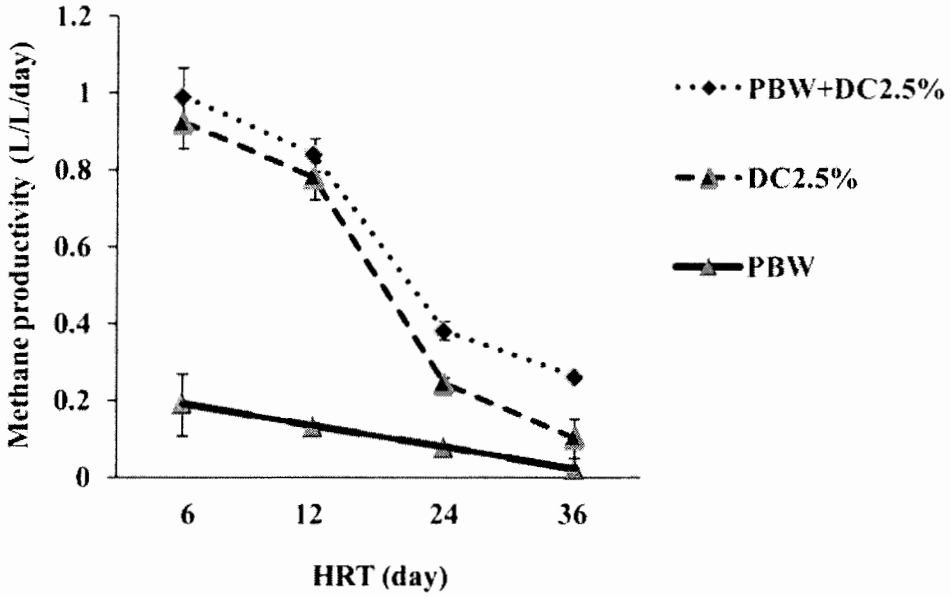
ซึ่งผลผลิตมีเทนของการหมักร่วมระหว่าง PBW และ DC เป็น 0.82±0.063 L $CH_4/gVS_{Removed}$ มีค่าใกล้เคียงกับการหมักกากตะกอน (Activated sludge) ที่ระยะเวลากักเก็บ 13 วัน ซึ่งเท่ากับ 0.93 L $CH_4/gVS_{Removed}$ (Lin *et al.*, 1997)

เนื่องจากการหมักระหว่าง PBW และ DC ร่วมกันมีสารอาหารเหมาะสมสำหรับการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบซึ่งพิจารณาจากค่า COD:TKN ในระบบเท่ากับ 150:1.14 ส่วนPBW เพียงอย่างเดียวมีค่า COD:TKN เท่ากับ $150:1x10^{-4}$ และน้ำเสียจาก DC มีค่า COD:TKN เท่ากับ

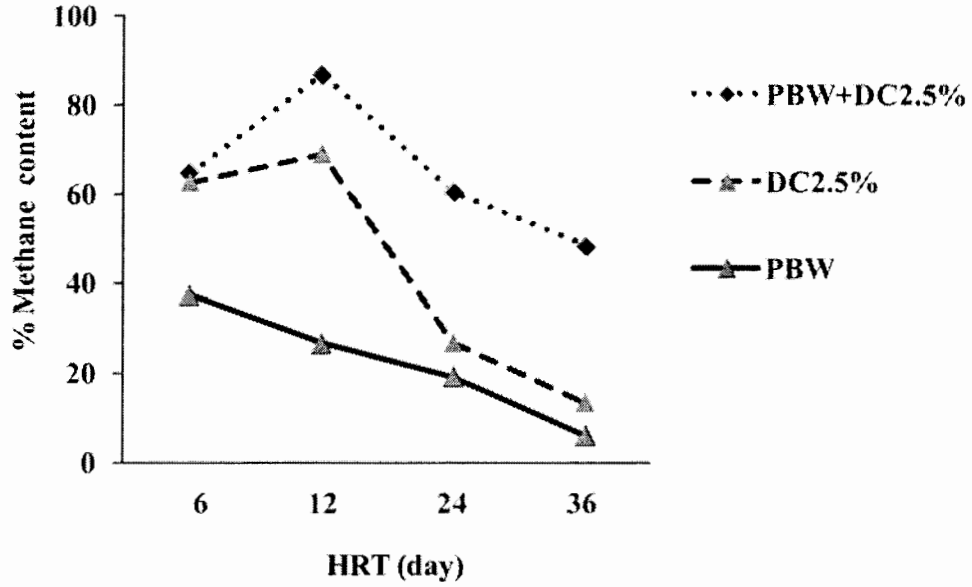
150:2.49 ซึ่งสังเกตได้ว่า PBW ขาดแคลนสารอาหารที่จำเป็นต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ดังนั้น คุณลักษณะสารอาหาร (Substrate characteristic) หรือองค์ประกอบของสารอาหารจะเป็นตัวกำหนดลักษณะของระบบภายในถังหมัก โดยจะทำหน้าที่เป็นตัวคัดเลือกจุลินทรีย์ที่จะใช้สารประกอบต่างๆ ซึ่งของเสียที่จะนำมาย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ มักประกอบด้วยองค์ประกอบต่างๆ เหล่านี้เป็นหลัก ได้แก่ ไขมันกรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกลุ่มของสารประกอบไนโตรเจนจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

3.3.3 ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการผลิตมีเทนและผลผลิตมีเทน (The role of HRT on methane productivity and yields)

ระยะเวลาเก็บกัก เป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ อัตราเร็วของการย่อยสลายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บกักสารอินทรีย์จนถึงค่าสูงสุดค่าหนึ่ง ต่อจากนั้นก็จะลดลงจนกระทั่งถึงขั้นหนึ่งที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบ (Wash out) ในอัตราที่เร็วกว่าจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้น (Yilmazer and Yenigun, 1999) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ระบบล้มเหลวได้ สามารถแก้ไขการที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบได้โดยการเพิ่มระยะเวลาเก็บกักให้นานขึ้น (Wen *et al.*, 1999) นอกจากนี้ระยะเวลาเก็บกักจะเป็นปัจจัยหลักในการออกแบบระบบการหมัก กล่าวคือ ระยะเวลาเก็บกักเป็นระยะเวลาที่ของเสียอยู่ในถังหมักสามารถหาได้โดยการปริมาตรถังหมักด้วยปริมาตรของเสียที่เติมลงในถังหมักต่อหน่วยเวลา ระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบ (Solid retention time, SRT) หมายถึงมวลของของแข็งภายในระบบหารด้วยมวลของของแข็งที่ปล่อยออกจากระบบต่อวัน ในถังหมักแบบธรรมดาที่ไม่มีการหมุนเวียนตะกอน มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ภายในระบบจะเท่ากับระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย โดยระยะเวลาการกักเก็บของน้ำเสียจะมีผลต่ออัตราการป้อนสารอินทรีย์หรือเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญที่ใช้ในการกำหนดความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ การปรับอัตราการป้อนสารอินทรีย์ให้มีค่าแตกต่างกัน ทำได้โดยเปลี่ยนอัตราการไหลของของเสียที่ไหลผ่านถังหมัก หรือเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของของแข็งหรือความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ใส่เข้าไป ถ้าภาระบรรทุกของระบบที่สูงเกินไปจะทำให้กรดไขมันระเหยเกิดมากเกินไป ทำให้พีเอชของถังหมักมีค่าต่ำ แต่ถ้าภาระบรรทุกที่ต่ำเกินไปจะทำให้เกิดก๊าซชีวภาพจำนวนน้อยไม่เพียงพอ



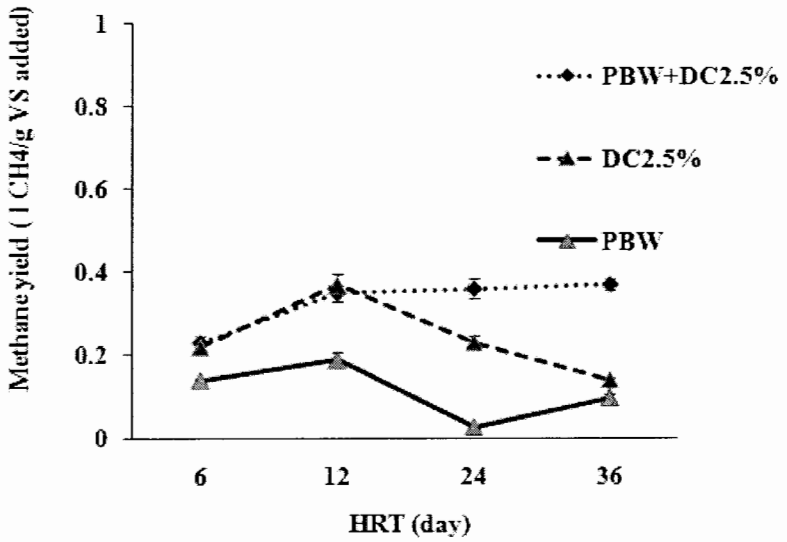
ภาพประกอบ 3-12 กราฟแสดงการผลิตมีเทนเฉลี่ยของแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ



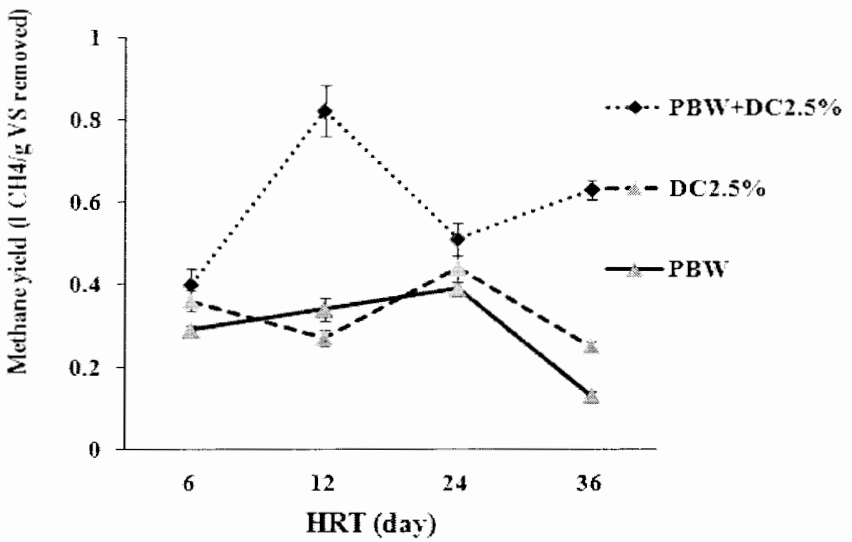
ภาพประกอบ 3-13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นมีเทนสูงสุดของแต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ

การผลิตก๊าซมีเทนและเปอร์เซ็นมีเทนสูงขึ้นจนถึงระยะเวลากักเก็บ 12 วัน (ภาพประกอบ 3-12 และ 3-13) จากนั้นการผลิตก๊าซชีวภาพและผลผลิตมีเทนลดลง ในทางตรงกันข้ามเมื่อภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงขึ้นเป็นสาเหตุให้เกิดการสะสมของกรดไขมันระเหยง่ายที่ระยะเวลากักเก็บ 6 วัน จุลินทรีย์ที่สร้างกรดสามารถสร้างกรดไขมันระเหยง่ายเร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน ซึ่งการสะสมของกรดไขมันระเหยง่ายที่ถูกสร้างขึ้นในถังปฏิกรณ์เป็นผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน (Hazimah *et al.*, 2003)

จากการทดลองสอดคล้องกับทฤษฎีและค่าแนะนำที่ใช้ในการออกแบบระบบถังกวนสมบูรณ์ ซึ่งบำบัดของเสียประเภทตะกอน ที่อุณหภูมิ 30-35 °C ที่อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 1.6 – 4.8 gVSS / L/day HRT เท่ากับ 15-20 วัน (Qasim, 1985) หรือ การบำบัดที่ค่าของแข็งในตะกอน 3-4% ที่ระยะกักเก็บ 12 วันอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 1.8-2.4 gVS/L/day (Metcalf and Eddy, 2004)ในการทดลองนี้ออกแบบให้ระบบมีภาระบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 0.71-4.29 gVS/L/day และที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน (OLR 2.14 gVS/L/day) เกิดผลผลิตมีเทนสูงสุด



ภาพประกอบ 3-14 กราฟแสดงผลผลิตมีเทนเฉลี่ย (Methane yield in term L CH4/g VS $_{added}$) ของแต่ละระยะเวลากักเก็บ

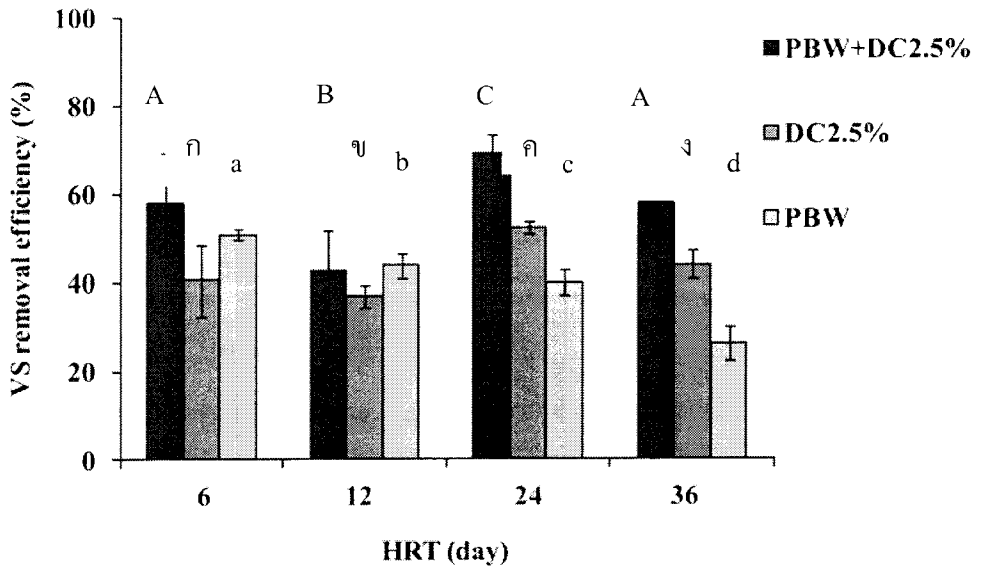


ภาพประกอบ 3-14 กราฟแสดงผลผลิตมีเทนเฉลี่ย (Methane yield in term L CH4/g VS $_{removed}$)

3.3.4 ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการกำจัดของแข็งระเหยง่ายและซีโอดี (The role of HRT on VS and COD removal efficiency)

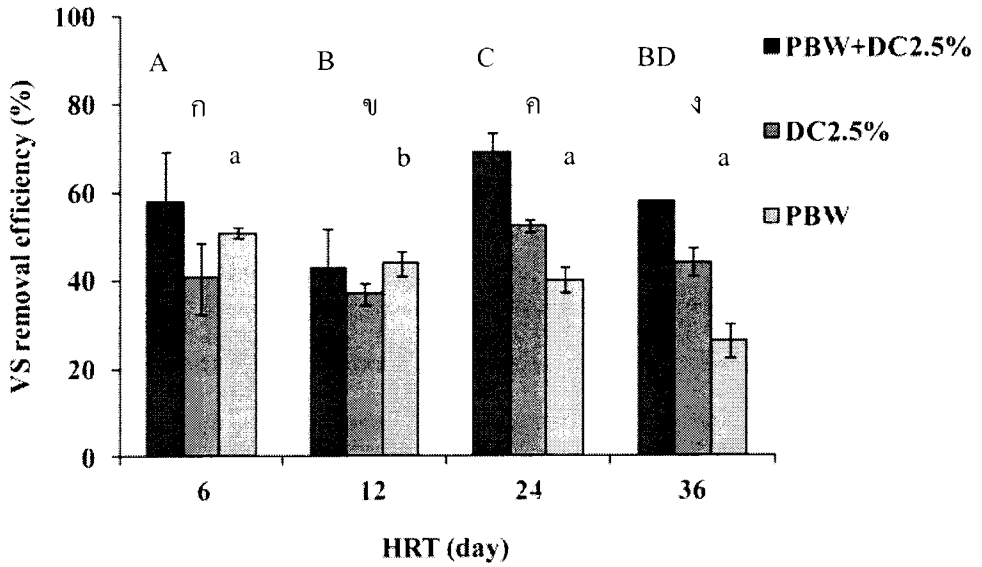
ผลของการกำจัดของแข็งระเหยง่ายและซีโอดีที่ระยะเวลากักเก็บและสารตั้งต้นที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 3-8 และภาพประกอบ 3-16 และ 3-17 จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของของแข็งระเหยง่าย ประสิทธิภาพการกำจัดของแข็งระเหยง่ายสูงสุดเท่ากับ 69.10±4.16% ที่ระยะเวลากักเก็บ 24 วัน และสามารถกำจัดซีโอดีได้สูงสุดเท่ากับ 94.93±1.55% (ตารางที่ 3-8) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (α=0.05) ในความเป็นจริงระยะเวลากักเก็บมากขึ้นทำให้การย่อยสลายของชีวมวลเพิ่มขึ้นในถังปฏิกรณ์นอกจากนั้นยังสามารถทำให้การเดินระบบเสถียรภาพ แต่อย่างไรก็ตามถ้าระยะเวลากักเก็บสั้น จุลินทรีย์ในระบบสามารถถูกชะล้างออกจากระบบ ก่อนที่จะสามารถใช้สารอินทรีย์ในระบบ ซึ่งสังเกตได้น้ำเข้าระบบและผลการกำจัดของแข็งระเหยง่ายที่ลดลง (Hazimah *et a.l*, 2003)

อย่างไรก็ตามผลผลิตมีเทนในการศึกษานี้ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของผู้วิจัยอื่นๆก่อนหน้านี้เช่น ผลผลิตมีเทนของการหมักแบบไม่ใช้อากาศของของเสียที่เป็นสารอินทรีย์จากของเสียชุมชนเท่ากับ 0.39 L CH_4/g VS $_{added}$ (Pauss *et al.*, 1984) ผลผลิตมีเทนจากการหมักของสาหร่าย (Ulca + Cladophora +Chaetomorpha) เท่ากับ 0.25-0.35 L CH_4/g VS $_{added}$ (Hansson, 1981) (ตารางที่ 3-8)



หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอักษรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (α=0.05) จากการใช้สถิติแบบ One-way ANOVA

ภาพประกอบ 3-16 ประสิทธิภาพการกำจัด VS แต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ



หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอักษรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (α=0.05) จากการใช้สถิติแบบ One-way ANOVA

ภาพประกอบ 3-17 ประสิทธิภาพการกำจัด COD แต่ละระยะเวลากักเก็บต่างๆ

ในการศึกษานี้ปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวันของการหมัก PBW+DC 2.5% ที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับน้ำเสียจากแหล่งอื่นๆ (ตารางที่ 3-7)

ตารางที่ 3-7 ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียแต่ละแหล่ง

แหล่งของน้ำเสีย	ความสามารถในการผลิตก๊าซชีวภาพ (m^3/m^3)
น้ำเสีย (PBW+DC2.5%)	0.9 (CH_4~ 0.7)*
น้ำเสีย (DC2.5%)	1.1(CH_4~0.7)*
โรงฆ่าสัตว์	0.7
ฟาร์มสุกร	3.5
โรงงานแป้งข้าวเจ้า	2.4
โรงงานแป้งมันสำปะหลัง	7
โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบ	15

ที่มา: คู่มือเทคโนโลยีการผลิตและการใช้ประโยชน์จากก๊าซชีวภาพ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2549);

* ค่าที่ได้จากการทดลองที่ระยะกักเก็บ 12 วัน

ตารางที่ 3-8 ผลผลิตมีเทน (Methane yield in literature) ด้วยถังปฏิกรณ์ CSTR

Feed	CSTR Fermenter	HRT (day)	OLR (kg VS/m^3/day)	Temp. (°C)	CH_4 yield (m^3/kg/VS_{added})	Reference
PBW+DC2.5%	Semi-continuous 3.5 L	12	1.42	35	0.35	This study
HS-OF MSW Cont. = 3-5.6% TS	laboratory plant	12-20	1	35	0.39	Pauss *et al.*, 1984
Predigested SEW	Semi-continuous 3.5 L	20	-	37	0.29	Rivard *et al.*, 1990
Tomato processing waste	Semi-continuous 5.5 L	24	4.3	35	0.42	Sarada and Joseph, 1994
Vine shoots, untreated	Semi-continuous 2 L	20	1	35	0.15	Jimenez,1990
Vine shoots, Sodium chlorite treated	Semi- continuous 2 L	20	1	35	0.27	Jimenez, 1990
Raw kelp	No detail	18	1.6	35	0.20	Chynoweth and Srivastava, 1980
Algae (Laminaria saccharina)	semi- continuous	24	1.65	35	0.23	Hanssen,,1987
Algae (Ulca + Cladophora +Chaetomorpha)	Semi- continuous 2 L	12-25	2-2.5	35	0.25-0.35	Hansson, 1981
Water hyacinth	No detail	15	1.6	35	0.19	Chynoweth, 1982
Napier grass tops	Semi-continuous 4 L	20	1.23	35	0.11	Wilkie *et al.*, 1986
Bermuda grass Without external nutrients	Semi-continuous 7 L	12	1.6	35	0.11	Ghosh *et al.*, 1985

* SEW = sewage sludge; HS-OF MSW = hand-sorted organic fraction of municipal solid waste;

ตารางที่ 3-9 ผลของระยะเวลากักเก็บต่อการผลิตก๊าซชีวภาพในการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่องของการหมักร่วมระหว่าง PBW+DC2.5%, DC2.5% และ PBW

Operation parameters	Kinds of waste											
	PBW+DC2.5%				DC2.5%				PBW			
HRT (days)	6	12	24	36	6	12	24	36	6	12	24	36
VS in feed slurry (g/L)	25.76	25.76	25.76	25.76	25.73	25.73	25.73	25.73	7.92	7.92	7.92	7.92
VS loading (g/L/day)	4.29	2.14	1.07	0.71	4.29	2.14	1.07	0.71	1.32	0.66	0.33	0.22
COD loading (g/L/day)	5.13	2.56	1.28	0.85	2.51	1.25	0.62	0.42	2.61	1.31	0.65	0.44
COD:TKN	150:1.14	150:1.14	150:1.14	150:1.14	150:2.49	150:2.49	150:2.49	150:2.49	15.70:1X10-5	15.70:1X10-5	15.70:1X10-5	15.70:1X10-5
Gas production (all per L of digester volume)												
% CH_4 in biogas (v/v)	64.89	86.78	60.49	48.29	62.64	69.08	26.61	13.24	37.44	26.61	19.21	5.84
Biogas (L/day)	1.53±0.115	0.87±0.048	0.62±0.040	0.53±0.018	1.45±0.11	1.14±0.083	0.91±0.066	0.77±0.035	0.50±0.018	0.48±0.039	0.40±0.018	0.37±0.030
CH_4 (L/day)	0.99±0.074	0.75±0.042	0.38±0.024	0.26±0.009	0.92±0.067	0.78±0.057	0.24±0.018	0.10±0.05	0.19±0.080	0.13±0.010	0.077±0.0035	0.021±0.0018
Gas yield (L/g VS added)	0.36±0.027	0.45±0.022	0.58±0.037	0.75±0.025	0.34±0.025	0.54±0.039	0.85±0.062	1.07±0.049	0.38±0.014	0.72±0.059	0.13±0.0064	1.67±0.14
CH4 yield (L/g VS added)	0.23±0.017	0.35±0.019	0.36±0.023	0.37±0.012	0.22±0.016	0.37±0.027	0.23±0.016	0.14±0.0066	0.14±0.0052	0.19±0.016	0.026±0.0012	0.098±0.0079
CH_4 yield (L/g VS removed)	0.40±0.038	0.82±0.063	0.51±0.046	0.63±0.023	0.36±0.026	0.27±0.020	0.44±0.032	0.25±0.012	0.29±0.010	0.34±0.028	0.39±0.018	0.13±0.011
Effluent characteristics												
VFA (mg/L)	1.09±0.26	0.90±0.32	1.05±0.12	1.25±0.40	1.09±0.26	1.01±0.28	1.06±0.12	0.90±0.31	0.91±0.32	1.08±0.26	1.09±0.25	1.05±0.13
Alk (mg/L)	1.42±0.10	13.54±0.27	1.55±0.26	1.67±0.38	1.42±0.19	1.28±0.24	1.55±0.26	1.35±0.30	13.54±0.28	1.42±0.19	1.43±0.20	1.55±0.26
VFA/Alk (mg/L)	0.76±0.11	0.65±0.12	0.68±0.07	0.65±0.17	0.76±0.10	0.71±0.19	0.68±0.07	0.64±0.13	0.68±0.06	0.65±0.13	0.65±0.14	0.65±0.17
VS removed (g/L)	14.88±0.053	11.01±4.12	17.80±4.92	14.88±0.053	15.32±2.06	12.24±0.65	12.29±0.40	14.42±0.80	3.90±0.10	4.45±0.22	4.75±0.23	5.85±0.31
g VS used/day	2.48±0.083	0.92±0.34	0.74±0.21	0.41±0.06	2.55±0.34	1.35±0.05	0.51±0.01	0.40±0.02	0.65±0.017	0.37±0.018	0.20±0.0096	0.16±0.0085
VS removal efficiency (%)	57.78±11.66	42.74±9.07	69.10±4.16	57.77±0.21	40.46±8.02	36.88±2.53	52.24±1.57	43.96±3.12	50.75±1.26	43.77±2.78	40.03±2.90	26.09±3.88
COD removal efficiency (%)	86.73±0.56	97.12±0.82	93.27±0.99	96.20±1.70	74.75±2.51	91.92±1.08	94.93±1.55	89.33±1.32	91.37±1.12	95.01±1.03	92.86±1.09	91.37±1.13
pH output	6.53±0.10	7.15±0.05	6.98±0.06	6.97±0.1	7.01±0.10	7.33±0.38	7.07±0.18	7.03±0.15	7.06±0.21	7.29±0.11	7.42±0.05	7.24±0.10

3.4 การศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE

การศึกษาในการทดลองนี้วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE จากการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่บำบัดขั้นต้นแล้วและกากตะกอนดีแคนเตอร์ที่ระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมจากการเดินระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง ซึ่งระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสม คือ 12 วัน โดยพิจารณาจากผลผลิตมีเทนที่เกิดขึ้นสูงสุด ซึ่งโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ได้รับผลกระทบจากประเภทและความเข้มข้นของสารมลพิษรวมทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ การเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ยังแสดงถึงประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดสารอินทรีย์ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค PCR-DGGE ภาพประกอบ 3-19 แสดง DGGE profile ของชิ้นส่วนยีนบริเวณ 16S rDNA โดยแถบดีเอ็นเอแต่ละช่องแทนชุดการทดลองดังนี้

ช่องที่ M คือ DGGE Maker

ช่องที่ M1 คือ กลุ่มโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นในการศึกษา

ช่องที่ M16 คือ กลุ่มโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 16 วัน (Unstable condition)

ช่องที่ M32 คือ กลุ่มโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 32 วัน (Stable condition)

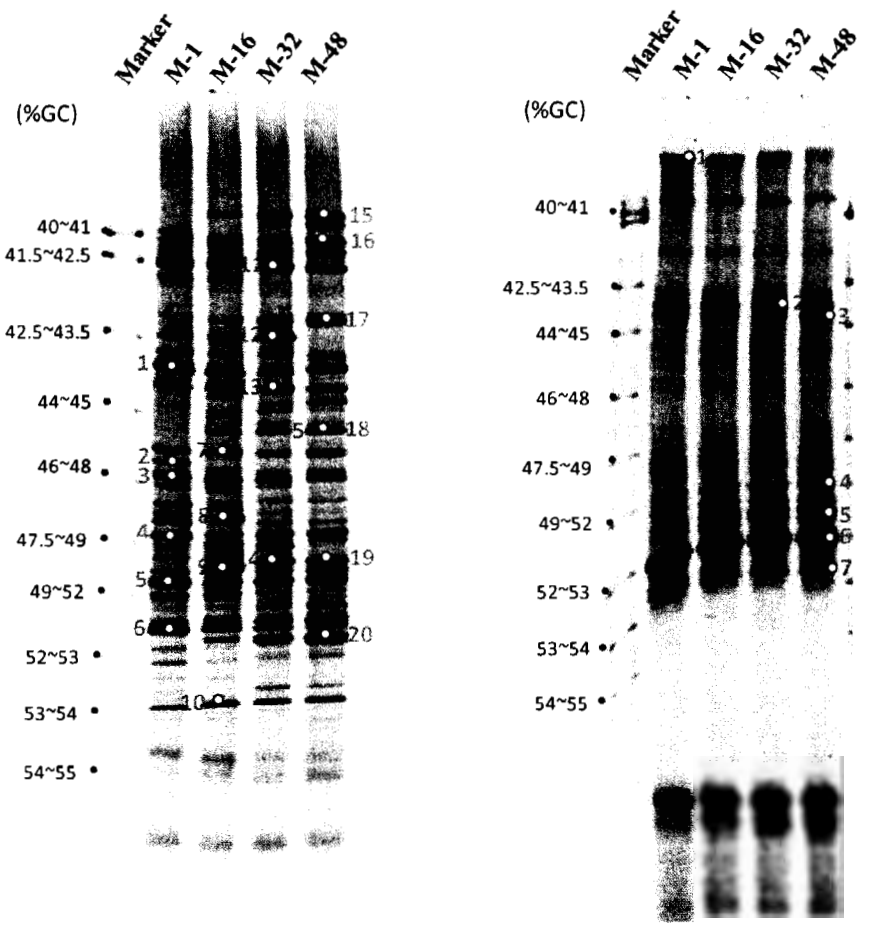
ช่องที่ M48 คือ กลุ่มโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์เมื่อเวลาผ่านไป 48 วัน (Stable condition)

ซึ่งโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ของระบบแบบไม่ใช้อากาศแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ Bacteria และ Archaea การย่อยแบบไม่ใช้อากาศที่มีความเสถียรภาพดีจะต้องประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ 4 กลุ่ม คือ Hydrolytic fermentative bacteria, Proton-reducing acetogenic bacteria, Hydrogenotrophic methaogens และ aceticlastic methanogens (Zinder *et al.*, 1984)

การวิเคราะห์ DGGE เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรแบคทีเรียในชุดการทดลองการหมักแบบไม่ใช้อากาศระหว่างน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดข้างต้นแล้วและกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (ภาพประกอบ 3-19) โดยใช้เกรเดียนท์ของความเข้มข้น denaturant คือ 40-70 % ซึ่งผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ เมื่อนำมา Blast ด้วย ribosomal database project (http://rdp.cme.msu.edu) ซึ่งผลการวิเคราะห์เป็นดังต่อไปนี้

กลุ่มโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นในการศึกษา (M1) เป็นกลุ่มประชากรจุลินทรีย์จากตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (ตาราง 3-10 และ 3-11) ดังนั้นกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบมีความเป็นไปได้ไปด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่สร้างมีเทน เช่น *Arcobacter sp., Actinobacterium sp., Clostridium sp., Desulfomicrobium sp.,*

Actinobacillus sp., Bifidobacterium sp., Citrobacter sp. และ *Thiomargarita sp.* ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นจุลินทรีย์กลุ่มแรกที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ให้อยู่ในรูปอย่างง่าย และสร้างกรดเพื่อเป็นสารตั้งต้นให้แก่จุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน ที่ใช้กรดที่ถูกสร้างขึ้นเปลี่ยนเป็นก๊าซชีวภาพ โดยจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนที่พบในเชื้อเริ่มต้น ได้แก่ *Methanosaeta sp.* และ *Methanobacterium sp.* เป็นต้น



(A) (B)

ภาพประกอบ 3-18 โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำทิ้ง วิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE หมายเลข 1-20 แสดงแถบดีเอ็นเอเด่นที่เลือกมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (A) ของแบคทีเรีย และโครงสร้างประชากร Archaea หมายเลข 1-7 (B)

ตาราง 3-10 ชนิดของจุลินทรีย์และจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบ

	M1	M16	M32	M48	Ref		M1	M16	M32	M48	Ref
Bacteria											
1	-	*	*	*	14	15	*	*	-	-	-
2	*	*	*	*	15	16	*	-	-	-	-
3	*	*	*	*	16	17	*	*	-	-	8
4	*	*	-		-	18	*	*	*	*	4
5	-	-	*	*	17	19	-	*	*	-	-
6	-	*	*	-	11	20	-	-	*	*	19
7	*	*	*	*	-	21	-	-	*	-	13
8	*	*	*	*	1	22	-	*	*	*	9
9	*	*	*	*	12	23	*	*	*	*	5
10	-	-	-	*	-	24	*	*	-	-	-
11	-	*	*	*	18	25	-	-	-	*	-
12	*	*	*	*	7	26	*	*	*	*	6
13	*	-	-	-	2	27	-	-	*	*	20
14	*	*	*	*	3		*	*	*	*	10
Archaea											
1	*	-	-	-	1	5	*	*	*	*	5
2	*	*	*	*	2	6	*	*	*	*	6
3	*	*	*	*	3	7	*	*	*	*	7
4	*	*	*	*	4						

* พบจุลินทรีย์ , - = ไม่พบจุลินทรีย์

แถบสีเทา คือ เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น

ตาราง 3-11 ชนิดของ Bacteria และ Archaea ที่พบในตัวอย่างน้ำทิ้ง

ลำดับที่	Accession no.	Similality score	S_ab score	Unique common oligomers and sequence full name
Bacteria				
1	GQ502465	not_calculated	0.224	1316 uncultured actinobacterium; Cf1-14
2	L23477	not_calculated	0.277	1618 Clostridium sp.; AZ3 B.1
3	GU179677	not_calculated	0.240	1283 uncultured delta proteobacterium; D055111E10 (genus Desulfomicrobium)
4	FJ405311	not_calculated	0.322	1417 Actinobacillus sp. 4069
5	HQ842704	not_calculated	0.350	1276 Bifidobacterium sp. DPVI-TET3
6	EF649780	not_calculated	0.269	1394 Citrobacter sp. DBM;
7	EU735723	not_calculated	0.339	1401 uncultured bacterium; C_A3 (genus Thiobacillus)
8	-	-	-	-
9	AB052966	not_calculated	0.218	1381 Bacillus sp. BE1
10	FR690879	not_calculated	0.245	2229 Thiomargarita namibiensis; NAM001
11	AY259924	not_calculated	0.220	1899 Pseudomonas filiscindens; ATCC BAA-697
12	DQ234151	not_calculated	0.398	1481 uncultured Arcobacter sp.; DS067
13	GU553019	not_calculated	0.224	1423 uncultured bacterium; M-5 (genus Oxalobacter)
14	FR828751	not_calculated	0.340	1279 uncultured bacterium; SBW-53

ตาราง 3-11 ชนิดของ Bacteria และ Archaea ที่พบในตัวอย่างน้ำทิ้ง (ต่อ)

ลำดับที่	Accession no.	Similality score	S_ab score	Unique common oligomers and sequence full name
15	FJ234421	not_calculated	0.244	1324 Actinomyces sp. BL-79
16	-	-	-	-
17	HM567110	not_calculated	0.277	1247 Bacillus sp. DU54(2010);
18	EU589299	not_calculated	0.224	-1409 uncultured soil bacterium; 2_D4
19	EU381435	not_calculated	0.331	1398 uncultured rumen bacterium; L3A_E05
20	HM061797	not calculated	0.206	1371 uncultured Acidobacteria bacterium; KBS_T8_R4_149252_c6
Archaea				
1	EU857632	not_calculated	0.331	1356 uncultured Methanosaeta sp.
2	AY692056	not_calculated	0.258	1365 uncultured Methanosaeta sp.; M6
3	AY692057	not_calculated	0.385	1360 uncultured Methanosaeta sp.; M30
4	X16932	not_calculated	0.307	1388 Methanosaeta concilii
5	EU580027	not_calculated	0.266	1165 uncultured Methanosaeta sp.; Samali3
6	AB447829	not_calculated	0.432	1252 uncultured archaeon; D242_ARC_0302_1_078;(genus Methanobacterium)
7	-	-	-	-

ส่วนโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์แบคทีเรียจาก ในช่วงที่ระบบยังไม่เสถียร (M16) มีจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่ไม่สร้างมีเทนได้แก่ *Arcobacter sp.*, *Actinobacterium sp.* *Bacillus sp.*, *Oxalobacter sp.*, *Thiobacillus sp.*, *Thiomargarita sp.* และ *Actinobacillus sp.* และจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนที่พบ ได้แก่ *Methanosaeta sp.* และ *Methanobacterium sp* เป็นต้น

โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์แบคที่เรียจาก M32 มีลักษณะคล้ายคลึงกับโครงสร้างประชากร M48 เนื่องจากเป็นช่วงที่ระบบมีความเสถียรในการผลิตก๊าซชีวภาพซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่ไม่สร้างมีเทน ได้แก่ *Actinomyces sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Oxalobacter sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Citrobacter sp.*, *Arcobacter sp.*, *Synergistaceae sp.*, *Bacillus sp.*, *Actinobacterium sp.*, และ *Acidobacteria sp.* เป็นต้น และจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนที่พบ ได้แก่ *Methanosaeta sp.* และ *Methanobacterium sp.* เป็นต้น

การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สร้างมีเทนมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะที่ระบบมีความเสถียร เช่น มีความหลากหลากของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นเพิ่มขึ้น เริ่มต้นมีจุลินทรีย์กลุ่มเด่นอย่างน้อย 9 ชนิด เมื่อทำการเดินระบบจนมีความเสถียรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นเพิ่มขึ้นเป็นอย่างน้อย 11 ชนิด หรือ การปรากฏของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ใหม่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกันเริ่มต้น ในการทดลองนี้พบจุลินทรีย์กลุ่ม *Clostridium sp.* ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสามารถผลิตเอ็นไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถไฮโดรไลซีสกลุ่มเฮมิเซลลูโลส

การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะที่ระบบมีความเสถียร ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์กลุ่ม Methanosaeta *sp.* (หมายเลข 4 และ 5) ตามแถบที่ปรากฏ นอกจากนั้นยังสัมพันธ์กับปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) ในระบบซึ่งช่วงระบบที่ยังไม่เสถียร ค่า VFA อยู่ในช่วง 2,000-3,000 mg/L และค่ากรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพความเป็นด่าง (VFA/Alk) มีค่าสูงกว่า 0.8 ซึ่งสูงกว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเกินระบบ และส่งผลให้พีเอชมีค่าต่ำ ทำให้โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนลดลงกว่าสภาวะเสถียร โดยค่า VFA ในช่วงที่ระบบอยู่ในสภาวะเสถียรมีค่าปริมาณ 1,000 mg/L ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวส่งผลให้ก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นในสภาวะเสถียรสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงระบบที่ยังไม่เสถียร และสัมพันธ์กับปริมาณและความหลากหลายของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนที่ปรากฏในระบบเนื่องจากค่าพีเอชเป็นกลางซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการทำงานของจุลินทร์กลุ่มสร้างมีเทน

3. 5 การวิเคราะห์สมบัติของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศระหว่าง PBW และ DCจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

สำหรับกากตะกอนที่เหลือจากการหมัก (Dried digested sludge) ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายทางชีวภาพระหว่าง PBW และ DC จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน (ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 2.14 gVS/day/L) เมื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (N-P-K) พบว่ามีค่า 1:1:0.25 และ คุณสมบัติอื่นๆ แสดงดังตารางที่ 3-11 นั่นแสดงว่ากากตะกอนหลังการหมักไม่ใช้อากาศสามารถนำมาเป็นวัสดุบำรุงดินหรือปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อปรับปรุงคุณภาพดินได้แต่ยังขาดแคลนธาตุโพแทสเซียม เนื่องจากมีธาตุอาหารหลัก

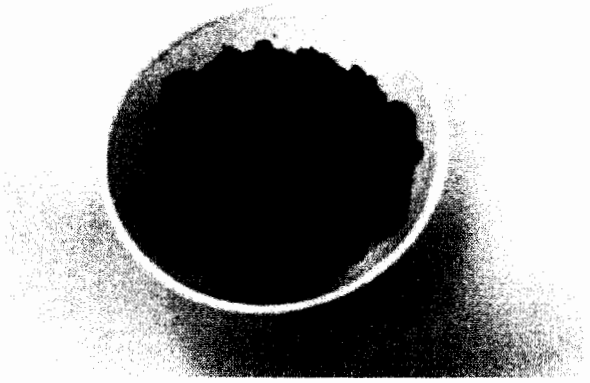
ตารางที่ 3-12 ลักษณะสมบัติต่างๆ ของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักไม่ใช้อากาศ และมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, 2527; มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของกรมควบคุมมลพิษ, 2551)

parameter	unit	Standard of organic fertilizer	Dried digested sludge HRT 12 days
Moisture	%	$\leq$35.0	$\leq$30
Total nitrogen	% dry wt	1.0	1.08
Total phosphorus	% dry wt	1.0	1.09
Total potassium	% dry wt	0.5	0.25
Organic carbon	% dry wt	20-50	2.24
C/N ratio	-	$\leq$20:1	2.07:1
Electro conductivity	mS/cm	$\leq$3.5	ND
Fecal coliforms	MPN/100 ml	1,000	ND

หมายเหตุ MPN= Most probable number, ND= Not determined

สำหรับพืชที่เหมาะสม ในสัดส่วนโดยน้ำหนักตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2527) เท่ากับ 1:1:0.5

อย่างไรก็ตาม จึงมีความจำเป็นหาธาตุอาหาร ซึ่งสามารถหาแหล่งของธาตุโพแทสเซียมเพิ่มเติมได้จากการสกัดกลีเซอรอลให้บริสุทธิ์ เนื่องจากในกระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลจะเกิดกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ ซึ่งในกระบวนการทำกลีเซอรอลให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการนำตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาการทรานเอสเทอริฟิเคชั่นกลับมาใช้ใหม่ โดยกระบวนการนำตัวเร่งปฏิกิริยากลับมาใช้ใหม่สามารถทำได้โดยเติมกรดฟอสฟอริค (H_3PO_4) เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยากันระหว่างกรดฟอสฟอริคและโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยในการทำปฏิกิริยานี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกได้โดยใช้วิธีการหมุนเหวี่ยง (centrifuge) คือ โพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยเพื่อใช้ในการเกษตร หรือใช้ขี้เถ้าที่เกิดขึ้นจากการเผาปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งของธาตุอาหารเพิ่มเติมเนื่องจาการศึกษาพบว่าขี้เถ้ามีโพแทสเซียมออกไซด์อยู่สูงประมาณ 5.7-8.3% (ตารางที่ 1-3) ดังนั้นสามารถนำกากตะกอนที่เหลือทิ้งจากการหมักสามารถนำมาปรับปรุงคุณสมบัติเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นปุ๋ยหรือวัสดุปรับปรุงดินได้



ภาพประกอบ 3-19 ลักษณะกากตะกอนจุลินทรีย์ (sludge) ที่เหลือจากการหมักไม่ใช้อากาศ

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว (PBW) และกากตะกอนดีแคนเตอร์ (DC) จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม รวมถึงศึกษาระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศทั้งกระบวนการป้อนอาหารแบบกะและการป้อนอาหารแบบกึ่งต่อเนื่องและสลัดจ์จากกากตะกอนที่เหลือทิ้งจากการหมักเพื่อปรับปรุงเป็นปุ๋ยอินทรีย์ รวมถึงโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์

4.1 สรุปผลการทดลอง

4.1.1 สมบัติทางกายภาพของน้ำเสียไบโอดีเซล, PBW และ DC จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

น้ำเสียไบโอดีเซลที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีสภาพเป็นอิมัลชัน ซึ่งมีค่าพีเอชสูง ซีโอดีเริ่มต้น105 g/L มีค่าไขมันและน้ำมันเท่ากับ 11 g/L จากลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณสารอินทรีย์สูง ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เป็นสาเหตุให้น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลยากต่อการบำบัดโดยวิธีชีวภาพ เพราะองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงจำเป็นต้องทำการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีร่วมระหว่างการปรับค่าพีเอชด้วยกรด กระบวนการโคแอกกูเลชัน และระบบตะกอนลอยแบบอัดอากาศ พบว่าสามารถกำจัดไขมันและน้ำมันได้มากกว่า 95-99.5% และสามารถกำจัดของเสียในรูปของบีโอดีและซีโอดีได้มากกว่า 80-90% อัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี (BOD:COD) ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วมีค่าเท่ากับ 0.53 แสดงว่ามีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม PBW จากการทดลองปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียหลังการบำบัดมีค่าน้อยมาก อัตราส่วนของ COD:TKN เท่ากับ150:1x10^{-4} ซึ่งน้อยกว่าค่าแนะนำในการเดินระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเพิ่มแหล่งไนโตรเจน เพื่อประสิทธิภาพในการทำงานและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ โดยใช้ DC เป็นแหล่งสารอาหาร

4.1.2 ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของการหมักร่วม PBW และ DC ด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกะ (Batch)

การทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของ PBW และ DC ที่เหมาะสมโดยปริมาณของของแข็งทั้งหมดของกากตะกอนดีแคนเตอร์เป็น 0 (กลุ่มควบคุม), 1, 2.5, 5, 10 %w/v และ DC 5 %w/v (กลุ่มควบคุม) ซึ่งอัตราส่วนระหว่าง COD:TKN เป็น 150:1x10^{-4}, 150:0.77, 150:1.14, 150:1.45, 150:1.69 และ150:2.06 ทำการเดินระบบแบบกะ อุณหภูมิ 35 ºC เป็นเวลา 45 วัน จากการทดลองสรุปได้ว่า PBW และ DC 2.5 %w/v ซึ่งอัตราส่วนระหว่าง COD:TKN เป็น 150:1.14 เกิดผลผลิตมีเทนสูงสุด (maximum methane yield) 0.27 L CH_4/gVS $_{removed}$ หรือ 0.17 L CH_4/gVS $_{added}$ มีประสิทธิภาพกำจัดของแข็งระเหยง่ายเป็น 43.35% และเปอร์เซ็นมีเทนสูงสุดเป็น 57.30% เป็นต้น

4.1.3 ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของการหมักร่วม PBW และ DC ที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆด้วยระบบการหมักไม่ใช้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous)

การทดลองเป็นการศึกษากระบวนการป้อนอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยใช้ระยะเวลากักเก็บ 36, 24, 12 กับ 6 วัน (OLR 0.71-4.29 gVS/L/day) ทำการเดินระบบโดยใช้ถังปฏิกรณ์ CSTR โดยควบคุมอุณหภูมิ 35 ºC โดยใช้อัตราส่วนของ PBW และปริมาณของ DC 2.5 %w/v จากการทดลองพบว่าระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสมในการหมักเท่ากับ 12 วัน (OLR 2.14 gVS/day/L) ผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุด 0.99±0.074 L/day เกิดผลผลิตมีเทนสูงสุด เท่ากับ 0.39 L CH_4/gVS $_{added}$ และมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในรูปของของแข็งระเหยง่ายและซีโอดีเท่ากับ 42.74% และ 97.12 % ตามลำดับ

4.1.4 การศึกษาโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE

การวิเคราะห์ DGGE เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรแบคทีเรียในชุดการทดลองการหมักแบบไม่ใช้อากาศระหว่างน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดข้างต้นแล้วและกากตะกอนดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยใช้เกรเดียนท์ของความเข้มข้นของ Denaturant คือ 40-70 % ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่า การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สร้างมีเทนมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะที่ระบบมีความเสถียร เช่น มีความหลากหลากของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นเพิ่มขึ้น และการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เริ่มต้นกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะที่ระบบมีความเสถียร แต่อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในการหมัก คือ *Methanosaeta sp.*

4.1.5 สมบัติของกากตะกอนที่เหลือจากการหมักแบบไม่ใช้อากาศระหว่าง PBW และ DC จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

สำหรับกากตะกอนที่เหลือจากการหมัก (Dried digested sludge) ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายทางชีวภาพระหว่าง PBW และ DC จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เมื่อนำมาวิเคราะห์ธาตุอาหารหลัก (N-P-K) ที่ระยะเวลากักเก็บ 12 วัน พบว่ามีค่า 1:1:0.25 ตามลำดับ เนื่องจากมีธาตุอาหารหลักสำหรับพืชที่เหมาะสมในสัดส่วนโดยน้ำหนักตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม (2527) เท่ากับ 1:1:0.5 อย่างไรก็ตาม สามารถหาแหล่งของธาตุโพแทสเซียมเพิ่มเติมได้จากขี้เถ้าที่เกิดขึ้นจากการเผาปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งของธาตุอาหารเพิ่มเติม เนื่องจากการศึกษาพบว่าขี้เถ้ามีโพแทสเซียมออกไซด์อยู่สูง หรือโพแทสเซียมฟอสเฟต (KH_2PO_4) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสกัดกลีเซอรอลให้บริสุทธิ์ ดังนั้นสามารถนำกากตะกอนที่เหลือทิ้งจากการหมักสามารถนำมาปรับปรุงคุณสมบัติเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นปุ๋ยหรือวัสดุปรับปรุงดินได้

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. เพิ่มจำนวนอัตราส่วนของ DC ที่ต้องการศึกษา หรือแบ่งอัตราส่วน COD:TKN ที่ต้องการศึกษาให้ละเอียดขึ้น เพื่อให้ได้อัตราส่วน COD:TKN ที่เหมะสมที่สุดสำหรับการผลิตก๊าชชีวภาพ

2. ในการศึกษากระบวนการป้อนอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง ควรลดระยะเวลาในการกักเก็บหรือเพิ่มภาระบรรทุกสารอินทรีย์ให้แก่ระบบ เพื่อศึกษาผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าชชีวภาพ เนื่องจากในงานวิจัยนี้ใช้ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนสมบูรณ์ ซึ่งระยะเวลากักเก็บของเหลวจะมีผลอย่างมากต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่หลุดออกจากระบบ

3. ควรเพิ่มการทดลองโดยการลดกระบวนการบำบัดน้ำเสียขั้นต้น เช่น เมื่อนำน้ำเสียหลังผ่านกระบวนการทำให้เป็นกรดมาทดลองหมักกับกากตะกอนดีแคนเตอร์ เพื่อลดภาระในการบำบัดน้ำเสียและศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าชชีวภาพที่เกิดขึ้น

4. ในการวิเคราะห์โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ ควรวิเคราะห์โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในสภาวะเสถียรของทุกระยะเวลากักเก็บ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นของแต่ละชุดการทดลอง

5. ควรยืนยันผลของ DGGE โดยอาจนำมาคัดแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการหรือใช้เทคนิคอื่นๆ ในการระบุชนิดและปริมาณเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ, กรม. 2554. *มาตรฐานคุณภาพน้ำ* (ออนไลน์). เข้าถึงได้ที่ : http:// pcd.or.th. (20 ธันวาคม 2554).

กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2552. *คู่มือการกำกับดูแลโรงงานอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม.* กรุงเทพฯ บริษัท ดี เอ็ม พริ้นติ่ง จำกัด. 164 หน้า.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2548. *คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า เล่มที่ 2.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ: สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 270 หน้า.

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2549. *การออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ* หนังสือในโครงการพัฒนาหลักสูตรฝึกอบรมและประชาสัมพันธ์ความรู้ด้านก๊าซชีวภาพ กระทรวงพลังงาน

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2535. *วิศวกรรมบำบัดน้ำเสีย (Wastewater Engineering).* เล่มที่ 2. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มิตรนราการพิมพ์: กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2542. การบำบัดน้ำเสีย (Wastewater Treatment). พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ สยามสเตชั่นเนอรี่ซัพพลายส์: กรุงเทพฯ.

คู่จันทร์ จันทร์ทองอ่อน. 2549. การผลิตเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันเสียจากโรงงานปาล์ม. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จารุวรรณี เรืองคง สัณห์ชัย กลิ่นพิกุล ชาคริต ทองอุไร และปิยะรัตน์ บุญแสวง. 2551. การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซล. *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 7.* วันที่ 12 – 14 มีนาคม 2551. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

เฉลิมเดช ณ ลำพูน. 2553. การศึกษาผลของอัตราส่วนสารอาหารต่อการผลิตก๊าซชีวภาพจากกลีเซอรอลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ชาคริต ทองอุไร สัณชัย กลิ่นพิกุล จรัญ บุญกาญจน์ และ พิมพรรณ เกียรติชิมกุล. 2544. การผลิตไบโอดีเซลจากผลิตผลปาล์มน้ำมัน. *ว.สงขลานครินทร์* วทท. ปีที่ 23 (ฉบับพิเศษ).

ดารินทร์ ภู่กิ่งงาม สมชาย ดารารัตน์ และ อรทัย ชวาลภาฤทธ์ . 2551. การศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียไบโอดีเซล. *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 7.* วันที่ 12 – 14 มีนาคม 2551. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

ธนกฤต พรหมทอง. 2552. การกำจัดสีและสารอินทรีย์ของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยน้ำหมักชีวภาพและเฟนตันรีเอเจนต์. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2551.สารพัดประโยชน์ปาล์มน้ำมัน.*วารสารประชาคมวิจัย FOOD FEED FUEL*. 14 (82): 7-11.

นราพร หาญวจนวงศ์, ศิววรรณ พูลพันธุ์, ธัญญาพร โอนอิง และ กัณวีร์ รุ่งรังสรรค์. 2546. การศึกษาความเป็นไปได้ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการลดน้ำหนักผ้าโดยระบบตัวกลางกรองไร้อากาศแบบไหลขึ้นสองขั้นตอน. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ.*, 26 (2): 171-182.

ปรีชา มุณีศรี. 2539. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ผาสุก กุลละวณิชย์. 2528. *ปาล์มน้ำมันและอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม*: คู่มือเกษตรกร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 113 หน้า.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2533. กระบวนการผลิต การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้ง และคุณลักษณะน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม. *วรสารสงขลานครินทร์*. 12(2): 169-176.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และโสภา จันทภาโส. 2544. เปรียบเทียบการกำจัดสีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีการทางชีวภาพ ทางเคมี และกายภาพ. *วรสารสงขลานครินทร์*. 23(ฉบับพิเศษ): 807-819.

เพ็ญศิริ ประชากิตติกุล. 2551. ผลของอุณหภูมิและสารอาหารเสริมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพของกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ภานุพันธ์ มั่นถึง มัสลิน ศรีโสภา สาวิตรี ศรีสะอาด สุภาณี เลิศไตรรักษ์ สุภาภรณ์ ดั๊กกลาส ละเอียด เพ็งโสภา และสุวัสสภา พงษ์อำไพ. 2546. การใช้กระบวนการตะกอนลอยเป็นการบำบัดน้ำเสียขั้นแรกสำหรับการกำจัดไขมันและน้ำมัน. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2527. *มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ปุ๋ย*. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2542. วิศวกรรมการประปา. เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วธิดา คะนะแนม. 2552. ผลของมูลไก่ กากตะกอนดีแคนเตอร์ และดินแดงในการผลิตปุ๋ยจากทะลายปาล์มเปล่าน้ำมันเคมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิศรุต ประยูรคำ วุฒิภูมิ ศรีวิชา ศรัณย์ เตชะเสน และ วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี. 2551. การบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลทางชีวภาพ.*เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 7.* วันที่ 12 – 14 มีนาคม 2551. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

วิศวกรรมแห่งประเทศไทย, สมาคม และ World Environment Center. 2535. *คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย*. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อนุรักษ์ ปิติรักษ์สกุล. 2538. การลอยตะกอนแบบการละลายของอากาศ. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*. 5 (6): 39 – 45.

อภิสิทธิ์ แสนคำ. 2545. สมรรถนะเครื่องกรองไร้อากาศชนิดไหลขึ้นของการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานกระดาษสา. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เอนก สาวะอินทร์.2552. การกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีทางกายภาพและเคมี. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Abbasi, S. A., Nipaney, P. C. and Schaumberg, G. D. 1990. Bioenergy potential of eight common aquatic weeds. *Biological Wastes*. 34: 359-366.

Ahmad, A. L., Sumathi S., Hameed B. H., 2006. Coagulation of residual oil and suspended solid in palm oil mill effluent by chitosan, alum and PAC. *Journal Chemical Engineering*. 48: 99 – 105.

Annachhatre A (1996) Anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Resources, Conservation and Recycling* 16: 161–166.

APHA, AWWA and WEF. 2005. *standard methods for the examination of water & wastewater.*21st edition. Maryland: American Public Health Association.

Archer, D.B. and B.H. Kirsop. 1991. The microbiology and control of anaerobic digestion, pp. 49-91. In A.W., ed. *Anaerobic Digestion: A Waste Treatment Technology*. Elsevier Applied Science Publisher, London.

Azali, A., Nasrin, A B., Choo, Y. M., Adam, N. M. and Sapuan, S. M. 2005. Development of gasification system fuelled with oil palm fibers and shells. *American Journal of Applied Sciences* (Special Issue). 72-75.

Badawy M.I. and Ali M.E.M. 2006. Fenton's peroxidation and coagulation processes for the treatment of combined industrial and domestic wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 136(3): 961-966

Balaguer, M.D., Vicent, M.T. and Paris, J.M. 1992, Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite as support for anaerobic treatment of vinasses. *Biotechnology* 14: 433-438.

Banerjee, A., Elefsiniotis, P. and Tuhtar, D. 1998. Effect of HRT and temperature on the acidogenesis of municipal primary sludge and industrial wastewater. *Water Science and Technology*. 38 (8-9): 417-423.

Bensadok, K., Benammar S., Lapicque F., Nezzal G., 2008. Electrocoagculation of cutting oil emulsions using aluminium plate electrodes. *Journal Hazardous Materials*. 152: 423 – 430.

Boone DR, Whitman WB, Rouviere P. 1993a. Diversity and taxonomy of methanogens. In: Ferry JG (ed) Methanogenesis ecology, physiology, biochemistry & genetics. Chapman & Hall, New York, pp 35–80.

Bratskaya, S., Avramenko V., Schwarz S., Philippova I., 2006. Enhanced flocculation of-oil-in water emulsions by hydrophobically modifiield chitosan derivatives. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.* 275: 168 – 176.

Bryant, M.P. Microbial Methane Production Theoretical Aspects. *Animal Science.* 1979. 48(1), 193-201.

Burrell PC, Keller J, Blackall LL. 1998. Microbiology of a Nitrite-Oxidizing Bioreactor. *Applied and Environmental Microbiology.* 64:1878-1883.

Calderon, F.L., and Schmitt V. 2008. Solid-stabililized emulsion. *Current Operation in Conllioid & Interface Science.* 13: 217 – 227.

Canizares, P., Jimenez C., Martiez F., Rodrigo M.A. and Saez C., 2009. The pH as a key parameter in the choice between coagulation and electrocoagulation for the treatment of wastewaters. *Journal Hazardous Materials.* 163: 158 – 164.

Canizares, P., Martiez F., Jimenez C., Saez C., Rodrigo M.A., 2008. Coagulation and electrocoagulation of oil – in – water emulsions. *Journal Hazardous Materials.* 151: 44 – 51.

Canizares, P., Martiez F., Lobato J., Rodrigo M.A., 2008. Break – up of oil – in – water emulsion by electrochemical techniques. *Journal Hazardous Materials.* 145: 233 – 240.

Chavalparit, O. 2006. Clean technology for the crude palm oil industry in Thailand. Wageningen, Netherlands. Ph.D. Thesis. Wageningen University.

Chen, C.M., Lu C.H., Chang C.H., Yang Y.M., 2000. Influence of pH on the stability of oil-in-water emulsions stabilized by a split table surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.* 170:173 – 179.

Chindaprasirt, P., Homwuttiwong, S. and Jaturapitakkul, C. 2007. Strength and water permeability of concrete containing palm oil fuel ash and rice husk–bark ash. *Construction and Building Materials.* 21:1492–1499.

Chindaprasirt, P., Rukzon, S. and Sirivivatnanon V., 2008. Resistance to chloride penetration of blended Portland cement mortar containing palm oil fuel ash, rice husk ash and fly ash, *Construction and Building Materials.* 22: 932–938.

Chynoweth, D. P. and Isaacson, R. 1987. Anareobic digestion of biomass. Elsevier applied science, London

Chynoweth, D. P., Turick, C. E., Owens, J. M., Jerger, D. E. and Peck, M. W. 1993. Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy*. 5: 95-111.

Chynoweth, D. P. and Srivastava, V. J., Methane production from marine biomass. Paper presented at International Symposium on Biogas, Microalgoe and Livestock Wastes, Taipei. Taiwan. Institute of Gas Technology. IL. 15-l 7 September. 1980.

Chynoweth, D. P., Dolene, D. A., Ghosh, S., Henry, M. P., Jerger. D. E. and Srivastava, V. J., Kinetics and advanced digester design for anaerobic digestion of water hyacinth and primary sludge. Paper presented at Fourth Symposium on Biotechnology in Energy Production and Conservation, Gatlinburg, Tennessee. Institute of Gas Technology, Illinois, May 1 l-14,1982.

Dukhin, S.S., Suoblom J., Wasan D.T., Saether Ø., 2001. Coalescence couped with either coagulation or flocculation in dilute emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering*. 180: 223 – 234.

Eckenfelder, W.W. Jr., 2000. Industrial water pollution control 3rd ed., USA: McGraw Hill.

Elhussein, A. H . 2003 . Biogas production from forage and sugar beets: Process control and optimization-ecology and economy. Thesis of doctor degree, Department of Agricultural Engineering in the Tropics and Subtropics, Faculty of Ecological Agricultural Sciences, University of Kassel.

Fannin, K.F. 1987. Start-up, operation, stability and contral, Anaerobic digestion of biomass, Chynoweth DP, Isaacson R,eds., London, UK, pp. 96-171.

Fenault, F., Sancey B., Badot P.-M., Crini G., 2009. Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach. *European Polymer Journal*. 45: (1337 – 1348).

Fujiia, S., M. Okada and Furuzono T., 2007. Hydroxyapatite nanoparticles as stimulus-responsive particulate emulsifiers and building block for porous materials. *Journal Colloid and Interface Science*. 315: 287 – 296.

Garcia, J.L. 1982. Advances of Digestion Anaerobic. Symposium International Mexico, Mexico.

Grady, C.P.L., JR.G.T. Daigger and H.C. Lim. 1999. *Biological Wastewater Treatment.* Marcel Dekker Inc., New York.

Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes, Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd Edn. Springer, New York Berlin Heidelberg.

Gerpen, J.V., Shanks B., Pruszko R., Clements D., and Knothe G. 2004. Biodiesel Production Technology Subcontractor Report, NREL/SR-510-36244, July.

Ghosh, S., Klass, D. L. and Chynoweth, D. P. 1981. Bioconversion of Macrocystis pyrifera to methane. *Journal of Chemical Technology.* 31 : 791-807.

Ghosh, S., Henry, M. P. and Christopher, R. W. 1985. Hemicellulose conversion by anaerobic digestion. *Biomass.*, 6: 257-269.

Gunaseelan, V. N. 1988. Anaerobic digestion of Ghricidia leaves for biogas and organic manure. *Biomass.* 17: 1-11.

Hanssen, J. F., Indergaard, M., Ostgaard, K., Baevre, 0. A., Pedersen, T. A. and Jensen, A. 1987. Anaerobic digestion of Laminaria spp. and Ascophyllum nodosum and application of end products. *Biomass.* 14: 1-13

Hansson, G., Methane Fermentations: End Product Inhibition Thermophilic Methane Formation and Production of Methane from Algae. Ph.D. Dissertation, Dept. of Technical Microbiology, University of Lund, Sweden, 1981.

Hazimah A., Ooi TL. and Salmiah A . 2003. Recovery of glycerol and diglycerol from glycerol 331 pitch. *Journal of Oil Palm Research.* 15: 1-5.

Hoover, SR. and Porges, N. 1952. Assimilation of Dairy Wastes by Activated Sludge - II. The Equation of Synthesis and Rate of Oxygen Utilization. *Sewage and Industrial Wastes.* 24: 306-312

Ichikawa, T., Itoh K., Yamamoto S., Sumita M. 2004. Rapid demulsification of dense oil-in-water emulsion by low external electric field I. Experimental evidence. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.* 242: 21 – 26.

Ichikawa, T., Dohda T., Nakajima Y., 2006. Stability of oil-in-water emulsion with mobile surface charge. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.* 279:128 – 141.

Ichikawa, T., 2007. Electrical demulsification of oil-in-water emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering*. 302: 581 – 586.

Jaturapitakkul, C., Kiattikomol, K. , Tangchirapat, W. and Saeting, T. 2007. Evaluation of the sulfate resistance of concrete containing palm oil fuel ash. *Construction and Building Materials*. 21:1399–1405.

Jain, S., Mattiasson, B., 1998. Acclimatization of methanogenic consortia for low pH biomethanation process. *Biotechnology Letter*. 20 (8): 771–775

Jimenez, S., Cartagena, M. C. and Arce, A. 1990. Influence of lignin on the methanization of lignocellulosic wastes. *Biomass*. 21:43-54.

Jones, M. Jr., 2005. Organic Chemistry. 3th ed. W.W. Norton & Company, Inc. USA.

Kim, M., Y.H. Ahn and R.E. Speece. 2002. Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs. thermophilic. *Water Research* 36(17): 4369–4385.

Lin, W.G., Chang, C.N. and Chang, S.C. 1997. Enhancement of anaerobic digestion of waste activated sludge by alkaline solubilization. *Bioresource Technology*. 62: 85-90.

Lima, Y.G, Niwab, C., Nagaoc, N. and Toda, T. 2008. Solubilization and methanogenesis of blue mussels in saline mesophilic anaerobic biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 61: 251-260.

Liptak, B.G. 1974. Environmental Engineers' Handbook, Chilton Book Co., Radnor,PA.

Liu, W., Chan, OC., Fang, HHP. 2002. Microbial community dynamics during start-up of acidogenic anaerobic reactors. *Water Research*. 36: 3203-3210.

Marchaim, U. and C. Krause. 1993. Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 43: 195-203.

McCarty, P.L. 1964. Anaerobic waste treatment fundamental part 1, 2, 3, 4. *Public Works*. 95 (9): 107-115.

McCarty, P.L. 1968. Anaerobic Treatment of Soluble Waste in E.F. Gloyna and W.W. Eckenfelder, Jr. Ed. Advances in Water Quality Inprovement, University of Texas Press, Austin, TX.

Metcalf and Eddy. 1991. *Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, Reuse*. 3rd edition, McGraw-Hill Int. Ed.,Singapore.

Metcalf and Eddy. 2004. *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. 4th ed. McGraw-Hill inc, New York.

Muyzer, G., de Waal, E.C. and Uitierlinden, A.G. 1993. Profiling of Complex Microbial Populations by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Analysis of Polymerase Chain Reaction-amplified Genes Coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. 59:695-700.

Pachauri, N and He, B., 2006, "Value-added Utilization of Crude Glycerol from Biodiesel Prouction: A Survey of Current Research Actvities" ASABE Annual International Meeting.

Pauss, A., Nyns, E. J. and Naveau, H., Production of methane by anaerobic digestion of domestic refuse. EEC Conference on Anaerobic and Carbohydrate Hydrolysis of Waste, Luxembourg, 8-10 May (1984).

Patterson, J.W., 1975. *Wastewater treatment technology*. Ann Arbor Science Publishers, Inc. Michigan, USA.

Polprasert C. 1983. *Organic waste recycling*. New York: John Wiley and Sons.

Polprasert C. 1996. *Organic Waste Recycling*: Technology and Management: 2nd ed., John Wiley & Sons, Chichester.

Prasertsan P, O-Thong S, Birkeland N-K. 2009. Optimization and microbial community analysis for production of biohydrogen from palm oil mill effluent by thermophilic fermentative process. *International Journal of Hydrogen Energy*. 34: 7448-7459.

Price, E.C. and Cheremisinoff, P.N. 1981. Biogas Production and Utilization. Ann. Arbor. Sci. Inc., Michigan

Qasim, S.R. 1985. *Wastewater Treatment Plants*, Holt,Rinehart and Winston, New York.

Rios G., Pazos C., Coca j., 1998. Destabilization of cutting oil emulsions using inorganic salts as coagulants. *Colloids and Surfaces*. 138: 383 – 389.

Rivard, C. J., Vinzant, T. B., Adney, W. S., Grohmann, K. and Himmel, M. E. 1990. Anaerobic digestibility of two processed municipal solid waste materials. *Biomass*. 23:201-214.

Sailasuta S. Thailand energy policy. In: APEC symposium on foresighting future fuel technology, Chiangmai, Thailand; 2005. <http://www.apecforesight.org/apec_wide/docs/future_fuel/chiangmai/ThailandEnergyPolicy.pdf>.

Saletes, S., Caliman, J, P. and Raham, D. 2004. Study of mineral nutrient losses from oil palm empty fruit bunches during temporary storage. *Journal of Oil Plam Research* 16(1): 11-21.

Sarada, R. and Joseph, R. 1994. Studies on factors influencing methane production from tomato processing waste. *Bioresource Technology*. 47: 55-51.

Sata, V., Jaturapitakkul, C. and Kiattikomol, K. 2007. Influence of pozzolan from various byproduct materials on mechanical properties of high-strength concrete. *Construction and Building Materials*. 21: 1589–1598.

Sharma, S. K., Mishra, I. M., Sharma, M. P. and Saini, J. S. 1988. Effect of particle size on biogas generation from biomass residues. *Biomass*. 17: 251-263.

Siles, J.A., Martín M.A. , Chica, A.F. , Martín, A. 2010. Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. *Bioresource Technology*. 101: 6315–6321.

Speece, R.E and McCarty, P.L. 1964. Nutrient requirement and biological solids accumulation in anaerobic digestion. *Advance in water pollution Research*. 2: 305-322.

Sterling Jr., M.C., R.E. Lacey, C.R. Engler and S.C. Ricke. 2001. Effects of ammonia nitrogen on H_2 and CH_4 production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. *Bioresource Technology*. 77: 9-18.

Stronach, SM., Rudd, T. and Lester, JN . 1986. Anaerobic Digestion Process in Industrial Waste Treatment. In: Biotechnology Monograph, Heidelberg

Suehara, K.I., Kawamoto Y., Fujii E., Kohda J., Nakano Y., and Yano T. 2005. Biological Treatment of Wastewater Discharged from Biodiesel Fuel Production Plant with Alkali-Catalyzed Transesterification. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 100 (4): 437 – 442.

Sulaiman, A., Zakaria, M.R., Hassan, M.A., Shirai Y. and Busu, Z. 2009. Co-Digestion of Palm Oil Mill Effluent and Refined Glycerin Wash Water for Chemical Oxygen Demand Removal and Methane Production. *American Journal of Environmental Sciences* 5 (5): 639-646.

Tangchirapat, W., Saeting, T., Jaturapitakkul, C., Kiattikomol, K. and Siripanichgorn, A. 2007. Use of waste ash from palm oil industry in concrete. *Waste Management.* 27: 81–88.

Tangchirapat, W., Jaturapitakkul, C. and Chindaprasirt, P. 2009. Use of palm oil fuel ash as a supplementary cementitious material for producing high-strength concrete . *Construction and Building Materials.* 23: 2641-2646.

U.S. EPA. 1979. Process Design Manual Sludge Treatment and Disposal, U.S. Environmental Protection Agency.

Vaughn, S.H., and Mccurdy R.S., 1973. Wastewater treatment at Ford's Winsor Complex. *Industrial waste.* 19 (3): 34 – 43.

Vogels GD, Keltjens JT, Van Der Drift C. 1988. Biochemistry of methane production. In: Zehnder AJB (Ed) Biology of anaerobic microorganisms. John Wiley&Sons, New York, pp 707–770.

Wade, L.G. Jr., 2003. *Organic Chemistry*. 5th. ed. Pearson Education, Inc. USA.

WEF. 1998. Design of Wastewater Treatment Plants, 4th Ed., Manual of Practice No. 8, Vol. 3,chaps. 17 -24, Water Environment Federation, Alexandria, VA.

Wen, C., Huang, X., and Qian, Y. Domestic wastewater treatment using an anaerobic bioreactor coupled with membrane filtration. *Process Biochemistry*. 1999 (35): 335-340.

Wengi, Z., Jun M., Shidong Y., Tao Z., and Yongfeng L., 2006. Pretreatment of Coal Gasification Wastewater by Acidification Demulsion. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 14 (3): 398 – 401.

Werner, H.W., 1972. Treatment of Metal Finishing Waste by Robertshaw Controls Company, Resented at 27th Ind. Waste Conf. Purdue Uniersity.

Wheatley A. Anaerobic Digestion: A Waste Treatment Technology, Elsevier, London;1990.

Whitman WB, Boone DR, Koga Y, Keswani J. 2001. Taxonomy of methanogenic Archaea. In: Boone DR, Castenholz RW, Garrity GM (eds) Bergey's manual of systematic bacteriology, vol 1. Springer, pp 211–294.

Wilkie, A., Goto, M., Bordeaux, F. M. and Smith, P. H. 1986. Enhancement of anaerobic methanogenesis from Napiergrass by addition of micronutrients. *Biomass*. 11:135-146.

Yang, C.L., 2007. Electrochemical coagulation for oily water demulsification. *Separation and Purification Technology*. 54: 388 – 395.

Yilmazer, G. and O. Yenigun. 1999. Two-phase anaerobic treatment of cheese whey. *Water Science and Technolygy*. 40 (1): 289-295.

Zaki, N.N., 1997. Surfactant stabilized crude oil-in-water emulsions for pipeline transportation of viscous crude oils. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.* 125: 19 – 25.

Zhang, Z., Xu G., Wang F.,Dong S., Chen Y., 2005. Demulsification by ampliplilic dendrimer copolymers. *Journal colloid and interface Science*. 282: 1 – 4.

Zhang, Z., Xu G.Y., Wang F., Dong S.L., Li Y.M. 2004. Characterization and demulsification of poly (ethylene oxide) – block – poly(propylene oxide) – block – poly(ethylene oxide) copolymers. *Journal colloid and interface Science*. 277: 464 – 470.

Zinder, S. 1994. Syntrophic acetate oxidation and "Reversible Acetogenesis". New York London,Chapman & Hall.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย

1. การวิเคราะห์หา COD แบบ Close Reflux, Titrimetric Method

ค่า COD หมายถึง ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการ เพื่อใช้ในการ oxidize สารอินทรีย์ในน้ำเสียให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยที่สารอินทรีย์เกือบทั้งหมด (95-100 %) จะถูก oxidize โดยตัวเติมออกซิเจนอย่างแรง (Strong oxidizing agent) ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองชนิด borosilicate ขนาด 25 x 150 mm พร้อมจุก TFE
2. ที่ใส่หลอดทดลอง
3. เตาอบ (oven) ที่อุณหภูมิ 150 ± 2 °C.
4. ปิเปตขนาด 1 และ 10 mL
5. บิวเรตขนาด 50 mL
6. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL

สารเคมี

1. สารละลาย digestion reagent

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 4.913 g ซึ่งอบแห้งที่ 103 °C เป็นเวลา 2 ชม.ในน้ำกลั่น 500 มล. ค่อย ๆ เติม conc. H_2SO_4 167 mL เติม $HgSO_4$ ลงไป 33.3 g คนให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

2. กรด Sulfuric เข้มข้นที่ผสม $AgSO_4$ (Sulfuric Acid reagent)

ละลาย $AgSO_4$ 22 g ใน Conc. H_2SO_4 ซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 kg (2.5 L) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ละลาย

3. สารละลายมาตรฐาน ferrous ammonium sulfate (FAS) 0.1 N

ละลาย Fe $(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ 39 g ในน้ำกลั่น แล้วเติม conc. H_2SO_4 ลงไป 20 mL ทำให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบปริมาตร 1 L สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลาย digestion reagent ดังนี้ คือ เติมน้ำกลั่น 10 mL สารละลาย digestion reagent 14 mL จากนั้นใช้ปิเปตค่อย ๆ เติม Sulfuric Acid reagent ลงไป 14 mL ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาไทเทรตกับสารละลาย Ferrous ammonium sulfate (FAS) โดยใช้ ferroin จำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ

$$\text{Normality of FAS solution} = \frac{\text{ml } K_2Cr_2O_7}{\text{ml Fe } (NH_4)_2(SO_4)_2} \times 0.10$$

4. สารละลาย ferroin อินดิเคเตอร์

ละลาย 1-10 phenantroline monohydrat 1.485 g และ $FeSO_4.7H_2O$ 695 mg ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 mL

วิธีการทดลอง

1. ล้างหลอดทดลอง และฝาจุกด้วยกรด H_2SO_4 20 % ก่อนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์
2. ปิเปตตัวอย่างน้ำมา 10 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม digestion reagent ลงไป 6 mL
3. ค่อย ๆ เติม กรด sulfuric เข้มข้นที่ผสม $AgSO_4$ ลงไป 14 mL ให้ไหลลงก้นหลอดแก้ว เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นของน้ำตัวอย่างและ digestion reagent

หมายเหตุ ภายหลังการเติมกรดซัลฟุริก ให้สังเกตสีของตัวอย่างดังต่อไปนี้

- ถ้าได้สีเขียว แสดงว่าปริมาณ $K_2Cr_2O_7$ เหลืออยู่มาก ใช้ปริมาณน้ำตัวอย่างน้อยเกินไป ต้องเพิ่มปริมาณน้ำตัวอย่างอีก
- ถ้าได้สีเขียวอมเหลือง แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างเหมาะสม สามารถนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ได้
- ถ้าได้สีเขียวอมฟ้า แสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างมากเกินไป ต้องทำการเจือจางน้ำตัวอย่างให้มีความเข้มข้นน้อยกว่านี้.

โดยจะใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำตัวอย่าง : น้ำกลั่น เท่าไหร่ก็ได้ แต่ผลรวมของปริมาตรน้ำตัวอย่างต้องเท่ากับ 10 mL

4. ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลาย ๆ ครั้งอย่างทั่วถึงก่อนจะนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความร้อนสะสมอยู่ที่ก้นหลอด ซึ่งอาจแตกได้ในขณะทำการรีฟลักซ์
5. ให้ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง ประมาณ 1-2 หลอด
6. นำหลอดแก้วทั้งหมดที่ใส่น้ำตัวอย่างและ Blank วางบนที่ตั้งหลอดทดลอง แล้วเข้าเตาอบที่ทำให้อุณหภูมิสูงถึง 150 ± 2 °C ก่อนหน้านี้แล้ว เมื่อครบเวลา 2 ชม. ให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเย็น

7. เทตัวอย่างจากหลอดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วไทเทรตกับสารละลาย FAS จนกระทั่งถึงจุดยุติ จะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ อ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดงทันที

การคำนวณ

$$\text{COD, mg / L} = \frac{(a - b) \times N \times 8000}{\text{ml sample}}$$

a = ml ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรต Blank

b = ml ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรต น้ำตัวอย่าง

N = Normality ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้

ตารางที่ ก-1 แสดงปริมาณของตัวอย่างน้ำและ Reagent ต่าง ๆ ในหลอดทดลอง

Digestion vessel	Sample (ml)	Digestion solution (ml)	H_2SO_4 reagent (ml)	Total final volume (ml)
Culture Tube :				
16 x 100 mm	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x150 mm	5.0	3.0	7.0	15.0
25 x 150 mm	10.0	14.0	14.0	30.0
Standard 10- ml sample	2.5	1.5	3.5	7.5

2. การวิเคราะห์ของแข็งในน้ำ

Solids หมายถึงสิ่งเจือปนในน้ำที่เหลืออยู่เมื่อระเหยน้ำออกจนหมด ไม่รวมถึงสารบางอย่างที่ระเหยไปกับน้ำ เช่น กรดอินทรีย์และกรดต่างๆที่ละลายในน้ำ สิ่งเจือปนที่เหลือเป็นของแข็งนี้มีทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ซึ่งอาจจะละลายในน้ำหรือไม่ก็ได้ การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งในน้ำทำได้โดยการชั่งน้ำหนัก (gravimetric method) แล้วรายงานผลในรูปน้ำหนักสารต่อปริมาตรของน้ำตัวอย่าง

Total Solids (TS) คือสิ่งที่เหลืออยู่ภายหลังการระเหยน้ำออกจนหมดและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105°C TS อาจแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดตามลักษณะการละลาย คือ

1) Dissolved Solids (DS) หมายถึง ส่วนที่ละลายได้ในน้ำ ซึ่งส่วนมากได้แก่ กรดอนินทรีย์ เช่น NaCl และสารอินทรีย์บางอย่าง เช่น น้ำตาล

2) Insoluble Solids หมายถึง ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ แบ่งเป็น 2 ชนิดตามขนาดของชิ้นส่วนที่

ไม่ละลาย คือ

- Suspended Solids (SS) หมายถึง ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำแต่มีขนาดเล็กพอที่จะแขวนลอย(suspend) อยู่ในน้ำได้ หาได้โดยการกรองตัวอย่างน้ำด้วยกระดาษกรองใยแก้ว (glass fiber filter, GF/C) แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105°C
- Settleable Solids หมายถึง ตะกอนที่มีขนาดใหญ่และมีความถ่วงจำเพาะสูงกว่าน้ำจะตกตะกอนรวมกันที่ส่วนล่างเนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก หาได้โดยนำน้ำตัวอย่างมาใส่ใน ภาชนะที่เรียกว่า Imhoff cone หรือ กระบอกตวงขนาด 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 ชม. แล้วอ่าน ปริมาตรของตะกอนที่ตกลงมา มีหน่วยเป็น มล./ลิตร

Volatile Solids (VS) and Fixed Solids (FS) หมายถึง ของแข็งที่สลายไปเมื่อเผาที่อุณหภูมิ 550-600°C ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบอินทรีย์กลายเป็น CO_2 และ H_2O ในขณะที่สารอนินทรีย์ส่วนใหญ่จะไม่เกิดการแยกสลายที่อุณหภูมิดังกล่าว ดังนั้นน้ำหนักที่หายไปคือน้ำหนักของสารอินทรีย์ ส่วนตะกอนที่เหลือคือของแข็งคงตัวซึ่งเป็นสารอนินทรีย์

การวิเคราะห์ของแข็งไม่ว่าจะอยู่ในรูปใดจะใช้วิธี gravimetric คือการชั่งน้ำหนักหลังจากทำให้แห้งแล้ว ดังนั้นภาชนะก่อนที่จะนำมาใช้จะต้องแห้ง ปราศจากฝุ่นละอองหรือความชื้น โดยจะต้องนำภาชนะไปทำให้แห้งในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ 180°C ประมาณ 2 ชม. นำมาทิ้งให้เย็นใน dessicator แล้วจึงชั่งน้ำหนัก หลังการชั่งน้ำหนักครั้งที่ 1 แล้วภาชนะควรจะมีน้ำหนักคงที่ ถ้าน้ำหนักเปลี่ยนแปลงให้นำภาชนะไปอบจนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่ สำหรับตัวอย่างที่ต้องการหา volatile solids ต้องนำภาชนะที่ใช้ไปเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50°C ในเตาเผา (muffle furnace) 1 ชม.เมื่อทำให้เย็นใน dessicator แล้วจึงจะนำมาใช้ได้

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ถ้วยกระเบื้อง (evaporating dish)
2. อ่างไอน้ำ (water bath)
3. กระดาษกรองใยแก้ว GF/C ขนาดเส้นผ่า ศ.ก. 70 mm

4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
5. ตู้อบแห้ง (oven)
6. ตู้ดูดความชื้น
7. เครื่องกรองดูดพร้อมปั๊มดูดอากาศ
8. Bucher's funnel

วิธีวิเคราะห์

Total Solids (TS)

1. นำถ้วยกระเบื้องที่มีน้ำหนักคงที่แล้วจาก dessicator มาชั่ง สมมติให้นำหนัก = A
2. คนตัวอย่างน้ำให้เข้ากันดีแล้วตวงโดยใช้กระบอกตวง 100-200 มล.(ปริมาตรที่ใช้ขึ้นกับปริมาณของแข็งในน้ำ) ใส่ในถ้วยกระเบื้องข้อ 1 นำไประเหยบนอ่างไอน้ำจนแห้ง
3. นำถ้วยกระเบื้องที่ระเหยน้ำแห้งแล้วไปใส่ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 103-105°C เพื่อไล่ความชื้นนานประมาณ 1 ชม. แล้วนำไปทำให้เย็นใน dessicator
4. เมื่อเย็นแล้วจึงนำมาชั่ง สมมติ = B

$$\text{TS, mg/l} = \frac{(B - A) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

Suspended Solids (TSS)

1. นำกระดาษกรอง GF/C มาชั่งโดยเครื่องชั่งละเอียด สมมติได้น้ำหนัก = C กรัม นำไปวางบน evaporating dish หรือ petridish ก็ได้
2. วางกระดาษกรองลงบน Buchner's funnel ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศโดยใช้ปากคีบที่สะอาดใช้ น้ำกลั่นฉีดบนกระดาษกรองให้ทั่ว แล้วเปิดปั๊มดูดอากาศเพื่อให้กระดาษกรองแนบสนิทดีกับกรวย
3. ปิเปตตัวอย่างน้ำ 50-100 mL (ปริมาตรที่ใช้ขึ้นกับของแข็งแขวนลอยในน้ำ) ใส่ไปบนกระดาษกรอง ทีละน้อยพร้อมกับเปิดปั๊มดูดอากาศ พยายามให้ของแข็งกระจายไปทั่วๆกระดาษกรอง
4. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างของแข็งที่ติดอยู่ข้างกรวยจนหมดและรอจนกว่าจะแห้งแล้วใช้ปากคีบค่อยๆ หยิบกระดาษกรองออกนำไปวางบนภาชนะที่ใส่เดิม
5. นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 103-105°C นานประมาณ 1 ชม. ทำให้เย็นใน dessicator แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก สมมติได้ = D

$$\text{SS, mg/l} = \frac{(D - C) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

Dissolved Solids (DS)

สามารถหาได้โดย การคำนวณ DS = TS – TSS

Total Volatile Solids (TVS)

1. นำถ้วยกระเบื้องหลังจากหา TS แล้วมาเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550°C จนได้เถ้าสีขาว ลดอุณหภูมิของถ้วยกระเบื้องลงโดยนำออกจากเตาเผาไปใส่ในตู้อบก่อน แล้วจึงนำไปทำให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
   นำไปชั่งน้ำหนักสมมติได้ = E

$$\text{TVS, mg/l} = \frac{(B - E) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

$$\text{FS, mg/l} = \text{TS} - \text{TVS}$$

3. กรดไขมันระเหยง่ายและความเป็นด่าง (VFA and Alkalinity)

โดยวิธี Titration Method

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดพีเอช
2. บิวเรต 25 mL
3. เตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and sterrer)
4. บีกเกอร์ 10 mL

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.02 N
2. สารละลายโซเดียมไฮโดรอกไซด์ 0.02 N

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่าง 50 mL ที่ผ่านการเหวี่ยง centrifuge รินเฉพาะส่วนใส ตวงใส่บีกเกอร์ใบละ 50 mL

$$\text{SS, mg/l} = \frac{(D - C) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

Dissolved Solids (DS)

สามารถหาได้โดย การคำนวณ DS = TS – TSS

Total Volatile Solids (TVS)

1. นำถ้วยกระเบื้องหลังจากหา TS แล้วมาเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550°C จนได้เถ้าสีขาว ลดอุณหภูมิของถ้วยกระเบื้องลงโดยนำออกจากเตาเผาไปใส่ในตู้อบก่อน แล้วจึงนำไปทำให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
   นำไปชั่งน้ำหนักสมมติได้ = E

$$\text{TVS, mg/l} = \frac{(B - E) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

$$\text{FS, mg/l} = \text{TS} - \text{TVS}$$

3. กรดไขมันระเหยง่ายและความเป็นด่าง (VFA and Alkalinity)

โดยวิธี Titration Method

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดพีเอช
2. บิวเรต 25 mL
3. เตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and sterrer)
4. บีกเกอร์ 10 mL

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.02 N
2. สารละลายโซเดียมไฮโดรอกไซด์ 0.02 N

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่าง 50 mL ที่ผ่านการเหวี่ยง centrifuge รินเฉพาะส่วนใส ตวงใส่บีกเกอร์ใบละ 50 mL

$$\text{SS, mg/l} = \frac{(D - C) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

Dissolved Solids (DS)

สามารถหาได้โดย การคำนวณ DS = TS – TSS

Total Volatile Solids (TVS)

1. นำถ้วยกระเบื้องหลังจากหา TS แล้วมาเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550°C จนได้เถ้าสีขาว ลดอุณหภูมิของถ้วยกระเบื้องลงโดยนำออกจากเตาเผาไปใส่ในตู้อบก่อน แล้วจึงนำไปทำให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
   นำไปชั่งน้ำหนักสมมติได้ = E

$$\text{TVS, mg/l} = \frac{(B - E) \times 10^6}{\text{ml sample}}$$

$$\text{FS, mg/l} = \text{TS} - \text{TVS}$$

3. กรดไขมันระเหยง่ายและความเป็นด่าง (VFA and Alkalinity)

โดยวิธี Titration Method

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดพีเอช
2. บิวเรต 25 mL
3. เตาไฟฟ้าและเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Hot plate and sterrer)
4. บีกเกอร์ 10 mL

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก 0.02 N
2. สารละลายโซเดียมไฮโดรอกไซด์ 0.02 N

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่าง 50 mL ที่ผ่านการเหวี่ยง centrifuge รินเฉพาะส่วนใส ตวงใส่บีกเกอร์ใบละ 50 mL

2. นำมาไทเทรตด้วยกรดซัลฟิวริก 0.02 N จนมีพีเอช เท่ากับ 4.5 บันทึกปริมาตรที่ใช้ แล้วไทเทรทต่อเท่ากับพีเอชเป็น 3
3. นำไปต้มให้เดือด ตั้งิ้งไว้ให้เย็น แล้วไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.02 N จนพีเอชเท่ากับ 4 จดปริมาตรเริ่มต้น ไทเทรตต่อจนพีเอชเท่ากับ 7 จดปริมาตรสิ้นสุด

การคำนวณ $\text{VFA (mg } CaCO_3\text{/L)} = \frac{A \times N \times 50,000}{\text{mL ของตัวอย่างน้ำ}}$

เมื่อ A = mL ของ NaOH ที่ใช้

N = normality ของ NaOH

การคำนวณ

$$\text{Alkalinity, mg/l } CaCO_3 = \frac{A \times N \times 50,000}{\text{ml sample}}$$

เมื่อ A = mL ของกรดมาตรฐานที่ใช้

N = นอร์มัลลิตี้ของกรดมาตรฐาน

4.การวิเคราะห์ Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)

ไนโตรเจน(Nitrogen) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด มีความสำคัญต่อดารสังเคราะห์โปรตีน หากพบว่าไนโตรเจนในแหล่งน้ำมากเกินไปอาจทำให้เกิดปัญหา Euthrophication ซึ่งมีพืชน้ำมีการเจิญเติบโตอย่างรวดเร็ว เกิดปัญหามลพิษทางน้ำตามมา ปริมาณไนโตรเจนที่พบในน้ำ มีอยูหลายรูปแบบ ได้แก่ ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนียไนโตรเจน (Ammonia Nitrogen)ไนโตรเจนที่อยู่ในอินทรีย์หรือออร์แกนิก-ไนโตรเจน (Organic Nitrogen)ไนไตรท์-ไนโตรเจน (Nitrite-Nitrogen)ไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen) และก๊าซไนโตรเจน (N_2)

TKN หมายถึง ผลบวกระหว่างOrganic Nitrogen และ Ammonia Nitrogen (TKN=NH_3-N+Organic N) ที่มีอยู่ในโปรตีนของพืชหรือสัตว์ หรือที่เกิดจากกระบวนการสิ่งมีชีวิต เช่น เกิดจาการขับถ่ายของเสีย โดยในปัสสาวะมียูเรีย ซึ่งยูเรียจะมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยเป็นต้น การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl Method จะได้ผลรวมของ Organic Nitrogen และ

Ammonia Nitrogen โดยหากต้องการปริมาณของ Organic Nitrogen เพียงอย่างเดียวต้องทำ การวิเคราะห์แอมโมเนียออกไปจากตัวอย่างของน้ำ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl ซึ่งค่าที่ได้นี้จะเป็นปริมาณ Organic Nitrogen เท่านั้น

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดเครื่องย่อยสลาย (digestion apparatus) ประกอบด้วย Kjeldahl Flasks ขนาด 800 ml และอุปกรณ์ทำความร้อนที่ให้ความร้อนได้ถึง 365-370 °C (การ Digestion ต้องทำในตู้ที่ดูดควันที่มีอุปกรณ์สำหรับดักไอกรดที่เกิดขึ้นจากการ Digestion)
2. ชุดเครื่องกลั่นหา แอมโมเนีย (ammonia)
3. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flasks)
4. ปีเปต (pipets)
5. กระบอกตวง (cylinder)
6. ขวดรูปชมพู่ (flask)

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจาก แอมโมเนีย (ammonia)
2. สารละลายผสมอินดิเคเตอร์ (indicator)

ชั่งสาร Methyl red มา 200 mg นำมาละลายใน ethyl alcohol 95% จำนวน 100 ml ชั่งสาร Methyl blue มา 100 mg นำมาละลายใน ethyl alcohol 95% จำนวน 50 mL นำสารละลายผสมให้เข้ากัน สารละลายผสมนี้มีอายุ การใช้งาน 1 เดือน

3. สารละลาย Indicating Boric Acid

ชั่งสาร boric acid (H_3BO_3) จำนวน 20 g ในน้ำกลั่น เติมสารละลายผสม Indicatorจำนวน 10 mL แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 l

4. กรด H_2SO_4 เข้มข้น
5. สาร Potassium Sulfate (K_2SO_4)
6. สารละลาย Copper Sulfate ($CuSO_4$)

ชั่งสาร $CuSO_4$ จำนวน 25.115 g นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 L

7. สารละลาย Sodium Hydroxide (NaOH) + Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3$)

นำสาร NaOH จำนวน 500 g และ $Na_2S_2O_3$ จำนวน 25 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 L

8. สารละลาย Glutamic acid (1,000 mg/l=95.14 mg N/l)

อบสาร Glutamic acid ที่อุณหภูมิ 103 - 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในตู้ดูดความชื้น ชั่งสารมา 1.000 g ใส่ใน Volumetric Flask ขนาด 1 L เติมน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 mLสารละลายนี้เก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 3 สัปดาห์

9. สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 1 N

นำกรด H_2SO_4 เข้มข้น มา 28 mL เจือจางให้ได้ 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่น

10. สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

นำสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 1 N มา 20 mL เจือจางให้ได้ 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่น

การ Standardize สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Sodium Carbonate โดยอบสาร Na_2CO_3 ที่ 250°C เป็นเวลา 4 ชม. นำมา 0.250 g เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 ml สารละลายนี้เก็บได้นาน 1 สัปดาห์

2. นำสารละลาย Sodium Carbonate ที่เตรียมได้ มา 10 mL เจือจางให้ได้ 200 mL ด้วยน้ำกลั่น

3. เติมสารละลาย Indicating Boric Acid จำนวน 50 mL แล้วนำไป ไตรเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

11. สารละลาย Borate Buffer

นำสารละลาย 0.025 M $Na_2B_4O_7$ (9.5 g ของ $Na_2B_4O_7 \times 10H_2O$/L) มา 500 ml เติม 0.1 N NaOH จำนวน 88 mL แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 mL

การเตรียมเครื่องมือกลั่น

1. นำ Kjeldahl Flask ขนาด 800 mL เติมเม็ดบีทประมาณ 5-7 เม็ด
2. นำน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย 500 mL
3. เติมสารละลาย Borate Buffer 20 mL แล้วปรับ pH ให้ได้ 9.5 ด้วยสารละลาย NaOH 6 N
4. นำไปกลั่นล้างชุดกลั่นจนกระทั่งปราศจาก Ammonia
5. ปล่อยให้ Kjeldahl Flask คงสภาพเดิมหลังจากกลั่นเสร็จแล้วจนกว่าจะเริ่มทำการกลั่นตัวอย่างจึงถอด Kjeldahl Flask ออกและเปลี่ยน Kjeldahl Flask ที่มีตัวอย่างแทนที่

ขั้นตอนการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่าง

1. ใส่ glass beads 3-4 เม็ด ลงใน Kjeldahl Flask ขนาด 800 mL แล้วเติมสาร K_2SO_4 ปริมาณ 6.7 g

2 เติมน้ำตัวอย่างในปริมาณที่เหมาะสมตามตารางข้างล่าง

ตารางที่ ก-2 ปริมาณตัวอย่างที่ต้องใช้

อินทรีย์ไนโตรเจนในตัวอย่าง (mL/L)	ปริมาตรตัวอย่าง (mL)
0-1	500
1-10	250
10-20	100
20-50	50
50-100	25

3. เจือจางน้ำตัวอย่างให้ได้ 300 mL

4. เติมสารละลาย $CuSO_4$ 10 mL

5. เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 10 mL เขย่า Kjeldahl Flask ให้สารเข้ากัน

6. นำไปต้มให้เหลือปริมาตรประมาณ 10 - 20 mL ในการต้มเมื่อน้ำระเหยไปหมดแล้ว จะมีควันขาวขุ่นเกิดขึ้นให้ต้มต่อไปอีก 30 นาที ตัวอย่างที่มีสีหรือขุ่นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนหรือใส จึงปิดเตาทิ้งให้เย็น

7. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 mL

8. เติมสารละลาย NaOH–$Na_2S_2O_3$ จำนวน 50 mL

9. นำ Kjeldahl Flask ที่มีตัวอย่างไปประกอบกับชุดกลั่น แกว่งขวดให้สารละลายเข้ากัน กลั่นโดยเก็บน้ำส่วนที่กลั่นได้อย่างน้อย 200 mL ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 mL ซึ่งมีสารละลาย Indicating Boric Acid อยู่ 50 mL รวมปริมาตรทั้งหมดที่จะได้เป็น 250 mL และให้ปลายของแท่งแก้วที่นำน้ำที่กลั่นได้ จุ่มอยู่ในสารละลาย Indicating Boric Acid

10. นำส่วนที่กลั่นได้ไป ไตรเตรต (titrate) หาค่า Ammonia ด้วยสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 จนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อน โดยใช้น้ำกลั่น 200 mL ผสมกับ Indicating Boric Acid 50 mL เป็นตัวเทียบสีจุดสิ้นสุด

11. ให้ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างและวิเคราะห์เหมือนกับตัวอย่างทุกขั้นตอน

การคำนวณ

Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), mg/l = (A - B) *14,000 * N

ปริมาตรของตัวอย่าง, mL

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 ที่ใช้สำหรับตัวอย่าง (ml)

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 ที่ใช้สำหรับ Blank (ml)

N = Normality ของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4

5.ปริมาณความชื้น (Moisture content)

หาปริมาณความชื้นเริ่มต้นโดยวิธีอบในตู้อบ 103-105 °C

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เตาอบไฟฟ้า
2. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด
3. ถ้วยกระเบื้อง

วิธีการ

1. นำถ้วยกระเบื้องไปอบที่ 105 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่ในตู้ดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องเริ่มต้น นำตัวอย่างมาใส่แล้วชั่งน้ำหนัก
3. นำไปอบที่ ประมาณ 24 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบ แล้วใส่ในตู้ดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักที่หายไป บันทึกผล
5. คำนวณหาความชื้นในตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ภาคผนวก ข

การคำนวณ

1. การคำนวณอัตราการป้อนสารอินทรีย์ (OLR)(kgCOD/l/day)

$$\text{OLR (kgCOD/L/day)} = \frac{\text{ปริมาตรของเหลวที่เข้าระบบ(L/day)x VS ของเหลวที่เข้าระบบ(mg/L)}}{\text{ปริมาตรที่ใช้จริง (L)}}$$

2. การคำนวณประสิทธิภาพการกำจัดของระบบ (% Removal)

$$\text{ประสิทธิภาพการกำจัด (\%)} = \frac{(\text{สารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบ-สารอินทรีย์ที่ออกจากระบบ})}{\text{สารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบ}} \times 100$$

3. การคำนวณระยะเวลาการกักเก็บ

$$\text{ระยะเวลากักเก็บ (day)} = \frac{\text{ปริมาตรของเหลวที่ใช้จริง (L)}}{\text{ปริมาณการป้อนน้ำเสีย (L/day)}}$$

4 .ผลผลิตมีเทน (Methane yield) ที่เกิดขึ้น สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Methane yield } (\text{L } CH_4/\text{gVS}_{\text{removed}}) = \frac{\text{ปริมาณก๊าซชีวภาพx(เปอร์เซ็นมีเทน/100)}}{\text{(VS Inf-VS Eff(g/L) X อัตราการไหล(L/day))}}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

การหมักร่วมระหว่าง PBW+DC 2.5% จากตาราง 3-7 ปริมาณก๊าซชีวภาพเท่ากับ 0.87 L/L/day เปอร์เซ็นมีเทนเท่ากับ 86% ของแข็งระเหยง่ายเริ่มต้นเท่ากับ 25.76 g/L ของแข็งระเหยง่ายหลังการบำบัดเท่ากับ 14.75 g/L ถังปฏิกรณ์มี working volume 3 L ระยะกักเก็บ 12 วัน

$$\text{Methane yield } (\text{L } CH_4/\text{gVS}_{\text{removed}}) = \frac{(0.87\ (\text{L/L/day})\text{x}3\ (\text{L}))\text{X } 0.86}{(25.76\text{-}14.75\ (\text{mg/L}))\text{X } (3(\text{L})/12\ \text{day})}$$

$$= 0.82\ \text{L/gVS}_{\text{removed}}$$

หรือจากตาราง 3-8 ก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นในแต่ละวันเท่ากับ 0.75 L/day และปริมาณของแข็งระเหยง่ายที่ถูกกำจัดไปในแต่ละวันเท่ากับ 0.92 g/L

$$\text{Methane yield } (\text{L } CH_4/\text{gVS}_{\text{removed}}) = \frac{\text{ปริมาณมีเทนที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน (L/day)}}{\text{ของแข็งระเหยง่ายที่ถูกกำจัดไปในแต่ละวัน(g/day))}}$$

$$= \frac{0.75 \text{ L/day}}{0.92 \text{ g/day}}$$

$$= 0.82 \text{ L/g}_{\text{removed}}$$

$$\text{Methane yield } (\text{L } CH_4/\text{gVS}_{\text{added}}) = \frac{\text{ปริมาณมีเทนที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน (L/day)}}{\text{ของแข็งระเหยง่ายที่ถูกเติมไปในแต่ละวัน(g/day))}}$$

$$= \frac{0.75 \text{ L/day}}{2.14 \text{ g/day}}$$

$$= 0.35 \text{ L/g}_{\text{added}}$$

5. ตัวอย่างการคำนวณปริมาณกากตะกอนดีแคนเตอร์ (DC) ที่ใช้ในการทดลอง

กากตะกอนดีแคนเตอร์มีค่าความชื้น 70% แสดงว่ามีค่าของแข็งเท่ากับ 30% (สมมุติให้ของเหลวในการหมัก 1 L มีน้ำหนัก 1 Kg) วัสดุหมัก (PBW+DC 1%) แสดงว่า

ของเหลวในการหมัก 100 mL มี DC ที่เป็นของแข็งอยู่ 1 g

ถ้าของเหลวในการหมัก 500 mL มี DC ที่เป็นของแข็งอยู่ 5 g

จากค่าความชื้นของ DC แสดงว่า

DC 0.3 g มาจาก DC เปียก 1 g

ถ้า DC 5 g มาจาก DC เปียก (1x5)/0.3 = 16 g

เพราะฉะนั้นชุดการทดลองที่ใช้วัสดุหมักร่วม PBW+DC 1% แสดงว่าในของเหลวในการหมัก 500 mL มีกากตะกอนดีแคนเตอร์เปียกอยู่ 16 g

ภาคผนวก ค

PCR-DGGE

1. การสกัดดีเอ็นเออย่างง่าย (DNA Exctraction)

การศึกษาด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล จึงจำเป็นด้วยการเริ่มต้นสกัด DNA จากสิ่งมีชีวิตซึ่งมีลักษณะสายขดกันอยู่ภายในนิวเคลียส ซึ่งเซลล์ของสิ่งมีชีวิตประกอยไปด้วยกรดนิวคลีอิค DNA และ RNA ในปริมาณ 5-15% น้ำหนักแห้ง

1.1 คุณสมบัติโดยทั่วไปของดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอมีประจุโดยรวมเป็นลบเนื่องจากโมเลกุลของดีเอ็นเอ ประกอบไปด้วยหมู่ฟอสเฟสจำนวนมาก ดีเอ็นเอละลายน้ำได้ดีในสภาวะที่เป็นกลาง (pH=7) หรือ กรดอ่อนดังนั้นสารละลายดีเอ็นเอในบัฟเฟอร์มีพีเอช 7 จึงมีความหนืดสูง เนื่องจากแรงผลักของประจุลบ ทำให้ดมเลกุลของดีเอ็นเอยืดตัวออก ดีเอ็นเอที่มีประจุจับตัวได้ดีกับโปรตีนที่มีประจุบวกมาก เช่น ฮีสโตน ความร้อนและสารเคมีบางชนิดทำให้พันธะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างดีเอ็นเอสายคู่แยกตัวออกเป็นสายเดี่ยว จึงเสียสภาพธรรมชาติและสารละลายบางชนิด เช่น แอลกอฮอล์ อะซีโตน และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น ทำให้ดีเอ็นเอไม่ละลายตัวจึงเกิดการเกาะตัวกันเป็นก้อนใหญ่ง่ายแก่การตกตะกอนดีเอ็นเอ

1.2 หลักการสกัดดีเอ็นเอ

1. ทำให้เซลล์ด้วยการบดด้วยเนื้อเยื่อในไนโตรเจนเหลวให้ละเอียดเป็นผงหรือการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ เช่น lysozyme
2. การแยกดีเอ็นเอจากโปรตีนที่เกาะอยู่โดยการทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติโดยการเติมสารซักฟอกที่เป็นไอออน (ionic detergent) ได้แก่ Sodium dodrcyl sulfate:SDS ลงในบัพเฟอร์เพื่อลดแรงดึงดูดระหว่างโปรตีนและดีเอ็นเอ
3. การสกัดแยกโปรตีนออกจากดีเอ็นเอ ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ สารที่นิยมใช้ คือ ฟีนอล (phenol) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) ซึ่งจะทำให้โปรตีนเสียสภาพตามธรรมชาติและแยกโปรตีนออกไปอยู่ต่างชั้นของสารละลาย โดยดีเอ็นเอจะละลายอยู่ในชั้นของน้ำส่วนบนโปรตีนและสิ่งเจือปนอื่นๆ จะอยู่ระหว่างชั้นน้ำและฟีนอลคลอโรฟอร์
4. การเก็บรักษาดีเอ็นเอ ควรเก็บในน้ำปริสุทธิ์ หรือ Buffer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8) ที่ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ – 20 °C หรือที่อุณหภูมิ -70 °C

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง (Polymerase Chain Reaction: PCR)

ปี ค.ศ 1983 Kary Mullis ค้นพบเทคนิคพีซีอาร์หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายในหลอดทดลอง ปฏิกิริยาลูกโซ่คือ ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องไปเรื่อยๆ จนในที่สุดได้ผลผลิตมหาศาล เทคนิคนี้เป็นการเลียนแบบการจำลอง DNA (replication) ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นเทคนิคที่สำคัญมากทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในหลอดทดลองเป็นวิธีการทำได้ไม่ยาก อาศัยหลักการที่เรียนรู้มาว่าเอนไซม์ DNA polymerase เป็นเอนไซม์สำคัญในปฏิกิริยา ทำหน้าที่เติมเบสแก่สายดีเอ็นเอตั้งต้นที่มีอยู่แล้ว โดยมี ดีเอ็นเออีกสายเป็น template การสังเคราะห์เป็นไปอย่างถูกต้องโดยการเติมเบสที่ได้คู่สมกับ template อย่างไรก็ตามการทำงานของ DNA polymerase ในหลอดทดลองมีข้อจำกัด คือ ต้องมีการเพิ่มอุณหภูมิทุกครั้งเมื่อเกิดการสังเคราะห์สายใหม่เพื่อให้ดีเอ็นเอสายเดิมซึ่งเป็นคู่แยกออกเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวก่อน การเพิ่มอุณหภูมินี้ทำให้เอนไซม์ไม่เสถียรพอที่จะทำงานสังเคราะห์ดีเอ็นเอซ้ำแล้วซ้ำเล่าหลายๆรอบ ต่อมาในปี 1970 ปัญหานี้ก็ก็ได้รับการแก้ไขเมื่อมีการค้นพบเอนไซม์ Taq polymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทนและทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูง การค้นพบเอนไซม์นี้จึงนับว่าเป็นจุดเริ่มต้นของความก้าวหน้าทางวิทยาการของการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในหลอดทดลอง

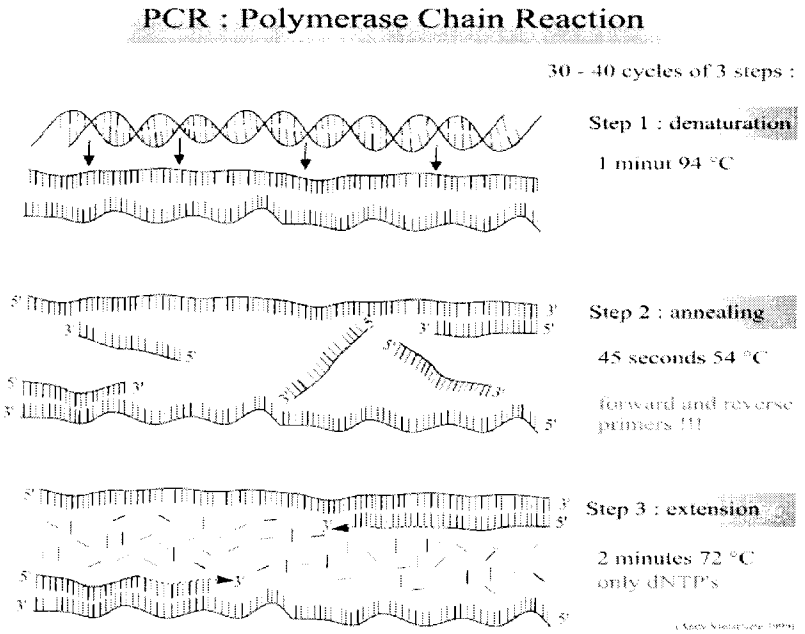
2.1 ขั้นตอนของปฏิกริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส

1) ขั้นตอนการแยกดีเอ็นเอเป็นสายเดี่ยว (denaturation step) คือ การทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพธรรมชาติจากที่เคยเป็นสายคู่กลายเป็นสายเดี่ยว เพื่อปิดโอกาสให้ไพรเมอร์เข้าไปจับบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณบทสายดีเอ็นเอต้นแบบโดยใช้อุณหภูมิสูง 93-95 °C เพื่อทำลายพันธะไฮโดรเจนที่ใช้ในการจับคู่ของสายดีเอ็นเอ
2) ขั้นตอนการจับของไพรเมอร์และ DNA ต้นแบบ (annealing step) หลังจากที่ดีเอ็นเอแยกเป็นสายเดี่ยวแล้วลดอุณหภูมิที่ 35-37 °C ไพรเมอร์ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวท่อนสั้นๆ ประมาณ 10-15 เบสจะเข้าไปเกาะบริเวณที่เป็นคู่สมกันบนสายดีเอ็นเอต้นแบบ
3) ขั้นตอนกาสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ (extension step) หลังจากไพรเมอร์เกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบแล้วเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 72 °C เอ็นไซม์ดีเอ็นเอโพลิเมอเรสจะเริ่มทำงานด้วยการเชื่อมต่อเบสทั้งสี่ชนิดโดยจะจัดลำดับการเรียงตัวของเบสตามเบสที่เป็นคู่สมกันบนดีเอ็นเอต้นแบบ การสร้างดีเอ็นเอสายใหม่จึงเกิดขึ้น
4) หลังจากเสร็จสิ้นสามขั้นตอนถือเป็นหนึ่งรอบปฏิกิริยา เพื่อให้ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการมากพอจึงต้องมีการทำซ้ำในขั้นตอนที่หนึ่งถึงสามโดยอาศัยเครื่องเปลี่ยนอุณหภูมิอัตโนมัติ

จึงมีความจำเป็นเพื่อให้เกิดความต่อเนื่องของปฏิกิริยา ด้วยเหตุนี้เองปฏิกิริยาจึงชื่อว่า Polymerase Chain Reaction

2.2 องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส

1) ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) เส้นดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณ โดยดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจำจำลองดีอ็นเอตามแบบนี้
2) ไพรเมอร์ (primer) คือ ดีเอ็นเอสายเดี่ยวเส้นสั้นๆ จำนวน 10-25 เบส ซึ่งใช้เป็นตัวเริ่มต้นในการสร้างสายดีเอ็นเอที่ต้องการ
3) dNTPs (deoxynucleoside trihosphate) คือ dNTP, Dctp และ dGTP ใช้เป็นสารตั้งต้นขิงปฏิกิริยา
4) เอนไซม์ Taq DNA polymerase และ บัฟเฟอร์ คือ เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือ สามารถทนความร้อนสูง (93-95 °C) ได้
5) เครื่อง PCR (Thermocycler) คือ เครื่องเปลี่ยนอุณหภูมิแบบอัตโนมัติ เพื่อทำให้เกิดปกิกิริยาแบบต่อเนื่องในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ



ภาพประกอบ ค-1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง**(Polymerase Chain Reaction: PCR)**

ที่มา: **http://www.vcharkarn.com/vcafe/39569**

3. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

ดีจีจีอี เป็นเทคนิคใช้แยกความแตกต่างของโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า โดยอาศัยตัวกลางเป็นเจล โดยจะแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่แตกต่างกันได้แม้ว่าขนาดความยาวของดีเอ็นเอจะเท่ากัน ซึ่งอาศัยความแตกต่างของความเข้มข้นของสารที่มีคุณสมบัติในการแยกสายดีเอ็นเอ (denaturant) ที่มีสัดส่วนความเข้มข้นของสารอาหาร (gradient) จากส่วนบนของเจลที่มีความเข้มข้นน้อยไปสู่ส่วนล่างที่มีความเข้มข้นมาก รวมไปถึงการใช้อุณหภูมิในการทำลายพันธะระหว่างคู่เบส G-C ที่มีในดีเอ็นเอแต่ละคู่ที่แตกต่างกันนี้ทำให้การเคลื่อนที่ในตัวกลางดังที่กล่าวมาข้างต้นแตกต่างกันจึงสามารถมองเห็นรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจลต่างกัน ดังนั้นดีจีจีอีจึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถแยกชนิดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจได้ แม้สิ่งมีชีวิตดังกล่าวจะมีลำดับเบสที่แตกต่างกันเพียงหนึ่งตำแหน่งก็ตาม นอกจากนี้ยังสามารถตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจไปทำการวิเคราะห์หาลำดับเบสเพื่อใช้ศึกษาในระดับที่ลึกลงต่อไป

คุณภาพของดีจีจีอีขึ้นอยู่กับคุณภาพของพีซีอาร์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในส่วนที่ต้องการศึกษา โดยพีซีอาร์ขึ้นที่ได้เป็นดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์ มีขนาดที่เหมาะสม และปริมาณเพียงพอ การศึกษาจำนวนประชากรของแบคทีเรียโดยใช้เทคนิคดีจีจีอี เริ่มขึ้นจากการศึกษาประชากรจุลินทรีย์ในดิน (Muyzer *et al.*, 1993) ต่อมาจึงมีการเริ่มมีการประยุกต์ใช้ในการติดตามประชากรจุลินทรีย์ในอาหาร เช่น ชีส (Ercolini *et al.*, 2001; 2004) ฯลฯ

ภาคผนวก ง

ลำดับนิวคลีโอไทด์

ตาราง ชนิดของแบคทีเรียและลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบ

Bacteria

1 uncultured actinobacterium; Cf1-14; GQ502465

CCTCCTCCGGCGTAATGTGCTTTACGGCGGTGGGCTTCTGGGGCCCGCGGTGGG
AAGGATCCCGGTTGCTGCCTCCGGCAGGATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGA
ATCATATCTGTCTCAAGTTTCCCTGGTAAAAGACTTGAGTCTGCCCTCAATGGA
GACCCACGAGTATGTAAAGAAGGTAAGTGTATGAAAACGTAAGAATGATATGA
AATAACGGAATAGTTCGTACTCGGATCATTTATTTCGGTTAGCAGTTAATGCCC
CTCTATAAAAAAAAATTGGGTAGGTTGGGAGTTTTTTAATTTT

2 Clostridium sp.; AZ3 B.1; L23477

TCAGGCTTCATCGTTCTCCCAGCGTGGCTCCTTCTTGGTTCCCCCCCCTGTGCCC
CTTCCCCCCCGCTGCCTCCCCTAGGGGGCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAACA
CTATCTGTGCATGAAGCCCGACCACCCCCCCCACGTCCTGCCCCCAAGTTTTTC
CAAACTGAATTATAGTCGATAATATCTATAACCCATCCTGCATCTTAGACCACT
TAACCCAACCACGGCTACTCTTTCCATCGCTTTTTTACCTTCATTAAAG

3 uncultured delta proteobacterium; D055111E10; GU179677

TCAGGATTCTTCGTTCTTCGGCGTGGCTGCTTCATGGTTCCCCCCTTGTGCAAAT
TCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGGGGCGCAGTGCCGCCAGGGTAGGAACACAA
TCTGTCCACAACCTCCTAGCCACACAGCCCTATTCTGCCCCAAGATTTTCGTAG
GAGGAAGTATAGACGGAAGTATCAGAAGCACGGTATGGGCTCATTTAAGGGTT
TAAATCCAACGCCGGGTCATCCTGCTGATTTTCTTTGATTCTTCATTTAATAAAA
GTTGGTTTTTTTTTGTTATTGTTTATTAT

4 Actinobacillus sp. 4069; FJ405311

CGAAGAGCTTCATCCCCCCCGCGGCGGGGCTGCGTCAGGGTTCCCCCCATTGTG
CAATATTCCCCACTGCTGCCCCCCGTAGGGGGCGCTGTGCCGCCACCCGTAGGG
AGCACCATGATCGAAAACCCCCGGTAACAACCCCCAACTCTGCCACATCGCTC
ACCAAGAGAAAATAGGACGGAACCGACAAAAAACCCCACGCAGTCCCTCTTTA
CCCCTTAAACCTAATTCTCTGTTTTTTTCTTTCTGA

5 Bifidobacterium sp. DPVI-TET3; HQ842704

CCGAAGACCTTCTCGCTCCGCGGCGTGGCTGCATCAGGGTTCCCCCCATTGTGC
AATATTCCCCACTGCGGCCTCCCGTAGGGGGCCCACTGCTGCCTCGGTAGGGAC
CACGCGCATGGAGAAGCCCCGGGGGACGACCCCATGTCCGTCCTAAGATTTTTC
TAGGAGGGAAATATTGACGGGCCCAGAGGAAACCCGCCCACTCCTGCCTTTAC
CCTTTATAAACATGCTCGGTGAGGTCCTGCGCGCG

6 Citrobacter sp. DBM; EF649780

GCCTTCGTGAAGGGTTTTATCAAGAGGGTTTTCTTCTTCGGCGTGGCTGCTCTGG
GGCCCCCCTGTGCAAAATTCCCCACTGCGGCCCCCCCTAGGGGGCCACTGCGCT
CGGTAGGGAGCATCCGGTCATCGGACTGGCACAACCCACTCGGGCTACAGGTT
TTCTAAGGGGGGGTTAGAGTCGGG

7 uncultured bacterium; C_A3; EU735723

TCTCTCGGTACGTCATTACCTTCCCCTGAAGACAGTTTTACATCAGAACGCTTCG
TTTTTCCGGCGGGGGTGCTTCAGGGGGCCCGCCATGTGGCGGATCCCCACCGCT
GCCTCCCCCAGGAGGCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAAACATGTTCCGAATTCC
CTACCTACGCGCCAACTCCCTCCCCCTTTCTTCAAAAA

8 -

TTTCCTAAGGGCGTCATCTTTCTTCCGGCGGGGGGGCTTCATGGTGCTTCCGGTT
TTGCTGGATTCCCCACTGCTGCCTCCCCCAAGATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTA
GGAAACTACCCCTATCTTTCCCCACGTGGACCTGGTAAAAAGACTTTGAATTCA
GGCCTCCTTGGAAGCCCTAGGAGTATGTGGAGAACGGTGGTGTAGAAAAACCG
ATAAGAATGAAAAGAATTACTGAAAATAATTCCCACCACGGAACCCTCCCTTA
GCGATTAACATTTGGGATCCCCCCCCAAAA

9 Bacillus sp. BE1; AB052966

TACAACCAGAAGGTCTTCTTCTTTCAGGCGGGGTTGCTTCGTGGGGCTTGCGCC
TGTTGCGGAAGATTCCCTGCTGCTGCCTCCAGGAGGAGCAGTGGTGCCTCCGGT
AGGGGCTACTCATATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGC
CTCATTGGAGCCCTACGAGTATGTAGAGAAGGTAAGTGTATGAAAGCGTAGGA
TTGAGATGAAATAAGCAGAGAAGTAAAAACAACTG

10 Thiomargarita namibiensis; NAM001; FR690879

GTTTTACCTAAGAGCTTCTTCGGTCTTCCGGCGGGGTTGCTTCATGGTGCTTCCC
CTTGTTGAAGATTCCCCTCTGCTGCCTCCCCTAGGAGGCCCCAGTGTTGCCTCCG
GTAGGGGATCTCTATCTTTTCCCAAGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCTCG
CCTCATTGGAACCCAACGAGTAATTGGACAAGGTTGGTGTTGTAAAACGACAG
AATGAAAATAAATCACTGCAAAATTTCCCATAC

11 Pseudomonas filiscindens; ATCC BAA-697; AY259924

TCTAAAGACGTTTTCTTCCTATAGGGGGGGCTGCTTTCAGGGTCCTCCCTGTGG
AAATTCCCCTCTGCTGCCTCCCGTAGGGGGTGCTGCCTCCCGTAGGATAGGGGC
ACTCATATCTTCTCATGTGGACCGCTAAAGACAATAATCTGGCCACTTTGGAAC
CCAACGAGTATGTGGAAAGGTAAGTGTTTGAAACGTAGGATTGAAAGGTATTA
TGCTTTAAACAACCACTGAATCATCTGGACGGTTG

12 uncultured Arcobacter sp.; DS067; DQ234151

TTACGCACCGAAATGTGTCATCCTCCACGCGGCGTTGCTGCTTCAGAGTTTCGT
CCATTGTGCAATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGGTGCGTGTGGTCGGT
TGGAACCTACTCTATCTATCTCATGTAGACTGTAAATGCTTGAATTCTGGCCTCA
TTGAGCCATAGGAGTATGTGGAGACGTAGTGTAGAAAAGCGTAGATTAAATAG
AATAAACAATAATTCCTACTCTGATTCTTTCTTT

13 uncultured bacterium; M-5; GU553019

CCCCTAAGGGGGTTTTCTTTCTTGAGGGGGTGTTGCTTTGTGGTTTTTTCACGTT
AGATTGAGATGGTATAAACCGATTAATTCTATTACTGGATTCTTTGTTGTGGAT
ATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGGGGTGCTGCCTCGGTAGGGTAGGGACTCA
TATCTTCTCATGTGGACCTGGTAAATAACTTGAATTCAGGCCTCATTGGAGTCC
ATACGAGTATGTAAAGAAGGTTAGTGTAGGAAA

14 uncultured bacterium; SBW-53; FR828751

TTACAATCCGAAGACCTTCTTCCTTCACGCGGGGTTGCTGGGTCAGGCTTGCGC
CCATTGCCCAATATTCCCCGCTGCCGCCTCCCGGAGGACAGCTTCTTCCCCAAC
ATTAAAACTCAGATCTCCCGTGTGCACCTGCTGAAGGATGAATTCTGGCCTCAT
TGGTGATATGCTAGTAGAGAAGAGGTGAGTGTATTATACGTAGGACTGAAACT
AATGACCATAATTTTTTTTTGGTTTCTTTCTTTCG

15 Actinomyces sp. BL-79; FJ234421

CGGCGGGGTCTCTTCTTCTGGGGGCGTGCTGGTAGGGTTTGGGGGGGGAAGTA
CTCAGCGGTGGCCCCCTTGGGGGTGGCGGGGCCGGAGGAAGGGACTAATCTTC
TCAGTGGATTGGTAAAGGATGATTCTGCCCGTGGATGTGACGAGTGGTAGGAA
GTTGGTGTAGAAAACGTAGGATGAATGAATAGCCTTTATTCTACCACGGAGTG
ATCGTACGGTTG

16 -

CTACTATGAAGGCATTTTACGTTTTGAGGGGTGGGGGCTTGTGGGGGCGCGGGT
GGGGCAGGATTGCCCCCGGTGGCCTCCGGTGGGGGCTGCGGCGTCGCGTAGGG
TAGGGGAACTCATATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAGGC
CTCATTGGAGCCCTACGAGTATGTAGAGAAGGTAAGTGTATGAAAGCGTAGGA
TTGAGATGAAATAAGCAGAAAAATACAAACAACTGA

17 Bacillus sp. DU54(2010); HM567110

TTTTTTTCCATTACCTTTGCTCTTTACGGGGTGTTGCCTTCTTCCTGCGCGCGGG
GTGCCTAGATCCCAGTTCTGCCCTCTATAAGGAATTCCGCACTGCTGCCTCCCG
TAGGAAGCTCTATCTCTCTCACGTGGACCTGGTAATTGACAAGAATTCTCGCCT
CATAGGCAATGAAGGAGTAATTGGTCAACTCTGGTGTTGTAAAACGACAGCGT
ACCAACGTATAACTGCCTTCTTTCCCATACACGG

18 uncultured soil bacterium; 2_D4; EU589299

TTTACCTCCGAGGATTTTTTTCCTTCCGGGGTGTTGCTGCGTCGGGGTTCCCCCT
GTTGCGCAAAATTCCCCGGTGCCGCCTCCAGGGGGAGCCCTGCTGCCTCCGGGA
GGGGACCTACTCATATCTTTCTCATGTGGACCTGGTTATTGACTTGAATTCTCGC
CTCCTTGGAGACCTACGAGTAAGTAGAAAAGGTTGGTTTATGAAAACGTAGGA
ATGAAAATAAATTAGCCCAATATTTCCAACCAC

19 uncultured rumen bacterium; L3A_E05; EU381435

AGTTTACAATCCGAAGACTTTCTTCCTTCACGCGGTGTTGCTGGGTCGGGCTTG
CGCCCATTGCCCAATATTCCCCACTGCCCCCTCCCGGGGGACCCCCTGCTGCCT
CCGGTAGGGGTCTCATATCTCTCCCAGTGGACCTGGTAAAAGACTTGAATTCAC
GCCTCATTGGAGCCCTACTAGTATGTAGAGAAGGTAAGTGTATGAAAACGTAG
GATTGAGATGAATTAAACCCAGAATTACCAAACCA

20 uncultured Acidobacteria bacterium; *KBS_T8_R4_149252_c6; HM061797*

TTCCTCCTCGAAAGGTTCACCAAGGTTTTCTCACCGGGTGTCTTCAGTTTCCCTT
GCAATTCCCTGGCTCCGAGGGGGTCCAGCGACTCCACCTACTTCCTGGACTGTA
TAACTGATCGCCTCTGACCACATGTAAACGAGTGTCCAACGTAGTATGAATAAT
AACATTACCCCGGACTCTAAGATTACTTTGTCTTCAATAAAATAAATGT

Archaea

1 uncultured Methanosaeta sp.; EU857632

ATTTGTAACCTGGCACTCGAGGTTCCCTTATCGCTGTTGCCAGCATTGTAAAGTT
TTCGCGCCTGGTGCACCCCGTAGGCCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCCCGCCGCGC
GCGGCGGGCAAGGCGGCTGTAGGGTGTCTCAAGGGGGCCCTGGTAGAAGACTT
GAATTCACCCCTCATTGGAAACCAACGAGTAAGTAGAAAAAGTTGGTGTATTA
AAACCTAGAATAAATGATATTACCGCAATATTCCCACTACTGATCCTTCCTATA
ACATTACCTTTTTTGTTCCTTCCAAAAAAAA

2 uncultured Methanosaeta sp.; M6; AY692056

GTAACCTGGCACTGGAGGTTCCCTGTATCGCTGTTGCCAGCATTGTAAAGTTTT
CGCGCGTGGTGCGCCCCGTAGGCCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCCCGGCGCGCGC
GGCGGGCGGGGCGCTCTATCTTTCTCATGTGGACCTGGTTAAAGACTTGAATTC
TGGCCTCATTGGAGCCCTACTAGTATGTAGAGAAGGTAGTTTTTTAAAACGTAG
GATTGAGATGAAATTAGCATTTATTCATACTACT

3 uncultured Methanosaeta sp.; M30; AY692057

ACCTGGCACTCGAGGTTCCCTTATCGCTGTTGCCAGCATTGTAAAGTTTTCGCG
CCTGGTGCACCCCGTAGGCCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCCCGCCGCGCGGCG
GGCGGGGCGCTATCTTTCTCATGTATACTAGTTATAGATAATATTCTCCCCTCAT
TGTTATTAACGAGTATTAGAAAGGTGGTGTATTAAAA

4 Methanosaeta concilii; X16932

ACCTGGCACTCGAGGTTCCCTTATCGCTGTTGCCAGCATTGTAAAGTTTTCGCG
CCTGGTGCACCCCGTATGCCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCTCGCAGTGGGCGGCG
GGTGGGGCGCTTGCTTTCTCGATGAACCTCTTTTCTTGCTAAAATATTTCCTCTC
TTTGCAACCACGCATTTATTGATAACCTCTGGGTCTGTCAAAGCACAAAAGACA

AGCGAATCACTGACATCTTTCCCATACACTGAC

5 uncultured Methanosaeta sp.; Samali3; EU580027

AGCCAGATTTGTAACTGTGGCACTCGAGGATTCCCTGTATCGCTTTTGCCATATT
GTGTAAAGTTTTCGCGCGTGGTGCACCCCGTAGGCCCCCAGTGCCCCCGCCCCG
CCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGTCTATCATCTCTATAACCTATTATACTTA
AATCTGCCTCATTGAACCTACGAATATTAGATAACGT

6 genus Methanobacterium

uncultured archaeon; D242_ARC_0302_1_080; AB447830

CAGATTTGTAACCTGGCACTCGAGGTTCCCTTATCGCTGTTGCCAGCATTGTAA
AGTTTTCGCGCCTGGTGCACCCCGTAGGCCCCCCGTGCCCCCGCCCCGCCCGCC
GCGCGCGGCGGGCAAGGCGACTCATATCTTTCTCATGTGGACCTGGTAAAAGA
CTTGAATTCACGCCTCATTGGAAACCTACTAGTATGTAG

7 -

AAGCTGGCTCGGAGGTTCCTGTATCGGTTTTGCCAATTGTGTAGGTTTTTCGCGT
GTGGTGCACCGTAGAGGCCCCGTGTGCCCGCGCCGCGCGCGGCGCGCGGGGGG
GGCGGTCCTACTCTATCTTCTCAATAAACCTGGTAATTGACGAAAAAATTTCCC
CTCACTGGACACCAACGAATAATTTGACAACGTTAGTGTATTAAAAAGTAAAA
AGGACAACGAATTAACTGACAATTTCCCCCTACTATGACTTCATTTAAAAGTTA
CTTTTTGGGTTCCTCCCAAAAAAAAAAAAA

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล เมธิยา หมวดฉิม

รหัสประจำตัว 5210920037

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	**ชื่อสถานบัน**	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**
ปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อนามัยสิ่งแวดล้อม)	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	2551

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

การเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการ

Maytiya Muadchim , Chaisri Suksaroj, and Thunwadee Suksaroj.2011 "Anaerobic Co-Digestion of Biogas Production from Pretreated Biodiesel Processing Wastewater and Decanter Cake from Palm Oil Mill in a Batch Digester" *Proceeding of the 10th National Environmental Conference* at BP Samila Beach Hotel Resort, Songkhla 23rd-25th March 2011, 289-290

Maytiya muadchim , Chaisri Suksaroj and and Thunwadee Suksaroj. "The methane production of mesophilic anaerobic co-digestion of pretreated biodiesel processing wastewater and decanter cake" *The 11th International Conference on clean Energy* at Feng Chia University,Tai chung, Taiwan 2nd-5th November 2011, 140

ผลงานตีพิมพ์

Maytiya Muadchim, Cheerawit Rattanapan, Thunwadee Tachapattaworakul Suksaroj and Chaisri Suksaroj. Biogas Production and Biochemical Methane Potential of Anaerobic Co-Digestion from Pretreated Biodiesel Processing Wastewater and Decanter Cake . *Thai Environmental Engineering Journal* Vol.16 , NO.1: 15-23 (2012) (Accepted)