

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบวนการผลิตน้ำยางข้นและซีรัมน้ำยางสกิม

น้ำยางสดที่ได้จากการกรีดยางพารา มีลักษณะเป็นของเหลวข้นคล้ายน้ำมัน มีอนุภาคขนาด 0.05-0.5 ไมครอน ในน้ำยางสดมีปริมาณเนื้อยางแห้งประมาณร้อยละ 25-45 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อายุ ฤดูกาล และกรรมวิธีกรีดยาง โดยทั่วไปน้ำยางสดประกอบด้วยสองส่วนสำคัญคือ ส่วนที่หนึ่งได้แก่ส่วนที่เป็นเนื้อยางประมาณ 35% ซึ่งเป็นเนื้อยางที่เป็นอนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำยาง เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน มีความหนาแน่น 0.92 g mL^{-1} เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.02-0.03 ไมครอน ไม่ละลายน้ำ รูปทรงมีทั้งทรงกลมและทรงรีคล้ายลูกแพร์ในสภาพน้ำยางสดเนื้อยางจะถูกห่อหุ้มด้วยชั้นของสารกลุ่มไขมันและโปรตีน ส่วนที่สองได้แก่ส่วนที่ไม่ใช่เนื้อยางประมาณ 65% ซึ่งจะมีองค์ประกอบแรกเป็นส่วนที่เป็นน้ำหรือซีรัม (Serum) มีความหนาแน่นประมาณ 1.02 g mL^{-1} ประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดอะมิโน สำหรับองค์ประกอบส่วนที่สองคือ ลูทอยด์ (Lutoid) เป็นอนุภาคกลมมีเยื่อหุ้มมีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคของยาง (บุญธรรม, 2530)

น้ำยางข้น คือ น้ำยางที่มีเนื้อยางแห้ง (Dry Rubber Content, DRC) ไม่น้อยกว่า 60% การผลิตน้ำยางข้นสามารถทำได้ 4 วิธี คือ

- 1) วิธีระเหยด้วยน้ำ (Evaporation)
- 2) วิธีทำให้เกิดครีม (Creaming)
- 3) วิธีปั่นแยก (Centrifuging)
- 4) วิธีแยกด้วยไฟฟ้า (Electrodecantation)

โดยวิธีที่เป็นที่นิยมในการผลิตน้ำยางข้นในประเทศไทย ได้แก่วิธีการปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง และมีรายละเอียดการผลิต ดังนี้

1. การรับน้ำยางสด น้ำยางสดจะถูกรักษาสภาพไม่ให้จับตัว ด้วยแอมโมเนียมร่วมกับ Tetramethylthiurum disulphide (TMTD) และ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) หลังจากนั้นถูกถ่ายผ่านตะแกรงกรองลงสู่รางรับน้ำยางสดจากนั้นน้ำยางสดจะไหลจากรางรับน้ำยางสดลงสู่บ่อรับน้ำยางสด

2. **การเตรียมน้ำยางสด** ในขั้นตอนนี้ต้องมีการปรับสภาพน้ำยางสดให้เหมาะสมต่อกระบวนการปั่นแยก ด้วยการเติมแอมโมเนีย เพื่อให้มีปริมาณแอมโมเนียเกินกว่า 0.4% โดยน้ำหนักและเติม Diammonium hydrogen phosphate (DAP) เพื่อให้แมกนีเซียมตกตะกอนเป็นจีเป็งและทิ้งไว้ 1 คืนสำหรับน้ำยางที่มีแมกนีเซียมสูง สำหรับน้ำยางที่จะนำมาปั่นแยก ควรมีปริมาณแมกนีเซียมน้อยกว่า 50 ppm และเมื่อปั่นแล้วไม่ควรเกิน 20 ppm นอกจากนี้ ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ (Volatile Fatty Acid, VFA) ไม่ควรเกิน 0.05% หากเกินให้นำไปผสมกับน้ำยางสดที่มีค่าไม่เกิน 0.05%แอมโมเนีย

3. **การปั่นแยก** อาศัยหลักการ คือ น้ำยางธรรมชาติเป็นสารละลายคอลลอยด์ ที่ประกอบด้วยส่วนอนุภาคของยางแขวนลอยกระจัดกระจายอยู่ในซีรัม และเนื่องจากอนุภาคยางเหล่านี้เบากว่าซีรัมจึงลอยตัวสู่ผิวหน้าน้ำยางและมีการเคลื่อนไหวแบบบราวเนียน ซึ่งอัตราการเคลื่อนไหวขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดของโลก ดังนั้น การปั่นจะช่วยเพิ่มแรงดึงดูด และเร่งการเคลื่อนที่ของอนุภาคยาง ซึ่งช่วยแยกส่วนที่เป็นเนื้อยางออกจากส่วนซีรัม ในการปั่นแยกน้ำยางสดจะได้น้ำยาง 2 ส่วน คือ หางน้ำยาง และน้ำยางข้น โดยน้ำยางข้นจะมีเนื้อยางแห้งประมาณ 60% เครื่องปั่นยางขนาดเล็ก สามารถปั่นน้ำยางสดได้ประมาณ 150 ลิตรต่อชั่วโมง ส่วนเครื่องขนาดใหญ่สามารถปั่นน้ำยางสดได้ 400-600 ลิตรต่อชั่วโมง

4. **การไล่แอมโมเนียในหางน้ำยาง** หางน้ำยางที่ได้จากกระบวนการปั่นยางจะถูกนำไปไล่แอมโมเนียออก เพื่อลดปริมาณการใช้กรดซัลฟูริกในการตกตะกอนเพื่อผลิตยางสกิม เนื่องจากถ้าหางน้ำยางมีปริมาณแอมโมเนียสูง จะต้องใช้กรดในการตกตะกอนเป็นปริมาณมาก ดังนั้นจึงมีการไล่แอมโมเนียในหางน้ำยาง ด้วยการไล่กรดไล่แอมโมเนียหรือเครื่องกวาน

5. **การผลิตยางสกิม** หางน้ำยางที่ผ่านการไล่แอมโมเนียแล้ว จะถูกเติมด้วยกรดซัลฟูริก เพื่อให้เนื้อยางจับตัวกันในขั้นตอนนี้จะได้อ่อนยางสกิมที่จับตัวกันและสามารถนำไปขายได้ นอกจากนี้ก้อนยางสกิมนี้สามารถนำไปผลิตเป็นยางสกิมเครพหรือสกิมบล็อคต่อไป

6. **การดักยาง (แยกยางขายจากบ่อ)** เป็นการดักจับเนื้อยางที่ปะปนมากับน้ำเสียจากกระบวนการต่างๆ เช่น การตกค้ำงในบ่อรับน้ำยางสดเครื่องปั่นยาง และบ่อเก็บน้ำยางข้น ด้วยการเติมพอลิเมอร์ต่างๆ หรือจากบ่อดักยาง ซึ่งยางที่ได้จะสามารถนำไปขายในราคาที่ต่ำ เนื่องจากมีคุณภาพไม่ดี

7. **การเตรียมน้ำยางสด** ในกรณีที่โรงงานไม่ได้ใช้แอมโมเนียในรูปของแอมโมเนียแห้ง หรือแอมโมเนียเหลว แต่ใช้ในรูปสารละลายแอมโมเนียหรือน้ำแอมโมเนีย โรงงานจะต้องเตรียมน้ำยางสด ให้อยู่ในรูปสารละลายเข้มข้นประมาณ 10% ซึ่งในการเตรียม

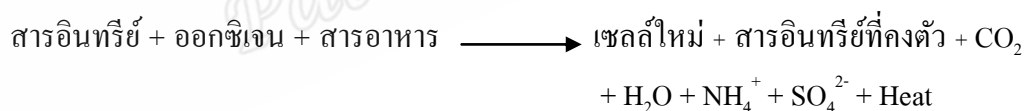
สารละลายแอมโมเนียผสมกับน้ำจะเกิดความร้อน ส่งผลให้แอมโมเนียระเหยออกจากสารละลายได้ง่ายขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2548)

2.2 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง

กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่อาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กระบวนการใหญ่คือ กระบวนการแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic digestion) และกระบวนการแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic digestion) ซึ่งมีความแตกต่างกันในเรื่องชนิดของจุลินทรีย์ ชนิดของตัวรับอิเล็กตรอน พลังงานที่ได้จากการย่อยสลาย และผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลาย

2.2.1 การย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งแบบใช้ออกซิเจน

ในการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic digestion) น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์จะอาศัยจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งในการย่อยสลายสารอินทรีย์ไปเป็นสารประกอบคาร์บอนที่เสถียรมากกว่า โดยมีแก๊สออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน จะได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลาย จุลินทรีย์จะได้รับประโยชน์คือ พลังงานที่ได้จากการย่อยสลายและแหล่งคาร์บอนที่นำไปใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ของจุลินทรีย์ เนื่องจากแก๊สออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดีจึงได้พลังงานจากการย่อยสลายสูงจึงทำให้การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนเกิดเซลล์ใหม่ขึ้นจำนวนมาก ส่วนสารอินทรีย์ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ก็จะคงอยู่ในน้ำ ซึ่งมีปฏิกิริยาในการย่อยสลายดังนี้



ข้อดี

- 1) ระบบมีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสีย
- 2) ใช้ระยะเวลาในการบำบัดสั้น

2.2.2 การย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน

สำหรับการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic digestion) สารอินทรีย์ในน้ำเสียประมาณร้อยละ 80-90 ถูกย่อยสลายเป็นแก๊สมีเทน และ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งรวมเรียกว่าแก๊สชีวภาพ (Biogas) กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจนประกอบด้วยกระบวนการทางจุลชีววิทยาหลายขั้นตอนที่เกี่ยวข้อง กระบวนการย่อย

สลายสารอินทรีย์ทางชีวภาพแบบไร้อากาศมีกระบวนการหลัก 4 ขั้นตอนได้แก่ ขั้นที่ 1 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ขั้นที่ 2 ปฏิกริยาอะซิโดเจเนซิส (Acidogenesis) ขั้นที่ 3 ปฏิกริยาอะซิโดเจเนซิส (Acetogenesis) และขั้นที่ 4 ปฏิกริยามีทาโนเจเนซิส (Methanogenesis)

2.3 ทฤษฎีเบื้องต้นของแก๊สชีวภาพ

2.3.1 ความหมายและความสำคัญ

แก๊สชีวภาพ (Biogas) คือ แก๊สที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ปราศจากออกซิเจน องค์ประกอบหลักเป็นแก๊สมีเทน (CH_4) และ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ส่วนที่เหลือเป็นแก๊สชนิดอื่น ๆ เช่น แก๊สไฮโดรเจน (H_2) แก๊สออกซิเจน (O_2) แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) แก๊สไนโตรเจน (N_2) และไอน้ำ เนื่องจากองค์ประกอบหลักของแก๊สชีวภาพคือแก๊สมีเทน ดังนั้นคุณสมบัติของแก๊สชีวภาพ จะขึ้นอยู่กับปริมาณของแก๊สมีเทน โดยทั่วไปแก๊สชีวภาพ 1 ลูกบาศก์เมตร ที่มีปริมาณแก๊สมีเทน 60 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าความร้อนประมาณ 5,000-5,500 กิโลแคลอรีซึ่งเทียบเท่ากับ น้ำมันดีเซล 0.60 ลิตร หรือน้ำมันเบนซิน 0.67 ลิตร หรือน้ำมันเตา 0.81 ลิตร หรือพลังงานไฟฟ้า 1 กิโลวัตต์ต่อชั่วโมง หรือแก๊สหุงต้ม (LPG) 0.46 กิโลกรัม หรือไม้ฟืน 1.5 กิโลกรัม (กฤษฎา และธรรณชัย, 2552) ดังนั้นจึงสามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้เป็นพลังงานทดแทนในรูปต่าง ๆ ได้ เช่น เผาเพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง ใช้เป็นพลังงานเชื้อเพลิงสำหรับขับเคลื่อนเครื่องยนต์เป็นเชื้อเพลิงในการผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้า เป็นต้น นอกจากนี้กากตะกอนที่ย่อยสลายแล้วและน้ำเสียจากการหมัก สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตร เช่น การทำปุ๋ย หรือทำอาหารสัตว์ รวมทั้งสามารถแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม เช่น ลดปริมาณการทิ้งของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อม และลดปริมาณการปล่อยแก๊สเรือนกระจก เป็นต้น

2.3.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตแก๊สชีวภาพ

การย่อยทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศ เกิดจากการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายชนิด ในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ให้กลายเป็นแก๊สชีวภาพ ซึ่งจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนต่าง ๆ ในการผลิตแก๊สชีวภาพนี้ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ (พรเทพ, 2551) ดังนี้

2.3.2.1 จุลินทรีย์ไม่ผลิตมีเทน (Non-Methanogenic Bacteria)

เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะแวดล้อมที่มี และไม่มีอากาศ ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ๆ ให้กลายเป็นกรดไขมันระเหยง่าย กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน แอมโมเนีย และซัลไฟด์ สามารถเจริญเติบโตได้ดี

ในช่วงพีเอช 4.0 - 6.5 และ ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่สามารถอยู่ได้ทั้งสภาวะที่มี หรือไม่มี ออกซิเจน (Facultative anaerobic bacteria) ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมได้ดี มีอัตราการเจริญเติบโตสูง แบ่งตัวเพิ่มจาก 1 เป็น 2 เท่า ภายในเวลา 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ไม่ผลิตมีเทน ที่พบในกระบวนการย่อยสลายในสภาวะไร้อากาศมีทั้งพวกแกรมบวกและแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่งหรือแท่งโค้ง บางชนิดเคลื่อนที่ได้ มีทั้งสร้างสปอร์ และไม่สร้างสปอร์ แบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

- ก) จุลินทรีย์ในกลุ่มของ Clostridium, Bacteroides และ Bifidobacterium ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญที่สุด
- ข) จุลินทรีย์ในกลุ่ม Pseudomonas, Bacillus, Escherichia, Nitrate และ Sulfate-reducing bacteria จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีบทบาทรองลงมาจากกลุ่มที่ 1
- ค) จุลินทรีย์พวกกรวยีสต์ โปรโตซัว จุลินทรีย์เหล่านี้แม้จะพบอยู่ในระบบผลิตแก๊สชีวภาพ แต่ก็ไม่มีบทบาทต่อกระบวนการย่อยสลายแต่อย่างใด

การทำงานของจุลินทรีย์ไม่ผลิตมีเทน

คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน ถูกย่อยสลายเป็นสารประกอบอย่างง่าย โดยจุลินทรีย์ไม่ผลิตมีเทนโดยผ่านกระบวนการ liquification ผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือกรดอินทรีย์ กรดไขมัน แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และแอมโมเนีย เป็นต้น

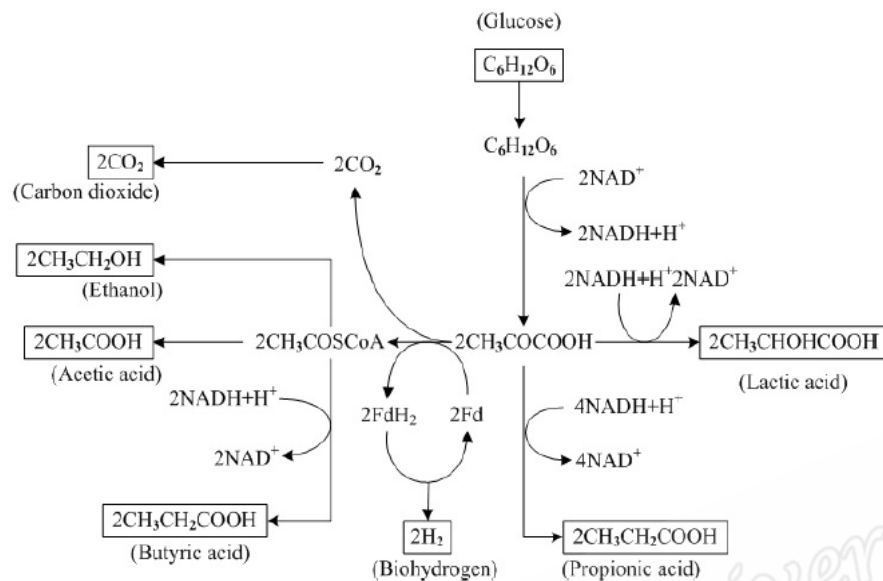
Cellulose-splitting bacteria จะย่อยสลายเซลลูโลสให้มีโมเลกุลเล็กลง (เพื่อใช้ผลิตมีเทนโดย methanogenic bacteria) ได้แก่ *Bacteroides succinogenas*, *Clostridium omelianskii*, *Clostridium thermo celium*, *Clostridium dissolvens*

Semi cellulose-splitting bacteria ย่อยสลาย semi-cellulose ไปเป็น xylose arabinose galactose และ mannose จุลินทรีย์ประเภทนี้อยู่ในกลุ่ม *Bacteroides ruminicola* Starch-splitting bacteria ย่อยสลายแป้ง ไปเป็นกลูโคส ได้แก่ *bacteroides's positive cocci* และ *Bacterium butylicum*

Clostridium acetobutylicum ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเป็น acetobutanol butyric acid acetic acid และไฮโดรเจน

Protein-splitting bacteria ย่อยโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโน และถูกย่อยสลายต่อไปเป็นกรดอินทรีย์, thioalcohol, แอมโมเนียม (ammonium) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก

Fat-splitting bacteria ย่อยไขมันไปเป็นกรดไขมัน ได้แก่ *bacillus alcaligenes*



รูปที่ 2.1 กลไกการย่อยสลายของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สร้างมีเทน (Yusoff *et al.*, 2010)

2.3.2.2 จุลินทรีย์ผลิตมีเทน

จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดแก๊สมีเทน (Methanogenic Bacteria) จุลินทรีย์เหล่านี้เจริญเติบโตได้ดีในช่วงพีเอช 7.0-7.8 จุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน จัดเป็นแบคทีเรียพวกที่ต้องอยู่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น (Obligate anaerobic bacteria) มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะสิ่งแวดล้อมได้น้อยกว่าพวกแรก และมีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่า โดยเฉลี่ยต้องใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน ที่อุณหภูมิ 35 °C ในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า

ความแตกต่างอีกประการหนึ่งระหว่างจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สร้างมีเทน และจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างมีเทน ได้แก่ จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สร้างมีเทน มักเป็นพวกสร้างอาหารเองไม่ได้ (Heterotroph) ซึ่งดำรงชีวิตได้โดยใช้สารอินทรีย์ ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างมีเทน มักเป็นพวกสร้างอาหารเองได้ (Autotroph) ที่ใช้สารอนินทรีย์ เช่นคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนในการเจริญเติบโต มีทั้งพวกที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบ เคลื่อนที่ได้และไม่ได้ และมีทั้งพวกที่สร้างและไม่สร้างสปอร์

หากแบ่งจุลินทรีย์ผลิตมีเทน โดยอาศัยรูปร่างเป็นเกณฑ์ สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ

- ก. จุลินทรีย์ผลิตมีเทน (Methanobacterium) มีรูปร่างเป็นแท่ง
- ข. จุลินทรีย์ผลิตมีเทน (Methanobacterium) มีรูปร่างกลมอยู่เป็นกลุ่ม

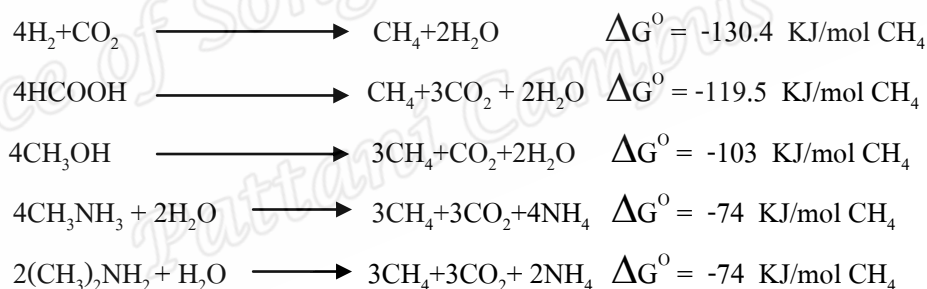
ค. จุลินทรีย์ผลิตมีเทน (Methanobacterium) มีรูปร่างกลม

หากแบ่งจุลินทรีย์ตามความสามารถในการใช้สารอาหารจะแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

- ก. พวกที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์/ไฮโดรเจน ได้แก่ Methanobacterium thermoautrophicum. และ Methanobacterium arbophilicum
- ข. พวกที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์/ไฮโดรเจนฟอร์มิก ได้แก่ Methanobacterium formicicum., Methanobacterium ruminanium. และ Methanospirillum hungatii
- ค. พวกที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์/ไฮโดรเจน เมททานอล เมททานโนลามีน อะซิเตท และคาร์บอนมอนอกไซด์ ได้แก่ Methanosarcina barkari. และ Methanosarcina thermoautotrophicum

ปฏิกิริยาการเกิดมีเทนของสารตั้งต้นชนิดต่างๆ สามารถแสดงได้ดังปฏิกิริยา

ข้างล่างนี้



2.3.3 กระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ

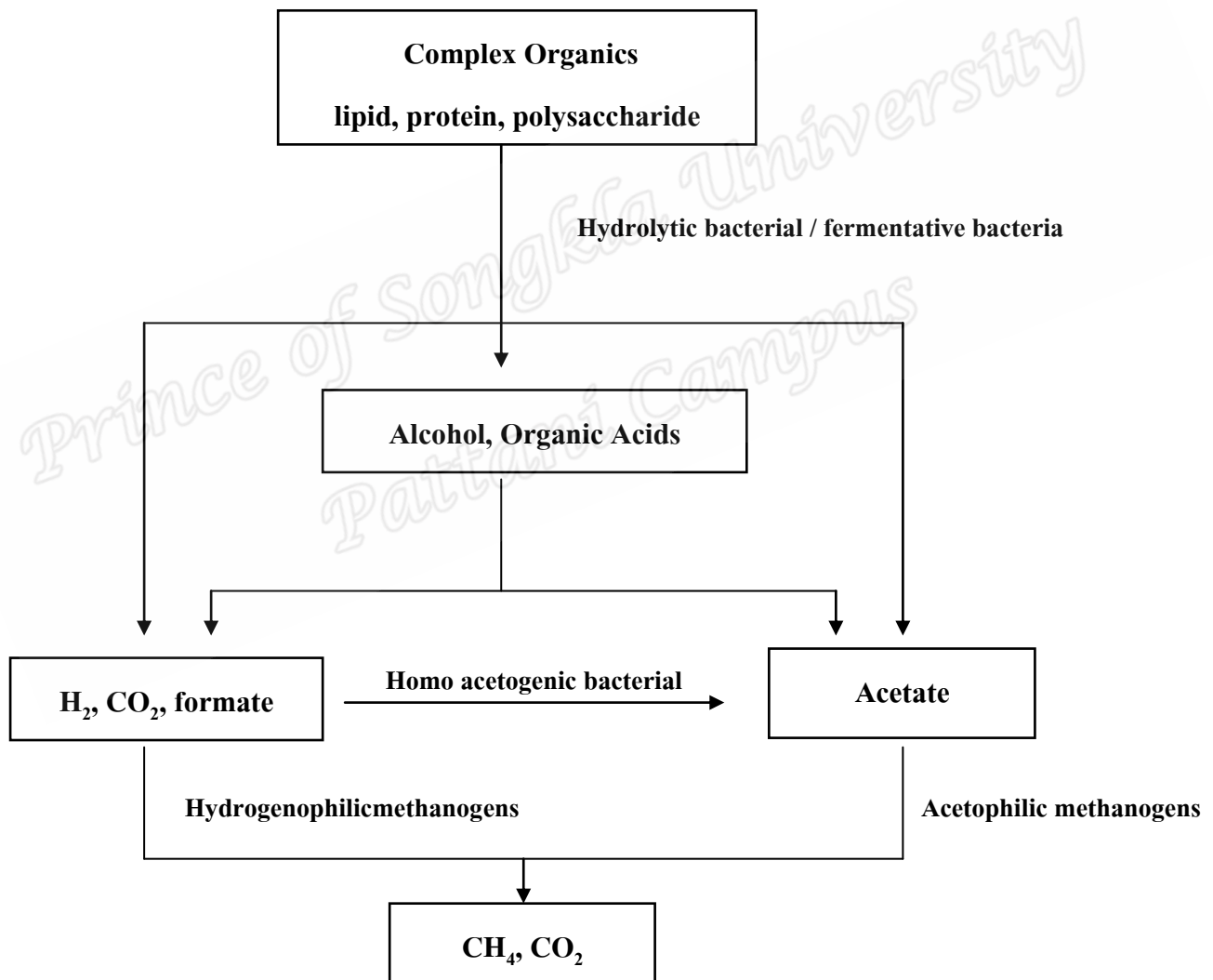
กระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพเกิดในสภาวะที่ไร้อากาศ ซึ่งอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศ หรือไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาชีวเคมีหลายขั้นตอน ประกอบด้วย 4 ปฏิกิริยาหลัก คือ

ขั้นที่ 1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ขั้นที่ 2 ปฏิกิริยาอะซิโดเจเนซิส (Acidogenesis)

ขั้นที่ 3 ปฏิกิริยาอะซิโดเจเนซิส (Acetogenesis)

ขั้นที่ 4 ปฏิกิริยาเมทาโนเจเนซิส (Methanogenesis)



รูปที่ 2.2 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน

(Vergara –Fernandez *et al.*, 2008)

2.3.3.1 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส

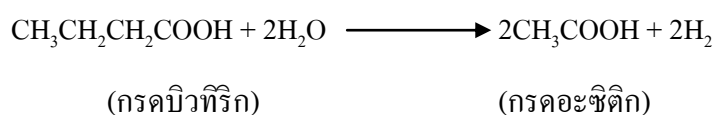
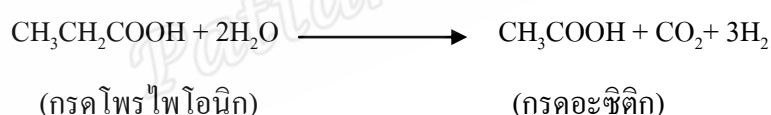
ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นปฏิกริยาที่เปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันอยู่ในรูปที่ไม่ซับซ้อนและละลายได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิกรดไขมัน และกลีเซอรอล เพื่อให้ง่ายต่อการลำเลียงข้ามเยื่อเซลล์ (Cell membrane) ได้ ปฏิกริยาในขั้นนี้จะถูกเร่งปฏิกริยาโดยเอนไซม์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular enzymes) ของ จุลินทรีย์พวกไฮโดรไลติกแบคทีเรีย (Hydrolytic bacteria) อย่างไรก็ตามยังมีเอนไซม์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องอีก ได้แก่ เซลลูเลส (Cellulases) อะไมเลส (Amylases) โปรตีเอส (Proteases) โดยเอนไซม์เหล่านี้สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียที่เกิดการหมัก (Fermentative bacteria) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของ ปฏิกริยาขั้นถัดไป อย่างไรก็ตามการย่อยสลายในขั้นตอนนี้เป็นไปได้ช้าและมีจำกัดในการย่อยสลายสารบางชนิดเช่น พวกเซลลูโลสที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ที่ถูกปล่อยซึ่งเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจะเลือกชนิดของปฏิกริยา ชนิดของสารที่เข้าทำปฏิกริยา รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์และเอนไซม์ อุณหภูมิ การสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น

2.3.3.2 ปฏิกริยาอะซิโดเจเนซิส

ปฏิกริยาอะซิโดเจเนซิส (Acidogenesis) เป็นปฏิกริยาที่อาศัยแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ กรดอะมิโนและน้ำตาลถูกย่อยสลาย โดยปฏิกริยาการหมัก (Fermentation) ซึ่งสารอินทรีย์จะทำหน้าที่เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนผลผลิตหลักในปฏิกริยานี้คือ สารกลางที่จะถูกย่อยสลายได้ต่อไป (Intermediary degradative products) ได้แก่ กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) กรดบิวทริก (Butyric acid) และสารตั้งต้นโดยตรงของมีเทน (Direct methane precursors) ได้แก่ กรดอะซิติก (Acetic acid) และแก๊สไฮโดรเจน ผลผลิตของแก๊สไฮโดรเจนจากปฏิกริยาการหมักมีเพียงเล็กน้อย ซึ่งได้มาจากการปล่อยไฮโดรเจนออก (Dehydrogenation) ของไพรวาท นอกจากนี้ผลผลิตของปฏิกริยานี้ได้แก่ แอลกอฮอล์ และคีโตนเช่น เอทานอล เมทานอล กลีเซอรอล อะซิโตน อะซิเตด คาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในปฏิกริยานี้เรียกว่า อะซิโดจีนิกแบคทีเรีย (Acidogenic bacteria) ได้แก่ obligate และ facultative anaerobes

2.3.3.3 ปฏิริยาอะซิโตเจเนนิซิส

ปฏิริยาอะซิโตเจเนนิซิส (Acetogenesis) เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนกรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid) ได้แก่ กรดโพรไพโอนิก กรดบิวทริก และแอลกอฮอล์ ไปเป็นอะซิเตต ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการทำงานของอะซิโตจีนิกแบคทีเรีย (Acetogenic bacteria) หรือแบคทีเรียที่สร้างอะซิเตตและไฮโดรเจน (Acetate and H₂-producing bacteria) ได้แก่ *Syntrobacter wolinii* และ *Syntrophomonas wolfei* แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการความดันไฮโดรเจนต่ำ (Low hydrogen tensions) สำหรับการเปลี่ยนรูปของกรดไขมันระเหย กรณีที่มีความดันไฮโดรเจนค่อนข้างสูง การเกิดอะซิเตตจะลดลงและ ไซบัสเตรตจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดโพรไพโอนิก กรดบิวทริก และเอทานอลมากกว่ามีเทน อะซิโตจีนิกแบคทีเรียและเมทาโนเจน (แบคทีเรียที่สร้างมีเทน) จะมีความสัมพันธ์ที่เอื้อกัน เมทาโนเจนจะช่วยให้เกิดความดันไฮโดรเจนต่ำสำหรับอะซิโตจีนิกแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามอะซิโตจีนิกแบคทีเรียเจริญเร็วกว่าแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนเจนมาก การทำงานของอะซิโตจีนิกแบคทีเรียเกิดขึ้นโดยปฏิริยาต่อไปนี้



ปฏิริยาอะซิโตเจเนนิซิสถือได้ว่าเป็นปฏิริยาที่สำคัญในการหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดการสะสมของกรดไขมันระเหย และแก๊สไฮโดรเจน ในปริมาณที่สูงพอที่จะยับยั้งปฏิริยาในขั้นต่อไป

2.3.3.4 ปฏิกริยาเมทาโนเจนนิซิส

ปฏิกริยาเมทาโนเจนนิซิส (methanogenesis) เป็นปฏิกริยาการสร้างแก๊สมีเทน (CH_4) โดยแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนเจน (Methanogens) ซึ่งมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่มีรูปร่างต่าง ๆ กัน แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญเติบโตได้ช้ามากในน้ำเสีย โดยมีเวลาที่ใช้เพื่อที่จะให้ประชากรของจุลินทรีย์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าซึ่งเรียกว่า generation time หรือ doubling time อยู่ที่ 3 วัน

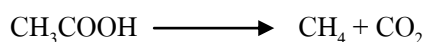
(ที่ $35\text{ }^{\circ}\text{C}$) และ 50 วัน (ที่ $10\text{ }^{\circ}\text{C}$) เมทาโนเจน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

ก) ไฮโดรจิโนโทรฟิค เมทาโนเจน (Hydrogenotrophic methanogens) เป็นแบคทีเรียที่ใช้ไฮโดรเจน (Chemolithotrophs) ซึ่งเปลี่ยนไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นมีเทน เรียกปฏิกริยานี้ว่า รีดักชันของคาร์บอน ไดออกไซด์ (Reduction of CO_2)



เมทาโนเจนจะช่วยรักษาระดับความดันไฮโดรเจนให้อยู่ในระดับต่ำ ซึ่งจำเป็นสำหรับการเปลี่ยนกรดระเหยได้ และแอลกอฮอล์ไปเป็นอะซิเตต

ข) อะซีโตโทรฟิคเมทาโนเจน (Acetotrophic methanogens) หรืออะซีโตคลาสติก เมทาโนเจน (Acetoclastic methanogens) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เปลี่ยนรูปอะซิเตตให้เป็นมีเทนและคาร์บอน ไดออกไซด์ เรียกปฏิกริยานี้ว่า ปฏิกริยาอะซีโตคลาสติก (Acetoclastic reaction)



แบคทีเรียกลุ่มนี้โตช้ามากโดยใช้เวลา 2-3 วัน ในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า ขณะที่เมทาโนเจนกลุ่มที่สร้างกรดมี 2-3 ชั่วโมงเท่านั้นในการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า แบคทีเรียกลุ่มอะซีโตคลาสติกนี้แบ่งออกเป็น 2 จินัส คือ เมทาโนซาร์ริชานา (Methanosarcina) และเมทาโนทริกซ์ (Methanotrix) แก๊สมีเทนที่เป็นผลผลิตจากการเปลี่ยนรูปของอะซิเตตจะมีถึงสองในสามของแก๊สมีเทนที่สร้างได้ทั้งหมด อีกหนึ่งในสามส่วนได้จากปฏิกริยารีดักชันของคาร์บอนไดออกไซด์โดยไฮโดรเจน

2.3.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลในการผลิตแก๊สชีวภาพ

ปัจจัยที่มีผลต่อระบบสามารถจำแนกออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

- ก) ปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อม ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ความเป็นด่าง สารพิษ สารยับยั้ง
- ข) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเดินระบบ ได้แก่ การกวนผสม อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ และระยะเวลาที่เก็บ

2.3.4.1 พีเอช

แบคทีเรียสร้างแก๊สมีเทน (Methanogens) จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมากที่สุด โดยขั้นตอนการเกิดแก๊สชีวภาพจะเกิดได้ดีที่พีเอช 6.8 – 7.2 และควบคุมระบบให้มีค่าพีเอชในช่วงดังกล่าว (Yadvika *et al.* 2004) ทั้งนี้ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อพีเอชมีค่าต่ำกว่า 6.2 ในขณะที่แบคทีเรียชนิดที่สร้างกรด (Acidogens) สามารถอาศัยอยู่ในสภาพที่พีเอชระหว่าง 5.0-8.0 นอกจากนี้พีเอชยังส่งผลทางอ้อมต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน โดยจะส่งผลกระทบต่อความเข้มข้นหรือ อีออนของสารต่างๆ เช่น กรดไขมันระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid) แอมโมเนีย (NH_3) และไฮโดรเจน (H_2S) ซึ่งจะมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียที่แตกต่างกัน

2.3.4.2 อุณหภูมิ

ช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แบบไร้อากาศสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วง คือ

ก) ช่วงเมโซฟิลิก (Mesophilic period) จะมีอุณหภูมิประมาณ 30-40 °C โดยแบคทีเรียที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ เรียกว่า Mesophilic bacteria

ข) ช่วงเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic period) จะมีอุณหภูมิประมาณ 45-55 °C โดยแบคทีเรียที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ เรียกว่า Thermophilic bacteria

โดยทั่วไปในช่วงเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรียจะมีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์และการผลิตแก๊สชีวภาพที่สูงกว่าในช่วงเมโซฟิลิก เนื่องจาก เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์จะเร็วขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิเพิ่มสูงเกินไป เกินกว่าที่เซลล์ทำงานได้ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และส่วนประกอบของเซลล์หลายส่วนจะถูกทำลายจนไม่อาจกลับคืนสภาพได้ การเพิ่มอุณหภูมิจึงเพิ่มการทำงานและการเจริญเติบโต

ของเซลล์ได้จนถึงระดับหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านั้น การทำงานและการเจริญเติบโตจะลดลงเป็นศูนย์อย่างรวดเร็ว

2.3.4.3 สารพิษและสารยับยั้งปฏิกิริยา

สารที่มีพิษต่อแบคทีเรียในระบบไร้อากาศ โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างมีเทนมีหลายชนิด ระดับความรุนแรงขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารเหล่านั้น สารพิษบางตัวเป็นสารอาหารที่จำเป็น แต่ต้องมีปริมาณที่เหมาะสม ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะกลายเป็นพิษได้

ก) **อ็อนบวก** อ็อนบวกในน้ำเสียที่อาจเป็นพิษต่อแบคทีเรีย ได้แก่ โซเดียมอ็อน ไบเตรสเซียมอ็อน แมกนีเซียมอ็อน และแคลเซียมอ็อน อ็อนเหล่านี้ถ้ามีความเข้มข้นที่เหมาะสมจะเป็นประโยชน์ต่อแบคทีเรีย แต่ถ้าความเข้มข้นสูงเกินไปก็จะเริ่มเป็นพิษต่อแบคทีเรีย โดยเฉพาะ อ็อนบวกที่มีวาเลนซ์สูงขึ้นไป แต่ความเข้มข้นของอ็อนบวกที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนยังไม่เป็นที่แน่นอนว่าเกิดที่ใด ความเข้มข้นเท่าใด มีรายงานถึงความเข้มข้นของโซเดียมที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 % อยู่เป็นจำนวนมาก โดยค่าความเข้มข้นในงานเหล่านั้นมีค่าระหว่าง 6-40 กรัมต่อลิตร

ข) **โลหะหนัก** โลหะหนักที่เป็นพิษต่อแบคทีเรีย ได้แก่ แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) แคดเมียม (Cd) นิกเกิล (Ni) โคบอลต์ (Co) ทองแดง (Cu) และโครเมียม (Cr) โลหะหนักเหล่านี้จะอยู่ในรูปของอ็อน พบว่าลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักจะเรียงตามลำดับดังนี้ ทองแดง เหล็ก แคดเมียม และสังกะสี ความเป็นพิษของโลหะหนักสามารถลดลงได้ ถ้าน้ำเสียนั้นมีปริมาณซัลไฟด์ที่เหมาะสม เนื่องจากซัลไฟด์ (S^{2-}) สามารถรวมตัวกับโลหะหนัก เกิดเป็นเกลือของโลหะหนักซึ่งสามารถตกตะกอน และไม่ละลายน้ำ

ค) **แอมโมเนีย** การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะถูกยับยั้งได้เมื่อระบบมีสารประกอบที่เป็นเกลืออินทรีย์และสารประกอบอินทรีย์ที่มีพิษ โดยเฉพาะแอมโมเนีย ซึ่งแอมโมเนียระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนมาจากย่อยสลายสารพวกโปรตีน ซึ่งมีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล โดยไนโตรเจนที่ปล่อยมาจะอยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมอ็อน ดังสมการ



ปริมาณของแอมโมเนียจะสัมพันธ์กับค่าพีเอช เมื่อพีเอชมีค่าประมาณ 7.0 ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะมีประมาณ 1 % ของแอมโมเนียทั้งหมด โดยความเข้มข้นของแอมโมเนียมากขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น สำหรับความเป็นพิษพบว่าแอมโมเนีย (NH_3) จะเป็นพิษมากกว่าแอมโมเนียมอ็อน

(NH_4^+) โดยพบว่าแอมโมเนียจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียเมื่อมีความเข้มข้นมากกว่า 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่แบคทีเรียสามารถทนต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ได้ถึง 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นการรักษาเพื่อทำให้มีค่าประมาณ 7.0 หรือต่ำกว่า ทำให้แอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในรูปของแอมโมเนียไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นพิษต่อระบบน้อยกว่า

2.3.4.4 อัตราการบรรทุกสารอินทรีย์

อัตราการบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic loading rate, OLR) เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน และเป็นตัวแปรสำคัญในการออกแบบระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนอีกด้วย เนื่องจากการเปลี่ยนสารอินทรีย์ในระบบให้กลายเป็นแก๊สมีเทน ต้องมีความเข้มข้นของแบคทีเรียที่เหมาะสมกับปริมาณของสารอินทรีย์ จึงจะทำให้แบคทีเรียมีการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีการป้อนสารอินทรีย์มากเกินไปจะทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ลดลง เนื่องจากแบคทีเรียบางส่วนถูกทำลายไปเพราะสภาพที่ไม่สมดุลในทางตรงข้ามถ้ามีการป้อนสารอินทรีย์เข้าระบบน้อยเกินไป จะทำให้ถังหมักใช้งานไม่เต็ม ประสิทธิภาพไม่คุ้มค่าในการลงทุน และยังส่งผลให้แบคทีเรียในระบบปรับตัวเข้ากับสภาพสารอินทรีย์ที่มีปริมาณต่ำ ซึ่งจะส่งผลให้ระบบล้มเหลวได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามค่าของอัตราการบรรทุกสารอินทรีย์จะแตกต่างกันไปตามธรรมชาติและชนิดของน้ำเสีย ในการเดินระบบให้เหมาะสมกับน้ำเสียที่ใช้ด้วย

2.3.4.5 เวลาพักเก็บ

เวลาพักเก็บในระบบของการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนในที่นี้หมายถึง เวลาพักเก็บแบคทีเรีย (Solid Retention Time, SRT) หรือเวลาพักเก็บของเหลว (Hydraulic Retention Time, HRT) อยู่ในระบบจนกระทั่งหลุดออกจากระบบ ซึ่งการควบคุมระบบนิยมใช้ค่าเวลาการพักเก็บของเหลว (HRT) เนื่องจากคำนวณได้ง่ายกว่า การควบคุมเวลาพักเก็บในการเดินระบบมีความสำคัญเนื่องจากถ้าเวลาพักเก็บยาวนานเกินไปจะทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการก่อสร้าง เพราะต้องใช้ถังหมักขนาดใหญ่ ในทางตรงข้ามหากใช้เวลาพักเก็บสั้นเกินไป แบคทีเรียจะเจริญเติบโตไม่ทัน เกิดการหลุดออกจากระบบจำนวนมาก ซึ่งส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบลดลง การควบคุมเวลาพักเก็บที่เหมาะสมจะช่วยให้แบคทีเรียที่อยู่ในระบบมีปริมาณคงที่ หรือมีปริมาณ

เพิ่มขึ้น ระยะเวลาที่เก็บเป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อมภายในระบบและลักษณะของของเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบ รวมไปถึงชนิดของแบคทีเรียในระบบเป็นสำคัญ

2.3.4.5 การผสม

การผสม (Mixing) ในที่นี้หมายถึงการกวน ถือเป็นสิ่งสำคัญในระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน หลักการสำคัญคือการทำให้อาร์อินทรีย์ในถังหมักอยู่ในสภาพแขวนลอย (Suspension) ดังนั้นเพื่อที่จะทำให้เกิดการสัมผัส (Contact) กันระหว่างสารอาหาร (Substrate) กับจุลินทรีย์ และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบอีกด้วย การกวนนี้จะต้องให้เพียงพอที่จะป้องกันการเกิดการสะสมของสารอาหารตามจุดต่างๆของถังหมัก ทั้งนี้ยังทำให้เกิดของเหลวภายในถังหมักมีสภาพเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenous)

กรรมวิธีในการผสมของเหลวในถังหมักสามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

- ก) การหมุนเวียนสลัดจ์ด้วยปั๊ม (Recycling of sludge by pump)
- ข) สูบอัดแก๊สทางด้านก้นของถังหมัก (Pumping of compressed gas to the bottom of the digester)
- ค) การใช้เครื่องกวน (Mechanical mixing)
- ง) ใช้การสูบผ่านท่อน้ำ (Pumping draft tube)

ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน การหาวิธีที่เหมาะสมและประหยัดที่สุดใน การเลือกเครื่องกวนนั้น จำเป็นต้องศึกษารายละเอียดต่างๆอย่างละเอียด และลึกซึ้ง จากการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายในอัตราสูง (High rate digester) พบว่าความเร็วตามเส้นรอบวง (Circulating Velocity) ที่บริเวณพื้นถังหมัก 1.5 ถึง 3 ฟุตต่อวินาที จะไม่ทำให้เกิดการสะสมของสารต่างๆ สำหรับความเร็วต่ำสุดนั้นจะขึ้นอยู่กับลักษณะของอนุภาค โดยที่ความเร็วที่เหมาะสมควรอยู่ที่ประมาณ 2.5 ฟุตต่อวินาที ถ้าของเหลวที่มีความเข้มข้นสูง การกวนอย่างต่อเนื่องจะมีความสำคัญมาก เพราะในบางครั้งมันเป็นการยากที่จะทำให้สารที่สะสมอยู่ลอยตัวขึ้นมา ส่วนการใช้แก๊สหมุนเวียนผ่านเข้าไปในท่อ สามารถทำได้โดยสูบอัดแก๊สเข้าไปในท่อที่เจาะรูตลอดแนวขนาดเท่าๆกัน ในอัตราที่เพียงพอที่จะกวน (Agitate) ให้ Sewage sludge ลอยตัวขึ้นมาได้ ค่าที่ใช้ในการ ออกแบบคือ ปริมาณแก๊สชีวภาพ 35 ถึง 40 ลิตรต่อนาทีต่อปริมาตรของถังหมัก 1,000 ลิตร

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 การผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่าย

Vergara-Fernández *et al.* (2008) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจากผสมสาหร่าย โดยใช้สาหร่ายชนิดเดียวคือ *Macrocystis pyrifera*, *Durvillea antarctica* และผสมสาหร่ายในอัตราส่วน 1:1 (w/w) โดยใช้ระบบแก๊สชีวภาพที่ประกอบด้วยถังปฏิกรณ์แบบไร้อากาศ 2 ส่วนคือ anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) เชื่อมต่อกับ upflow anaerobic filter (UAF) ในขั้นตอนการหมักจะมีการเติม กลูโคส 1 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นเติมกลูโคส 60 กรัมต่อลิตรต่อวันและ สารสกัดจากยีสต์ (30 กรัม/ลิตร) 50 มล.ในถังปฏิกรณ์ เป็นเวลา 2 วัน ผลการศึกษาปรากฏว่าถัง UAF สามารถตรวจวัดปริมาณแก๊สชีวภาพได้ 70% ของปริมาณแก๊สรวมทั้งหมด และสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดสามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ $180.4(\pm 1.5) \text{ mLg}^{-1} \text{ dry algae d}^{-1}$ และมีปริมาณแก๊สมีเทนร้อยละ 65

Bruhn *et al.* (2011) ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของ *Ulva lactuca* ซึ่งทำการศึกษาในระบบที่แตกต่างกัน 8 ระบบ โดยระบบที่ 1 สาหร่ายจะสับหยาบๆ ระบบที่ 2 สาหร่ายถูกบดจนเปื่อย ระบบที่ 3 สาหร่ายถูกล้างเพื่อเจือจางความเข้มข้นของเกลือและเพื่อกำจัดก้อนกรวดหรือทราย พร้อมทั้งสับหยาบๆ ระบบที่ 4 สาหร่ายถูกล้างเช่นเดียวกับระบบที่ 3 แต่สาหร่ายถูกบดจนเปื่อย ระบบที่ 5 สาหร่ายถูกปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 20 นาที ระบบที่ 6 สาหร่ายถูกปรับสภาพด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 20 นาที ส่วนระบบที่ 7 สาหร่ายถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °C จนน้ำหนักคงที่และบดจนละเอียด ซึ่งทั้งเจ็ดระบบทำการหมักที่อุณหภูมิ 52 °C ส่วนระบบที่ 8 สาหร่ายถูกสับหยาบ ๆ เช่นเดียวกับระบบที่ 1 แต่ทำการหมักที่อุณหภูมิ 37 °C ผลการศึกษาปรากฏว่าการล้างสาหร่ายก่อนป้อนเข้าสู่ระบบไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ แต่การบดจนเปื่อยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพเมื่อเทียบกับสาหร่ายที่สับอย่างหยาบๆ ส่วนการปรับสภาพสาหร่ายด้วยความร้อนไม่ส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 130°C สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพเพียง 7% เมื่อเทียบกับการปรับสภาพที่อุณหภูมิ 110 °C ส่วนสาหร่ายที่ทำให้แห้งก่อนป้อนเข้าสู่ระบบให้ผลไม่แตกต่างกันกับระบบที่ใช้สาหร่ายแบบเปียก ส่วนผลของอุณหภูมิที่ทำการหมักต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ ปรากฏว่าระบบที่ทำการหมักในสภาวะมีโซฟิลิก อุณหภูมิ 37 °C ผลิตแก๊สได้ต่ำกว่าระบบที่หมักในสภาวะเทอร์โมฟิลิก อุณหภูมิ

52 °C ประมาณ 7% การศึกษาครั้งนี้ระบบที่ผลิตแก๊สมีเทนได้สูงที่สุดคือระบบที่ไม่ได้ล้างสาหร่าย แต่บดจนเปื่อยก่อนป้อนเข้าสู่ระบบ โดยสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 271 mL gVS⁻¹

Gurung *et al.* (2012) ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตสาหร่ายจากชีวมวลทางทะเล ได้แก่ สาหร่ายทะเล สาหร่ายสีน้ำตาล สาหร่ายสีเขียว และอวัยวะภายในของปลา ซึ่งทำการศึกษาในระบบแบบกะ ระดับห้องปฏิบัติการ ในสภาวะแบบมีไซฟิสิก อุณหภูมิ 35 °C ระยะเวลาในการหมัก 60 วัน ผลการศึกษาปรากฏว่าสาหร่ายสีเขียวสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้สูงสุดที่ 256±28 mLCH₄ gVS⁻¹ ส่วนสาหร่ายสีน้ำตาลสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 179±35 mLCH₄ gVS⁻¹ โดยสามารถตรวจวัดปริมาณแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพได้ร้อยละ 70 ในสาหร่ายทั้งสองชนิด ส่วนอวัยวะภายในของปลา และสาหร่ายทะเลผลิตแก๊สมีเทนในปริมาณที่ต่ำ โดยผลิตได้ 127±20 และ 102±25 mLCH₄ gVS⁻¹ ตามลำดับมีอัตราการเปลี่ยนแปลงของ TCOD ก่อนและหลังการหมักประมาณร้อยละ 44±15% แสดงว่าต้องใช้เวลาในการหมัก หรือการทำปรับสภาพของชีวมวลทางทะเลให้นานขึ้นเพื่อให้สามารถใช้ TCOD เปลี่ยนเป็นแก๊สมีเทนได้อย่างสมบูรณ์

2.4.2 การผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้ง

Gohil and Nakhla (2006) ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานมะเขือเทศกระป๋อง โดยใช้ระบบ upflow anaerobic sludge blanket (UASB) ซึ่งใช้การบำบัดสองรูปแบบ ได้แก่ UASB-aerobic system and a UASB-anoxic-aerobic และใช้ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ (HRT) 1.75 วัน ปรากฏว่าสามารถกำจัด BOD₅, COD TSS และ NH₄-N ได้ร้อยละ 98.5, 95.6, 84 และ 99.5 ตามลำดับ สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 0.43m³ kg COD⁻¹ removed

Yilmaz, Yuceer and Basibuyuk (2008) ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษในการย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะแบบมีไซฟิสิก อุณหภูมิ 35 °C และ สภาวะแบบเทอร์โมฟิสิก อุณหภูมิ 55 °C ดำเนินการที่ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ (HRT) 6 ถึง 24 ชั่วโมง และใช้อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ 1.07–12.25 gL⁻¹ ต่อวัน ปรากฏว่าเมื่ออัตราการระบรทุกสารอินทรีย์สูงกว่า 8.4 g COD Ld⁻¹ จะไม่ส่งผลประสิทธิภาพการกำจัด COD และประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ ส่วนอัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ในอัตราที่สูง สภาวะแบบเทอร์โมฟิสิกสามารถกำจัด COD ได้ดีกว่าสภาวะแบบมีไซฟิสิกเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มของการผลิตแก๊สชีวภาพที่สภาวะแบบเทอร์โมฟิสิกสามารถกำจัด COD ได้ดีกว่าสภาวะแบบมีไซฟิสิกเช่นเดียวกัน และที่สภาวะแบบมีไซฟิสิกจะตรวจพบการตกค้างของกรดไขมันระเหยได้ในน้ำทิ้งจากระบบที่มีอัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ในอัตราที่สูง

Cavinato *et al.* (2011) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายแบบไร้อากาศสองชั้นตอนของของเสียทางชีวภาพเพื่อผลิตไฮโดรเจนและมีเทน ดำเนินการทดลองในถังปฏิกรณ์ที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (Continuous Stirred Tank Reactor, CSTRs) ในระดับโรงงานนำร่อง ซึ่งไม่มีการปรับสภาพเบื้องต้นของหัวเชื้อทั้งทางเคมีและทางกายภาพ ระหว่างการทดลองการผลิตไฮโดรเจนที่ใช้เวลาในการกักเก็บน้ำที่ต่ำเป็นเวลา 3 วัน ในการทดลองทั้งสองวิธีคือ วิธีที่มีการไหลเวียนของน้ำและวิธีที่ไม่มีการไหลเวียนของน้ำ และอัตราการเติมสารอินทรีย์สองอัตราคือ 16 kgTVS/m³d และ 21 kgTVS/m³d ผลการทดลองที่ดีคือ ในชุดการทดลองที่มีการไหลเวียนของน้ำ การปรับพีเอชของน้ำที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่พีเอช 5.5 พบว่าผลผลิตแก๊สไฮโดรเจนจำเพาะเท่ากับ 51 L kgVS⁻¹_{fed} และมีปริมาณของแก๊สไฮโดรเจน 37% ในแก๊สชีวภาพ สารผสมของแก๊สจากถังปฏิกรณ์ทั้งสองเป็น ไบโอดีเจนที่มีคุณสมบัติที่เป็นไปตามมาตรฐาน ในชุดการทดลองที่มีอัตราการป้อนสารตั้งต้นต่ำมีองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ ดังนี้ H₂ 6.7% CO₂ 40.1% และ CH₄ 52.3% และมีผลผลิตแก๊สจำเพาะทั้งหมดเท่ากับ 0.78 m³ kgVS⁻¹_{fed}

2.4.3 การผลิตแก๊สชีวภาพโดยการผสมรวม (Co-digestion process)

Alvarez and Lidén (2008) ศึกษาความสามารถในการใช้กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนแบบกึ่งต่อเนื่องสำหรับบำบัดของเสียที่เป็นของแข็งจากโรงฆ่าสัตว์ ของเสียจากผักและผลไม้ และมูลสัตว์ในกระบวนการย่อยแบบผสมรวม (co-digestion) ซึ่งทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ขนาดสองลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสในส่วนแรกจะศึกษาผลของอัตราการเติมสารอินทรีย์ (organic loading rate, ORT) โดยใช้อัตราการเติมสารอินทรีย์ในช่วง 0.3-1.3 kg VS m³ d⁻¹ สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 0.3 L kgVS⁻¹ ซึ่งประกอบด้วยแก๊สมีเทน 54-56 % ถ้ามีการเพิ่มอัตราการเติมสารอินทรีย์จะทำให้อัตราการผลิตแก๊สชีวภาพลดลงและจะลดปริมาณแก๊สมีเทน แสดงว่าในถังปฏิกรณ์มีสารอินทรีย์มากเกินไป ในส่วนที่สองศึกษากระบวนการย่อยแบบผสมรวมโดยผสมส่วนผสมในอัตราส่วนที่ต่างกัน 10 สูตร ปรากฏว่ากระบวนการย่อยที่มีการผสมวัตถุดิบจะให้ผลดีกว่าใช้วัตถุดิบเพียงชนิดเดียว ซึ่งสามารถผลิตแก๊สชีวภาพประมาณ 1.1-1.6 L d⁻¹ ประกอบด้วยแก๊สมีเทน 50-57 % หรือสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ประมาณ 0.27-0.35 m³ kgVS⁻¹ และสามารถลดของแข็งระเหยได้ (VS) มากกว่า 50 % จนถึง 67%

Habiba, Hassib and Mortar (2009) ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลการย่อยแบบไร้อากาศแบบผสมรวม (Co-digestion system) ระหว่าง activated sludge (AS) และ ของเสียประเภทเศษผักและผลไม้ (fruit and vegetable waste, FVW) พร้อมทั้งศึกษาอัตราส่วนผสมระหว่าง AS และ FVW อัตราการป้อนสารอินทรีย์ ที่มีผลต่อความสามารถในการย่อย และอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยใช้ anaerobic sequencing batch reactors (ASBRs) โดยอัตราส่วนระหว่าง AS: FVW เป็นดังนี้ 100:00, 65:35, 35: 65 ที่ค่า HRT 20 วัน และอัตราส่วน 30:70, 20:80, 15:85, 10:90 และ 0:100 ที่ค่า HRT 10 วัน ซึ่งปรากฏว่าที่อัตราส่วน 30:70 จะสามารถย่อยสูงสุด 88% และผลิตแก๊สชีวภาพได้สูงสุดคือ 0.57 L gVS^{-1}

El-Mashad and Zhang (2010) ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากมูลวัวนมที่ร้อนและไม่ร้อน ร่วมกับของเสียอาหารเหลือทิ้ง (Food waste) โดยทำการศึกษาในสภาวะแบบมีโซฟิลิก ที่อุณหภูมิ 35°C ในระบบแบบกะ ปรากฏว่าหลังจากการหมัก 30 วัน ระบบที่ใช้มูลวัวในส่วนที่ละเอียด มูลวัวที่หยาบ และมูลวัวที่ไม่ผ่านการร่อน สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 302, 228 และ 241 L kgVS^{-1} ตามลำดับ โดยร้อยละของแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพได้ 93, 87 และ 90 ตามลำดับ ส่วนของเสียจากอาหารสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 353 L kgVS^{-1} เมื่อมีการผสมรวมระหว่างมูลวัวต่อของอาหารเหลือทิ้งในสัดส่วนร้อยละ 68: 32 และ 52: 48 เมื่อหมักได้ 30 วันสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 282 และ 311 L kgVS^{-1} และมีร้อยละของแก๊สมีเทน 62 และ 59 ตามลำดับ

Park and Li (2012) ศึกษาผลของการผสมรวมระหว่างกากสาหร่าย *Nannochloropsis Salina* กับ lipid-rich fat, oil, และ grease waste (FOG) ต่อประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพ และการย่อยสลายของจุลธาตุอาหาร (Micronutrient) ซึ่งศึกษาในระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยทำการผสมรวมกากสาหร่ายกับ FOG ในสัดส่วนร้อยละ 0: 100, 33: 67, 50: 50, 67: 33, 100: 0 ซึ่งมีอัตราการระบรทุกสารอินทรีย์เป็น 2, 3, 4, 6 g VS Ld^{-1} ปรากฏว่าที่การผสมรวมระหว่างกากสาหร่ายกับ FOG ที่สัดส่วน 50: 50 และที่อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ 3 g VS Ld^{-1} สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ $0.54 \text{ L CH}_4 \text{ gVSd}^{-1}$ และเมื่อเทียบกับปริมาณถึงปฏิกรณ์สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ $1.62 \text{ L CH}_4 \text{ Ld}^{-1}$ โดยมีปริมาณมีเทนในแก๊สชีวภาพร้อยละ 68–83 แสดงว่าไขมันมีผลต่อร้อยละแก๊สมีเทน ส่วนอัตราการย่อยสลายของจุลธาตุอาหารในระบบแบบผสมรวม ปรากฏว่าการเพิ่มขึ้นของอัตราการระบรทุกสารอินทรีย์มีส่งผลต่อการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรต และโปรตีน แต่จะส่งผลต่อการย่อยสลายของไขมัน โดยระบบที่มีการผสมรวมระหว่างกากสาหร่ายกับ FOG จะสามารถย่อยสลายไขมันได้ดีกว่าระบบที่ใช้กากสาหร่าย หรือ FOG เพียงอย่างเดียว

Costa et al. (2012) ศึกษาศักยภาพการผลิตสาหร่ายขนาดใหญ่สองชนิด *Ulva spp.* และ *Gracilaria spp.* และระบบที่ผสมรวมกับกากตะกอนแบบเร่ง (Activated aerobic sludge)

โดยผสม *Ulva spp.* กับกากตะกอนผสม (Mixed sludge) ในสัดส่วนร้อยละ 100: 0, 15: 85, 30: 70, 60: 40, 80: 20 และ 0: 100 จากนั้น เลือกสัดส่วนสาหร่ายต่อกากตะกอนผสมที่ร้อยละ 15: 85 โดยเปลี่ยนชนิดของสาหร่ายจากชนิด *Ulva spp.* เป็น *Gracilaria spp.* หลังจากนั้นเปลี่ยนจากกากตะกอนผสมเป็น primary และ secondary sludge ซึ่งทำการศึกษาในสภาวะแบบมีไซฟิติก อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 82 วัน ผลการศึกษาปรากฏว่าที่ร้อยละ 2.5 ของของแข็งทั้งหมด *Ulva sp.* สามารถผลิตแก๊สมีเทนได้มากกว่า *Gracilaria sp.* และ *Enteromorpha sp.* โดยสามารถผลิตได้ 196 ± 9 , 182 ± 23 และ 154 ± 7 L CH₄ kgVS⁻¹ เมื่อมีการผสมรวมระหว่างสาหร่ายกับกากตะกอนปรากฏว่าเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมีเทนได้ 2-3 เท่าเมื่อเทียบกับระบบที่ใช้สาหร่ายเพียงอย่างเดียว

Zhong *et al.* (2012) ศึกษาอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพโดยใช้สาหร่ายสีน้ำเงินจากทะเลสาบ Taihu ได้แก่ *Microcystis spp.* เป็นสปีชีส์หลักและใช้ฟางข้าวโพด (corn straw) เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในการปรับสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนภายในระบบ โดยแปรสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 16, 20 และ 25 ปรากฏว่าสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 20 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพได้ร้อยละ 61.69 เมื่อเทียบกับการใช้สาหร่ายเพียงอย่างเดียว โดยสามารถผลิตได้ 325 mL gVS⁻¹ (สาหร่ายสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 201 mL gVS⁻¹)