การคัดเลือกพันธุ์และการปรับสภาพมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* L. Crantz สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ

นางสาวปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CULTIVAR SELECTION AND PRETREATMENT OF CASSAVA *Manihot esculenta* L. Crantz FOR BIOGAS PRODUCTION

Miss Piyapha Hirunpatrawong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2009
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกพันธุ์และการปรับสภาพมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* L. Crantz สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ
โดย	นางสาวปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

………………………………………….. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…………………………………………… ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)

…………………………………………... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล)

…………………………………………… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป)

…………………………………………… กรรมการ
(อาจารย์ ดร. กิตตินันท์ โกมลภิส)

…………………………………………… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภางค์ จุฬาลักษณานุกูล)

ปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์ : การคัดเลือกพันธุ์และการปรับสภาพมันสำปะหลัง *Manihot esculenta* L. Crantz สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ(CULTIVAR SELECTION AND PRETREATMENT OF CASSAVA *Manihot esculenta* L. Crantz FOR BIOGAS PRODUCTION) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล, 113หน้า.

แก๊สชีวภาพเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกหนึ่งที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้ภาวะไม่ใช้ออกซิเจน โดยปกติวัตถุประสงค์เพื่อการบำบัดของเสียอินทรีย์ และเป็นแหล่งพลังงานทดแทน โดยอาศัยมูลโคเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดสร้างมีเทน และ ใช้หัวมันสำปะหลังดิบเป็นแหล่งคาร์บอนเพราะมีปริมาณแป้งสูง มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาถูก และมีปริมาณมาก เมื่อทำการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลัง พบว่าพันธุ์ห้วยบงมี องค์ประกอบทางกายภาพและเคมี ดังนี้มีปริมาณความชื้น 16.04% แป้ง 70.92% ปริมาณคาร์บอน 37.69% และ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.45% ส่วนมูลโคมีปริมาณความชื้น 81% ค่าบีโอดี 13.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าซีโอดี 125.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่ าของแข็งทั้งหมด 163.3 มิลลิกรัมต่อกรัม และค่าของแข็งระเหยได้ทั้งหมด 108.0 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 7.8 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนทั้งหมด 0.37 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.055 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคิดปริมาณ BOD:N:P เท่ากับ 100:28:4.1 และเมื่อคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในมันสำปะหลังจะได้เป็น 84:1 ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ ดังนั้นจึงเติมยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน เพื่อรักษาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้เหมาะสม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้มูลโคและยูเรียที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นมูลโคและยูเรียที่ เหมาะสมสำหรับกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ คือ 10% และ 0.08% ตามลำดับ ในการทดสอบการหมักในถังหมักขั้นตอนเดียวขนาด 3 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 $^{\circ}$C) เป็นเวลา 30 วัน โดยดูการเปลี่ยนแปลงของซีโอดี น้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และแก๊สที่เกิ ดขึ้น เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus awamori* ที่ความเข้มข้นของมันสำปะหลังต่างๆกันโดยดูจากประสิทธิภาพในการย่อย พบว่า ความเข้มข้นมันสำปะหลังที่ 2% น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งสามารถผลิตแก๊สชีวภาพโดยเฉลี่ย 0.64 ลิตรต่อวัน ให้ปริมาณมีเทนสูงสุด 34.8% ในวันที่ 26 ที่ค่าความเป็นกรดด่างของระบบ 4.2 – 7.5 ส่วนในภาวะที่ไม่มีการเติมเชื้อรา *A. awamori* พบว่า สามารถผลิตแก๊สชีวภาพโดยเฉลี่ย 1.03 ลิตรต่อวัน และ มีปริมาณมีเทนสูงสุด 54.6% ในวันที่ 30 ที่ค่าความเป็นกรดด่างของระบบ 7.1 – 8.0

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต..................

ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..................

5072365323 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORDS : BIOGAS/ PRETREATMENT/ ANAEROBIC DIGESTION/ CASSAVA *Manihot esculenta* L. Crantz/

PIYAPHA HIRUNPATRAWONG: CULTIVAR SELECTION AND PRETREATMENT OF CASSAVA *Manihot esculenta* L. Crantz FOR BIOGAS PRODUCTION. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL, Ph.D., 113 pp.

Biogas has been an alternative source of energy, which is generated from organic digestion under anaerobic conditions. Normally the objective was for organic waste treatment and also for an alternative source of energy. Seed culture was prepared from cow dung which contained a methanogenic microorganism. Cassava was a good carbon source, because it contained high content of starch. It is cheap and is an abundant agricultural product. When selecting varieties of cassava. Huay Bong revealed that the physical and chemical compositions of cassava were elucidated to be of 16.04% of moisture content, 70.92% of starch, 37.69% of total carbon and 0.45% of total nitrogen. Cow dung contained 81% of moisture, 13.2 mg/g of BOD, 125.5 mg/g of COD, 163.3 mg/g of total solid, 108.0 mg/g of total volatile solid, 7.80% of total carbon and 0.37% of total nitrogen. The calculated BOD to Nitrogen to Phosphorus is 100:28:4.1. The ratio of carbon to nitrogen was calculated to be 84:1 which was not suitable for biogas production. Therefore, in order to maintain the appropriated C/N ratio, urea was used as nitrogen source adding to the system. In this study, using cow dung and urea at different concentrations showed that concentrations of cow dung and urea at Suitable for biogas production was 10% and 0.08% respectively. The fermentation process was performed at room temperature (approximately 30˚C) for 30 days in 3 liters of single stage bioreactor. Changing of COD value, reducing sugar, Total carbohydrate and total gas were analysis. The suitable concentration of cassava on growth of *Aspergillus awamori* was also studied. The results found that concentrations of cassava were 2% w/v was the optimum concentration for growth of fungi, which could produce average biogas of 0.64 liters/day at maximum methane content of 34.8% in 26 days of fermentation at pH of 4.2-7.5. In conditions without adding *A. awamori*, the result revealed that the average amount of biogas was 1.03 liters/day of maximum methane concentration of 54.6% in 30 days of fermentation at pH of 7.1-8.0.

Field of Study : Biotechnology Student's Signature ....

Academic Year : 2009 Advisor's Signature ....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความสนับสนุ น และช่วยเหลือ จาก รองศาสตราจารย์ ดร. วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือและตรวจทานรายละเอียดต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์เสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร . ปรีดา บุญ- หลง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป อาจารย์ ดร. กิตตินันท์ โกมลภิส และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร . สุภางค์ จุฬาลักษณานุกูล ที่กรุณาสละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมให้ข้อเสนอแนะ รวมถึงข้อคิดเห็นที่มีส่วนสำคัญในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่มีส่วนสำคัญ ในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ดร. นุษรา สินบัวทอง นักวิทยาศาสตร์หัวหน้างานวิเคราะห์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่ดี และเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบคุ ณสมโภชน์ อาหุนัย ประธานกรรมการบริหารและกรรมการ บริษัท พลังงานบริสุทธิ์ จำกัด (มหาชน) ที่คอยให้การสนับสนุนและคำปรึกษาตลอดการทดลอง

นอกจากนี้ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ในหน่วยปฏิบัติการวิจัยการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ ที่คอยเอื้อเฟื้อ และช่วยเหลือ ตลอดการทำงานวิจัย

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่คอยให้ความรัก และกำลังใจ และความห่วงใยเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..จ
กิตติกรรมประกาศ...ฉ
สารบัญ..ช
สารบัญตาราง...ฎ
สารบัญภาพ..ฏ

บทที่ 1 บทนำ...1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา...1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..2
ขอบเขตของการวิจัย...2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ...3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง...4
2.1 แก๊สชีวภาพ..4
2.1.1 องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ..4
2.1.2 อัตราการเกิดแก๊สชีวภาพ..6
2.1.3 ระยะเวลาในการเกิดแก๊สชีวภาพ..7
2.1.4 พลังงานจากแก๊สชีวภาพ..7
2.2 หลักการพื้นฐานของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน.......................................9
2.2.1 กลไกการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน...9
2.2.2 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน..9
2.2.3 การย่อยสลายแบบไม่มีการสร้างแก๊สมีเทน..10
2.2.4 กระบวนการย่อยสลายที่มีการสร้างมีเทน...13
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน..13
2.3.1 อุณหภูมิ...14
2.3.2 พีเอช..15
2.3.3 สารอาหาร..16
2.3.4 สารอินทรีย์...16
2.3.5 อัตราส่วนของวัตถุดิบ และ น้ำ..16

หน้า

2.3.6 ชนิดของแบคทีเรีย………………………………………………………... 17
2.3.7 สารพิษและสารยับยั้งปฏิกิริยา………………………………………… 18
2.3.8 ธาตุอาหารเสริมประเภทโลหะบางชนิด……………………………..... 24
2.3.9 การกวน………………………………………………………………… 24
2.4 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์………………………………...25
2.4.1 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์…………………………………………….. 25
2.4.2 การกวนผสมในถังปฏิกรณ์……………………………………………..26
2.4.3 ความลาดชันความเร็ว………………………………………………….28
2.5 วัตถุดิบในการผลิต…………………………………………………………………32
2.5.1 มันสำปะหลัง…………………………………………………………... 32
2.5.2 มูลปศุสัตว์………………………………………………………………36
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง…………………………………………………………………...37
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย…………………………………….43
วัสดุอุปกรณ์………………………………………………………………………………… 43
สารเคมี……………………………………………………………………………………….44
3.1 ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย…………………………………………….. 45
3.1.1 การเก็บตัวอย่างมันสำปะหลัง………………………………………… 45
3.1.2 การเตรียมตัวอย่างมันสำปะหลัง…………………...............……. 45
3.2 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมันสำปะหลังและมูลโค……………………..…… 45
3.2.1 การวิเคราะห์หาคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพ
ของมันสำปะหลัง.. 45
3.2.2 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมูลโค... 45
3.3 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง……………………………………………………...…46
3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น... 46
3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์………………………………..…46
3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณซีโอดี…………………………………………….. 47
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด…………………………....47
3.4 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ…………………………………….. 48
3.4.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ... 48
3.4.2 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์... ... 48

หน้า

3.4.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์..50
3.4.4 การวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์ของจุลินทรีย์....................................50
3.5 การศึกษาการย่อยสลายมันปะหลัง..51
3.5.1 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยกระบวนการทางเคมี...............................51
3.5.2 การย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพ.......................................51
3.5.3 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์
เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์..51
3.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง............52
3.6.1 ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยมันสำปะหลัง........................52
3.6.2 ปริมาณความเข้มข้นมูลโค..52
3.6.3 ปริมาณความเข้มข้นยูเรีย..52
3.7 ศึกษาการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและวัดปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น.....................53
3.7.1 ออกแบบถังหมักระบบปิดสำหรับการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน 53
3.7.2 การผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมักมันสำปะหลังแบบไม่ใช้ออกซิเจน....53
แผนผังสรุปวิธีการทดลอง...56
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..57
4.1 ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย...57
4.2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างมันสำปะหลัง...58
4.2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น..58
4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์...59
4.2.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณซีโอดี..60
4.3 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมันสำปะหลังและมูลโค..........................61
4.3.1 ผลการวิเคราะห์หาคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพ
ของมันสำปะหลัง..61
4.3.2 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมูลโค..63
4.4 ผลของชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ...................................65
4.5 ผลการศึกษาการย่อยสลายมันปะหลัง..66
4.6 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง.........71
4.6.1 ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยมันสำปะหลัง........................71
การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *A. awamori* และ *A. Niger*...............71

หน้า

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* และ *B. Cereus*…………...72
4.6.2 ผลของปริมาณความเข้มข้นมูลโคที่เหมาะสม…..……………………..74
4.6.3 ผลของปริมาณความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสม……………………….. 77
4.7 การศึกษาการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและวัดปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น……………. 81
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ... ...87
5.1 สรุปผลการทดลอง.. ...87
5.2 ข้อเสนอแนะ.. ...88
รายการอ้างอิง……………………………………………………………………………89
ภาคผนวก…………………………………………………………………………………101
ภาคผนวก ก วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ…………………………………………102
ภาคผนวก ข วิธีการเตรียมสารเคมี…………………………………………………103
ภาคผนวก ค วิธีการวัดแอกทิวิตีเอนไซม์………………………………………… 105
ภาคผนวก ง กราฟมาตรฐาน.. 106
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์... 113

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ.. 5
ตารางที่ 2.2 การกำจัดแก๊สที่ไม่ต้องการ... 5
ตารางที่ 2.3 ค่าสัมประสิทธิ์สำหรับการเพิ่มขึ้นของเซลล์แบคทีเรียการย่อยสลายตัวของแบคทีเรียในช่วงเอ็นโอจีนัสสำหรับแบคทีเรียในถังหมักแบบไร้ออกซิเจน............7
ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของแก๊สมีเทน...8
ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นของอิออนบวกที่กระตุ้นและยับยั้งปฏิกิริยา................................. 19
ตารางที่ 2.6 ชนิดของไอออนที่เพิ่มความเป็นพิษและชนิดของอิออนที่เสริมความเป็นพิษในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา.. 19
ตารางที่ 2.7 ชนิดของไอออนที่เพิ่มความเป็นพิษและชนิดของอิออนที่ช่วยลดความเป็นพิษในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา... 20
ตารางที่ 2.8 ประเภทของโลหะหนักที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน...................21
ตารางที่ 2.9 ความเข้มข้นของโลหะหนักที่สามารถยับยั้งการทำงานของระบบ......................21
ตารางที่ 2.10 ระดับความเป็นพิษของแอมโมเนียมต่อระดับอิออน....................................22
ตารางที่ 2.11 ค่า ΔG° ในปฏิกิริยาการรีดิวซ์ซัลเฟตและสร้างมีเทน.................................... 23
ตารางที่ 2.12 ค่า K_L ของใบกวนที่มีการติดตั้งภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์....................... 31
ตารางที่ 2.13 ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังสดและแห้ง ส่วนประกอบ............... 35
ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางกายภาพของถังหมักขนาด 3 ลิตร..54
ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองการหมักแก๊สชีวภาพ... 55
ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง.................62
ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างมูลโคสด...............................64
ตารางที่ 4.3 ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อจุลินทรีย์ (ยูนิต/มิลลิลิตร)...................65
ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบปริมาณ ซีโอดี ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลาย และผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ...67
ตารางที่ 4.5 มันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลายเปรียบเทียบปริมาณ ซีโอดี ในแต่ละวัน...........70

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ……… 10
ภาพที่ 2.2 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่มีการกวนในแนวนอนและแนวตั้ง.................................... 26
ภาพที่ 2.3 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่มีการใช้ใบพัดในการกวนผสม………………………….. 26
ภาพที่ 2.4 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่มีการใช้การสูบน้ำเสียหมุนเวียนภายในถังปฏิกรณ์……. 27
ภาพที่ 2.5 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่อาศัยแก๊สที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์เป็นตัวกวนผสม…. 28
ภาพที่ 2.6 ความลาดชันความเร็ว…………………………………………………………... 28
ภาพที่ 2.7 ชนิดของใบกวนและลักษณะการไหลของน้ำภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์...........30
ภาพที่ 3.1 ลักษณะของเชื้อรา *A. awamori* อายุ 7 วันบนอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA…………... 48
ภาพที่ 3.2 ลักษณะของเชื้อรา *A. niger* อายุ 7 วันบนอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA……………. 49
ภาพที่ 3.3 ลักษณะของเชื้อ *B. cereus* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NA และ NB ตามลำดับ…………………...……………… 49
ภาพที่ 3.4 ลักษณะของเชื้อ *B. subtilis* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NA และ NB ตามลำดับ…………………...……………... 50
ภาพที่ 3.5 แสดงภาพถังหมักแบบขั้นตอนเดียว (Single-stage digester).................................53
ภาพที่ 3.6 แผนผังรวมการทดสอบผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง……………………….... 56
ภาพที่ 4.1 มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง……………………………………………………….. 57
ภาพที่ 4.2 มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์-60…………………………………………….. 57
ภาพที่ 4.3 มันสำปะหลังพันธุ์ซัดดัม……………………………………………………… 58
ภาพที่ 4.4 มันสำปะหลังพันธุ์เขี้ยวปลดหนี้.. 58
ภาพที่ 4.5 ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์................................ 59
ภาพที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์……………. 60
ภาพที่ 4.7 ปริมาณซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์..............................61
ภาพที่ 4.8 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในแต่การย่อยสลายของจุลินทรีย์
เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์……………………..……………………………69
ภาพที่ 4.9 อัตราการเจริญเติบโตของรา *A. awamori* ที่เจริญในอาหารเหลว PDB เทียบกับ
ความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6% เป็นเวลา 24 วัน
โดยเก็บน้ำหนักแห้งทุกๆวัน…………………………………………………..……… 71
ภาพที่ 4.10 อัตราการเจริญเติบโตของรา *A. niger* ที่เจริญในอาหารเหลว PDB เทียบกับ
ความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6% เป็นเวลา 24 วัน

หน้า

โดยเก็บน้ำหนักแห้งทุกๆวัน.. 72
ภาพที่ 4.11 อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. cereus* ที่เจริญในอาหารเหลว NB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6% เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยดูค่าการดูดกลืนแสงทุก 2 ชั่วโมง.. 73
ภาพที่ 4.12 อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เจริญในอาหารเหลว NB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6% เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยดูค่าการดูดกลืนแสงทุก 2 ชั่วโมง.. 73
ภาพที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีในมูลโคแต่ละความเข้มข้น.. 75
ภาพที่ 4.14 เปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีในมูลโคแต่ละความเข้มข้น.. 75
ภาพที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในมูลโคแต่ละความเข้มข้น.........76
ภาพที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในมูลโคแต่ละความเข้มข้น....................77
ภาพที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีในมูลโคเข้มข้น 10% และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.. 78
ภาพที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในมูลโคเข้มข้น 10% และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน...79
ภาพที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในมูลโคเข้มข้น 10% และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน...80
ภาพที่ 4.20 แก๊สชีวภาพภายใต้ถังหมักแบบกะขั้นตอนเดียว
(ก) มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์.. 82
(ข) มูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์..82
(ค) มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์........ 83
(ง) มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์.. 83
(จ) มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *A.awamori*.. 84
(ฉ) มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *A.awamori* และยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์.....................................84

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีความตื่นตัวในเรื่องการใช้พลังงานทดแทน เช่น พลังงานชีวภาพ ซึ่งเป็นพลังงานที่สะอาด เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีอยู่โดยทั่วไปในท้องถิ่น มีความเหมาะสมในปัจจัยด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นทางด้านเทคนิค เศรษฐกิจ และสังคม แก๊สชีวภาพ (Biogas) ที่เกิดจากการย่อยสลายในภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digester) โดยย่อยสารอินทรีย์ด้วยแบคทีเรียย่อยสลาย (biodegradable) สารอินทรีย์ ได้ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้เป็นแก๊สชีวภาพ ซึ่งประกอบด้วย แก๊สมีเทน (50-80 เปอร์เซ็นต์) แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (20-50 เปอร์เซ็นต์) และแก๊สชนิดอื่นๆ เช่น แก๊สไฮโดรเจน , แก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์, แก๊สไนโตรเจน, แก๊สออกซิเจน และแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น แก๊สมีเทนบริสุทธิ์สามารถให้ค่าความร้อนถึง 38,130.71 กิโลจูลต่อตารางเมตร ส่วนแก๊สชีวภาพที่มีสัดส่วนของแก๊สมีเ ทน 65 เปอร์เซ็นต์สามารถให้ค่าความร้อนประมาณ 22,400 กิโลจูลต่อตารางเมตร (Tchobanoglous และคณะ, 2003)

ส่วนมันสำปะหลังเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก และยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ โดยมียอดการส่งออกเป็นอันดับที่ 1 ของโลก ทั้งนี้มีพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศประมาณ 7 ล้านไร่และมีการเพาะปลูกในทุกภูมิภาคของประเทศ โดยมีผลผลิตรวม 28 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 3.7 ตันต่อไร่ เกษตรกรไทยถึง 5 แสนรายมีอาชีพปลูกมันสำปะหลัง ปัญหามันสำปะหลังที่พบคือ ผลผลิตล้นตลาด ถึงแม้บางปีผลผลิตที่เกิดขึ้นจะลดลง แต่ก็ยังคงอยู่ในระดับที่สูงและมีราคาต่ำ เนื่องจากเกษตรกรมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเวลาเดียวกัน ส่งผ ลให้ราคามันสำปะหลังลดต่ำลง ถึงแม้ในอดีตที่ผ่านมา ทางภาครัฐและภาคเอกชนจะพยายามแก้ไขปัญหา ไม่ว่าจะเป็นในด้านการผลิต การตลาด หรือแม้กระทั่งการแปรรูป เพื่อยกระดับราคาให้สูงขึ้น แต่ปัญหาด้านจำนวนที่มีอยู่มากนั้นก็ไม่สามารถแก้ไขได้ แต่เนื่องจากหัวมันสำปะหลังสดมีส่วนประกอบหลักคือ แป้งอยู่ในปริมาณ 60 ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำให้หัวมันสำปะหลังแห้งจะมีความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแป้งอยู่ 70 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Sriroth และ Piyachomkwan, 2003) ดังนั้นการนำมันสำปะหลังมาเป็นวัตถุดิบร่วมกับมูลโคในการผลิตแก๊สชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งในการนำมาใช้ภายในประเทศเราเพื่อลดภาวะพึ่งพิงพลังงานจากต่างประเทศ นอกจากนี้ยังได้ประโยชน์จากกากที่ย่อยแล้วสามารถนำกลับมาทำเป็นปุ๋ยได้อีก ทั้งนี้อุณหภูมิภายในประเทศก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรีย

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำมันสำปะหลังมาทำการย่อยและหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยทำการทดลองศึกษาหาพันธุ์ที่เหมาะสมต่อกระบวนการย่อยและหมัก และหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมและหมัก เพื่อให้ได้แก๊สชีวภาพในปริมาณสูง

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังซึ่งย่อยสลายง่ายเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ

2. เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการหมักมันสำปะหลังแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ขอบเขตของการวิจัย

1.การศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง โดยทำการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลัง 4 พันธุ์ที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุดิบโดยดูจากพื้นที่การเพาะปลูก และองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพต่างๆในหัวมันสำปะหลัง

2.ศึกษาวิธีการปรับสภาพที่เหมาะสมในการย่อยสลายมันสำปะหลัง แล้วปรับด้วยวิธีการทางเคมีและทางชีวภาพ ทำการทดลองในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในแต่ละการทดลอง

3.ศึกษาการย่อยสลายมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus awamori* เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

4.ศึกษาการปรับค่าอัตราส่วนคาร์บอน และไนโตรเจนให้เหมาะสม โดยใช้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ

5.ศึกษาหาความเข้มข้นของน้ำมันสำปะหลัง และความเข้มข้นของมูลโคที่เหมาะสม

6.ใช้การหมักด้วยกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทดลองในระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เครื่องมือในการบำบัดคือ ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 เซนติเมตร สูง 24 เซนติเมตร ความจุของถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ประมาณ 4.5 ลิตร และภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ติดตั้งใบพัดสำหรับกวนในระบบ โดยใช้เกียร์บล็อกซ์มอเตอร์ (Gear-Box Motor) เป็นตัวควบคุมใบพัดเพื่อการกวน ใช้ความเร็วรอบในการปั่นกวน 100 รอบต่อนาที และมีระนาบการกวนในแนวตั้ง

7.ทำการทดลองการหมักทุกขั้นตอนการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ป ระมาณ 30±2 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการเดินระบบในแต่ละครั้งประมาณ 30 วัน

8.ตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของซีโอดี น้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ปริมาณแก๊สชีวภาพ และปริมาณมีเทนในแก๊สชีวภาพ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ได้พันธุ์มันสำปะหลังและภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สชีวภาพภายใต้ระบบถังปฏิกรณ์แบบการกวนสมบูรณ์

2.ได้อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยระบบถังปฏิกรณ์แบบการกวนสมบูรณ์ เพื่อขยายผลสู่ระดับอุตสาหกรรม

3.ได้พลังงานทดแทนจากวัตถุดิบทางการเกษตร ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่า ผลผลิตทางการเกษตร

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แก๊สชีวภาพ

แก๊สชีวภาพหมายถึง แก๊สที่เกิดขึ้นจากผลของการหมัก เช่น วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มูลสัตว์ อุจจาระคน ตลอดจนน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรม โดยเชื้อจุลินทรีย์ในภาวะไม่ใช้ออกซิเจนทำหน้าที่ย่อยส ลายสารอินทรีย์ โดยปกติแก๊สนี้จะเป็นแก๊สผสมของแก๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สผสมนี้ติดไฟได้จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นเชื้อเพลิง ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์หลักในการผลิตแก๊สชีวภาพ ส่วนประโยชน์ด้านอื่นๆ อาทิเช่น การใช้วัสดุที่ระบายออกมาหลังการหมักเพื่อการใ ช้เป็นปุ๋ย ตลอดทั้งการกำจัดมูลสัตว์เพื่อทำลายแหล่งเพาะพันธุ์แมลงและสัตว์นำโรค

2.1.1 องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ

เมื่อกระบวนการหมักเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายที่มีการสร้างมีเทน (Methane Phase) แก๊สที่เกิดขึ้นจะประกอบด้วยแก๊สมีเทน (CH_4) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนแก๊สอื่นๆ เช่น แอมโมเนีย (NH_3) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยดังตารางที่ 2.1 ส่วนการกำจัดแก๊สที่ไม่ต้องการ สามารถทำได้ดังตารางที่ 2.2 (H.G.R. Reddy และคณะ, 1975)

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ

Gas	Percent
Methane (CH_4)	55 – 65
Carbon Dioxide (CO_2)	35 – 45
Nitrogen (N_2)	0 – 3
Hydrogen (H_2)	0 – 1
Oxygen (O_2)	0 – 1
Hydrogen Sulfide (H_2S)*	0 – 1

* H_2S จะถูกกรองออกไป โดยรวมกับความชื้นเป็นกรด

ที่มา: Barker และคณะ, 2001

แก๊สมีเทน คือแก๊สซึ่ งประกอบไปด้วยคาร์บอน 1 อะตอม และไฮโดรเจน 4 อะตอม เป็นส่วนประกอบหลักของแก๊สธรรมชาติที่ใช้ในหลายๆบ้านกับการประกอบอาหารและให้ความร้อน ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และให้พลังงาน 1000 บีทียู (252 กิโลแคลอรี) ต่อ คิวบิกฟุต (0.028 คิวบิกเมตร) เมื่อเกิดการเผาไหม้ ส่วนแก๊สธรรมชาติเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนของน้ำมันดิบ มักจะพบในน้ำมันและถ่านหิน

ตารางที่ 2.2 การกำจัดแก๊สที่ไม่ต้องการ

ชนิด	ผลเสีย	การกำจัด
CO_2	ลดพลังงานที่ควรจะได้รับ	แยกออกโดยใช้ความดัน หรือ ใช้สารเคมี (Na_2CO_3)
H_2S	ทำให้เกิดการกัดกร่อน	แยกออกโดยรวมกับความชื้นเป็นกรด (H_2SO_4)
H_2O	ทำให้เกิดการควบแน่น	แยกออกโดยการควบแน่น (ลดอุณหภูมิ)

ที่มา: Barker และคณะ, 2001

2.1.2 อัตราการเกิดแก๊สชีวภาพ

ในขณะที่เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเกิดแก๊สมีเทน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นหลัก และมีแก๊สแอมโมเนีย ไฮโดรเจน และแก๊สอื่นๆ อีกเล็กน้อย นอกจากนั้นสารบางส่วนยังใช้สำหรับการสร้างเซลล์ขึ้นใหม่ของแบคทีเรีย แสดงดังสมการที่ (2.1)

สารอินทรีย์ที่ใช้สร้างมีเทน = สารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ – สารอินทรีย์ที่ใช้สร้างเซลล์ …… (2.1)

ยกตัวอย่างเช่น ถ้าให้กลูโคสแทนสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้จะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ของสารในการสร้างแก๊สมีเทน ดังสมการที่ (2.2)

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 3CH_4 + 3CO_2 \quad \text{...... (2.2)}$$

จากสมการกลูโคส 180 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับซีโอดี 192 กรัมสามารถสร้างแก๊สมีเทนได้ 48 กรัมที่สภาวะอุณหภูมิและความดันมาตรฐาน (STP) แก๊สมีเทนที่ได้จะมีปริมาตรเท่ากับ 67.2 ลิตร เนื่องจากสารอินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้ในการสร้างมีเทนมีค่าเท่ากับปริมาณสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายลบด้วยสารอินทรีย์ที่ถูกใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ โดยปริมาณเซลล์ใหม่ที่ถูกสร้างขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์สามารถคำนวณได้ แสดงดังสมการที่ (2.3)

$$P_x = QES_0 \frac{Y}{1 + k_d\theta_c} \times \frac{1}{1,000} \quad \text{...... (2.3)}$$

โดยที่ P_x = ปริมาณเซลล์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ (กก/วัน)

Q = อัตราการไหลของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบ ($ม^3$/วัน)

Y = สัมประสิทธิ์การเพิ่มขึ้นของเซลล์แบคทีเรีย (กก/กก VSS)

E = ประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ (%)

S_0 = ความเข้มข้นของสารอินทรีย์เริ่มต้น (มก/ล)

θ_c = อายุตะกอน (วัน)

k_d = อัตราการย่อยสลายตัวของแบคทีเรียในช่วงเอ็นโอจีนัส ($วัน^{-1}$)

โดยค่าสัมประสิทธิ์การเพิ่มขึ้นของเซลล์แบคทีเรียและอัตราการย่อยสลายตัวของแบคทีเรียในช่วงเอ็นโอจีนัสมีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์ ว่าเป็นสารประกอบพวกไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าสัมประสิทธิ์สำหรับการเพิ่มขึ้นของเซลล์แบคทีเรีย การย่อยสลายตัวของแบคทีเรียในช่วงเอ็นโอจีนัส สำหรับแบคทีเรียในถังหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

สารอินทรีย์	ค่าสัมประสิทธิ์	ช่วงค่า	ทั่วไป
กรดไขมัน	Y	0.040-0.070	0.050
	K_d	0.030-0.050	0.040
คาร์โบไฮเดรต	Y	0.020-0.040	0.030
	K_d	0.025-0.035	0.024
โปรตีน	Y	0.050-0.090	0.075
	K_d	0.010-0.020	0.014

ที่มา: Metcalf และ Eddy, 1991

2.1.3 ระยะเวลาในการเกิดแก๊สชีวภาพ

ระยะเวลาในการเกิดแก๊สจะมีความผันแปรกับปัจจัยหลายอย่าง มีการทดลองในถังหมักที่เติมวัตถุดิบได้อย่างต่อเนื่ อง (Continuous type) โดยมีความเข้มข้น 1: 10 จะเกิดแก๊สภายใน 24 ชั่วโมง (Alicbusan และคณะ, 1975) ด้วยถังหมักแบบปิด ความจุ 1.2 ม.^{3} ด้วยความเข้มข้น 5: 7 โดยปริมาตร (ใช้มูลวัว) และเกิดแก๊สสูงสุดช่วงวันที่ 13 – 20 ของการหมัก (พิชิต สกุลพราหมณ์ และคณะ 1976) อัตราการเกิดแก๊สสูงสุดมีความใกล้เคียงกันมาก แก๊สชีวภาพ จะเกิดขึ้นเมื่อทำการหมักไปแล้วประมาณ 7 วัน และจะเกิดแก๊สขึ้นอย่างรวดเร็วในวันต่อ ๆ ไป

2.1.4 พลังงานจากแก๊สชีวภาพ

พลังงานจากแก๊สชีวภาพจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของแก๊สมีเทนที่มีอยู่ในแก๊สนั้นดังคุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมี (ตาราง 2.4)

ตาราง 2.4 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของแก๊สมีเทน

สูตรทางเคมี (Chemical Formula)	CH_4
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight)	16.042
จุดเดือด (boiling Point) ที่ 14.696 psia (760 mm.)	-258.68˚F (-161.49˚C)
จุดเยือกแข็ง (Freezing Point) ที่ 14.696 psia (760 mm.)	-296.46˚F (-182.48˚C)
ความดันวิกฤต (Critical Pressure)	673.1 psia (47.363 กก/ซม^2)
อุณหภูมิวิกฤต (Critical Pressure)	-116.5˚F (-82.5˚C)
ความถ่วงจำเพาะ (Specific Gravity) ของเหลวที่ -263.2˚F (-164˚C) แก๊สที่ 77˚F (25˚C) และ 14.696 psia (760 มม.)	 0.415 0.000658
ปริมาตรจำเพาะ (Specific Volume) ที่ 60˚F (15.5˚C) และ 14.696 psia (760 มม.)	23.61 ลบ.ฟ/ปอนด์ (1.47 ลิตร/กรัม)
ค่า Calorific 60˚F (15.5˚C) และ 14.696 psia (760 มม.)	1,012 บีทียู/ลบ.ฟ (38,130.71 กิโลจูล/ม^3)
อากาศที่ต้องการสำหรับการเผาไหม้ ลบ.ฟ/ลบ.ฟ (Air required for combustion)	 9.53
Flammability limits	5-15 % โดยปริมาตร
ค่า Octane rating	130
อุณหภูมิในการจุดระเบิด (Ignition Temperature)	1,202˚F (650˚C)
สมการการเผาไหม้ (Combustion equation)	$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O$
O_2/CH_4 สำหรับการเผาไหม้สมบูรณ์ (For Complete Combustion)	3.98 โดยน้ำหนัก
CO_2/CH_4 สำหรับการเผาไหม้สมบูรณ์ (For Complete Combustion)	2.00 โดยปริมาตร
O_2/CH_4 จากการเผาไหม้ที่สมบูรณ์ (For Complete Combustion)	2.74 โดยน้ำหนัก
CO_2/CH_4 จากการเผาไห ม้ที่สมบูรณ์ (For Complete Combustion)	1.00 โดยปริมาตร

ที่มา: Hawkes, 1993

2.2 หลักการพื้นฐานของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.2.1 กลไกการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

กระบวนการย่อยทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Process) เป็นกระบวนการย่อยสลายทางชีววิทยาที่ใช้แบคทีเรียชนิดไม่ใช้ออกซิเจนหลายกลุ่ม ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่และสลับซับซ้อนอันได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน ผลพลอยได้จากกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน คือ แก๊สชีวภาพ (Biogas) ซึ่งประกอบด้วยแก๊สหลายชนิด โดยมีแก๊สมีเทน (CH_4) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนแก๊สอื่นๆ เช่น แอมโมเนีย (NH_3) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย แก๊สมีเทนเป็นแก๊สที่ให้ค่าพลังงานความร้อนสูงประมาณ 9,000 กิโลแคลอรีต่อตารางเมตร หรือ 38,130.71 กิโลจูลต่อตารางเมตร ดังนั้นแก๊สชีวภาพซึ่งปกติจะมีแก๊สมีเทนอยู่ประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของพลังงานได้ เช่น เผาเพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับขับเคลื่อนเครื่องยนต์ที่สันดาปภายในหรือเป็นเชื้อเพลิงในการผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้าเป็นต้น กระบวน การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนมีกระบวนการที่สลับซับซ้อนมาก โดยปฏิกิริยาทางชีวเคมีเกิดขึ้นนับร้อยกระบวนการซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์หรือตัวเร่งปฏิกิริยาช่วยในการเข้าทำปฏิกิริยา (Barker, 2001)

2.2.2 กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจ น (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์ , 2549)

สารอินทรีย์เป็นสารประกอบจำพวกโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมัน ทั้งที่อยู่ในรูปของของแข็งและสารละลาย กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถแบ่งได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังรูปที่ 2.1 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

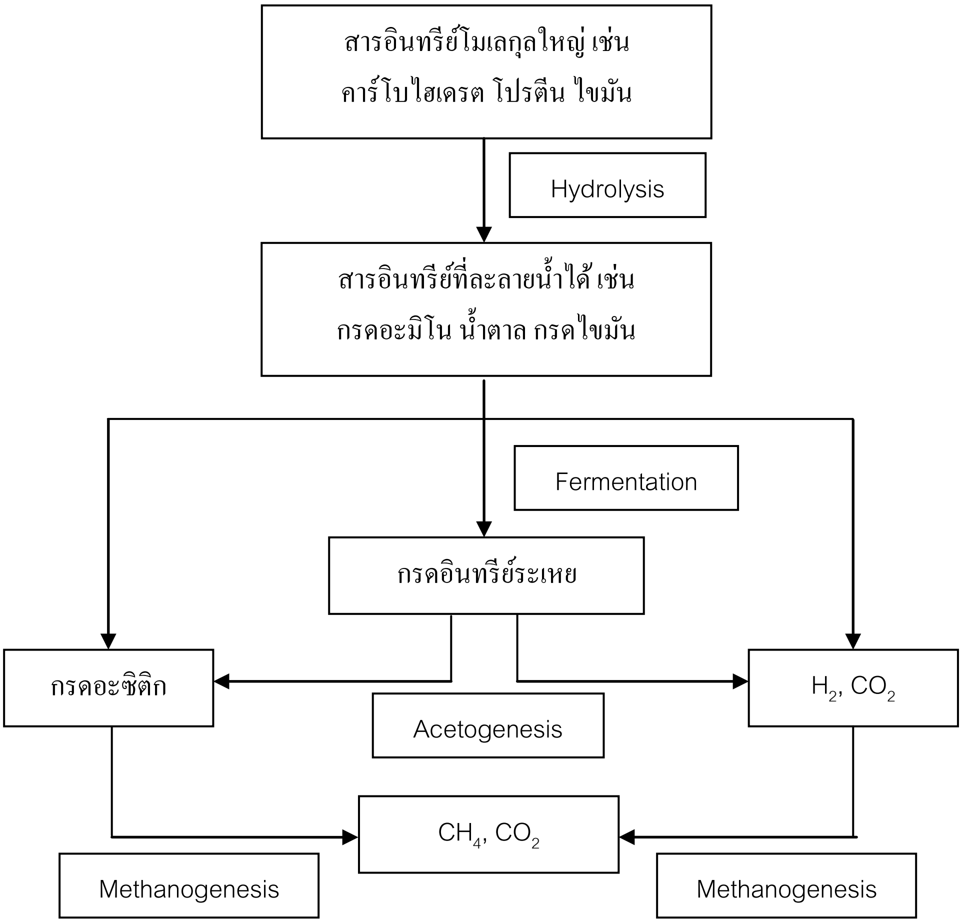
ขั้นตอนที่ 1 Solubilisation หรือ Hydrolysis

ขั้นตอนที่ 2 Acidogenesis

ขั้นตอนที่ 3 Acetogenesis

ขั้นตอนที่ 4 Methanogenesis

โดยอาจแบ่งขั้นตอนในการย่อยสลายได้เป็น 2 ระดับ ตามผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการย่อยสลาย คือ การย่อยสลายแบบที่มีการสร้างมีเทนและการย่อยสลายแบบไม่มีการสร้างมีเทน



ภาพที่ 2.1 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (ดัดแปลงจากสันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2549)

2.2.3 การย่อยสลายแบบไม่มีการสร้างแก๊สมีเทน (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์ , 2549)

ในกระบวนการสร้างแก๊สมีเทนจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการเปลี่ยนโมเลกุลขนาดใหญ่ของสารอินทรีย์จำพวก โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมัน ให้มีขนาดเล็กลงจนถึงขั้นของกรดไขมันระเหยง่ายขนาดเล็ก เช่น กรดอะซิติก (Acetic Acid, CH_3COOH) ซึ่งขั้นตอนนี้เรียกรวมกันว่าเป็นขั้นตอน การสร้างกรด (Acid Formation Phase) โดยกลไกการสร้างกรดแบ่งออกได้เป็นสองส่วน คือ กระบวนการที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์และกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์

การย่อยสลายภายนอกเซลล์ ได้แก่ ขั้นตอนที่ 1 คือกระบวนการ Solubilisation หรือกระบวนการ Hydrolysis สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมันและโปรตีน จะถูกแบคทีเรียย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular Enzyme)

ให้กลายสภาพเป็นสารประกอบเชิงเดี่ยว (Monomer) สำหรับใช้ในกระบวนการสร้างกรด แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลาย คือ แบคทีเรียจำพ วกแฟคคัลเททีฟแอนแอร์โรบิคแบคทีเรีย (Facultative Anaerobic Bacteria) โดยกลุ่มของแบคทีเรียในขั้นตอนนี้แบ่งได้ตามชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ คือ Cellulytic Lipolytic และ Proteolytic สำหรับความเร็วของกระบวนการย่อยสลายในขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาจากแบคทีเรีย ซึ่งเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมา จะเลือกชนิดของปฏิกิริยา ชนิดของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิและการสัมผัสระหว่างเอนไ ซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น หลังจากเกิดกระบวนการย่อยสลายภายนอกเซลล์แล้ว การย่อยสลายก็จะเข้าสู่ขั้นตอนการย่อยสลายภายในเซลล์ ซึ่งได้แก่ ขั้นตอนที่ 2 และขั้นตอนที่ 3 ดังปรากฎในรูปที่ 2.1 โดยในขั้นตอนที่ 2 หรือการเกิดกระบวนการ Acidogenesis การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะใช้สารที่ได้จากการย่อยสลายในขั้นตอนแรกเป็นสารตั้งต้นสำหรับแบคทีเรียประเภทสร้างกรด โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนสารอาหารดังกล่าวให้เป็นกรดอินทรีย์ชนิดโมเลกุลเล็ก เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) โดยกรดที่เกิดขึ้นทั้งหมดมีปริมาณสัดส่วนของกรดอะซิติกสูงสุดและมีการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นในขั้นตอนนี้ด้วย แบคทีเรียสร้างกรดมีอัตราการเจริญเติบโตสูงและทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เป็นผลสืบเนื่องมาจากการอยู่ร่วมกันของแบคทีเรียหลายสปี ชีส์ (Species) กรณีที่กลุ่มของแบคทีเรียสร้างกรดมีการสร้างกรดมากเกินไป จะก่อให้เกิดปัญหากับระบบผลิตแก๊สชีวภาพโดยรวม เนื่องจากแบคทีเรียสร้างมีเทนจะถูกยับยั้งการทำงาน เนื่องจากกรดที่มากเกินไปทำให้ค่าพีเอชของระบบลดลงและส่งผลกระทบต่อการดำรงชีพของกลุ่มแบคทีเรี ยสร้างแก๊สมีเทนได้ สำหรับแบคทีเรียในขั้นตอนการสร้างกรด (Acidogenesis) คือ แบคทีเรียในกลุ่มของ Fermentative Bacteria หรือ Acidogens ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา Hydrolysis ได้อีกด้วย การกำหนดชนิดของผลผลิตในขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการคือ ชนิดของสารตั้งต้นที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 และความดันย่อยของแก๊สไฮโดรเจน (Hydrogen Partial Pressure) เช่น ในการย่อยสลายของกลูโคสในสภาวะที่ความดันย่อยของแก๊สไฮโดรเจนมีค่าต่ำ (Low Hydrogen Partial Pressure) ผลที่ได้คือ กรดอะซิติก ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออ กไซด์ แต่ถ้าในสภาวะที่มีความดันย่อยของแก๊สไฮโดรเจนมีค่าสูง (High Hydrogen Partial Pressure) ผลผลิตที่ได้จะอยู่ในรูปของกรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ดังปฏิกิริยาแสดงในสมการที่ (2.4) และ (2.5) (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2549)

สภาวะความดันย่อยของแก๊สไฮโดรเจนมีค่าต่ำ (Low Hydrogen Partial Pressure)

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \longrightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2 \quad \text{...... (2.4)}$$

สภาวะความดันย่อยของแก๊สไฮโดรเจนมีค่าสูง (High Hydrogen Partial Pressure)

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CH_2COOH + CH_3COOH + CO_2 + H_2 \quad \text{...... (2.5)}$$

สำหรับการเกิดปฏิกิริยาในขั้นตอนที่ 3 หรือการเกิดกระบวนการ Acetogenesis นั้นเป็นผลอันเนื่องมาจากการที่แบคทีเรียที่ทำหน้าที่ผลิตแก๊สมีเทนต้องการสารอาหารที่มีความเฉพาะเจาะจงสูง โดยสารอาหารที่แบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ประกอบไปด้วยกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน เมทานอลและเมธิลามิน แต่ไม่สามารถใช้กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนอะตอมเกินกว่าสองอะตอม เช่น กรดกรดโพรไพโอนิก กรดบิวทีริก เป็นสารอาหารในการผลิตแก๊สมีเทนโดยตรงได้ ดังนั้นในกรณีที่กรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acid) ที่สร้างขึ้นยังอยู่ในรูปของกรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม แบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากเกิดการสะสมของกรดอินทรีย์ในระบบ เพื่อให้ระบบอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของแบคทีเรีย ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการย่อยสลายกรดอินทรีย์เหล่านั้นให้มีอะตอมของคาร์บอนลดลง เพื่อให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปได้ แบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่สามารถย่อยสลายกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 อะตอมให้เป็นกรดอะซิติกได้ ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจน (Hydrogen Producing Acetogenic Bacteria) ผลผลิตที่ได้ประกอบไปด้วยกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน โดยปฏิกิริยาสามารถเกิดขึ้นได้ดีในภายใต้สภาวะ Low Hydrogen Partial Pressure แสดงดังสมการที่ (2.6) และ (2.7)

$$CH_3CH_2COOH \text{ (Propionic Acid)} + 2H_2O \longrightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2 \quad \text{...... (2.6)}$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH \text{ (Butyric Acid)} + 2H_2O \longrightarrow 2CH_3COOH + 2H_2 \quad \text{...... (2.7)}$$

นอกจากการสร้างกรดด้วยกระบวนการทั้งสองชนิดแล้ว ยังพบว่ามีแบคทีเรียบางกลุ่มที่สามารถสร้างกรดอะซิติกได้จากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สไฮโดรเจน แสดงดังสมการที่ (2.8)

$$2CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_3COOH + 2H_2O \quad \text{...... (2.8)}$$

2.2.4 กระบวนการย่อยสลายที่มีการสร้างมีเทน (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2549)

กระบวน การนี้เกิดขึ้นเฉพาะในขั้นตอนที่ 4 เรียกว่ากระบวนการ Methanogenesis โดยกรดอินทรีย์โมเลกุลเล็ก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และแก๊สไฮโดรเจน (H_2) ที่เกิดจากขั้นตอนการสร้างกรดจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยแบคทีเรียชนิดสร้างแก๊สมีเทน (Methane Forming Bacteria) แก๊สมีเทนเกิดได้ 2 แบบ แบบที่ 1 เกิดจากการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ไปเป็นแก๊สมีเทน ซึ่งแก๊สมีเทนที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนนี้มีปริมาณเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ของแก๊สมีเทนที่สามารถเกิดขึ้นได้ในระบบ (Polprasert, 1996) และอีกแบบหนึ่งจะเกิดจากการลดแก๊สคาร์บอ นไดออกไซด์และแก๊สไฮโดรเจนให้กลับกลายเป็นแก๊สมีเทน โดยแบคทีเรียประเภท Hydrogen-Utilizing Methane Bacteria แสดงดังสมการที่ (2.9) และ (2.10)

$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$ (Methane Forming Bacteria) …… (2.9)

$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$ (Hydrogen-Utilizing Methane Bacteria) …… (2.10)

แบคทีเรียสร้างแก๊สมีเทนเจริญเติบโตได้ช้าและสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตค่อนข้างมาก ทำให้ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียในกลุ่มนี้แคบ โดยสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงพี เอชประมาณ 6.8 - 7.2 และแบคทีเรียในกลุ่มที่มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate) หรือการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ใหม่ต่ำ ต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ดังนั้นการเติบโตของแบคทีเรียสร้างมีเทนจึงขึ้นอยู่กับการทำงานของแบคทีเรียสร้างกรด โดยแบคทีเรียทุกกลุ่มที่อยู่ภายในระบบต้องทำงานอย่างสัมพันธ์กัน ดังนั้นเมื่อพิจารณากลุ่มของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกันในระบบการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน พบว่ากลุ่มของแบคทีเรียสร้างมีเทนจะเป็นกลุ่มแบคทีเรียหลักในการควบคุมความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดในระบบ เนื่อง จากแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีอัตราการเติบโตช้าที่สุดและมีข้อจำกัดทางด้านสภาพแวดล้อมมากกว่าแบคทีเรียในกลุ่มอื่นๆ

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถจำแนกออกเป็น 2 ลักษณะ คือ ปัจจัยทางด้านส ภาพแวดล้อม ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ความเป็นด่าง สารพิษ สารยับยั้ง และลักษณะของเสียหรือน้ำเสียที่ใช้ในการเดินระบบหรือใช้ในการทดลองใน

ระบบบำบัดน้ำเสียนั้นๆและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเดินระบบ ได้แก่ การกวนผสม อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และระยะเวลากักเก็บของเหลว

2.3.1 อุณหภูมิ

ช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วงตามการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย คือ ช่วงเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic) จะมีอุณหภูมิประมาณ 50-65 องศาเซลเซียส โดยเรียกแบคทีเรียที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ว่า Thermophilic Bacteria ช่วงมีโซฟิลิก (Mesophilic) จะมีอุณหภูมิประมาณ 20-45 องศาเซลเซียส โดยเรียกแบคทีเรียที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ว่า Mesophilic Bacteria และช่วงไซโครฟิลิก (Psychrophillic) จะมีอุณหภูมิประมาณ 5-15 องศาเซลเซียส โดยเรียกแบคทีเรี ยที่ทำงานในช่วงอุณหภูมินี้ว่า Psychrophillic Bacteria สำหรับกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ การทำงานของแบคทีเรียจะอยู่ในช่วงมีโซฟิลิกและเทอร์โมฟิลิก การบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนในช่วงเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรียจะมีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์และการผลิตแก๊สชีวภาพ สูงกว่าในช่วงมีโซฟิลิก โดยสามารถทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้เร็วกว่าช่วงมีโซฟิลิคประมาณ 20-50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสำหรับในต่างประเทศที่อยู่ในเขตหนาวจึงต้องเพิ่มอุณหภูมิให้กับน้ำทิ้ง แต่สำหรับประเทศไทยนั้นระบบบำบัดจะทำงานอยู่ในช่วงมีโซฟิลิกได้เองโดยไม่ต้ องใช้ความร้อนช่วย แม้ว่าประสิทธิภาพของระบบในช่วงมีโซฟิลิกจะด้อยกว่าแต่เมื่อเปรียบเทียบในเรื่องของค่าใช้จ่าย พบว่าค่าใช้จ่ายในการทำความร้อนจะแพงมาก (Barker และคณะ, 2001) ส่วนการศึกษาของ Garba (1996) พบว่า methanogens ไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงอย่างฉั บพลัน ดังนั้นควรจะหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และเมื่อปี 2003 มีการรายงานในการผลิต biomethanation ใต้สภาวะไซโครฟิลิก (Kashyap และคณะ, 2003) ทำให้ผู้ออกแบบในประเทศไทยไม่นิยมที่จะออกแบบระบบบำบัดให้อยู่ในช่วงเทอร์โมฟิลิก นอกจากนี้แบคทีเรียยังมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ในการออกแบบระบบจึงควรมีการ ป้องกันไม่ให้อุณหภูมิของระบบมีการเปลี่ยนแปลงมาก เนื่องจากการลดหรือเพิ่มอุณหภูมิเพียง 2-3 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแก๊สมีเทนอย่างมาก การรักษาอุณหภูมิของระบบให้มีความสม่ำเสมอ จึงมีความสำคัญมากก ว่าการควบคุมให้ระบบมีอุณหภูมิอยู่ในจุดที่ให้อัตราการย่อยสลายสูงสุด โดยการศึกษาของ พิสิฐ ศุกรียพงศ์และคณะ (1978) พบว่าทุกๆ 20 องศาฟาเรนไฮน หรือ 6 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณแก๊สที่ได้ลงครึ่งหนึ่ง

2.3.2 พีเอช

แบคทีเรียต่างชนิดกันมีความต้องการระดับความเป็นก รดด่างที่แตกต่างกันไป ระดับพีเอชที่แตกต่างกันของกระบวนการหมักของแบคทีเรีย ระยะการหมักของแบคทีเรียสร้างแก๊สมีเทน (Methanogens) จะมีความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชมากที่สุด โดยขั้นตอนการเกิดแก๊สชีวภาพ (Methanogenesis) จะเกิดขึ้นได้ดีที่พีเอช 6.8–7.2 และพีเอชที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 7.0 (Diaz และคณะ, 1993) ทั้งนี้ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อพีเอชมีค่าต่ำกว่า 6.2 ในขณะที่แบคทีเรียชนิดที่สร้างกรด (Acidogens) สามารถอาศัยอยู่ในสภาพที่พีเอชระหว่าง 5.0–8.0 นอกจากนี้ค่าพีเอชยังส่งผลทางอ้อมต่อแบคทีเรีย สร้างแก๊สมีเทน เนื่องจากเมื่อสภาพแวดล้อมเป็นกรดจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดที่สร้าง แก๊สมีเทน และทำให้ขบวนการ stabilization หยุดลงโดยจะส่งผลต่อความเข้มข้นหรือไอออนของสารต่างๆ เช่น กรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acid) แอมโมเนีย (NH_3) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งจะมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียแตกต่างกัน ในการออกแบบระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนบางครั้ง ได้แยกขั้นตอนของการสร้างกรดและการสร้างแก๊สมีเทนออกจากกัน (Two Stage Anaerobic Reactor) เพื่อที่จะทำให้สามารถย่อยสลายน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสหรือส่วนที่มีองค์ประ กอบเป็นไฟเบอร์บางส่วนก่อน เช่น การหมักขยะอินทรีย์ เป็นต้น

สำหรับพีเอชในถังหมักนั้นขบวนการที่เกิดจากแบคทีเรียจะมีการปรับตัวเอง เพื่อให้ได้สภาพที่เหมาะสม โดยในระหว่างเริ่มต้นระยะ acid phase ของการย่อยสลายพีเอชจะลดต่ำลงประมาณ 6 หรือต่ำกว่านี้ ต่อมาปฏิกิริยาจะล ดลงเนื่องจากกรดที่ระเหยได้และสารประกอบ (nitrogen compound) ถูกย่อยสลายไปทำให้เกิดแอมโมเนียเพิ่มขึ้น แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะลดลง ในขณะที่มีแก๊สมีเทนเพิ่มมากขึ้น พีเอชก็จะเพิ่มขึ้นประมาณ 7 เมื่อส่วนผสมมีความเป็นกรดน้อยลงกระบวนการหมักแก๊สมีเทนก็เริ่มขึ้น พีเอชในช่วงนี้ประมาณ 7.2 – 8.2 ดังนั้นส่วนผสมจะมีการปรับตัวของมันเอง จึงไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนสภาพ พีเอชในของเหลวด้วยการเติมกรดหรือด่างลงไป (วันเพ็ญ วิโรจกุฎ และคณะ, 2530) การศึกษาของ Jain และ Mattiasson (1998) พบว่าที่ค่า พีเอช 5.0 มีประสิทธิภาพในการผลิตมีเทนมากกว่า 75% และมีการทดสอบภาวะการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์ 2 ภาวะ โดยใช้หางนม เนยแข็ง และ นมปุ๋ย เป็นสารตั้งต้นในการดำเนิน โดยในภาวะแรกไม่ควบคุมพีเอชจนกระทั่งเข้าสู่ภาวะ methanogenic พีเอชจะถูกควบคุมซึ่งเป็นภาวะที่สองของถังปฏิกรณ์ 2 ภาวะ (Ghaly, 1996). และปัญหาเกี่ยวกับการลดลงของค่าพีเอช เนื่องจาก ภาวะ acidification ที่เกิดจากของเสียของหัวหอม ผสมกับมูลสัตว์ ปศุสัตว์ การปรับอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นบัฟเฟอร์ที่ดี และลดการสะสมกรด (Sharma, 2002)

2.3.3 สารอาหาร

สารอาหารในน้ำเสียมีความสัมพันธ์โดยตร งกับชนิดของกลุ่มแบคทีเรียในระบบ รวมไปถึงประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและผลิตแก๊สชีวภาพ โดยพบว่าสารอาหารที่ต่างชนิดกันมีผลต่ออัตราการย่อยสลายที่แตกต่างกัน สารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตจะให้อัตราการ ย่อยสลายที่เร็วกว่าโปรตีนและไขมัน ในเซลล์แบคทีเรียทุกชนิดจะประ กอบไปด้วยธาตุที่สำคัญ คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ออกซิเจน และซัลเฟอร์ โดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนต้องการปริมาณไนโตรเจนต่อน้ำหนักเซลล์เท่ากับ 9.4 (Cell Weight/N = 9.4) ในขณะที่แบคทีเรียชนิดไม่ใช้ออกซิเจนจะสร้างเซลล์เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากได้ เมื่อมีอัตราส่วนของธาตุไนโตรเจนต่อคาร์บอน (N/C) ในสารอาหารประมาณ 0.062 เนื่องจากคาร์บอนจะถูกนำไปใช้เป็นพลังงาน ส่วนไนโตรเจนจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาสภาพของเซลล์ และยังต้องการธาตุฟอสฟอรัสเท่ากับ 1 ใน 7 ของปริมาณธาตุไนโตรเจนที่ประกอบในเซลล์ โดยทั่วไป ความต้องการธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะอยู่ในอัตราส่วน 11 ต่อ 2 ดังนั้นถ้าปริมาณแบคทีเรียที่เกิดขึ้นมีประมาณ 0.1 กิโลกรัม ต่อ 1 กิโลกรัมบีโอดีที่ถูกย่อยสลาย อัตราส่วนของ BOD:N:P จะเท่ากับ 100:1.1:0.2 ซึ่งต่ำกว่าอัตราส่วนที่ใช้ในการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนอิสระ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 100:5:1 (Nasiman, 1996) ดังนั้นในน้ำเสียที่มีสารอาหารต่ำแต่มีสารอินทรีย์หรือซีโอดีสูง เช่น น้ำเสียจากโรงงานน้ำอัดลม จึงสามารถที่จะใช้ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้โดยไม่จำเป็นต้องมีการเติมสารอาหารเพิ่มเติม

2.3.4 สารอินทรีย์

สารอินทรีย์ บางชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งได้แก่ แอลกอฮอล์ (Alcohol) จำพวกเมทานอล (Methanol) และกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาว (Long Chain Fatty Acid) การทำลายความเป็นพิษของสารอินทรีย์เหล่านี้สามารถทำได้โดยการป้อนน้ำทิ้งเข้าสู่ระบบบำบัดอย่าง ต่อเนื่อง (Continuous Feed) ซึ่งจะต้องเริ่มจากความเข้มข้นที่น้อยๆ แล้วจึงปรับให้มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ เพื่อทำให้แบคทีเรียมีความคุ้นเคยและสามารถปรับตัวได้ หรืออาจแก้ไขได้โดยการเติมสารเคมีลงไปเพื่อทำให้เกิดการตกตะกอนของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษก่อนที่จะจ่ายน้ำ เสียเข้าสู่ระบบ

2.3.5 อัตราส่วนของวัตถุดิบ และ น้ำ

ส่วนผสมของสารชีวภาพต่อน้ำเท่าที่มีการสำรวจพบว่า ส่วนใหญ่ที่ผลิตแก๊สชีวภาพ จะผสมมูลสัตว์ต่อน้ำในอัตราส่วน 1 : 1, 1: 1.5 และ 1: 2 (พิสิฐ ศุกรียพงศ์ และคณะ,

2521) จากผลการศึกษาในประเทศอินเดีย พบว่าการผลิ ตแก๊สชีวภาพจะลดลงหากส่วนผสมมีความเหนียวข้นมากขึ้น เนื่องจากแก๊สที่เกิดขึ้นจะสะสมอยู่บริเวณก้นถังหมัก และแก๊สบางชนิดที่เกิดขึ้น เช่น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟล์ก็จะสะสมอยู่ด้วย และไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดแก๊สชีวภาพ นอกจากนี้แล้วความเหนียวข้นของ ส่วนผสมยังส่งผลต่อกากที่ย่อยสลาย (ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์) แล้วไม่สามารถกระจายได้ทั่วเพื่อไปเร่งการย่อยสลายให้เร็วขึ้น (Gallert และ Winter, 2002)

2.3.6 ชนิดของแบคทีเรีย

การย่อยสลายทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจนนั้นเกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิดในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์จนกระทั่งได้แก๊สชีวภาพ แบคทีเรียชนิดไม่ใช้ออกซิเจนหลายกลุ่มเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยมีวิธีการจำแนกหรือแบ่งกลุ่มได้หลายวิธี โดยวิธีแรกอาจแบ่งตามลักษณะภาวะการดำรงชีพของแบคทีเรียซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 2 พวก คือ Facultative Anaerobic Bacteria หรือแบคทีเรียที่สามารถอยู่ได้ทั้งภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน และ Obligate Anaerobic Bacteria ซึ่งเป็นแบคที่เรียที่ต้องอยู่ในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น ดังนั้นแบคทีเรียในกลุ่มนี้จึงไม่สามารถทำการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือผลิตแก๊สชีวภาพได้ หากระบบมีการละลายของออกซิเจนอิสระ นอกจากนี้แล้วยังสามารถแบ่งชนิดของแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจนตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ แบคทีเรียชนิดสร้างกรด (Acid former Bacteria) เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Facultative Anaerobic Bacteria และแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มนี้จะย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งไปเป็นกรดอินทรีย์ต่างๆ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ประกอบด้วย Psudomonas, Flavobacteria, Aerobactor และ Escherichia เป็นต้น แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methane Former Bacteria) เป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตอย่างแท้จริง จะย่อยสลายสารพวกกรดอินทรีย์ไปเป็นแก๊สมีเทนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ Methanobacterium, Methanosarcina, Methanococcus และ Methanobacillus เป็นต้น ซึ่งเป็นแบคทีเรียในจีนัส (Genus) ที่อยู่ในตระกูล Methanobacteriaceae เติบโตได้ช้า โดยทั่วไปมีความต้องการเวลากักเก็บตะกอน (Solid Retention Time: SRT) มากกว่า 4 วัน แบคทีเรียในกลุ่มสร้างกรดและสร้างมีเทนจะต้องมีการพึ่งพาซึ่งกันและกัน และชนิดสุดท้ายคือ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Sulfate Reducing Bacteria, SBR) ปริมาณของแบคทีเรียชนิดนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซัลเฟต (SO_4^{2-}) ซึ่งโดยปกติแล้วแบคทีเรียชนิดที่สร้างแก๊สมีเทนจะมีอยู่โดยทั่วไปในมูลสัตว์ หรือในธรรมชาติ ถ้ามีปริมาณเพิ่มมากขึ้นการเกิดแก๊สมีเทนจะเร็วขึ้น มีการรายงานว่าการผลิตแก๊ส

ชีวภาพจะให้ผลผลิตที่ดีได้ ถ้าใช้ pure culture methane starter ลงไปด้วย โดยจะลดเวลาการผลิตลงไปได้ครึ่งหนึ่ง (Leui, 1975) starter จะประกอบด้วยแบคทีเรียชนิดที่สร้างแก๊สมีเทน ส่วนในน้ำเสียแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต เป็นแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนซัลเฟตให้กลายเป็น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ทั้งนี้แบคทีเรียชนิดดังกล่าวจะทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกรดอ่อนๆ พีเอชประมาณ 5 แต่ในขณะที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทำงานได้ดีจะส่งผลให้แบคทีเรียสร้างมีเทนลดการผลิตแก๊สมีเทนลง เนื่องจากช่วงพีเอชและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการทำงานของแบ คทีเรียทั้งสองชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นในน้ำเสียที่มีซัลเฟตในปริมาณที่สูงจำเป็นต้องมีการปรับพีเอชให้อยู่ใน ระดับที่เหมาะสมอยู่เสมอ หรือจำเป็นต้องกำจัดซัลเฟตออก ก่อนที่จะจ่ายน้ำเสียเข้าสู่กระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพต่อไป นอกจากปริมาณของแบคทีเรียจะมีผลต่อการเกิดแก๊ สแล้ว คุณสมบัติของแบคทีเรียบางชนิดก็มีความสำคัญเช่นกัน เช่น *Methanobacterium omelianskii* สามารถลดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากการหมักให้เป็นแก๊สมีเทนด้วยแก๊สไฮโดรเจนหรือเอทานอล (ethanol) ในฐานะตัวให้อิเล็กตรอน (electron donor) (Alicbusan และคณะ, 1975)

2.3.7 สารพิษและสารยับยั้งปฏิกิริยา

โดยตามธรรมชาติแล้วไม่ควรมีสารที่เป็นพิษอยู่ ซึ่งสารที่เป็นพิษอาจปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียได้ ทั้งในรูปของสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ ทั้งนี้ผลของสารพิษมีตั้งแต่พิษโดยตรง (Toxic) ลงไปถึงแค่เพียงยับยั้ง (Inhibit) การทำงานของแบค ทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลของสารพิษที่มีต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทน เนื่องจากแบคทีเรียสร้างมีเทนจะมีความไวต่อสิ่งที่มารบกวน ความรุนแรงของพิษหรือการยับยั้งจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารนั้นๆ อย่างไรก็ตามในบางกรณีสารเหล่านั้นก็อาจสามารถกระตุ้นการทำงาน ของแบคทีเรียให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นได้หากมีความเข้มข้นที่พอเหมาะ สารที่เป็นพิษหรือสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำทิ้งทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถ แบ่งออกได้เป็นกลุ่มๆ ได้ดังต่อไปนี้

- **อิออนบวก**

อิออนบวกที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียในระ บบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ โซเดียม (Na^+) โพแทสเซียม (K^+) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) และแคลเซียม (Ca^{2+}) ซึ่งธาตุเหล่านี้หากมีความเข้มข้นอยู่ในระดับที่มีความเหมาะสมจะเป็นธาตุที่มีประโยชน์ต่อแบคทีเรีย แต่ถ้ามีอยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียมากจนเกินความจำเป็น ก็จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ โดยปกติอิออนบวกที่มี

วาเลนซีสูง (มีประจุบวกสูง) จะมีความเป็นพิษมากกว่าอิออนบวกที่มีวาเลนซีต่ำ ระดับความเป็นพิษของอิออนบวกต่างๆ แสดงในดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นของอิออนบวกที่กระตุ้นและยับยั้งปฏิกิริยา

ชนิดของอิออนบวก	**ความเข้มข้น(มก/ล)**		
	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	2,500-1,500	>8,000
Mg^{2+}	75-150	1,000-1,500	>3,000

ที่มา: McCarty, 1964

พิษของอิออนบวกสามารถลดลงได้ (Antagonism) เมื่ออยู่ร่วมกับธาตุอื่นๆในปริมาณที่เหมาะสม เช่น พิษของ Na^{+} มีความเข้มข้น 3,500 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถทำให้ลดลงได้ถ้าในระบบมี Mg^{2+} และ Ca^{2+} ที่มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 50-1,000 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ในทางตรงกันข้ามอิออนบางชนิดจะไปเพิ่มความเป็นพิษให้มากขึ้นเมื่ออยู่ร่วมกัน (Synergism) การลดหรือเพิ่มความเป็นพิษของอิออนบวกแต่ละชนิด แสดงได้ตามตารางที่ 2.6 และ 2.7

ตารางที่ 2.6 ชนิดของไอออนที่เพิ่มความเป็นพิษและชนิดของอิออนที่เสริมความเป็นพิษในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา

อิออนที่เป็นพิษ	**อิออนเสริมความเป็นพิษ**
Ammonium (NH_4^{+})	Calcium, Magnesium, Potassium
Calcium (Ca^{2+})	Ammonium, Magnesium
Magnesium (Mg^{2+})	Ammonium, Calcium,
Potassium (K^{+})	None
Sodium (Na^{+})	Ammonium, Calcium, Magnesium

ที่มา: Kugelman และ Chin, 1971

ตารางที่ 2.7 ชนิดของไอออนที่เพิ่มความเป็นพิษและชนิดของอิออน ที่ช่วยลดความเป็นพิษในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา

อิออนที่เป็นพิษ	**อิออนลดความเป็นพิษ**
Ammonium (NH_4^+)	Sodium
Calcium (Ca^{2+})	Sodium, Potassium
Magnesium (Mg^{2+})	Sodium, Potassium
Potassium (K^+)	Ammonium, Calcium, Magnesium, Sodium
Sodium (Na^+)	Potassium

ที่มา: Kugelman และ Chin, 1971

- **โลหะหนัก**

โลหะหนักที่มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) แคดเมียม (Cd) นิเกิล (Ni) โคบอลท์ (Co) ทองแดง (Cu) และโครเมียม (Cr) ซึ่งจะอยู่ในน้ำทิ้งในรูปของอิออน ทั้งนี้โ ลหะหนักที่อาจพบในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน แสดงดังตารางที่ 2.6 โดยทองแดง (Cu^{2+}) จะมีผลต่อระบบผลิตแก๊สชีวภาพมากที่สุด ทั้งนี้ค่าความเป็นพิษของสารประกอบโลหะหรืออิออนโลหะหนักจะขึ้นอยู่กับระดับพลังศักย์ทางไฟฟ้า ค่าพีเอช และค่า Ionic Strength ของระบบ เนื่องจา กโลหะหนักแต่ละชนิดสามารถที่จะรวมตัวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแอมโมเนีย คาร์บอเนต ซัลไฟด์ และฟอสเฟตได้ ดังนั้นจึงเป็นการยากในการประเมินถึงความเป็นพิษของโลหะหนักแต่ละชนิด ดังที่ได้แสดงในตารางที่ 2.8 และตารางที่ 2.9 ที่แสดงถึงโอกาสในการพบและความเป็นพิษของโล หะหนักบางชนิด แม้ว่าโลหะหนักจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน แต่โลหะหนักบางประเภทยังคงมีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการทำงานของแบคทีเรีย เนื่องจากแบคทีเรียจะดึงสารประกอบโลหะหนักเหล่านี้ไปใช้กระบวนการแมแทบอลิซึม โดยจะมีความต้องการใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย เช่น นิเกิล หรือโคบอลต์ เป็นต้น ความเป็นพิษของโลหะหนักสามารถที่จะลดลงได้ถ้าน้ำเสียมีปริมาณของซัลไฟด์ (S^{-2}) ที่พอเหมาะเนื่องจากซัลไฟด์สามารถรวมตัวกับโลหะหนักกลายเป็นเกลือของโลหะหนักซึ่งไม่สามารถละลายน้ำได้ ยกเว้นในกรณีของโครเมี ยม เนื่องจากโครเมียมที่มีประจุบวกหก (Cr^{6+}) จะถูกรีดิวซ์ให้เป็นโครเมียมที่มีประจุบวกสาม (Cr^{3+}) ซึ่งโครเมียมจะไม่สามารถละลายน้ำในช่วงพีเอชของระบบถังหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนจึงไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้น ในการใช้ซัลไฟด์เพื่อลดความเป็นพิษของโลหะหนักจะใช้ที่ความ เข้มข้นของซัลไฟด์ 0.5

มิลลิกรัม สำหรับการตกตะกอนโลหะหนัก 1.0 มิลลิกรัม แต่การเติมซัลไฟด์ลงไปโดยตรงอาจจะก่อให้เกิดปัญหาต่อระบบบำบัดน้ำเสียได้เนื่องจากตัวของซัลไฟด์เอง สำหรับการควบคุมไม่ให้เกิดพิษเนื่องจากการเติมซัลไฟด์มากเกินไปสามารถทำได้สองวิธีด้วยกัน โดยวิธีการแรกให้วิเคราะห์ปริมาณของไฮโดรเจนซัลไฟด์ในแก๊สชีวภาพอย่างต่อเนื่องและทำการหยุดการเติมซัลไฟด์ทันทีเมื่อมีการตรวจพบการปนเปื้อนอยู่ในแก๊สชีวภาพ โดยการใช้เครื่องมือคืออิเลคโทรดแบบ Silver-Silver Sulfide วัดปริมาณของซัลไฟด์ที่ละลายอยู่ในน้ำและรายงานค่าออกมาในรูปของ pS (-log $[S^{-2}]$)

ตารางที่ 2.8 ประเภทของโลหะหนักที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

พบมาก	พบบ่อย	ไม่ค่อยพบ
Cadmium(Cd^{2+})	Arsenic(As)	Aluminium(Al)
Chromium(Cr^{6+})	Iron(Fe)	Cobalt(Co)
Copper(Cu^{2+})	Manganese(Mn)	Molybdenum(Mo)
Lead(Pb^{2+})	Mercury(Hg)	Selenium(Se)
Nikle(Ni^{2+})	Silver(Ag)	Tin(Sn)
Zinc(Zn^{+})		

ที่มา: Kugelman และ Chin, 1971

ตารางที่ 2.9 ความเข้มข้นของโลหะหนักที่สามารถยับยั้งการทำงานของระบบ

โลหะหนัก	ความเข้มข้น(มิลลิกรัม/ลิตร)
Arsenic(As)	0.5-1.0
Cadmium(Cd)	0.01-0.02
Chromium(Cr^{6+})	1.0-1.5
Copper(Cu)	0.5-1.0
Nikle(Ni)	1.0-2.0
Zinc(Zn)	0.5-1.0

ที่มา: Mignone, 2005

- **แอมโมเนีย**

แอมโมเนียที่เกิดขึ้นในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนรวมอยู่ เช่น โปรตีนหรือปุ๋ยยูเรีย เป็นต้น และได้ผลผลิตในรูป

ของแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) หรือแอมโมเนีย (NH_3) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของระบบ แสดงดังสมการที่ (2.16)

$$NH_4^+ \longleftrightarrow NH_3 + H^+ \quad ...... (2.16)$$

ปริมาณของแอมโมเนียอิออนจะมีความสั มพันธ์กับค่าพีเอช โดยเมื่อค่าพีเอชมีค่าประมาณ 7.0 ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะมีประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ของแอมโมเนียทั้งหมด โดยจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียมากขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น สำหรับความเป็นพิษของแอมโมเนียนั้นพบว่าแอมโมเนียจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียมากกว่าแอมโมเนี ยมอิออน โดยพบว่าแอมโมเนียจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียเมื่อมีความเข้มข้นมากกว่า 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่แบคทีเรียสามารถทนต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมอิออนได้สูงถึง 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นในการรักษาพีเอชของระบบบำบัดให้มีค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียอยู่ที่ป ระมาณ 7.0 หรือต่ำกว่านี้จะทำให้แอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในรูปของแอมโมเนียมอิออนซึ่งเป็นพิษต่อระบบน้อยกว่า ตารางที่ 2.10 แสดงถึงระดับความเป็นพิษของแอมโมเนียมที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับการลดพิษของแอมโมเนียไนโตรเจนสามารถทำได้โดยการเจือจางน้ำทิ้ง ให้ความเข้มข้นของ แอมโมเนียก่อนเข้าสู่ระบบมีความเข้มข้นลดลงหรือทำการกำจัดแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำทิ้งให้อยู่ในระดับที่ไม่ไปยับยั้งการทำงานของเชื้อแบคทีเรียภายในระบบก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด ตัวอย่าง เช่น ใช้กระบวนการ Ammonia Stripping เพื่อลดความเข้มข้นของแอมโมเนีย เป็นต้น

ตารางที่ 2.10 ระดับความเป็นพิษของแอมโมเนียมต่อระบบอิออน

แอมโมเนียมไนโตรเจน (มก/ล)	**ผลต่อระบบ**
50-200	ปริมาณพอเหมาะ
200-1,000	ยังไม่เกิดผลชัด
1,500-3,000	เริ่มยับยั้งเมื่อมีค่าพีเอชสูงกว่า 7
>3,000	เป็นพิษโดยตรง

ที่มา: McCarty, 1964

- **ซัลเฟต**

พิษของซัลไฟด์ต่อแบคทีเรีย เกิดขึ้นเนื่องจากน้ำทิ้งที่เข้าสู่ระบบมีปริมาณ

ซัลไฟด์สูง การย่อยสลายซัลเฟต (SO_4^{2-}) หรือโปรตีนในน้ำทิ้ง โดยซัลเฟตในน้ำเสียมีทั้งที่อยู่ในรูปของสารที่ละลายน้ำได้และไม่ละลายน้ำ ขึ้นอยู่กับอิออนประจุบวกที่ซัลเฟตรวมอยู่ โดยส่วนที่มีการรวมกับโลหะหนักจ ะตกตะกอน ส่วนที่เหลือจะละลายน้ำหรืออยู่ในรูปของแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และเมื่อละลายน้ำสามารถเปลี่ยนเป็นกรดซัลฟิวริก(H_2SO_4) ความเข้มข้นของซัลไฟด์ละลายน้ำที่แบคทีเรียสามารถทนได้อยู่ระหว่าง 50-160 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะเป็นพิษขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่สามารถลดความเป็นพิษของซัลไฟด์ลงได้ โดยการทำให้ซัลไฟด์ตกตะกอน การเจือจางน้ำทิ้งหรือการแยกซัลไฟด์ออกจากน้ำทิ้งก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด การที่น้ำเสียมีปริมาณของซัลเฟตมาก เช่น น้ำเสียจากโรงงานน้ำยางข้น ปริมาณของซัลเฟตที่มีมากเกินไปจะทำให้ แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์ซัลเฟตให้เป็นซัลไฟด์ เช่น Desulfovibrio, Desulfotomaculum เจริญเติบโตได้ดี

ตารางที่ 2.11 ค่า $\Delta G°$ ในปฏิกิริยาการรีดิวซ์ซัลเฟตและสร้างมีเทน

ปฏิกิริยา	ΔG°(kJ)
1. $4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \longrightarrow HS^- + 4H_2O$	-152.5
2. $4H_2 + HCO_3^- + H^+ \longrightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135.6
3. $CH_3COO^- + SO_4^{2-} + H^+ \longrightarrow 2HCO_3^- + H_2S$	-47.6
4. $CH_3COO^- + H_2O \longrightarrow HCO_3^- + CH_4$	-31.0
5. $4CH_3CH_2COO^- + 3SO_4^{2-} \longrightarrow 4CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 3HS^- + H^+$	-150.6
6. $CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \longrightarrow CH_3COO^- + 4HCO_3^- + H^+ + H_2$	-76.6
7. $4CH_3CH_2COO^- + 12H_2O \longrightarrow 4CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3CH_4$	-102.4

ที่มา: McCarty, 1964

จากตารางที่ 2.11 จะเห็นว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบการเกิดปฏิกิริยาการรีดิวซ์ซัลเฟตและการสร้างแก๊สมีเทนโดยใช้สารตั้งต้นชนิดเดียวกัน คือ ไฮโดรเจนและกรดอะซิติก ในปฏิกิริยาที่รีดิวซ์ซัลเฟตเป็นซัลไฟด์ (ปฏิกิริยาที่ 1 และ 3) โดยใช้ไฮโดรเจนและ กรดอะซิติกเป็นสารตั้งต้นตามลำดับ จะมีค่า $\Delta G°$ ที่ต่ำกว่าในปฏิกิริยาที่สร้างมีเทน (ปฏิกิริยาที่ 2 และ 4) แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาการรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นปฏิกิริยาที่ให้พลังงานมากกว่า ดังนั้นจึงสามารถเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้ง่ายกว่าปฏิกิริยาการสร้างมีเทน น้ำเสียที่มี ซัลเฟตในปริมาณที่สูงทำให้ได้ผลผลิตที่เป็นแก๊สมีเทนลดน้อยลงเนื่องจากสารตั้งต้นถูกใช้ไปในการรีดิวซ์ซัลเฟตมากกว่าการสร้างมีเทน ผลผลิตที่ได้จึงเป็นแก๊ส

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีกลิ่นเหม็น พีเอชที่ต่ำอาจเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ แต่หากพิจารณาในแง่ของการย่อยสลายกรดโพรไพโอนิกเป็นกรดอะซิติกแล้ว พบว่าการรีดิวซ์ซัลเฟตที่เกิดขึ้นสามารถลดการสะสมของกรดโพรไพโอนิกในระบบได้ ดังนั้นการที่มีซัลเฟตในน้ำเสียจึงมิได้ส่งผลต่อ ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ความเป็นพิษของซัลเฟตที่มีต่อระบบมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอช โดยที่พีเอช 6.4-7.2 ไฮโดรเจนซัลไฟด์สามารถยับยั้งการทำงานของระบบได้ 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อมีความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ไฮโดรเจนซัลไฟด์เพียง 90 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลในการยับยั้งการทำงานของระบบได้เท่ากันเมื่อพีเอชมีค่า 7.8-8.0

2.3.8 ธาตุอาหารเสริมประเภทโลหะบางชนิด

ในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน นอกจากธาตุอาหารหลักที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสแล้ว แบคทีเรียสร้างมีเทนยังต้องการธาตุอาหารเสริมประเภทโลหะอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย สารที่มักทำการเติมลงไปในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน คือ นิเกิลและโคบอลต์ ซึ่งพบว่าหา กระบบมีธาตุโลหะเหล่านี้ในปริมาณที่น้อยเกินไปประสิทธิภาพในการทำงานของระบบจะลดลง โดยการขาดธาตุโลหะเหล่านี้จะส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทนเท่านั้น แต่ไม่มีผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรียสร้างกรด นอกจากนิเกิลและโคบอลต์แล้วยังมีการศึกษาถึงการเติมธาตุ โลหะอื่นๆ ลงไปในระบบ ได้แก่ โมลิบดีนัม ทังสเตน เซเลเนียม แต่ผลการศึกษายังไม่มีความชัดเจน สำหรับปริมาณการเติมนิเกิลและโคบอลต์ลงไปในระบบจะอยู่ที่ประมาณ 50 มิลลิกรัมในรูปของโลหะนั้นๆ ต่อปริมาตร 1 ตารางเมตรของถังปฏิกิริยา

2.3.9 การกวน

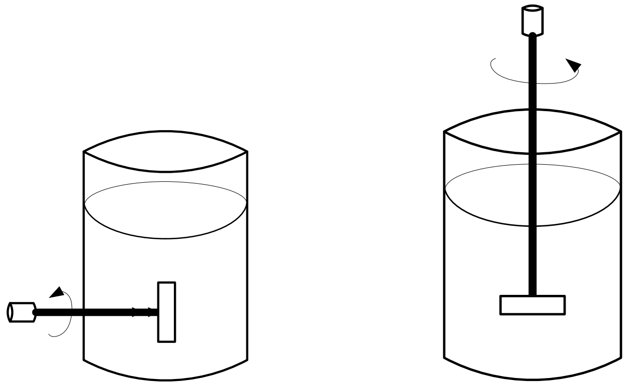
การกวนนอกจากจะมีจุดประส งค์เพื่อให้จุลินทรีย์มีโอกาสสัมผัสกับสารอาหารและมีการกระจายตัวไปทั่วถึงในถังปฏิกรณ์ (Gray, 1972) ยังมีจุดประสงค์อื่นๆ อีก คือ เพื่อรักษาระดับของอุณหภูมิภายในถังหมักให้มีระดับเดียวกันทั้งถัง เพื่อเป็นการกระจายสารพิษ เช่น โลหะหนักและกรดอะซิติกให้กระจายไปทั่ว ถังหมัก ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดการสะสมของสารพิษ ณ จุดใดจุดหนึ่งของถังหมักซึ่งจะมีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียที่รุนแรงขึ้น เพื่อป้องกันมิให้เกิดการแยกชั้นของตะกอนลอยพวกไขมันและน้ำมันตรงบริเวณผิวหน้าของถังหมักทำให้เกิดเป็นฝ้าไขและเป็นการส่งเสริมให้แก๊สแ ยกตัวออกจากชั้นตะกอนบริเวณก้นถังหมักได้ง่ายขึ้น วิธีการกวนในระบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจจะใช้ใบพัดกวนน้ำเสียอย่างช้าๆหรือใช้วิธีให้น้ำตะกอนไหลเวียนในถังหมักหรืออาจใช้วิธีให้แก๊สจากระบบไหลขึ้นสู่ด้านบนของถังหมักเพื่อดันเอาตะกอนและน้ำเสียให้ไหลไปทั่วถังหมัก การกวนเ ป็นสิ่งจำเป็นมากสำหรับระบบบำบัดน้ำเสียขนาดใหญ่ ทั้งนี้เพื่อเป็น

การรักษาระดับของของแข็งระเหยภายในถังหมักให้มีปริมาณสม่ำเสมอทั่วทั้งถังหมักและเพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพสูงสุด ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยในถังหมักที่มีระบบการกวนและไม่มีระบบการกวน โดยพบว่าในถังหมักที่ไม่มีระบบการกวน ปริมาณของแข็งทั้งสองชนิดจะมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอตลอดแนวลึกของถังหมัก ในทางตรงข้ามกับถังหมักที่มีระบบการกวน ปริมาณของของแข็งทั้งสองชนิดจะมีปริมาณใกล้เคียงกันตลอดแนวลึกของถัง (Loehr, 1974)

2.4 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้ถังปฏิกรณ์

2.4.1 ถังปฏิกรณ์แบบการกวนสมบูรณ์ (Completely Stirred Tank Reactor, CSTR)

ถังปฏิกรณ์แบบการกวนสมบูรณ์แบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นการเรียกตามลักษณะของสสารที่อยู่ภายในถังซึ่งมีความเข้มข้นของสารละลายเท่ากันทุกจุด (Completely mixed) ถังปฏิกรณ์แบบนี้ถือเป็นถังปฏิกรณ์ อุดมคติและเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่เก่าแก่ที่สุดประเภทหนึ่ง โดยถังชนิดนี้ถูกพัฒนาขึ้นจากถังย่อยสลัดจ์ซึ่งเป็น Conventional Anaerobic Digester ที่มีประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากการกวนผสมไม่ดี ทำให้ใช้เวลาย่อยสลายยาวนาน จึงได้มีการพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสัมผัสกันของสารอาหารในน้ำเสียและจากถังย่อยสลัดจ์ โดยมีการติดตั้งใบกวน เช่น แบบใบพาย (Paddle) แบบสกรู (Screw) หรือ ใช้ Gas Diffuser ในการกวนผสม เพื่อให้จุลินทรีย์และสารอาหารในถังปฏิกรณ์มีการสัมผัสกันมากขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายส ารอินทรีย์ในน้ำเสียดีขึ้น แสดงดังรูปที่ 2.2 ถังปฏิกรณ์แบบนี้มีระยะเวลากักเก็บของแข็ง (Solid Retention Time) เท่ากับระยะเวลากักเก็บของเหลว (Hydraulic Retention Time) ถัง CSTR นี้จึงเหมาะกับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูง มีสารแขวนลอยสูงหรือแม้กระทั่งมีสารพิ ษปนอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากถังปฏิกรณ์มีการกวนอยู่ตลอดเวลา เมื่อสารพิษถูกป้อนเข้าระบบจะถูกเจือจางทันที และเนื่องจากไม่มีความแตกต่างของความเข้มข้นทั้งในแง่ของสารอาหารและเซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ในน้ำเสียที่ออกจากระบบเท่ากับภายในถังปฏิกรณ์ จึงมักพบปัญหาเซลล์จุลินทรีย์ในระบบลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นถังปฏิกรณ์แบบนี้จึงเหมาะกับของเสีย เช่น มูลสัตว์ เนื่องจากในมูลสัตว์มีจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนอยู่แล้ว เพื่อให้จุลินทรีย์ในกลุ่มสร้างมีเทนซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้มากพอกับที่หลุดออกจากระบบไปกับน้ำเสียขาออก ระบบจึงจะรักษาปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ให้คงที่ได้



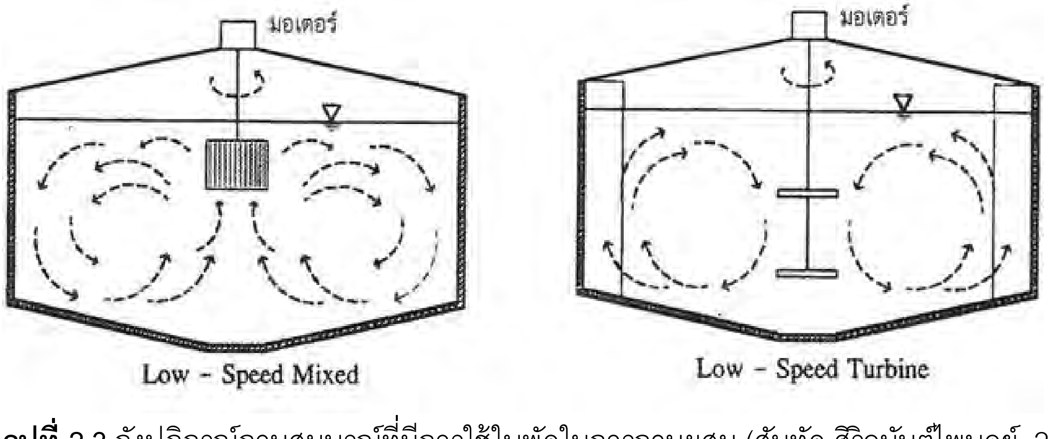
รูปที่ 2.2 ถังปฏิกรณ์แบบการกวนสมบูรณ์ที่มีการกวนในแนวนอนและแนวตั้ง

2.4.2 การกวนผสมในถังปฏิกรณ์ (Mixing)

การกวนผสมให้น้ำเสียและจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียในถังปฏิกิริยาผสมกันอย่างทั่วถึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมากเพื่อให้ปฏิกิริยาชีวเคมีในระบบบำบัดน้ำเสียเกิดสมบูรณ์มากที่สุด แต่ก็เป็นสิ่งที่ยากมากที่จะเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามหากระบบบำบัดน้ำเสียหรือถังปฏิกิริยามีการกวนผสมอย่างทั่วถึง ทำให้จุลินทรีย์หรือแบคทีเรียสามารถสัมผัสกับน้ำเสียหรือสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้มากขึ้นและทั่วถึงขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพของระบบบำบัดสูงขึ้น การกวนผสมน้ำเสียในถังปฏิกรณ์มีอยู่ หลายวิธี แต่มีข้อจำกัดอยู่ที่การกวนผสมจะต้องไม่ก่อให้เกิดสภาวะมีการเติมออกซิเจนเข้าสู่ระบบ การกวนผสมที่นิยมใช้กันมีอยู่ 3 วิธี (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2006) ดังนี้

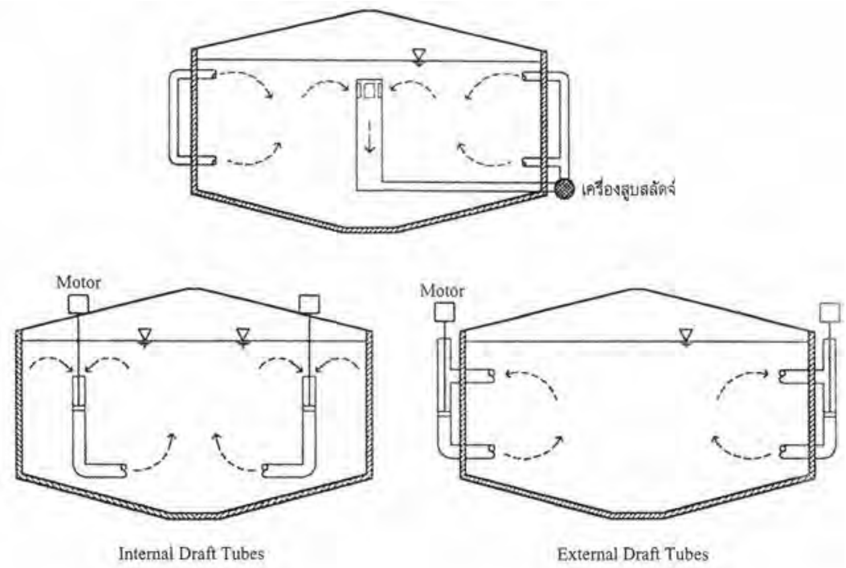
การกวนผสมโดยใช้เครื่องมือกล (Mechanical mixing)

เป็นการกวนผสมโดยใช้เครื่องมือกล เช่น ใบพัด(Impeller) ซึ่งใบพัดที่จะเลือกใช้ก็จะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามวัตถุประสงค์ เช่น ใบพัดแบบ Puddle หรือ Turbine อย่างไรก็ตามในการผสมมีความจำเป็นต้องใช้พลังงานมากขึ้นเพื่อให้เกิดการกวนผสมอย่างสมบูรณ์ แสดงดังรูปที่ 2.3



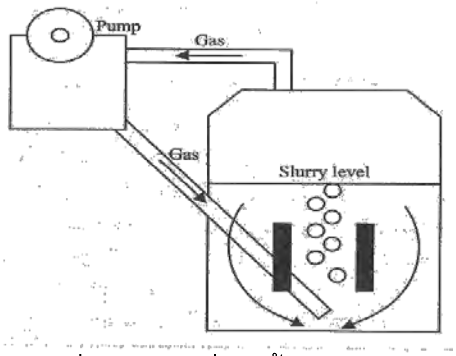
รูปที่ 2.3 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่มีการใช้ใบพัดในการกวนผสม (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2006)

การกวนผสมโดยใช้วิ ธีการสูบน้ำเสียภายในถังปฏิกรณ์ให้เกิดการหมุนเวียน (Mixing by recirculation of waste water) วิธีการนี้ง่ายและใช้พลังงานไม่ค่อยสูงมาก แต่มีข้อเสียคือประสิทธิภาพไม่ค่อยดีนัก โดยเป็นการติดตั้งเครื่องสูบน้ำเสียภายในถังปฏิกรณ์ออกทางด้านล่างของถังปฏิกรณ์และป้อนก ลับเข้าทางด้านบนของถังปฏิกรณ์ เพื่อทำให้เกิดการหมุนเวียนและการกวนผสมของน้ำเสียภายในถังปฏิกรณ์ แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่มีการใช้การสูบน้ำเสียหมุนเวียนภายในถังปฏิกรณ์ (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2006)

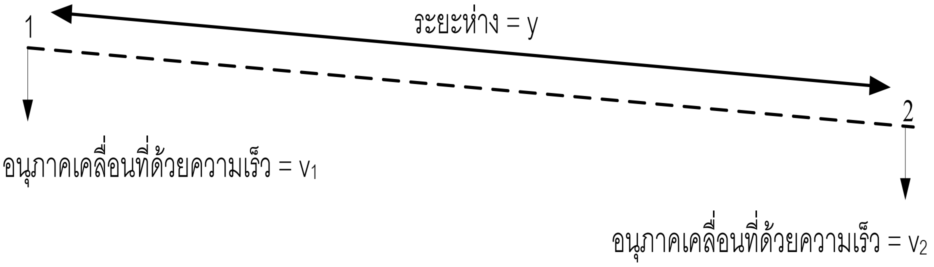
การกวนผสมโดยการนำแก๊สที่เกิดขึ้นจากการบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์มาใช้ในการกวนผสม (Maxing by producing gas) วิธีการกวนผสมแบบนี้จะอาศัยแก๊สซึ่งเกิดจากระบบบำบัดน้ำเสียซึ่งมีทั้ง H_2 CO_2 CH_4 H_2S และอื่นๆ เป็นตัวช่วยในการกวนผสม โดยจะเป็นการดึงแก๊สต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์บางส่วนกลับเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ ทำให้เกิดการแปรปรวนหรือการกวนผสมของน้ำเสียและตะกอนของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ที่อาศัยแก๊สที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์เป็นตัวกวนผสม (สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2006)

2.4.3 ความลาดชันความเร็ว (Velocity Gradient, G)

การวัดการกวนผสมว่ามีมากน้อยเพี ยงใดนั้น ในทางวิศวกรรมศาสตร์ทางการบำบัดน้ำดิบและการบำบัดน้ำเสีย จะวัดการกวนผสมโดยใช้ค่าความลาดชันความเร็วหรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ค่าความเร็วเกรเดียนท์ โดยความลาดชันความเร็วหรือความเร็วเกรเดียนท์ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงความเร็วในแต่ละชั้นของของเหลวที่อยู่ ระหว่างแผ่นระนาบ ซึ่งก็คือ ความเร็วต่อระยะทาง (ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี, 2551) แสดงดังรูป 2.6



$$\text{ความเร็วเกรเดียนท์ของอนุภาคทั้งสอง} = \frac{dv}{dy}$$

รูปที่ 2.6 ความลาดชันความเร็ว (ดัดแปลงจาก ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี, 2551)

โดยหากค่าความลาดชันความเร็วมีค่าสูง บ่งบอกได้ว่าการกวนผสมของเหลวภา ยในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์นั้นๆจะมีลักษณะของการผสมผสานที่รุนแรงหรือมีความปั่นป่วนเกิดขึ้นภายในระบบบำบัดน้ำเสียสูง ในกรณีที่การกวนผสมเกิดขึ้นจากการใช้แรงกล ความลาดชันความเร็วจะมีความสัมพันธ์กับพลังงานที่ให้ต่อหนึ่งหน่วยปริมาตรของน้ำภายในระบบบำบัด โดยสามารถ

คำนวณค่าความลาดชันความเร็วได้ตามสมการของแคมป์และสไตด์ (Pedocchi และPiedra-Cveva, 2005) แสดงดังสมการ 2.17 และ 2.18

$$G = \sqrt{\frac{P}{\mu V}} \qquad \text{...... (2.17)}$$

และ

$$G = \sqrt{\frac{W}{\mu}} \qquad \text{...... (2.18)}$$

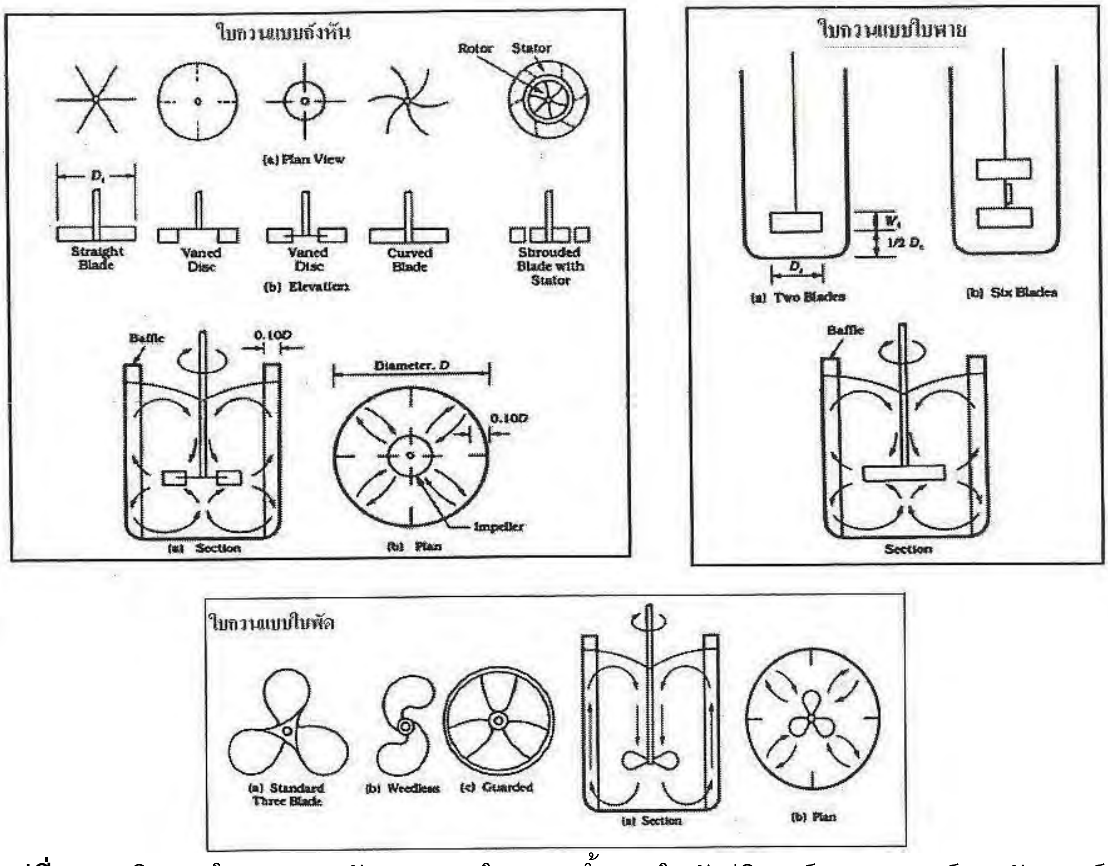
โดยที่	G	=	ความลาดชันความเร็ว (ต่อวินาที)
	P	=	กำลังที่ต้องการในการปั่นกวน (นิวตัน-เมตรต่อวินาที)
	W	=	กำลังที่ต้องการในการปั่นกวนต่อหนึ่งหน่วยปริมาตรน้ำ (นิวตัน-เมตรต่อวินาทีต่อลูกบาศก์เมตร)
	μ	=	ความหนืดพลวัตต์ของน้ำ (นิวตัน-วินาทีต่อตารางเมตร)
	V	=	ปริมาตรของน้ำในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ (ลูกบาศก์เมตร)

กำลังที่ต้องใช้ในการปั่นกวนภายในถังปฏิกรณ์ภายหลังจากทราบจากการคำนวณในสมการที่ 2.1 แล้ว เมื่อต้องการออกแบบถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์โดยการใช้ มอเตอร์ในการขับเคลื่อนเครื่องมือสำหรับปั่นกวนนั้นๆ เมื่อทราบข้อมูลเกี่ยวกับค่าความลาดชันความเร็ว ความหนืดพลวัตต์ของน้ำและปริมาตรของน้ำในถังปฏิกรณ์ ชนิดและขนาดของใบกวน สามารถคำนวณหารอบของมอเตอร์ที่จะนำมาใช้ในการติดตั้งเพื่อกวนของเหลวภายในถังได้ดังสมการที่ 2.19 โดยสมการที่ใช้ในที่นี้ใช้สำหรับการออกแบบถังปฏิกรณ์สำหรับกวนช้าหรือมีความเร็วรอบโดยประมาณไม่เกิน 200 รอบต่อวินาทีหรือมีเลขเรย์โนลด์ไม่เกิน 10,000 เท่านั้น

$$P = K_L n^3 D_i^3 \mu \qquad \text{...... (2.19)}$$

โดยที่	P	=	กำลังที่ต้องการในการปั่นกวน (นิวตัน-เมตรต่อวินาที)
	K_L	=	ค่าคงที่ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของใบกวนดังแสดงในตารางที่ 2.10
	n	=	ความเร็วรอบในการกวน (รอบต่อวินาที)
	D_i	=	เส้นผ่าศูนย์กลางของใบกวน (เมตร)
	μ	=	ความหนืดพลวัตต์ของน้ำ (นิวตัน-วินาทีต่อตารางเมตร)

สำหรับใบกวนที่ใช้ในการปั่นกวนของเหลวหรือน้ำเสียภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์นั้นหากแบ่งตามลักษณะของใบกวนที่กวนน้ำเสียสามารถแบ่งใบกวนออกได้เป็น 3 แบบ ได้แก่ ใบกวนแบบกังหัน (Turbine) ใบกวนแบบใบพัด (Propeller) และใบกวนแบบใบพาย (Paddles) แต่หากแบ่งใบกวนโดยพิจารณาจากทิศทางการไหลของของเหลวภายในถังปฏิกรณ์ในขณะที่กำลังทำการกวนในถังปฏิกรณ์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ การไหลตามแนวแกน (Axial flow) และการไหลตามแนวรัศมี (Radial floe) ทั้งนี้ยังขึ้นอยู่กับมุมระหว่างใบกว นกับแกนที่ใช้ในการหมุนใบกวนและลักษณะของใบกวนทิศทางการไหลของของเหลวที่ถูกกวน ลักษณะของใบกวนแต่ละชนิดและทิศทางการไหลของของเหลวที่ถูกกวน แสดงดังรูปที่ 2.7 (ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี , 2551)และสำหรับใบกวนแต่ละชนิดที่ใช้ในการกวนของเหลวภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์นั้น จะให้ค่าคงที่สำหรับการกวนและได้ค่าความลาดชันความเร็วที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2.12



รูปที่ 2.7 ชนิดของใบกวนและลักษณะการไหลของน้ำภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ (ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี, 2551)

ตารางที่ 2.12 ค่า K_L ของใบกวนที่มีการติดตั้งภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์

ชนิดของใบกวน	K_L
ใบกวนแบบใบพัด 3 ใบ ที่มีระยะช่วงเกลียวเท่ากับ 1 (Propeller, 3 blades)	41.0
.ใบกวนแบบใบพัด 3 ใบ ที่มีระยะช่วงเกลียวเท่ากับ 2 (Propeller, 3 blades)	43.5
ใบกวนแบบใบกังหัน 4 ใบ ที่มีติดอยู่บนจานกลม (Turbine, 4 flat blades)	60.0
ใบกวนแบบใบกังหัน 6 ใบ ที่มีติดอยู่บนจานกลม (Turbine, 6 flat blades)	65.0
ใบกวนแบบใบกังหัน 6 ใบ ที่มีลักษณะโค้ง (Turbine , 6 curved blades)	70.0
ใบกวนแบบใบกังหัน 6 ใบ ทีมีลักษณะเอียง 45^o (Fan turbine, 6 blades at 45^o)	70.0
ใบกวนแบบใบกังหัน 6 ใบ ที่มีลักษณะ โค้ง และมีขอบรอบใบพัด (Shrouded turbine, 6 curved blades)	97.5
ใบกวนแบบใบกังหัน 6 ใบ ที่มีขอบรอบปลายใบพัดและไม่มีแผ่นกั้น (Shrouded turbine, with stator, no baffles)	172.5
ใบกวนแบบใบพาย 2 ใบ โดยที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของใบพายต่อความสูงของใบพายเท่ากับ 4 (Flat paddles, 2 blades (single paddle), D_i / W_i = 4)	43.0
ใบกวนแบบใบพาย 2 ใบ โดยที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของใบพายต่อความสูงของใบพายเท่ากับ 6 (Flat paddles, 2 blades, D_i / W_i = 6)	36.5
ใบกวนแบบใบพาย 2 ใบ โดยที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของใบพายต่อความสูงของใบพายเท่ากับ 8 (Flat paddles, 2 blades, D_i / W_i = 8)	33.0
ใบกวนแบบใยพาย 4 ใบ โดยที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของใบพายต่อความสูงของใบพายเท่ากับ 6 (Flat paddles, 4blades, D_i / W_i = 6)	49.0
ใบกวนแบบใบพาย 6 ใบ (Flat paddles, 6 blades)	71.0

ที่มา: ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี, 2551

หมายเหตุ กรณีที่ถังกวนไม่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถังกวนและต้องการใช้กำลังในการปั่นกวนเท่ากับกำลังที่ใช้ในการปั่นกวนถังกวนที่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถัง จะได้ว่าค่า K_L ของใบกวนจะมีค่าเพียง 75% ของใบกวนที่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถังกวน ซึ่งก็ หมายความว่า ถังกวนที่ไม่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถังต้องใช้ใบกวนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าถังกวนที่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถังภายใต้เงื่อนไขที่กำลังในการปั่นกวนภายในถังกวนที่ไม่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถังเท่ากับกำลังที่ใช้ในการปั่นกวนถังกวนที่มีการติดตั้งแผ่นกั้นภายในถัง

2.5 วัตถุดิบตั้งต้น

2.5.1 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Manihot esculenta* (L.) Crantz) เป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง และเป็นพืชอาหารที่สำคัญอันดับ 5 รองจาก ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง มีชื่อเรียกสามัญอีกหลายชื่อเช่น Cassava, Yuca, Mandioa, Manioc, Tapioca ชาวไทยเดิมเรียกกันว่า มันสำโรง มันไม้ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า มันต้นเตี้ย ภาคใต้เรียกมันเทศ (แต่เรียกมันเทศว่า "มันหลา") คำว่า "สำปะหลัง" ที่นิยมเรียกอาจมาจากคำว่า "ซำเปอ (Sampou)" ของชวาตะวันตก แหล่งกำเนิดมันสำปะหลังพบแถบที่ลุ่มเขตร้อน (Lowland tropics) มีหลักฐานแสดงว่าปลูกกันในโคลัมเบีย และเวเนซูเอลา มานานกว่า 3,000-7,000 ปีมาแล้ว มันสำปะหลังมีการแพร่กระจายการเพาะปลูกในสมัยที่มีการล่าอาณานิคมในคริสต์ศตวรรษที่ 15 โดยพวกนักค้าทาสได้นำมันสำปะหลังจากบราซิลไปปลูกในทวีปอัฟริกา และต่อมา พ.ศ. 2282 ได้มี ชาวโปรตุเกส นำมันสำปะหลังไปปลูกที่เกาะรียูเนียน (Reunion) และแพร่กระจายไปยังมาดากัสกา

- **ประวัติการเพาะปลูกมันสำปะหลัง**

มีการนำมันสำปะหลังมาปลูกครั้งแรกในทวีปเอเชียที่ประเทศฟิลิปปินส์ในคริสต์ศตวรรษที่ 17 โดยชาวสเปนได้นำมาจากเม็กซิโก และในเวลาต่อมาก็มีการปลูกที่อินโดนีเซีย นอกจากนี้มีหลักฐานว่า เมื่อ พ.ศ. 2337 ได้มีการนำมันสำปะหลังจากอัฟริกามาปลูกที่อินเดีย เพื่อใช้ในการทดลอง สำหรับประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอนว่ามีการนำมันสำปะหลังเข้ามาปลูกเมื่อใด คาดว่าคงจะเข้ามาในระยะเดียวกันกับการเข้าสู่ศรีลังกา และฟิลิปปินส์ คือ ประมาณ พ.ศ. 2329-2383 มันสำปะหลัง

ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าเพื่อใช้ทำแป้งและสาคูในภาคใต้ โดยปลูกระหว่างแถวของต้นยางพารากันมากว่า 70 ปีแล้ว โดยเฉพาะที่จังหวัดสงขลามีอุตสาหกรรมทำแป้งและสาคูจำหน่ายไปยังปีนังและสิงคโปร์ แต่การปลูกมันสำปะหลังทางภาคใต้ค่อยๆ ลดลงเมื่อมีการขยายการปลูกยางพารา ต่อมาได้มีการปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออก คือจังหวัดชลบุรี ระยองและจังหวัดใกล้เคียง และเมื่อความต้องการของตลาดในด้านผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์และอุ ตสาหกรรมมีเพิ่มมากขึ้นทำให้พื้นที่ในภาคตะวันออกผลิตได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังจังหวัดอื่นๆ โดยเฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นผลให้ในปัจจุบันภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่เพาะปลูกมากที่สุดของประเทศไทย และผลผลิตมันสำปะหลังให้ผ ลผลิตเฉลี่ย 4 – 5 ตันแต่เมื่อดูแลอย่างดีอาจได้ถึง 12

ตันต่อไร่ โดยที่ผลผลิตจะถูกนำมาแปรรูปในรูปของแป้งมันสำปะหลัง และ มันสำปะหลังเส้น เพื่อเป็นวัตถุดิบส่งโรงงานต่อไป

- **พันธุ์มันสำปะหลัง**

มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 เป็นผลงานพัฒนาของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กับมู ลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมป์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เป็นการผสมระหว่างพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 กับพันธุ์ระยอง 5 ในปี 2534 และได้ทำการคัดเลือก ทดสอบ เปรียบเทียบพันธุ์ จนถึงปี 2544 ได้รับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2548 สำหรับลักษณะเด่นของพันธุ์นี้ คือ เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 5.7 ตันต่อไร่ และปริมาณแป้งสูง โดยเฉลี่ยแป้งในหัวสด 25.5 เปอร์เซ็นต์ แป้งมีความหนืดสูง ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้กับอุตสาหกรรมต่อเนื่องได้หลายชนิด ท่อนพันธุ์ แข็งแรง เปอร์เซ็นต์ความงอกและคว าม อยู่รอดสูง ต้านทานโรคใบจุดปานกลาง (Thai Topioca Development Institute, 2000)

มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เป็นผลงานการวิจัยร่วมกันของนักวิจัย 3 หน่วยงาน คือ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรมวิชาการเกษตร และศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (CIAT) พันธุ์นี้เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง พันธุ์ระยอง 1 (พันธุ์พื้นเมือง) กับพันธุ์ระยอง 90 และเนื่องในวาระครบรอบ 50 ปี ของการก่อตั้งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อ พ .ศ. 2536 จึงตั้งชื่อพันธุ์นี้ว่า "เกษตรศาสตร์ 50" ลักษณะเด่นของพันธุ์นี้ คือ เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตหัวสด และเปอร์เซ็นต์แป้งสูง จึงเป็นพันธุ์ที่ต้องการของเกษตรกร และโรงงานแปรรูปมันสำปะหลัง สามารถปลูกได้ทั่วประเทศ งอกดี ลำต้นสูงใหญ่ หัวดก และหัวมีลักษณะเป็นกลุ่ม สามารถเก็บเกี่ยวสะดวกโดยแรงงานคนเครื่องขุด (Thai Topioca Development Institute, 2000)

มันสำปะหลังพันธุ์เขียวปลดหนี้ เป็นพันธุ์มันสำปะหลังที่ได้จากการผสมข้าม โดยใช้พันธุ์ระยอง 5 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเป็นแม่พันธุ์ และพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง คือ พันธุ์ OMR29-20-118 เป็นพ่อพันธุ์ ในพ.ศ.2535 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ให้ผลผลิตแป้งและผลผลิตมันแห้งสูง เป็นที่พอใจของเกษตรกร โรงงานแป้งมัน และลานมันเส้น มีการกระจายพันธุ์จากเกษตรกรสู่เกษตรกรอย่างต่อเนื่อง และเป็นที่รู้จักในชื่อที่เรียกกันทั่วไปว่า “พันธุ์เขียวปลดหนี้” คำว่า “เขียว” มาจากสีของลำต้น นอกจากนี้ยังมีเอกชนนำต้นพันธุ์ไปจำหน่ายให้เกษตรกร โดยใช้ชื่อว่า “พันธุ์มังกรหยก” ลักษณะเด่นของพันธุ์นี้ คือ มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง เมื่อเก็บเกี่ยวในฤดูฝน มีเปอร์เซ็นต์แป้ง 25.8 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตแป้ง 1.25 ตันต่อไร่ เก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง เปอร์เซ็นต์แป้งจะสูงขึ้นเป็น 29-32 เปอร์เซ็นต์ และยังมีปริมาณมันแห้งสูง เปอร์เซ็นต์มันแห้ง 42.8 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตมันแห้ง

2.00 ตันต่อไร่ ให้ผลผลิตหัวสดเฉลี่ย 4.77 ตันต่อไร่ ใกล้เคียงกับพันธุ์ระยอง 5 และเกษตรศาสตร์ 50 (Thai Topioca Development Institute, 2000)

มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 เป็นพันธุ์ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์ 27-77-10 กับพันธุ์ระยอง3 เมื่อ พ.ศ. 2525 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ลักษณะเด่นของพันธุ์นี้ คือ ผลผลิตหัวสดสูง 4.42 ตันต่อไร่ ผลผลิตมันแห้งสูง 1.55 ตันต่อไร่ และผลผลิตแป้ง 1.03 ตันต่อไร่ นอกจากนี้ยังมีความงอกของท่อนพันธุ์ที่ใช้ปลูกดี และต้นพันธุ์อยู่รอดจนถึงเวลาเก็บเกี่ย วสูง 93 เปอร์เซ็นต์มีเสถียรภาพและการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี (Thai Topioca Development Institute, 2000)

- **องค์ประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์**

หัวมันสำปะหลังเป็นส่วนของรากที่โตขึ้นสำหรับสะสมแป้ง หัวมันสำปะหลังสดมีน้ำอยู่ประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบส่วนใหญ่คือแป้งหรือคาร์โบไฮเดรต ประมาณ 20-35 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นหัวมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานในอาหารของคนและสัตว์ แต่มีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อยมาก ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นแหล่งของโปรตีนและไขมัน การนำหัวมันสำปะหลังไปใช้มั กจะทำให้แห้ง เพื่อลดความชื้นลงเสียก่อน เช่น มันเส้น มันอัดเม็ด หรือสกัดเฉพาะส่วนของแป้งออกจากหัวมันสำปะหลัง ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังสดมันสำปะหลังแห้งและแป้งมันสำปะหลัง (ตารางที่ 2.13) จะเห็นได้ว่าเมื่อทำให้หัวมันสำปะหลังแห้งมีความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีคาร์โบไฮเดรต 70 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 2.63 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 0.51 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.13 ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังสดและแห้ง

ส่วนประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลัง	**หัวมันสด**	**หัวมันแห้ง**
ความชื้น (%)	63.25	10.63
คาร์โบไฮเดรต (%)	29.73	70.63
โปรตีน (%)	1.18	2.63
ไขมัน (%)	0.08	0.51
เถ้า (%)	0.85	2.20
เยื่อใย (%)	0.99	1.73
โปตัสเซียม (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	0.26	0.43
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	0.04	0.08
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	173	100

ที่มา : ศูนย์พัฒนาความรู้การซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า, 2007

หัวมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำกว่าธัญพืช กล่าวคือหัวมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีน 1.18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวและข้าวโพดมีปริมาณโปรตีน 7.82 เปอร์เซ็นต์ และ 8.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่ อทดแทนธัญพืช จึงต้องเพิ่มปริมาณโปรตีนในสูตรอาหารโดยการผสมกากถั่วเหลือง หรือปลาป่น และมันสำปะหลังมีองค์ประกอบภายในประกอบด้วยสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งไซยาไนด์ก็เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่พบในหัวมันสำปะหลัง โดยมีการรายงานว่าหัวมันสำปะหลังแห้งความชื้น 15.70 เปอร์เซ็นต์ มีส่วนประกอบของไซยาไนด์เท่ากับ 1.60 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง (Pandey และคณะ, 2000) ในประเทศไทยพบว่าในหัวมันสำปะหลังมีปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังสด มันสำปะหลังแบบแผ่น และมันสำปะหลังอัดเม็ด เท่ากับ 122.09 30.48 และ 13.76 ส่วนต่อล้านส่วน ตามลำดับ (Department of Animal Science, 1992) โดยพบว่าแบคทีเรียชนิดสร้างมีเทนไวต่อปริมาณไซยาไนด์มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะทนต่อปริมาณไซยาไนด์ได้สูงสุดไม่เกิน 5-6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระหว่างกระบวนการสร้างแก๊สมีเทน (Cuzin และคณะ, 1992) ซึ่งพบว่าปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังในประเทศไทยมีปริมาณต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่ส่งผลต่อจุลินทรีย์ชนิดที่สร้างแก๊สมีเทน (Department of Animal Science, 1992)

2.5.2 มูลปศุสัตว์

ศักยภาพของมูลปศุสัตว์เป็นศักยภาพของมูลโค กระบือ ที่จะสามารถผลิตพลังงานแก๊สชีวภาพได้ การรายงานของ Mackie และ Bryant (1995) พบว่าแก๊สชีวภาพสามารถผลิตได้จากมูลสัตว์ เช่น มูลสัตว์ปีก (ไก่ และเป็ด) มูลช้าง มูลม้า มูลโค (Bhumiratana และคณะ, 1984; Energy Policy and Planning Office, 2002; Energy Policy and Planning Office, 2003) มูลสัตว์จะถูกใช้ได้ง่ายเมื่อผสมกับน้ำ โดยให้แก๊สชีวภาพจำนวนมาก รวมถึงต้นทุนการผลิตต่ำซึ่งเป็นไปตามปกติ (Milono และคณะ, 1981) และมีการศึกษาเพิ่มเติมของสหราชอาณาจักรโดยแก๊สชีวภาพ (แก๊สมีเทน) ที่ได้จากมูลโคถูกทดสอบเริ่มต้นในประเทศสหรัฐอเมริกา ตามมาด้วยการศึกษาในปี 2008 มีการรวบรวมโดยนิตยสารวิทยาศาสตร์และเด็ก พบว่า แก๊สชีวภาพจากมูลโคหรือที่เรียกว่าพลังงานโค ผลิตพลังงานได้ 100 พันล้านกิโลวัตต์ต่อชั่วโมง เป็นพลังงานที่เพียงพอกับบ้านหลายล้านหลังในสหรัฐอเมริกา นอกจากนี้แก๊สชีวภาพได้รับการทดสอบเพื่อพิสูจน์ว่าสามารถลดการปล่อยแก๊สเรือนกระจกได้ 99 ล้านตันหรือ ประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ของแก๊สเรือนกระจกที่ถูกผลิตโดยประเทศสหรัฐอเมริกา (Webber และคณะ, 2008)

- **ชนิดของมูลสัตว์**

มูลสัตว์ที่จะนำมาใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยทั่วไปแล้วมูลสัตว์ทุกชนิดสามารถนำมาใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพได้ ตลอดทั้งขยะมูลฝอย หรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรก็สามารถนำไปใช้การผลิตแก๊สชีวภาพได้เช่นกัน แต่คุณสมบัติหรือลักษณะเฉพาะของมูลสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน และเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดแก๊สชีวภาพได้

มูลโค มูลกระบือ มูลสุกร และมูลไก่ ที่เป็นมูลสดสามารถนำมาผสมน้ำในอัตราส่วน และปริมาณที่เหมาะสมเข้าสู่กระบวนการหมักเพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพได้

มูลม้า มูลลา มูลล่อ เมื่อใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพต้องเอากากหรือเส้นใยหยาบๆที่มีอยู่ในมูลออกเสียก่อน ซึ่งทำได้โดยให้ส่วนผสมของมูลกับน้ำไหลผ่านตะแกรงก่อนเสมอ

มูลแพะ เมื่อใช้ในการผลิตแก๊ส ชีวภาพ ควรทำให้มูลที่มีลักษณะเป็นเม็ด แตกละเอียดเสียก่อน เนื่องจากเม็ดจะลอยในระหว่างกระบวนการหมักเกิดเป็นฝ้าแข็งๆทำให้แก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นไม่สามารถลอยขึ้นมาได้

มูลช้าง โดยปกติแล้วไม่เป็นที่แนะนำในการผลิตแก๊สชีวภาพ เนื่องจากมูลช้างมีกากและเส้นใยหยาบๆมากเกินไป

2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Sreethawong และคณะ (2010) ศึกษาถึงผลกระทบของพารามิเตอร์ในการผลิตไฮโดรเจนจากน้ำเสียของมันสำปะหลังในสภาพไม่ใช้ออกซิเจนที่ใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบกะอย่างต่อเนื่อง โดยปราศจากการเสริมด้วยไนโตรเจน ระบบทำการภายใต้อัตราการเติม COD 30 kg/m^{3}d และกวน 6 รอบต่อวัน ให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 388 ml H_2/g VSS d และปริมาณไฮโดรเจนสูงสุด 186 ml H_2/g COD ที่ลดลง อย่างไรก็ตาม เมื่อน้ำเสียที่เสริมด้วยไนโตรเจน อัตราส่วน COD : N ตามทฤษฎี คือ 100:2.2 พบว่าให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด 524 ml H_2/g VSS d และ ปริมาณไฮโดรเจนสูงสุด 438 ml H_2/g COD ที่ลดลง ไนโตรเจนที่มากเกินพอ จะช่วยเสริมกรดอินทรีย์และการผลิตเอทานอลที่สูงกว่าและนำไปสู่ประสิทธิภาพการผลิตไฮโดรเจนที่ลดลง

Adelekan และ Bamgboye (2009) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจากเปลือกมันสำปะหลังผสมรวมกับมูลไก่ มูลสุกร และมูลโค ในอัตราส่วน 1:1 2:1 3:1 และ 4:1 โดยน้ำหนัก การศึกษาในถังหมักแบบกะภายใต้ช่วงอุณหภูมิระดับ mesophilic เป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่าการผลิตแก๊สชีวภาพจากเปลือกมันสำปะหลังร่วมกับมูลสุกร สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้มากกว่ามูลสัตว์ชนิดอื่น ขณะที่การผลิตแก๊สชีวภาพจากเปลือกมันสำปะหลังผสมรวมกับมูลไก่นั้นผลิตแก๊สชีวภาพได้น้อยที่สุด ในขณะเดียวกันอัตราส่วนที่สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้มากที่สุด คือ อัตราส่วน 1:1 ในทุกการทดลองและทุกชนิดของมูลสัตว์

Adeyanju (2008) ทำการศึกษาผลกระทบหัวเชื้อ wood-ash ใช้ร่วมกับมูลสุกรและเปลือกมันสำปะหลังในการผลิตแก๊สชีวภาพในถังย่อยไม่ใช้ออกซิเจนระดับห้องปฏิบัติการ มูลสุกรและเปลือกมันสำปะหลังผสมกันในความเข้มข้นที่แตกต่าง เป็นเวลา 45 วัน ปริมาตรของการผลิตแก๊สชีวภาพอยู่ในช่วง 83 -2345 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามความเข้มข้นที่แต กต่างของมูลสุกรและเปลือกมันสำปะหลัง โดยในถังให้ปริมาตรแก๊สชีวภาพสูงสุด ขณะที่ในถังย่อยสลายเดี่ยวของมูลสุกรและเปลือกมันสำปะหลัง ให้ปริมาตรแก๊สชีวภาพ 430 และ 83 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ การทำให้เปลือกมันสำปะหลังย่อยสลายส่งผลต่อการเพิ่มความเป็นกรดของอาหาร ทำให้การผลิตแก๊สชีวภาพลดลงอย่างรวดเร็ว

Alvarez และ Gunnar (2008) ศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพของการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่วนผสมของมูลลามะ มูลวัว และมูลแกะ ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ ความเข้มข้นมีเทนในแก๊สชีวภา พ คือ 55 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพอยู่ระหว่าง 0.2 และ 0.3 L d^{-1} ที่ HRT 30 วัน อัตราการผลิตแก๊ส การย่อยที่จำเป็นในช่วงการปรับตัวระหว่าง 20 และ 40 วัน ในการเข้าถึงระยะที่

คงที่ในระยะยาวที่ต้องการสำหรับพื้นที่อุณหภูมิต่ำ กระบวนการ biomethanation ตอบสนองทันทีที่เพิ่มอุณหภูมิขึ้น

Xie และคณะ (2008) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากมันฝรั่งโดยการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน 2 เฟส ภายใต้สภาวะ mesophilic เครื่องปฏิกรณ์ของการทดลองเป็นขวดแก้ว 800 มิลลิลิตร กับ ปริมาณหัวเชื้อ 500 มิลลิลิตร แก๊สไนโตรเจนจะถูกนำเ ข้าเครื่องปฏิกรณ์ เป็นเวลา 20 นาที ซึ่งการผลิตมีเทนเกิดขึ้นในเฟสที่สอง มีเทนถูกผลิตจากเฟสที่หนึ่งโดยจุลินทรีย์สร้างมีเทน ได้ปริมาณมีเทนสูงสุดคือ 157.9 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ทั้งหมด และอัตราการผลิตมีเทนเฉพาะสูงสุด คือ 102.7 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งทั้งหมด

Alvarez และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตมีเทนจากมูลลามะและมูลโค โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบขนาน ที่ความดัน 495 และ 760 มิลลิลิตรปรอท อุณหภูมิ 11 และ 35 องศาเซลเซียส HRT 20 และ 50 วัน ปริมาณมีเทนที่ได้จากมูลโค ณ อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 6.4 และ 33.61 มีเทนต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ที่ถูกเติมไป ขณะที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 49.6 และ 131.31 มีเทนต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ที่ถูกเติมไป ปริมาณมีเทนจากมูลลามะค่อนข้างน้อยกว่าปริมาณมีเทนที่ได้จากมูลโค นั่นคือ ณ อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 3.3 และ 19.31 มีเทนต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ ขณะที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อยู่ระหว่าง 35.6 และ 84.11 มีเทนต่อกิโลกรัมของแข็งระเหย อย่างไรก็ตาม มูลลามะโดยรวมทั้งหมดพบว่าเป็นวัตถุดิบที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ เนื่องจากมีปริมาณของแข็งระเหยได้สูง และสูงกว่ามูลสัตว์อื่นๆที่เคยรายงานมาก่อนหน้านี้ และยังมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงอีกด้วย

Karim และคณะ (2005) ศึกษาผลของการผสมผสานของเหลวสำหรับการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนของของเสียจากสัตว์ โดยทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ 6 ถัง ใช้วิธีการกวนด้วยแก๊สชีวภาพในอัตราที่แตกต่างกันตั้งแต่ไม่กวนจนถึงอัตราการกวนเป็น 3 ลิตรต่อนาที ผลการทดลองพบว่า อัตราการผลิตแก๊สมีเทนมีปริมาณ 0.40-0.45 ลิตรต่อลิตรต่อวัน โดยถังที่มีปริมาณแก๊สมีเทนสูงสุดคิดเป็น 0.45 ลิตรต่อลิตรต่อวัน คือถังที่ไม่มีการกวนน้ำเสียด้วยแก๊สชีวภาพ รองลงมาคือถังที่มีอัตราการกวนเป็น 1 2 และ 3 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ และเมื่อลดขนาดความสูงของถังลงจากจาก 40 เป็น 26 และ 13 มิลลิเมตร ตามลำดับ และให้มีอัตราการกวนเท่ากันเป็น 1 ลิตรต่อนาที พบว่าขนาดความสูงขนาดกลางคือที่ 26 มิลลิเมตร มีปริมาณแก๊สมีเทนเกิดขึ้นสูงสุดคิดเ ป็น 0.45 ลิตรต่อลิตรต่อวัน รองลงมาคือที่ความสูง 13 และ 40 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Güngör-Demirci และ Demirer (2004) ศึกษาการหมักในสภาพไม่ใช้ออกซิเจน และศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพของมูลไก่ (broiler) และมูลวัว มีอัตราส่วนผสมของมูลที่แตกต่างกัน 5 แบบ (100% broiler; 75% broiler, 25% cattle; 50% broiler, 50% cattle; 25% broiler, 75% cattle; 100% cattle) ส่วนผสมมีค่าความเข้มข้นของ COD เริ่มต้น แตกต่างกัน 2 ค่า (12,000 และ 53,500 mg/l) โดยศึกษาผลกระทบของความเข้มข้น COD เริ่มต้น สารอาหารที่เสริมลงไป การปรับสภาพของแบคทีเรี ย และอุณหภูมิการย่อยสลาย จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการลดลงของ COD ทั้งหมด คือ 32.0–43.3% และ 37.9–50% ปริมาณแก๊สชีวภาพที่ได้ คือ 180–270 และ 223–368 ml gas/g COD ที่เติมลงไป ที่ความเข้มข้น COD เริ่มต้น 12,000 และ 53,500 mg/l ตามลำดับ การลดลงของปริมาณ แก๊สชีวภาพ พบว่าสัดส่วนของมูล Broile เพิ่มขึ้นในส่วนผสมของ Broiler และมูลวัว ที่ ความเข้มข้น COD เริ่มต้น 53,500 mg/l

Hashimoto, Roman และ Hruska (2004) ศึกษาถึงผลของระยะเวลาในการกวนผสมและสภาวะความเป็นสุญญากาศภายในถังปฏิกรณ์ต่ออัตราการผลิตมีเทนโดยการหมักแบ บไม่ใช้ออกซิเจนจากของเสียจากการปศุสัตว์ ผลการการทดลองพบว่า การกวนผสมในถังหมักอย่างต่อเนื่องสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้สูงกว่าการกวนเพียงวันละ 2 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าทั้งที่ระยะเวลากักเก็บของเหลว 4 วันและ 6 วัน การกวนแบบต่อเนื่องจะมีอัตราการผลิตแก๊สมี เทนได้สูงกว่าการกวนเพียงครั้งคราวคิดเป็น 8-11 เปอร์เซ็นต์

Yoonan และ Kongkiattikajorn (2004) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายกากมันสำปะหลังโดยเอนไซม์เพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวส์ พบว่าปฏิกิริยาโดยแอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวส์ได้มากที่ สุด นั่นคือ ปฏิกิริยาโดยแอลฟาอะไมเลสสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวส์ 44.59 เปอร์เซ็นต์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ขณะที่ ปฏิกิริยาโดยอะไมโลกลูโคซิเดสสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวส์ 79.99 เปอร์เซ็นต์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 ชั่วโมง

วันทนีย์และสุรีย์รักษ์ (2004) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจากหัวมันสำปะหลังในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ถังย่อยแบบกะเดี่ยวขนาด 5 ลิตรและ 20 ลิตรที่อุณหภูมิ 29-31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าในถังย่อยแบบกะขนาด 5 ลิตร ถูกป้อนด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ของแข็งทั้งหมดร้อยละ 1.00 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ ยูเรีย ร้อยละ 0.04 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณแก๊สที่ได้ 1.96 ลิตรต่อวัน ประกอบด้วยปริมาณมีเทนสูงสุด 67.92 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 10 วัน และปฏิกิ ริยาการหมักจะสิ้นสุดลงหลังจาก 16 วัน เมื่อเพิ่มขนาดถังย่อยเป็น 20 ลิตร พบว่า ปริมาณแก๊สที่ได้ต่อวัน ประมาณ 5.50 ลิตร ประกอบด้วยปริมาณมีเทน 55.70 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 10 วัน ขณะที่ปริมาณแก๊สที่ได้

3.88 ลิตรต่อวัน ประกอบด้วยปริมาณมีเทน 67.57 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 14 วัน และปฏิกิริยาการหมักจะสิ้นสุดลงหลังจาก 24 วัน จากการทดลองนี้ สรุปได้ว่า การผลิตแก๊สชีวภาพจากหัวมันสำปะหลังในถังย่อยแบบเดียวอย่างง่ายสามารถผลิตแก๊สมีเทนได้ 67 เปอร์เซ็นต์

Al-Masri, M.R. (2001) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงการเกิดแก๊สชีวภาพเนื่องจากอัตราส่วนที่แตกต่างของของเสียสัตว์และของเสียทางการเกษตร โดยศึกษาพารามิเตอร์ของการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วัน สำหรับ 8 กลุ่มการทดลองจากปัจจัยที่ (1) ประเภทของเสียของสัตว์ (ของเสียแกะ,S และของเสียแพะ,G) และ (2) อัตราส่วนของของเสียเค้กมะกอก 4 ระดับ (100:0 สำหรับ S1 และ G1; 80:20 สำหรับ S2 และ G2; 60:40 สำหรับ S3 และ G3 และ 40:60 สำหรับ S4 และ G4) ผลการทดลองพบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P <0:05)

Anjan และ Kalia-Shiv (2001) ศึกษาผลของการผสมของเหลวต่ออัตราการผลิตแก๊สชีวภาพจากขอ งเสียจำพวกมูลสัตว์ในถังหมักไม่ใช้ออกซิเจน โดยทำการทดลองหมักมูลสัตว์ 40 กิโลกรัม เปรียบเทียบการย่อยสลายใน 2 ถัง คือ ถังหมักที่มีมูลสัตว์เพียงอย่างเดียวและถังหมักที่มีมูลสัตว์ถูกผสมด้วยของเหลว ผลการทดลองพบว่า ถังที่มีมูลสัตว์อย่างเดียวสามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 821 ลิตรและถังที่มีการผสมของเหลว สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 1,457 ลิตร โดยการผสมของเหลวนั้นไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพเท่านั้น แต่สามารถช่วยในการกำจัดของแข็งระเหยได้อีกด้วย โดยพบว่าสำหรับถังที่มีการผสมของเหลวนั้นสามารถกำจัดของแข็งระเหยได้ 36.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ถังที่ไม่มีการผสมสามารถกำจัดของแข็งระเหยได้เพียง 23.93 เปอร์เซ็นต์

Garba (1996) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและระยะเวลาในการผลิตแก๊สชีวภาพจากวัตถุดิบลิกโนเซลลูโลซิก ซึ่งพบว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ดังนั้นควรหลี กเลี่ยงไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ กระบวนการย่อยควรออกแบบการทำงานที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ การผลิตแก๊สชีวภาพที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง Thermophillic และเกิดแก๊สชีวภาพช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการผลิต

Singh และคณะ (1995) ศึกษาการผลิตแก๊สชีวภาพจาก night soil ณ ระดับอุณหภูมิ psychrophilic (10 องศาเซลเซียส) ในถังหมักขนาด 25 ลิตร ระยะเวลาเก็บกัก (HRT) 20 25 30 35 และ 40 วัน โดยในช่วงสัปดาห์แรกการผลิตแก๊สชีวภาพจะเพิ่มสูงขึ้นในทุกถังหมัก แต่ถังหมักที่เวลาการเก็บกัก 20 วันนั้น มีการลดลงอย่างต่อเนื่อง หลังจากสัปดาห์แรก การผลิตแก๊สชีวภาพจะคงที่ในช่วงสัปดาห์ที่ 9-10 โดยการผลิตแก๊สชีวภาพสูงสุดอยู่ในช่วง ระยะเวลาการเก็บกัก 25 วัน ตามด้วยระยะเวลาการเก็บกัก 30 35 และ 40 วัน ความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 7.2-7.4

ค่าความเป็นกรด- ด่างของระยะเวลาการเก็บกัก 20 วัน อยู่ที่ 6.8 เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 และการหมักที่ระยะเวลาการเก็บกัก 25 วัน สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 69.72 ลิตรต่อกิโลกรัมของของแข็งระเหยได้ต่อวัน โดยมีความเข้มข้นของมีเทน 73 เปอร์เซ็นต์

Rao และ Seenayya (1994) ศึกษาการพัฒนาแบคทีเรียสร้างมีเทนจากการย่อยสลายมูลวัวและของเสียจากห มูโดยการเติมธาตุเหล็กลงไป ใช้ $FeSO_4$ เป็นแหล่งธาตุเหล็ก เติม $FeSO_4$ ความเข้มข้น 50 mM ลงในกระบวนการถังย่อยแบบกะของมูลวัวและของเสียจากหมู สามารถเพิ่มแบคทีเรียสร้างมีเทนได้ 42 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มอัตราการหมุนเวียนของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ กรดไขมันระเหยได้ และจำนวนของแบคทีเรียสร้างมีเทนได้

Hawkes (1993) ได้กล่าวว่าพลังงานจากแก๊สชีวภาพนี้ ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของมีเทนที่มีอยู่ในแก๊ซนั้น เช่นแก๊สชีวภาพที่มีองค์ประกอบของมีเทนอยู่ 70 เปอร์เซ็นต์จะให้พลังงานออกมา 26 เมกกะจูลน์ต่อลูกบาศก์เมตร (MJ/m^3) และที่ 59 เปอร์เซ็นต์จะให้พลังงานออกมา 22 เมกกะจูลน์ต่อลูกบาศก์เมตร (MJ/m^3) เมื่อคิดเป็นค่าเฉลี่ยแล้วได้ว่า ที่ 65 เปอร์เซ็นต์มีเทนในแก๊สชีวภาพทั้งหมดจะให้พลังงานออกมาประมาณ 24 เมกกะจูลน์ต่อลูกบาศก์เมตร (MJ/m^3)

Cuzin และคณะ (1992) ศึกษาการหมักให้เกิดมีเทนของเปลือกมัน สำปะหลังโดยใช้ plug flow digester ส่วนประกอบของมันสำปะหลังที่มีปริมาณแป้งสูง อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง และมีสารไซยาโนเจนิค กลูโคซิเดส ซึ่งเป็นผลในการผลิตกรดเกิน ขาดแคลนไนโตรเจนและการปลดปล่อยไซยาไนด์ ซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน plug flow digester ช่วยแก้ปัญหาการเกิดกรดและการขาดแคลนไนโตรเจน

Wohlt และคณะ (1990) ศึกษาการผลิตมีเทนจากของเสียของอาหารโคนมในถังปฏิกรณ์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลาการเก็บ 3 6 และ 9 วัน ของแข็งระเหยได้ขาเข้าเพิ่มจาก 4 เปอร์เซ็นต์ ถึง 14 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งระเหยได้ทั้งหมด ประสิทธิภาพการหมักปริมาตรสูงสุด คือ 8-10, 10-12 และ 12 เปอร์เซ็นต์ สำหรับระยะเวลาการเก็บ 3, 6 และ 9 วัน ตามลำดับ ของแข็งระเหยได้ลดลง 19-24, 26-27 และ 30-33 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ 3 - 6 - และ 9 วัน ตามลำดับ

Manilal และคณะ (1990) ทำการศึกษาการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์กึ่งต่อเนื่อง จากของเสียที่ปล่อยออกมาจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง (6.2% ของแข็งทั้งหมด) ตัวอย่างที่นำมาทดสอบการหมักมีการเติมแหล่งไนโตรเจน (ยูเรีย) ให้ C : N ratio ประมาณ 30:1 (w / w) เป็นผลให้ค่าพีเอชของตัวอย่า งได้ 7.0 โดยใช้ NaOH เป็นตัวปรับ ซึ่งสามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ 59 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มการผลิตแก๊สชีวภาพด้วยการ

เพิ่มปริมาณของมูลวัวซึ่งส่วนใหญ่ใช้เป็นแหล่งของ inoculums bacteria สามารถผลิตแก๊สชีวภาพ 130 ลิตรต่อกิโลกรัมของมวลแห้ง สามารถกำจัด COD ได้ 63 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 50 วัน ส่วนในถังย่อยกึ่งต่อเนื่อง สามารถผลิตแก๊สได้ 325 ลิตรต่อกิโลกรัมของมวลแห้ง ในช่วงเวลากักเก็บ 33.3 วัน สามารถลด COD ได้ 50 เปอร์เซ็นต์

Kumar และคณะ (1986) ใช้ผงถ่านไม้ในเพิ่มผลผลิตแก๊สชีวภาพ โดยการเติมถ่านไม้ 5 เปอร์เซ็นต์ต่อมูลวัวบนน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยการผลิตแก๊สเพิ่มขึ้น 17 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักแบบกะ และ 34.7 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง การย่อยสลายของของแข็งระเหยได้เพิ่มขึ้น 30 - 34 เปอร์เซ็นต์ และลดค่า COD 55-69 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเติมถ่านไม้ในถังย่อยสลายแบบกึ่งต่อเนื่อง

Pound และคณะ, 1981 ใช้ต้นอ้อยเป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ และผสมกับ slurry ของปศุสัตว์ สูงถึง 56.7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง การเ พิ่มของ PCS (pressed cane stalk) ทำให้พีเอชของส่วนผสมลดลงและสิ่งนี้นำไปสู่ระยะ lag phase เกี่ยวเนื่องกับพีเอช ดังนั้นจึงมีการเติมยูเรียลงไปเพื่อปรับค่าพีเอชในระบบ เมื่อเติมยูเรียลงไปพีเอช เริ่มต้นอยู่ที่ 4.6 และ 4.4 สำหรับการทดลองที่มีการเติมยูเรียและไม่เติ มยูเรีย ตามลำดับ ซึ่งการเติมยูเรียลงไปมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของพีเอช และการลดลงของช่วงกว้างของ lag phase เพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพที่เพิ่มขึ้น

Hills (1979) ทำการศึกษาผลกระทบของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนบนการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจนของมูลโคนม พารามิเตอร์ที่ศึกษาคื อการผสมของมูลสัตว์และของเสียที่ประกอบด้วยคาร์บอน เป็นเวลา 11 เดือน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน คือ 8.0 ได้ทำการศึกษาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่าง 8.0 และ 51.7 และอัตราการเติมสารอินทรีย์ที่ 1.0 1.5 และ 2.0 kgVS/m^3.day อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เพิ่ มขึ้น ทำให้ความเข้มข้นของมีเทนลดลง (เช่น C:N = 8, CH4 = 67%; C:N = 51.7%, CH4 = 51.7%) การผลิตมีเทนที่ดีเมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน คือ 25

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

กระดาษกรองเบอร์1	(Whatmann)
กรวยบูชเนอร์ (Buchner funnel)	(Sac-sci, ประเทศไทย)
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator)	(Vision Sciencetific, Korea)
เครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก (magnetic stirrer)	(Barnstead, U.S.A.)
เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)	(Sartorius, Germany)
เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge)	(Hettich, Germany)
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น BJ 1000C	(Precisa, Switzerland)
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น AG285	(Mettler Toledo, USA)
เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave)	(Sturdy industrial, Taiwan)
เครื่องดูดสารแบบสูญญากาศ (suction pump)	(GAST, U.S.A.)
เครื่องปั่น (blender)	(Moulinex, France)
เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex mixer)	(Vision Sciencetific, Korea)
เครื่องตัดจุกคอร์ก เบอร์ 7 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร	(cork borer)
เครื่องตัดจุกคอร์ก เบอร์ 10 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร	(cork borer)
ตู้บ่มเชื้อ (incubator)	(EHRET, Germany)
ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven)	(Mammert, Germany)
ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)	(Clean model, Lab service Ltd)
เครื่องควบคุมอุณหภูมิน้ำ (water bath)	(Memmert, Germany)
เครื่องอ่านไมโครเพลท (microplate reader)	(Anthos Labtec Instruments GmbH, Austria)
ตะแกรงร่อน (test sieve) ขนาดรู 0.4 มิลลิเมตร	(โง้วฮวดหยู, ประเทศไทย)

สารเคมี

กรดซัลฟิวริก	(Labscan, ประเทศไทย)
กรดไฮโครคลอริก	(Merck,Germany)
กรดแอซิติก	(Labscan, ประเทศไทย)
กลูโคส (glucose)	(Fisher scientific, UK)
ซิลเวอร์ซัลเฟต	(Merck,Germany)
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	(Univar, Australia)
3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด	(Fluka, Switzerland)
3-โซเดียมซิเทรต (tri-sodium citrate)	(Univar, Australia)
โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	(Univar, Australia)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	(Univar, Australia)
โซเดียมแอซิเตตไตรไฮเดรต	(Univar, Australia)
โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต	(Univar, Australia)
โพแทสเซียมไดโครเมต	(Univar, Australia)
โพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลต	(Univar, Australia)
ฟีนอล	(Merck,Germany)
เมอร์คิวรี่ทูซัลเฟต	(Merck,Germany)
แป้งจากหัวมันสำปะหลัง	(Univar, Australia)
ยูเรีย (NH_2CONH_2)	(Univar, Australia)
วุ้นผง (agar)	(วุ้นบริสุทธิ์, ประเทศไทย)
เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (C_2H_5OH)	(องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)
เอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ (absolute ethanol)	(Merck, Germany)
Nutrient Agar (NA)	(Scharlau, Spain)
Nutrient Broth (NB)	(Oxoid, England)
Potato Dextrose Agar (PDA)	(Difco Laboratories, U.S.A.)
Potato Dextrose Broth (PDB)	(Hi media, India)

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 การเก็บตัวอย่างมันสำปะหลัง

เก็บตัวอย่างมันสำปะหลัง 4 พันธุ์ ได้แก่ ห้วยบง เกษตรศาสตร์- 60 ซัดดัม เขี้ยวปลดหนี้ จากจังหวัดนครราชสีมา โดยแบ่งตัวอย่างมันสำปะหลั งแต่ละพันธุ์เพื่อหาปริมาณความชื้น ปริมาณซีโอดี และน้ำตาลรีดิวซ์

3.1.2 การเตรียมตัวอย่างมันสำปะหลัง

นำหัวมันสำปะหลังสดตัดให้มีขนาดเล็กลง หมักทิ้งไว้ 4 วัน จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องปั่น แล้วนำไ ปร่อนผ่านตะแกรงร่อนที่มีรูขนาด 0.4 มิลลิเมตร จนได้เป็นผง ซึ่งจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมันสำปะหลังและมูลโค

3.2.1 การวิเคราะห์หาคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของมันสำปะหลัง

นำมันสำปะหลังพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก มาตรวจหาคุณลักษณะเบื้องต้น ได้แก่ ปริมาณความชื้น และองค์ประกอบทางโภชนาการ คือ ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ปริมาณไขมัน ฟอสเฟส และตรวจหาปริมาณของแข็งทั้งหมด เยื่อใย และ ขี้เถ้า

3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของมูลโค

มูลโคที่ใช้ได้จากโคเนื้อ จากฟาร์มในจังหวัด ปทุมธานี เป็นตัวอย่างสดที่เก็บภายใน 24 ชั่วโมง ลักษณะเป็นของเหลวข้นกึ่งแข็ง มีกากเศษอาหารจากหญ้าหรือเซลลูโลสผสมอยู่การเก็บรักษาทำได้โดยแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งการเก็บตัวอย่างมูลโคสด ทำโดยเก็บตัวอย่างจากโคคอกเดียวกันนำมาผสมกันก่อนแช่เย็นเก็บไว้ใช้ ตัวอย่างมูลโคนำมาผสมกับน้ำประปา เพื่อให้ได้เกณฑ์ของการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนอยู่ในช่วง Standard rate คือ 0.5-1.6 Kg TVS/m^3-d ซึ่งการเตรียมสารละลายมูลโคตัวอย่างความเข้มข้น 1% จะนำมาตรวจสอบคุณลักษณะเบื้องต้น ได้แก่ ปริมาณความชื้น โลหะบางชนิดที่มีผลยับยั้ งการหมักคือทองแดง และวิเคราะห์อาหารเสริมสร้าง คือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส และตรวจสอบตัวแปรที่มีผลต่อสภาพแวดล้อม คือ ปริมาณบีโอดี ปริมาณซีโอดี ของแข็งทั้งหมด และ ของแข็งระเหยได้ทั้งหมด

3.3 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

การหาปริมาณความชื้นตามวิธี TAPPI T210 cm-86 (Technical Association of Pulp and Paper Industry [TAPPI], 1986) โดยนำถาดหุ้มอะลูมิเนียมฟอยล์ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถาดไว้ ใส่ มันสำปะหลังสดที่ชั่งน้ำหนักไว้ลงไปในถาดที่ทำการอบและชั่งน้ำหนักแล้ว โดยบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของมันสำปะหลังสดเอาไว้ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักของมันสำปะหลังหลังอบแล้ว แล้วคำนวณหาปริมาณความชื้นดังสมการ ซึ่งมันสำปะหลังแต่ละชนิดจะวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณความชื้น(เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักหลังอบแห้ง}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง}}$$

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

นำสารละลายตัวอย่าง (100 เปอร์เซ็นต์) มาวิเคราะห์โดยปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดโดยใช้วิธี DNS method (ดัดแปลงมาจาก Miller, 1959) โดยปฏิกิริยานี้ประกอบด้วยสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท เติมสารละลาย DNS reagent ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาคผนวก ง) 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน สำหรับแบลงค์ ใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง จากนั้นปิดฝาไมโครเพลท แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เมื่อครบเวลาทำการเจือจางในไมโครเพลทด้วยน้ำกลั่น 5 เท่า โดยดูดสารตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้วนั้นขึ้นมา 50 ไมโครลิตร นำไปใส่ไมโครเพลทอีกอันที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน วัดค่ าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0-2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ง

3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณซีโอดี (Chemical Oxygen Demand: COD)

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลง จากนั้นเตรียมหลอดปริมาณซีโอดี (ภาคผนวก ง) ที่มีขนาด 20 X 150 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดปริมาณซีโอดีเติมสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายกรดซัลฟิวริก -ซิลเวอร์ซัลเฟต (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ปิดฝาจุกแต่ละหลอดและเขย่าให้เข้ากันด้วย จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้สารละลายเย็นลง แล้วดูดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำปฏิกิ วิยาแล้ว ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานปริมาณความต้องการออกซิเจนที่มีความเข้มข้นในช่วง 20-900 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ง

3.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

นำสารละลายตัวอย่าง (100 เปอร์เซ็นต์) มาวิเคราะห์โดยปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาวัดปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โด ยวิธีของ Masuko และคณะ (2005) นำตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 150 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟีนอลที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (ภาคผนวก ง) 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน สำหรับแบลงค์ ใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง จากนั้นปิดฝาไมโครเพลท แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เมื่อครบเวลาทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าก ารดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นในช่วง 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาคผนวก ง

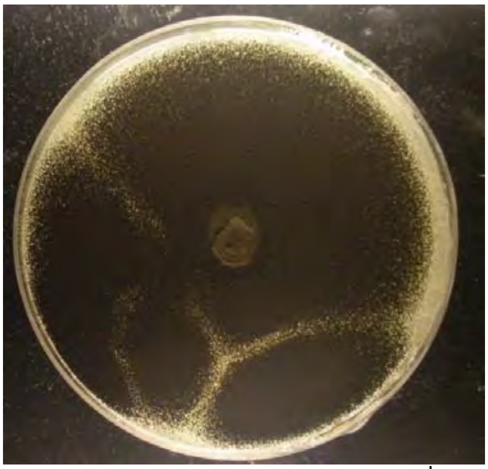
3.4 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ

3.4.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพ

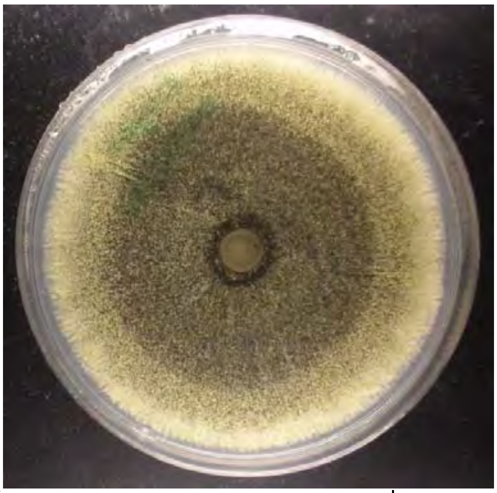
จุลินทรีย์ที่ใช้ คือ เชื้อรา *Aspergillus awamori* เชื้อรา *Aspergillus niger* เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ซึ่งได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.4.2 การเก็บรักษาจุลินทรีย์

เจาะปลายเส้นใยของเชื้อรา 1 ชิ้น โดยใช้แท่งเจาะ (cork borer) เบอร์ 10 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร นำปลายเส้นใยไปวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จนมีการเจริญเติบโตเต็มที่ดังแสดงในภาพที่ 3.1 และภาพที่ 3.2) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

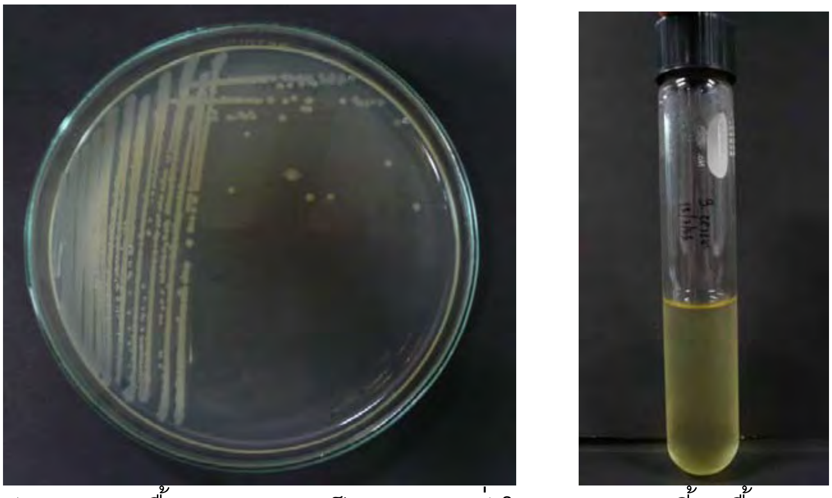


ภาพที่ 3.1 ลักษณะของเชื้อรา *A. awamori* อายุ 7 วันบนอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA

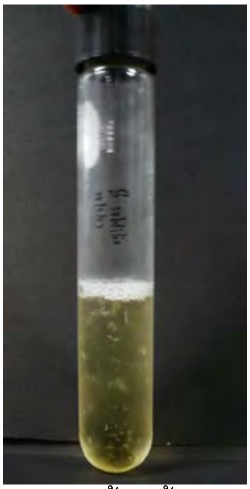


ภาพที่ 3.2 ลักษณะของเชื้อรา *A. niger* อายุ 7 วันบนอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA

ส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองเก็บรักษาในอาหารเหลว NB (ภาคผนวก ก) ในหลอดที่มีฝาเกลียวปิด และปิดทับด้วยพาราฟิล์ม เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อต้องการใช้ นำปลาย loop ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อมาจำนวนหนึ่ง จากนั้นนำไปขีดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารกึ่งแข็งสูตร NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะมีลักษณะดังภาพที่ 3.3 และภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.3 ลักษณะของเชื้อ *B. cereus* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NA และ NB ตามลำดับ



ภาพที่ 3.4 ลักษณะของเชื้อ *B. subtilis* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NA และ NB ตามลำดับ

3.4.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อราที่เก็บรักษาไว้มาเจาะปลายเส้นใยของเชื้อรา 1 ชิ้น นำไปเลี้ยงในจานอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเจาะปลายเส้นใยจำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงในฟลาสก์ที่บรรจุอาหารเหลวสำหรับผลิตเอนไซม์แต่ละชนิด ส่วนเชื้อแบคทีเรียเขี่ยเชื้อในอาหารกึ่งแข็งสูตร NA นำไปใส่ลงในอาหารเหลวสูตร NB บ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.2 – 0.6 ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร (นงลักษณ์ และปรีชา, 2548)

3.4.4 การวัดแอกทิวิตีเอนไซม์ของจุลินทรีย์

นำปลายเส้นใยเชื้อราจำนวน 3 ชิ้นและแบคทีเรีย ที่เตรียมมาพร้อมแล้ว ใส่ลงในอาหารเหลวสำหรับผลิตเอนไซม์อะไมเลส (ดัดแปลงมาจาก Orten และคณะ, 1970) (ภาคผนวก ค) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเลือกใช้มันสำปะหลังให้แป้งที่มีความบริสุทธิ์สูงสุดเป็นแหล่งคาร์บอน นำเชื้อไปบ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน แล้วกรองแยกเส้นใยออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนใสที่เป็นเอนไซม์ มาวิเคราะห์การทำงานของอะไมเลสโดยวัดแอกทิวิตีด้วย Benfeld method (1955) ที่มีกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นในช่วง 0-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

กำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์หรือยูนิต มีค่าเท่ากับ ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารตั้งต้นให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดสอบ โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน

3.5 การศึกษาการย่อยสลายมันสำปะหลัง

3.5.1 การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยกระบวนการทางเคมี

นำมันสำปะหลังพันธุ์ที่คัดเลือก ซึ่งผ่านการอบแห้ง และบดเป็นผงมาปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการปรับส ภาพวัตถุดิบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1% และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1% จากนั้นนำไปบ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่า ปริมาณซีโอดี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดตามวิธีของ Masuko และคณะ (2005) และน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น แล้วเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้แก่ มันสำปะหลังที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.2 การย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

นำเอนไซม์อะไมเลสที่ได้จากเชื้อ *Aspergillus* spp. และ *Bacillus* spp. มาใช้สำหรับการปรับสภาพมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่า ปริมาณซีโอดี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดตามวิธีของ Masuko และคณะ (2005) และน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น แล้วเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้แก่ มันสำปะหลังที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพโดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.3 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์

นำเอนไซม์อะไมเลสที่ได้จากเชื้อ *Aspergillus* spp. และ *Bacillus* spp. และเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จาก 3.4.2 เพื่อเปรียบเทียบการปรับสภาพมันสำปะหลังพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก และผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพในข้อ 3.1.2 ปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการทดสอบการย่อยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นดูประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี แล้วเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้แก่ มันสำปะหลังที่ไม่ ได้ผ่านการปรับสภาพโดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.6 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง

3.6.1 ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยมันสำปะหลัง

นำมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพ 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเชื้อ *Aspergillus* spp. จำนวน 1 cork และ *Bacillus* spp. วัดค่าการดูดกลืนแสง 0.2 ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร จากนั้นเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *A. awamori* และ *A. niger* โดยเลี้ยงเชื้อราในอาหารกึ่งแข็งสูตร PDA เป็นเวลา 7 วัน ตัดเส้นใยด้วยเครื่องตัดจุกคอร์ก เบอร์ 10 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร แล้วนำมาเลี้ยงใน ความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง ในภาวะเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 วัน และเก็บผลน้ำหนักแห้งทุกวัน

ส่วนเชื้อ *B. subtilis* และ *B. cereus* โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารกึ่งแข็ง NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยใส่ลงในความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง ในภาวะเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตรทุก 1 ชั่วโมง โดยทำการศึกษา ความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลังที่แตกต่างกันตั้งแต่ 0 เปอร์เซ็นต์ ถึง 6 เปอร์เซ็นต์

3.6.2 ปริมาณความเข้มข้นมูลโค

ศึกษาหาความเข้มข้นของน้ำมูลวัวที่เหมาะสมโดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 1-15 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นที่ 0 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุม ในความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลังที่คัดเลือกจากในข้อ 3.6.1 เพื่อดูความเข้มข้นที่เหมาะสมในการหมัก เก็บตัวอย่างทุกวัน โดยตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของ ค่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยใช้วิธี phenol-sulfuric acid (Masuko และคณะ, 2002) ทำการวัด ปริมาณซีโอดีโดยใช้วิธีรีฟลักซ์ แบบปิดและทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS method (Miller, 1959) โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 7 วัน

3.6.3 ปริมาณความเข้มข้นยูเรีย

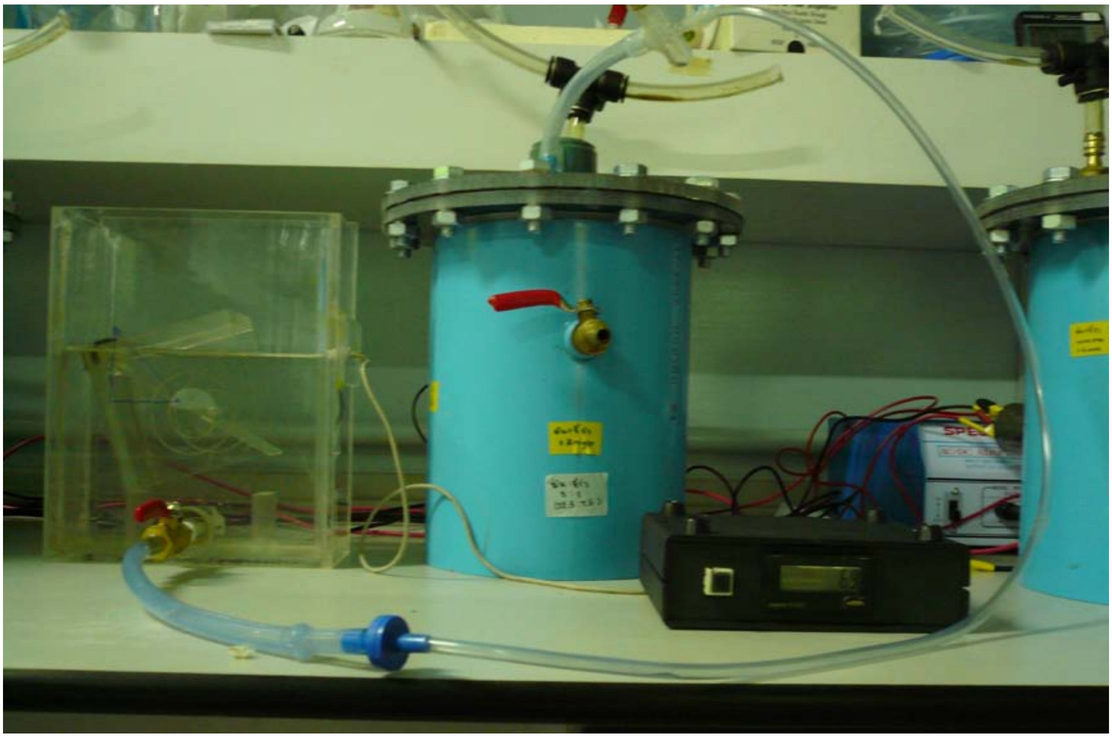
ศึกษาหาความเข้มข้นของยูเรียที่เหมาะสมโดยทำการศึกษาที่ความเข้มข้น 0.02-0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นที่ 0 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุม ในความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลังในข้อ 3.6.1 ร่วมกับความเข้มข้นของน้ำมูลวัวที่เหมาะสมในข้อ 3.6.2 เพื่อดูความเข้มข้นที่เหมาะสมในการหมัก เก็บตัวอย่างทุกวัน โดยตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยใช้วิธี phenol-sulfuric acid (Masuko และคณะ, 2002) ทำการวัด

ปริมาณซีโอดีโดยใช้วิธีรีฟลักซ์ แบบปิดและทำการวัดน้ำ ตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS method (Miller, 1959) โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 7 วัน

3.7 การศึกษาการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและวัดปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น

3.7.1 การออกแบบถังหมักระบบปิดสำหรับการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

โดยการใช้ถังหมักแบบขั้นตอนเดียว (Single-stage digester) โดยภายในถังหมักมีการต่อท่อเพื่อการกวน ท่อเติมสารเพื่อปรับพีเอชต่อสายท่อเข้าสู่ภาชนะในการเก็บแก๊สที่เกิดขึ้นโดยอาศัยปฏิริยาการแทนที่น้ำ ดังแสดงในภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.5 แสดงภาพถังหมักแบบขั้นตอนเดียว (Single-stage digester)

3.7.2 การผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมักมันสำปะหลังแบบไม่ใช้ออกซิเจน

นำมันสำปะหลัง มูลโค และยูเรียความเข้มข้นที่เหมาะสม จากข้อ 3.6 มาทำการผลิตแก๊สชีวภาพในถังหมักแบบขั้นตอนเดียว (Single-stage digester) ปริมาตร 3 ลิตร (ตารางที่ 3.1) ซึ่งในกระบวนการหมักประกอบด้วย ถังหมักเพียงหนึ่งถังขนาด 3 ลิตร ภายในถังหมักมีการต่อท่อและใบพัดกวนเพื่อปรับภาวะภายใน ใช้เกียร์บล็อกซ์มอเตอร์ (Gear-Box Motor) เป็นตัว

ควบคุมใบพัดเพื่อการกวน ใช้ความเร็วรอบในการปั่นกวน 100 รอบต่อนาที อีกภาชนะหนึ่งทำหน้าที่ในการเก็บแก๊สที่เกิดขึ้นโดยอาศัยการแทนที่น้ำ (Anunputtikul และ Rodtong, 2004) ดังภาพที่ 3.5 โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส ในแต่ละชุดการทดลอง (ตารางที่ 3.2)

ทั้งนี้ผังการทดสอบรวมของการผลิตแก๊สดังภาพจากมันสำปะหลังแสดงดังภาพที่ 3.6 จากนั้นทำการตรวจวัดโดยดูการเปลี่ยนแปลงของค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยใช้วิธี phenol-sulfuric acid (Masuko และคณะ, 2005) ทำการวัดปริมาณซีโอดีโดยใช้วิธีรีฟลักซ์แบบปิด และทำการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS method (Miller, 1959) โดยทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจวัดทุกวัน และวัดปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้นทุกวัน นำมาเปรียบเทียบกันระ หว่างการใช้ความเข้มข้นมันสำปะหลังร่วมกับมูลโคเป็นชุดควบคุมเพื่อเปรียบเทียบผล โดยทุกการทดลอง ทำการศึกษา 30 วัน และวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สที่เกิดขึ้น โดยสัดส่วนของแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี (GC-TCD (GC-14B Shimadzu)) คอลัมน์ Molecular sieve 13X โดยเก็บตัวอย่างแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ด้วยหลอดเก็บแก๊สแบบสุญญากาศ จากนั้นนำแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพจากโครมาโทแกรมที่ได้ เปรียบเทียบกับพื้นที่ของเข้มข้นของแก๊สมาตรฐาน ดังสมการ

$$\text{สัดส่วนแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพ(\%)} = \frac{35A}{761332}$$

โดย A = พื้นที่โครมาโทแกรมมีเทนของแก๊สตัวอย่าง
หมายเหตุ แก๊สมีเทนมาตรฐาน 35% มีพื้นที่โครมาโทแกรมคิดเป็น 761332

ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางกายภาพของถังหมักขนาด 3 ลิตร

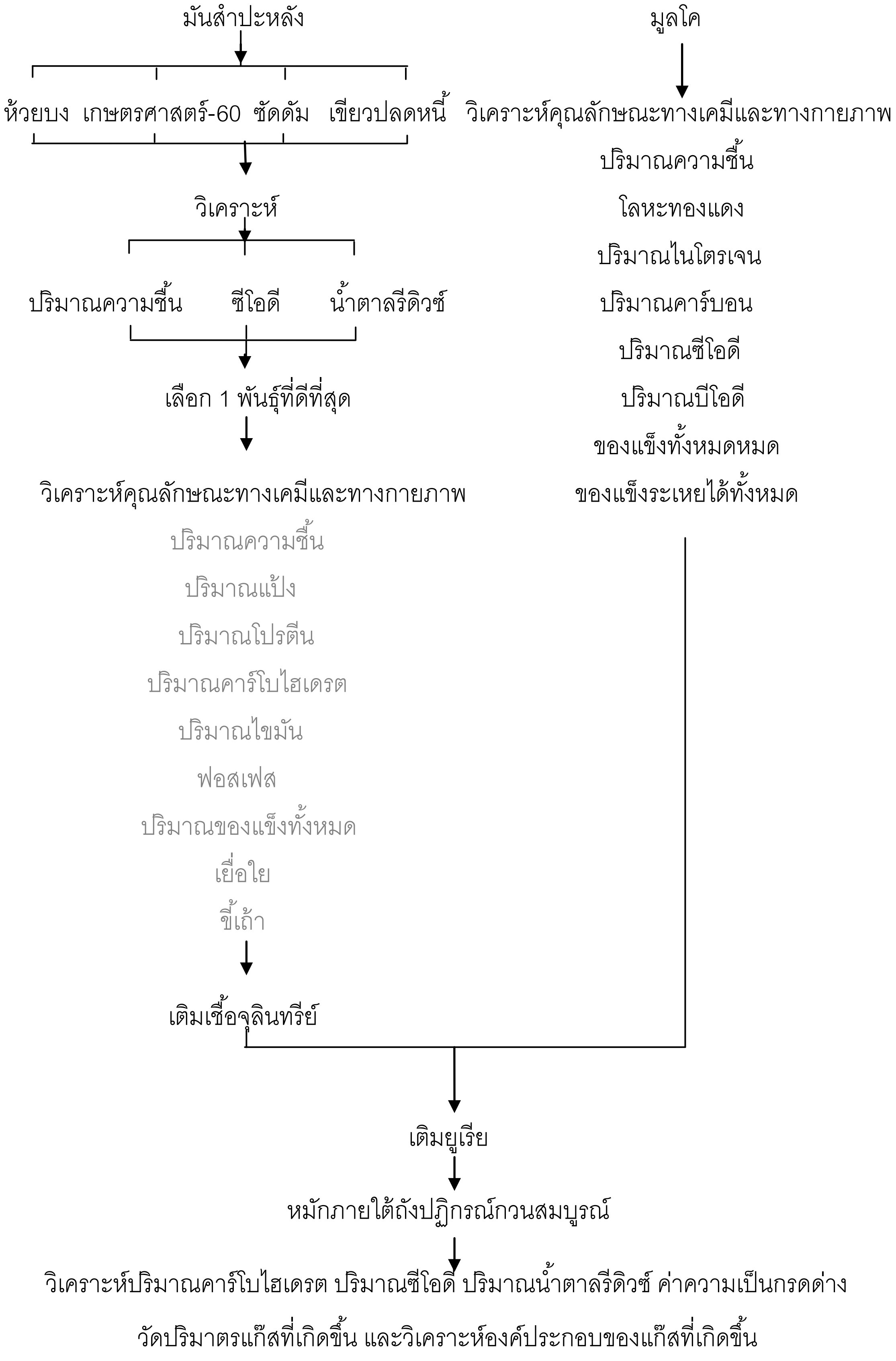
Parameter	3 L
Digester height (cm)	24.00
Diameter (cm)	16.00
Liquid height (cm)	18.00
Empty volume (L)	5.00
Filled volume (L)	3.00

ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองการหมักแก๊สชีวภาพ

Experimental	Cassava	Cow dung	urea	microbial
1	+	0	0	0
2	0	+	0	0
3	+	+	0	0
4	+	+	+	0
5	+	+	0	+
6	+	+	+	+

หมายเหตุ + มีการเติมในกระบวนการหมัก

0 ไม่มีการเติมในกระบวนการหมัก



ภาพที่ 3.6 แผนผังรวมการทดสอบการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง

บทที่ 4

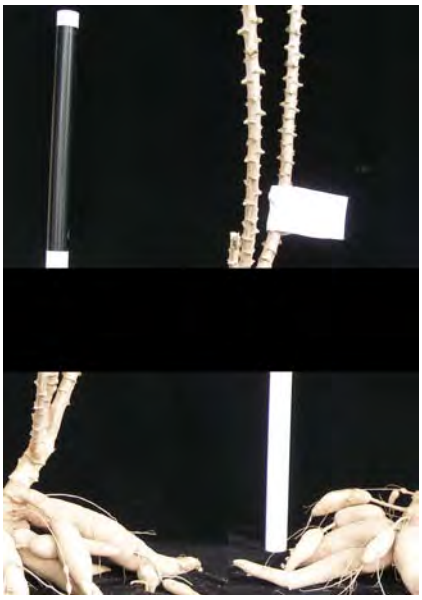
ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

4.1 ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัย

ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัยนี้มี 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ห้วยบง พันธุ์เกษตรศาสตร์-60 พันธุ์ซัดดัม และพันธุ์เขียวปลดหนี้ ตัวอย่างทั้งหมดได้ดังแสดงในภาพ 4.1 - 4.4 ซึ่งมาจากพื้นที่เพาะปลูกจังหวัดนครราชสีมา

ภาพที่ 4.1 มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง

ภาพที่ 4.2 มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์-60



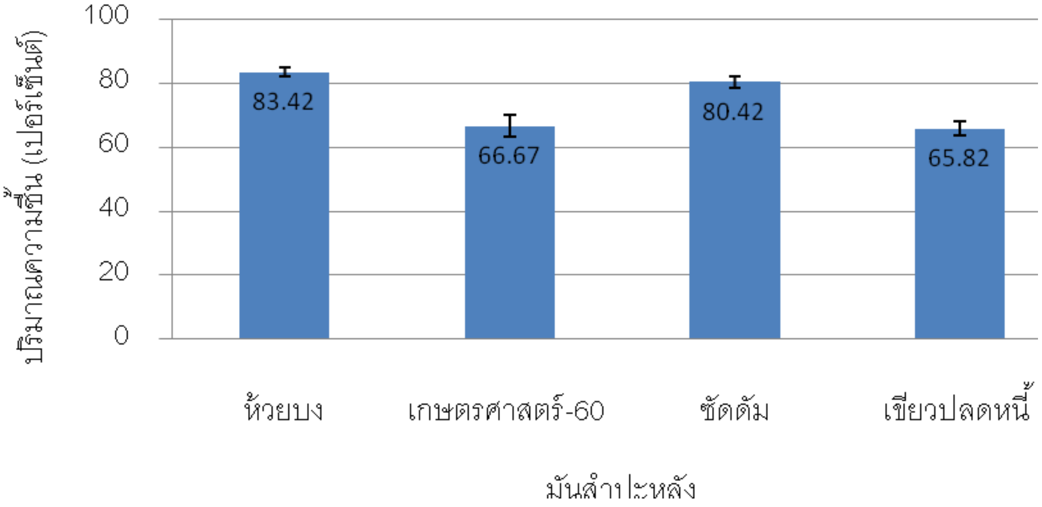
ภาพที่ 4.3 มันสำปะหลังพันธุ์ซัดดัม

ภาพที่ 4.4 มันสำปะหลังพันธุ์เขียวปลดหนี้

4.2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างมันสำปะหลัง

4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า ปริมาณความชื้นของพันธุ์ห้วยบงมีค่าสูงที่สุด คือ 83.42±1.36 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์เขียวปลดหนี้มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด คือ 65.82±2.11 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.5

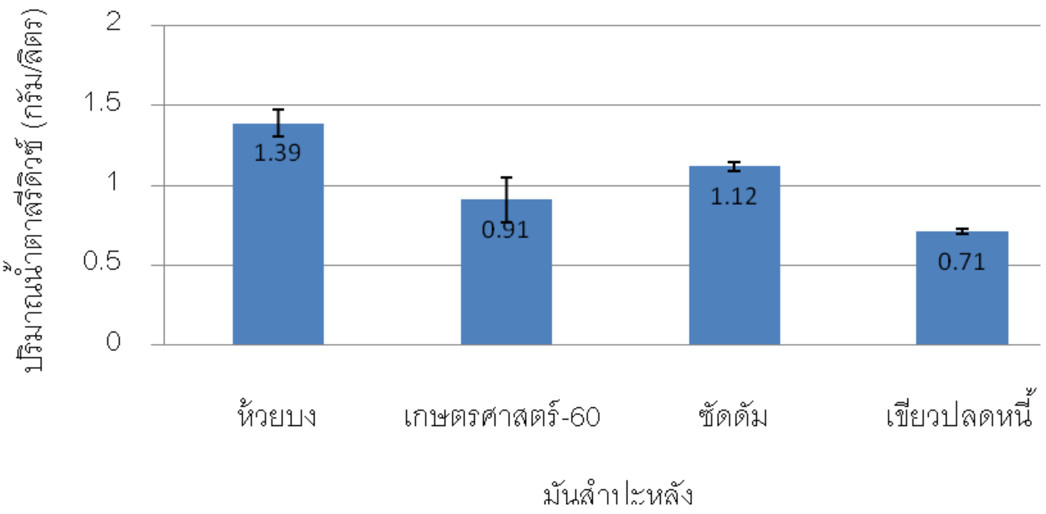


ภาพที่ 4.5 ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์

ปริมาณความชื้นจะส่งผลกระทบต่อปริมาณวัตถุแห้งที่มีในพืชแต่ละชนิด โดยปริมาณวัตถุแห้งจะคำนวณจากการที่ปริมาณความชื้นรวมกับปริมาณวัตถุแห้งจะเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ พืชที่มีปริมาณควา มชื้นน้อยก็จะมีเปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุแห้งมาก มันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงประมาณ 60-85 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพืชชนิดเดียวกันจะมีปริมาณความชื้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ฤดูกาลที่ปลูก ปริมาณน้ำที่ให้และอายุของพืช เป็ นต้น จากข้อมูลของ ศูนย์พัฒนาความรู้การซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า พบว่าหัวมันสำปะหลังสดมีน้ำอยู่ประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบส่วนใหญ่คือแป้งหรือคาร์โบไฮเดรต ประมาณ 20-35 เปอร์เซ็นต์ (สำนักงานคณะกรรมการกำกับการซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า, 2007)

4.3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของพันธุ์ห้วยบงมีค่าสูงที่สุด คือ 1.39±0.086 กรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์เขียวปลดหนี้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด คือ 0.71±0.015 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในภาพที่ 4.6



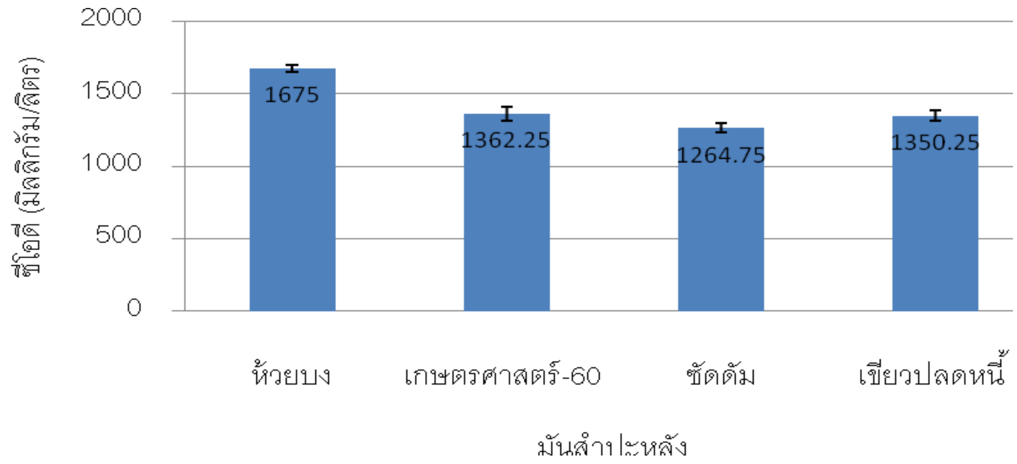
ภาพที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์

จากการศึกษาทดลองพบว่ามันสำปะหลังมีองค์ประกอบของน้ำตาล ซึ่งจะแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ การเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยมันสำปะหลังดิบโดยการแปรรูปให้เป็นผงละเอียดมีผลต่อการเพิ่มปริมาณน้ำตาลของหัวมันสำปะหลัง (Adegbola และ Asaolu, 1986; Obioha และ Anikwe, 1982; Osei และคณะ, 1990)

4.3.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณซีโอดี

จากการวิเคราะห์ปริมาณซีโอดีของมันสำปะหลังทั้ง 4 ชนิด พบว่า ปริมาณซีโอดีของพันธุ์ห้วยบงมีค่าสูงที่สุด คือ 1675±20.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์ซัดดัมมีปริมาณซีโอดีน้อยที่สุด คือ 1264.75±-31.96 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในภาพที่ 4.7

การวิเคราะห์ค่าซีโอดีเพื่อดูปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยการใช้สารเคมีซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง ซึ่งพบว่าในพันธุ์ห้วยบงมีปริมาณสารอินทรีย์จำพวกแป้งสูง จึงส่งผลให้ค่าซีโอดีสูง มีการศึกษาพบว่าพันธุ์ห้วยบงเป็นพันธุ์ที่มีปริมาณแป้งสูง เฉลี่ยแป้งในหัวสด 25.5 เปอร์เซ็นต์ (Thai Tapioca Development Institute, 2000)



ภาพที่ 4.7 ปริมาณซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของมันสำปะหลังทั้ง 4 พันธุ์

4.3 ผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของมันสำปะหลังและมูลโค

4.3.1 ผลการวิเคราะห์หาคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของมันสำปะหลัง

หัวมันสำปะหลังประกอบด้วยสารอินทรีย์และแป้งจำนวนมาก ส่วนสารอาหารพวกโปรตีน แร่ธาตุ และวิตามินพบในปริม าณต่ำ (Lancaster และคณะ, 1982) เนื่องจากการวิเคราะห์เบื้องต้นพบว่ามันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบงมีปริมาณซีโอดีและน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด จึงนำมาวิเคราะห์ตัวอย่างมันสำปะหลังที่ผ่านการปรับสภาพวัตถุดิบทางกายภาพแล้ว พบว่า หัวมันสำปะหลังสดพันธุ์ห้วยบง มีปริมาณความชื้น 16.04 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีน 2.47 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณไขมัน 0.51 เปอร์เซ็นต์ ปริมารคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 79.18 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแป้ง 70.92 เปอร์เซ็นต์ ขี้เถ้า 1.80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสเฟต 307.26 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณของแข็งทั้งหมด 83.96 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4.1

ความแตกต่างกันของชีวมวลมีผลมาจากหลายปัจจัย เช่น ความแตกต่างในเรื่องพันธุ์มันสำปะหลัง จากรายงานของกรมวิชาการเกษตรเกี่ยวกับเปอร์เซ็นต์การสะสมแป้งในมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 5 ระยอง 60 ระยอง 72 และระยอง 90 พบว่ามันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 90 มีเปอร์เซ็นต์การสะสมแป้งสูงสุด คือ 24.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ระยอง 5 ระยอง 72 และระยอง 60 ตามลำดับ

ฤดูการในการปลูกและระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังมีผลต่อการสะสมแป้งเช่นกัน โดยมันสำปะหลังที่ปลูกในฤดูแล้ง (พฤศจิกายน – มีนาคม) จะมีการสะสมแป้งสูงกว่ามันสำปะหลังที่ปลูกในฤดูฝน (เมษายน - ตุลาคม) เนื่องจากเดือนเมษายนมีอุณหภูมิสูงและ

เริ่มมีฝน แป้งที่สะสมไว้ในหัวมันสำปะหลังจึงถูกนำไปใช้ ทำให้เปอร์เซ็นต์แป้งที่สะสมอยู่ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่า มันสำปะหลังที่เก็บเกี่ยวใ นช่วงอายุ 8-12 เดือน จะมีเปอร์เซ็นต์แป้งค่อนข้างคงที่ แต่ถ้ามันสำปะหลังมีอายุมากขึ้น (16-18 เดือน) หัวจะมีขนาดใหญ่ บริเวณตรงกลางของหัวจะฝ่อส่งผลให้เปอร์เซ็นต์แป้งในหัวมันสำปะหลังต่ำและการเก็บมันสำปะหลังภายหลังจากการเก็บเกี่ยวไว้ 2 วันจะไม่ส่งผลต่อปริมาณแป้งที่สะสมในหัวมันสำปะหลัง แต่ถ้าหากปล่อยไว้เกิน 4 วัน หัวมันสำปะหลังจะเน่าเสียและเปอร์เซ็นต์แป้งในหัวมันสำปะหลังจะลดลง (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง

Item	Cassava characteristics
Moisture, %	16.04
Protein, % (factor 6.25)	2.47
Fat, %	0.51
Ash, %	1.80
Crude fiber, %	1.89
Total carbohydrate, %	79.18
Total Calories, Kcal/100 g	331.19
Calories from fat, Kcal/100 g	4.59
Phosphate, mg/kg	307.26
Total Carbon, %	37.69
Total Nitrogen, %	0.45
Starch, %	70.92
Total solid, %	83.96

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง พบว่า ปริมาณแป้ง 70.92 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีน 2.47 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้จากการทดลองนี้มีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณเฉลี่ยที่ได้มีการรายงานไว้ (ศูนย์พัฒนาความรู้การซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า, 2007) เท่ากับ 71.90 เปอร์เซ็นต์ และ 2.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับ Pandey และคณะ (2000) ที่ทำการวิเคราะห์ในหัวมันสำปะหลังแห้ง ปริมาณความชื้น 19.49 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณโปรตีน 1.41 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณไขมัน 0.51 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้จากการทดลองมีปริมาณเท่ากับปริมาณไขมันเฉลี่ย เท่ากับ 0.51 เปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากพันธุ์ ช่วงของการเก็บเกี่ยว หรือปริมาณความชื้นในหัวมันสำปะหลัง และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของสัดส่วนของการผลิตแก๊สชีวภาพ คือ 84:1 (ตารางที่ 4.1) มีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Anunputtikul และ Rodtong (2004) ซึ่งทำการวิเคราะห์ในมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์-50 ที่ผ่านการอบแห้งค่าเฉลี่ยอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 86:1 ปริมาณคาร์บอนที่สูงจะส่งผลต่อการย่อยลดลง ซึ่งมีการรายงานอัตราส่วนคา ร์บอนต่อไนโตรเจนสูงสุดที่สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ คือ 80:1 (Seenayya และคณะ,1992.)

4.3.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของมูลโค

ในการทดลองเก็บตัวอย่างมูลโคสดมาทำการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ สี ความชื้น บีโอดี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ทั้งหมด ปริมาณคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโลหะทองแดง

ผลการทดลองพบว่า มูลโคสดเก็บใน 24 ชั่วโมง มีสีน้ำตาลเข้มปนกากอาหาร มีค่าเฉลี่ยของปริมาณต่างๆ ดังนี้ ปริมาณความชื้น 79 เปอร์เซ็นต์ หรือ 790 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าบีโอดี 13.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าซีโอดี 125.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าของแข็งทั้งหมด 163.3 มิลลิกรัมต่อกรัม และค่าของแข็งระเหยได้ทั้งหมด 108.0 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 7.8 เปอร์เซ็นต์ หรือ 78 มิลลิกรัมต่อกรัม ไนโตรเจนทั้งหมด 0.37 เปอร์เซ็นต์ หรือ 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.055เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.55 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อคิดปริมาณ BOD:N:P เท่ากับ 100:28:4.1 ซึ่งในมูลโคมีสารอาหารทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงมาก จึงเหมาะที่จะเป็นอาหารเสริมสร้าง เพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในระบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยทั่วไปแล้ว อัตราส่วน BOD:N:P ในระบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจต่ำกว่าระบบใช้อากาศทั้งนี้เพราะแบคทีเรียในระบบไม่ใช้ออกซิเจนต้องการอาหารเสริมสร้างเพื่อการเจริญเติบโตน้อยกว่าเนื่องจากสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ จะถูกทำลายให้กลายเป็นแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนที่ถูก นำไปสังเคราะห์สร้างเซลล์จึงมีน้อยมาก ของเสียควรมีไนโตรเจน

และฟอสฟอรัสในอัตราส่วน 11 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณแบคทีเรียที่เกิดขึ้น เช่น ถ้าแบคทีเรียที่เกิดขึ้นปริมาณ 0.1 กิโลกรัมต่อกิโลกรัมของ BOD ที่ถูกทำลาย อัตราส่วน BOD:N:P จะเป็นเพียง 100:1.1:0.2 (เสริมพลและไชยยุทธ, 1975) จะเห็นว่าอัตราส่วน BOD:N:P จากผลการวิเคราะห์นี้สูงพอที่แบคทีเรียจะเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ได้ ส่วนอัตราส่วนคาร์บอน : ไนโตรเจน ในมูลโคที่ได้จากการทดลองพบว่า ปริมาณคาร์บอน 78 มิลลิกรัมต่อกรัม ไนโตรเจนทั้งหมด 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัม อัตราส่วน C:N เท่ากับ 21.08:1 ซึ่งเมื่อเทียบกับ Karthikeyan และคณะ. (2007) ซึ่งทำการศึกษาในมูลโคเมือง Salem ซึ่งได้อัตราส่วน C:N เท่ากับ 16.30:1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ เนื่องจากมีสัดส่วนของคาร์บอน : ไนโตรเจน ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 15:1 ถึง 30:1 (Yadvika และคณะ, 2004) ในการวิเคราะห์โลหะหนักบางชนิดที่อาจมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ได้แก่ ปริมาณโลหะทองแดง พบว่าในมูลโคสดมีทองแดงอยู่ $3x10^{-4}$ หรือ $14.2 \ x10^{-4}$ โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณทองแดงระดับนี้ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ปริมาณโลหะดังกล่าวจะมีผลยับยั้งก็ต่อเมื่อความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 0.30-2.00 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และจะมีผลทำให้ระบบล้มเหลวเมื่อปริมาณสูงถึง 0.83-4.70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง (Bruce และคณะ, 1984)

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างมูลโคสด

Type of analysis	Cow dung
Color	Dark brown
Moisture, %	79.0±2.82
BOD, mg/g	13.2±2.54
COD, mg/g	125.5±0.71
TS, mg/g	163.3±46.60
TVS, mg/g	108.0±11.45
Carbon, %	7.8±0.40
Nitrogen, %	0.37±0.21
Phosphorous, %	0.055±0.02
Copper, %	0.0003

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.4 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับลักษณะมูลโคทั่วไป ในการทดลองของ Hill (1982) พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้จากการทดลอง เท่ากับ 163.3 มิลลิกรัมต่อกรัม คิดเป็น 16.33 เปอร์เซ็นต์ของมูลโคสด (raw waste) และค่าของแข็งทั้งหมด คิดเป็น 11.6 เปอร์เซ็นต์ของมูลโคสด ปริมาณของแข็งระเหยได้ทั้งหมดที่ได้จากการทดลอง เท่ากับ 108.0 มิลลิกรัมต่อกรัม คิดเป็น 55.09 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งทั้งหมด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบในการทดลองของ Hill (1982) คือ 85 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งทั้งหมด ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด จากผลการทดลองได้ 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัม คิดเป็น 2.27 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งทั้งหมด เมื่อเทียบกับค่าในการทดลองของ Hill (1982) คือ 4.9 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งทั้งหมด จากการเปรียบเทียบดังกล่าวพบว่าผลการทดลองที่ได้มีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากคุณลักษณะมูลโคที่นำมาเปรียบเทียบมีความแตกต่างในเรื่องของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงโคของประเทศไทยและต่างประเทศ

4.4 ผลของชนิดของจุลินทรีย์ต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

เมื่อนำเชื้อรา *A. awamori* และ *A. niger* เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และ *B. Subtilis* มาผลิตเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งอาหาร แล้ววัดค่าแอกทิวิตี พบว่าอะไมเลส จาก *A. awamori* มีค่าแอกทิวิตีสูงสุด เท่ากับ 8.63±0.24 ส่วนอะไมเลสจาก *B. Subtilis* มีค่าแอกทิวิตีต่ำสุด เท่ากับ 3.01±0.20

ตารางที่ 4.3 ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อจุลินทรีย์ (ยูนิต/มิลลิลิตร)

Microbial	Activity (Unit/ml)
A.awamori	8.63±0.24
A.niger	8.33±0.17
B.cereus	6.02±0.33
B.subtilis	3.01±0.20

จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ ในธรรมชาติสามารถพบเอนไซม์ได้ทั้งในพืชและสัตว์ แต่เอนไซม์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมส่วนมากผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น รา ยีสต์ แบคทีเรีย เป็นต้น เพราะสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมากและมีต้นทุนในการผลิตต่ำ (ปราณี, 2537) จากการรายงานของ Nigam and Singh

(1995) พบว่าเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิด โดยเอนไซม์ Alpha-amylase สามารถผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ *B.subtilis B.amyloliquefaciens B.licheniformis* และเอนไซม์ Beta-amylase สามารถผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ *B.cereus B.circulans Pseudomonas sp. BQ 6* ส่วนเอนไซม์ Glucoamylase สามารถผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์ *A.awamori A.niger* I *A.oryzae Penicillium oxalicum* I และจุลินทรีย์ *Rhizopus delemar*

4.5 ผลการศึกษาการย่อยสลายมันสำปะหลัง

- **ผลการศึกษาการย่อยสลายมันสำปะหลังด้วยวิธีการย่อยสลายต่าง ๆ**

จากการย่อยสลายมันสำปะหลัง โดยใช้ผลกระทบที่แตกต่างกันของแต่ละตัวปรับสภาพทั้ง 7 ตัวปรับสภาพที่แตกต่างกัน โดยทำการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ พบว่า การปรับทางเคมี ด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่าซีโอดี เท่ากับ 36806±394.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยสลายสูงสุด เท่ากับ 15.16±1.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเท่ากับ 9.28±1.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Taherzadeh (2007) การปรับสภาพด้วยกรดสามารถทำงานได้ดีทั้งอุณหภูมิสูงและต่ำ และประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกดีกว่าการย่อยสลายด้วยกรดอื่นๆ เช่น กรดไฮโดรคลอริก และกรดไนตริก ซึ่งจากการทดลองการย่อยหญ้าเบอร์มิวดาและฟางข้าวเพื่อการผลิตเอทานอลโดยใช้ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกที่แตกต่างกันคือ 0.6, 0.9, 1.2 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยน้ำหนัก พบว่าที่ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยน้ำหนักให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในภาวะที่กำหนด (Sun และ Cheng, 2005) และการทดลองของ Cara และคณะ. (2007) รายงานปริมาณเฮมิเซลลูโลสสูงสุดที่ได้จากการปรับสภาพด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียสของต้นมะกอก

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบปริมาณซีโอดี ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดของมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลาย และผ่านการปรับสภาพด้วยกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ

Treatment	COD (mg/l)	Reducing sugar (mg/ml)	Total carbohydrate (mg/ml)
Control (Cassava)	34703.13±706.41	1.18±0.04	17.52±2.54
Cow dung	36005.12±141.63	2.36±0.43	5.21±1.39
1% H_2SO_4	36806.35±394.05	15.16±1.76	9.28±1.04
1% NaOH	32900.37±791.38	0.76±0.03	15.30±4.84
Enzyme from *A.awamori*	40762.41±566.55	7.85±1.42	11.73±0.86
Enzyme from *A.niger*	38225.19±701.66	4.28±0.72	11.29±3.07
Enzyme from *B.cereus*	39485.45±673.24	4.58±0.40	14.51±0.03
Enzyme from *B.subtilis*	38383.77±525.80	4.44±1.01	14.95±1.44

การปรับด้วยกระบวนการทางชีวภาพ โดย เอนไซม์จากเชื้อ *A. awamori* ให้ประสิทธิภาพดีกว่าเอนไซม์จากเชื้อรา *A. niger* เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และ *B. Subtilis* ค่าซีโอดี เท่ากับ 40762.41±566.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยสลายเท่ากับ 7.85±1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเท่ากับ 11.73±0.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดย Abasaeed และคณะ (1991) รายงานว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอะไมโลกลูโคสิเลส สามารถย่อยแล้วให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ซึ่งสามารถพบเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสได้จากเชื้อจุลินทรีย์ในรายงานของ Nigam and Singh (1995) โดยการเปรียบเทียบระหว่างการย่อยสลายด้วยกรดและเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์อะไมเลสและกลูโคอะไมเลสสามารถผลิตน้ำตาลจากเปลือกมันสำปะหลังได้ดีกว่าการใช้กรดเจือจาง (กัลยา อยู่นาน และ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร, 2547) อย่างไรก็ตามตัวปรับสภาพทั้งหมดสามารถย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้ โดยในการปรับสภาพวัตถุดิบนั้น เพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยสลาย ซึ่งส่งผลให้เกิดปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการหมักสูงขึ้น (Fox และคณะ, 2003)

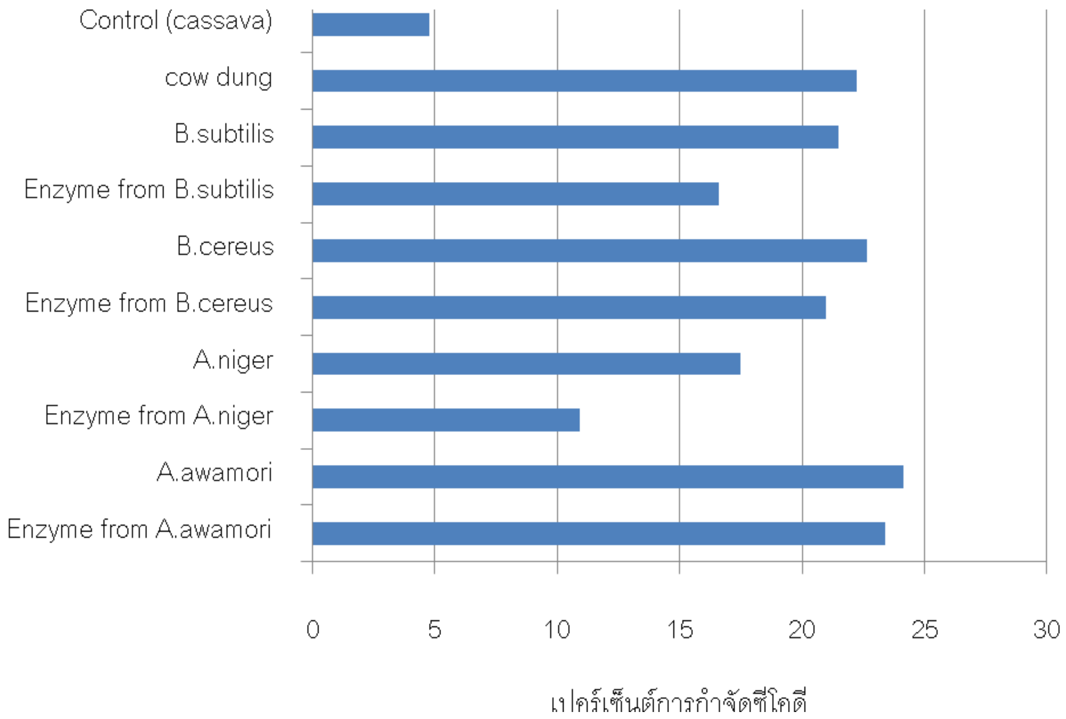
การใช้ประโยชน์จากแป้งในหัวมันสำปะหลัง จำเป็นต้องย่อยสลายโพลิเมอร์ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อนซึ่งส่วนใหญ่ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงเปลี่ยนน้ำตาลที่ได้ให้

เป็นสารที่มีประโยชน์ โดยกระบวนการทางเคมีหรือกระบวนการหมัก ซึ่งการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยเอนไซม์มีข้อดีกว่าวิธีการทางเคมี เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์ ปฏิกิริยาไม่รุนแรง (Tsao และ Chiang, 1983) เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งได้แก่เอนไซม์ในกลุ่มอะไมเลส (Knight, 1969) จากรายงานการศึกษาพบว่า crude glucoamylase enzyme ที่ได้จาก *A.awamori* และ *A.niger* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังและลดความหนืดของแป้งได้ดี (Ueda, 1981) โดยพบว่า glucoamylase enzyme ที่เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคส ทั้งพันธะ alpha - 1,4 และพันธะกิ่ง alpha - 1,6 โดยที่การตัดพันธะกิ่งจะเกิดช้ากว่าการตัดพันธะ alpha - 1,4 กลูโคอะไมเลสพบในจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Rhizopus* spp. พืช และแบคทีเรีย ส่วน Beta-amylase เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอกโมเลกุลของแป้ง แล้วค่อยตัดจากนอกเข้ามาใน โดยเริ่มจากปลายของอะมิเลสหรืออะมิโลพกติน เอนไซม์จะตัดพันธะ alpha - 1,4 ของโมเลกุลกลูโคสเป็นคู่ๆไป แต่เมื่อปฏิกิริยาเข้าใกล้จุดที่เป็นกิ่งก้านหรือพันธะ alpha - 1,6 ของอะมิโลเพกติน เอนไซม์จะหยุดการทำงาน ทำให้เหลือโมเลกุลใหญ่ๆไว้มาก (Rosenblum และคณะ, 1988)

- **ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์**

เมื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ โดยดูจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยศึกษาจากประสิทธิภาพในการลดซีโอดีซึ่งส่งผลต่อการเกิดแก๊สชีวภาพ จากการรายงานของ Degremont (1991) พบว่าแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นตามทฤษฎีทั้งหมดในการกำจัดซีโอดีเท่ากับ 0.4 ลิตรต่อกรัมของซีโอดี

จากตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.8 พบว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้ดีกว่าการใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ และพบว่าเชื้อรา *A.awamori* และเอนไซม์จากเชื้อรา *A.awamori* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดซีโอดีตามลำดับ



ภาพที่ 4.8 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในแต่ละการย่อยสลายของจุลินทรีย์เทียบกับเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.5 มันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสลายเปรียบเทียบปริมาณ ซีโอดี ในแต่ละวัน

Day	Treatment									
	Enzyme from *A.awamori*	*A.awamori*	Enzyme from *A.niger*	*A.niger*	Enzyme from *B.cereus*	*B.cereus*	Enzyme from *B.subtilis*	*B.subtilis*	cow dung	Control (cassava)
1	39363.90	44167.45	34549.92	36170.26	34393.11	39724.57	37163.37	38156.49	38783.72	34915.89
2	34184.03	43574.65	39463.22	34340.84	33609.07	39515.49	37529.26	36692.96	33661.34	34079.49
3	34968.07	41658.53	36222.53	36640.69	31831.92	35020.34	37111.11	31622.85	32197.81	33556.81
4	31831.92	40565.97	33243.19	30159.31	31831.92	29375.27	34288.57	31361.5	31779.65	33494.08
5	28591.23	39306.41	31502.63	30159.31	31518.31	33473.17	32111.56	30577.46	30786.54	33452.27
6	28591.23	37132.01	30054.77	30995.62	29270.73	31152.42	31570.58	30107.04	30734.27	33347.78
7	30159.30	33504.3	30786.54	29845.69	27179.97	30734.27	30995.61	29950.23	30159.3	33252.59

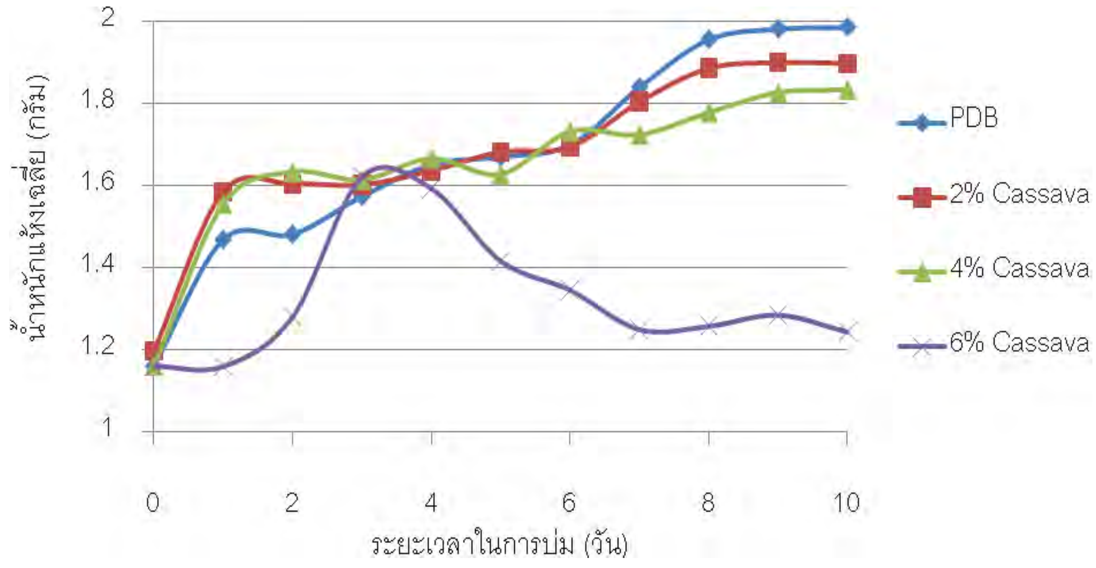
4.6 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากมันสำปะหลัง

4.6.1 ความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยมันสำปะหลัง

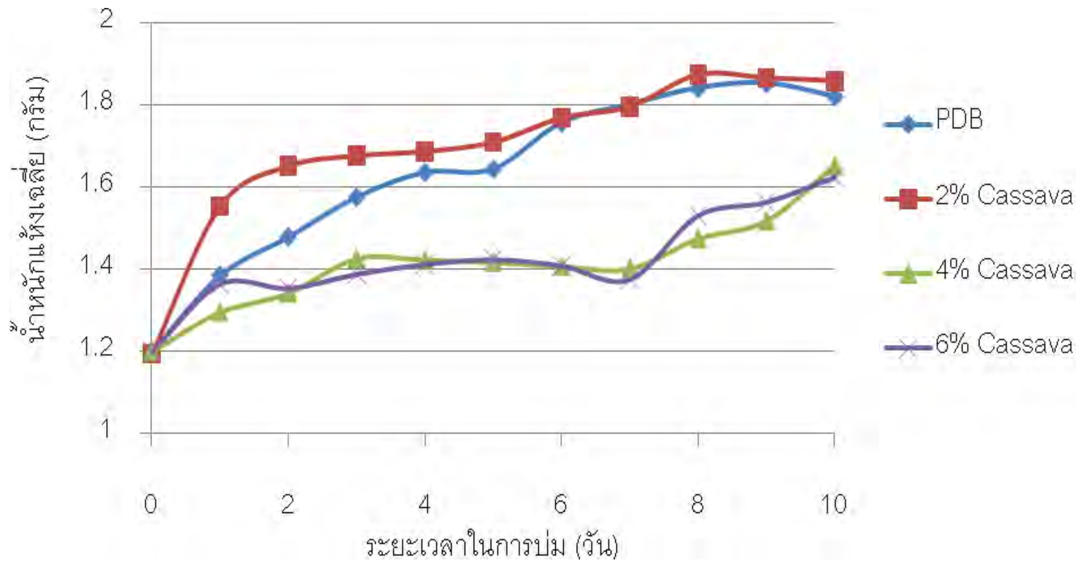
นำมันสำปะหลังพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและทำการปรับสภาพด้วยวิธีทางกายภาพ (ข้อ 3.1.2) 1 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเชื้อ *Aspergillus* spp. จำนวน 1 คอร์ก (cork) และ *Bacillus* spp. ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.2

- **ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *A. awamori* และ *A. niger***

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *A. awamori* และ *A. niger* โดยเลี้ยงเชื้อราในอาหารกึ่งแข็ง PDA เป็นเวลา 7 วัน ตัดเส้นใยด้วยเครื่องตัดจุกคอร์กเบอร์ 10 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB และความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลังที่ 0-6 เปอร์เซ็นต์ ในภาวะเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน และเก็บผลน้ำหนักแห้งทุก ๆ วัน ดังภาพที่ 4.9 และ 4.10



ภาพที่ 4.9 อัตราการเจริญเติบโตของรา *A. awamori* ที่เจริญในอาหารเหลว PDB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 วัน โดยเก็บน้ำหนักแห้งทุกๆวัน

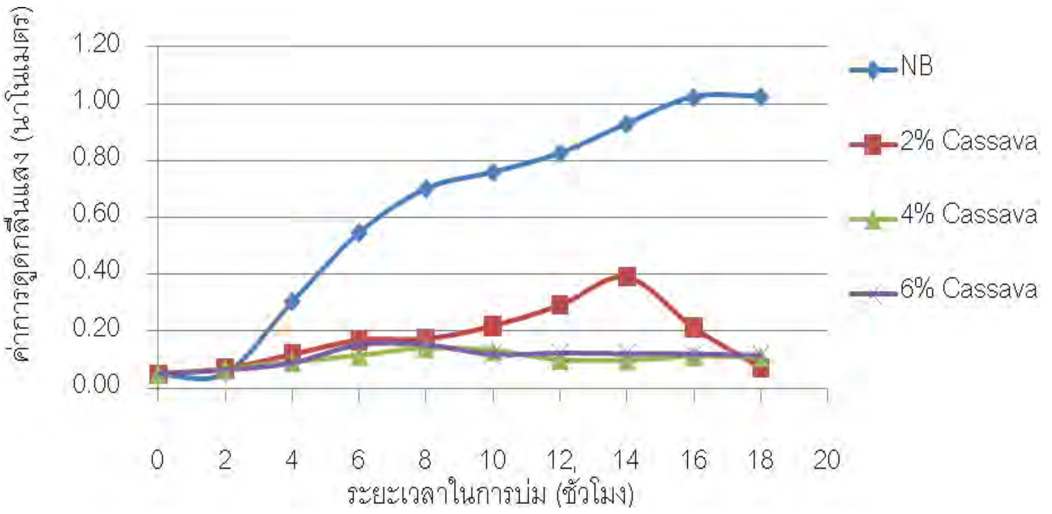


ภาพที่ 4.10 อัตราการเจริญเติบโตของรา *A. niger* ที่เจริญในอาหารเหลว PDB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 วัน โดยเก็บน้ำหนักแห้งทุกๆวัน

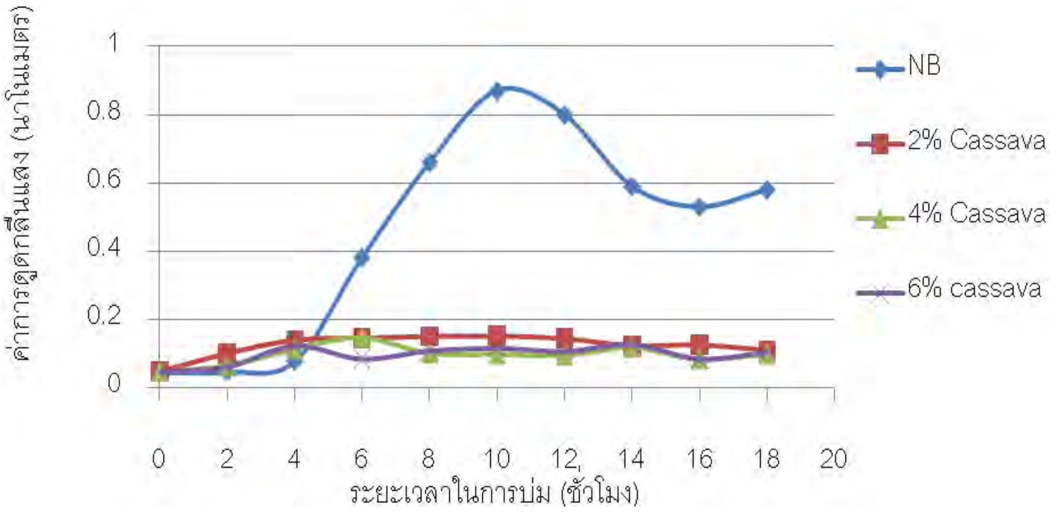
การเจริญเติบโตของเชื้อ *Aspergillus* spp. พบว่าทั้ง *A. Awamori* และ *A.niger* สามารถย่อยน้ำมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับอาหารมาตรฐาน Potato dextrose broth (200 g/l potato content) แต่อาจแตกต่างในบางช่วงของการเจริญเติบโต เนื่องจากในอาหารมาตรฐาน Potato dextrose broth มีส่วนของน้ำตาลเด็กโตสเป็นส่วนประกอบในอาหาร ตามการรายงานของ Roble และคณะ (2003) แป้งมันสำปะหลังถูกไฮโดรไลซิสกลายเป็นกลูโคสโดยเอนไซม์อะโลไลติกของ *A.awamori* ขณะที่ความเข้มข้นของน้ำมันสำปะหลัง 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยความสามารถในการเจริญเติบโตที่สูงของเชื้อราแสดงถึงประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง

- **ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *B. subtilis* และ *B. cereus***

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* และ *B. cereus* โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารกึ่งแข็ง NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยใส่ลงใน ความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง ในภาวะเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเก็บผลวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตรเป็นเวลา 18 ชั่วโมง เก็บผลค่าดูดกลืนแสงทุก 2 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.11 และ 4.12



ภาพที่ 4.11 อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. cereus* ที่เจริญในอาหารเหลว NB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยดูค่าการดูดกลืน แสงทุก 2 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.12 อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่เจริญในอาหารเหลว NB เทียบกับความเข้มข้นน้ำมันสำปะหลัง 0-6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยดูค่าการดูดกลืนแสงทุก 2 ชั่วโมง

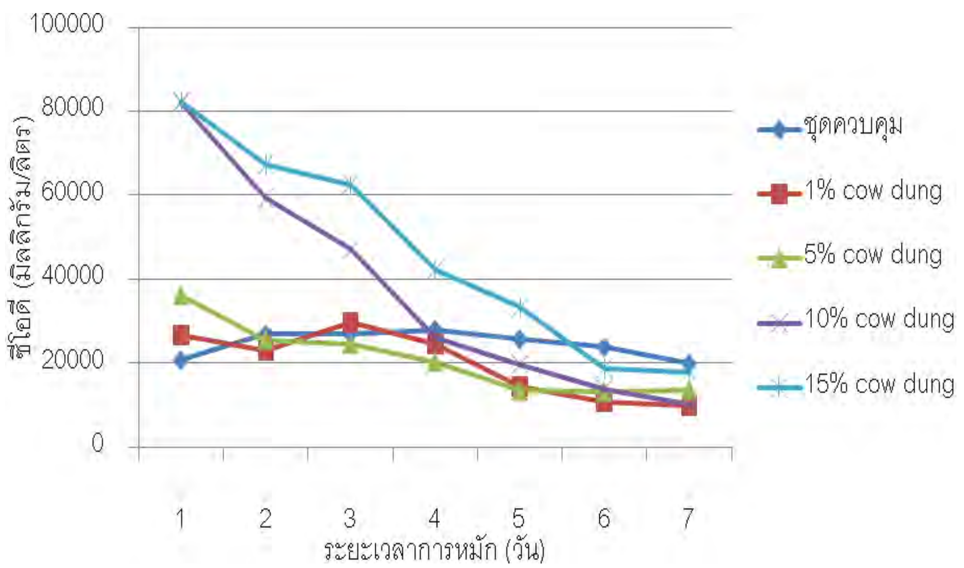
การเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus* spp. พบว่าทั้ง *B.cereus* และ *B.subtilis* สามารถย่อยน้ำมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ได้ดีเมื่อเทียบกับการเจริญเติบโตในความเข้มข้นมันสำปะหลังที่ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเทียบกับการเจริญในอาหารมาตรฐาน NB พบว่าการเจริญเติบโตในน้ำมันสำปะหลังแต่ละความเข้มข้นใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่สามารถเจริญได้

เท่ากับการเจริญในอาหารมาตรฐาน NB เนื่องจากองค์ประกอบในอาหารแตกต่างกัน ซึ่งการทดลองของ Coleman และ Elliott (1961) ได้ศึกษาหาภาวะในผลิต alpha -amylase โดยใช้แป้งเป็นอาหารหลัก จากนั้นทำการเติมกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนลงไป

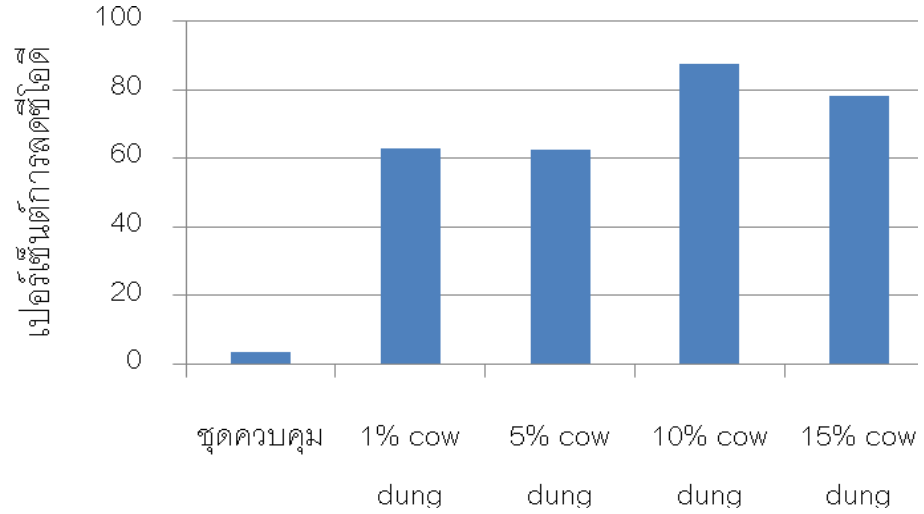
4.6.2 ผลของปริมาณความเข้มข้นมูลโคที่เหมาะสม

ในปัจจุบันมีการดำเนินการในโครงการส่งเสริมการผลิตแก๊สชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์มากขึ้น ในแคลิฟอร์เนียพบมูลโคที่เน่าเปื่อยสามารถผลิตแก๊สมีเทน และก่อให้เกิดภาวะเรือนกระจกซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้ น การควบคุมการปล่อยแก๊สมีเทนจากมูลสัตว์ที่เน่าเปื่อย เช่น มูลโค มีความสำคัญต่อการป้องกันการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ดังนั้นจึ งมีการนำแก๊สมีเทนที่เกิดขึ้นมาใช้หมุนเวียนแทนการใช้พลังงานถ่านหินและพบว่ามูลจากโค 1 ตัวสามารถทดแทนพลังงานได้ประมาณ 100 วัตต์ (Chris Ayres, 2008) ในการศึกษาครั้งนี้จึงหาความเข้มข้นมูลวัว โดยใช้มูลโคตัวอย่างผสมกับน้ำประปาในอัตราส่วน 5-15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักมูลโคต่อปริมาตรทั้งหมดของมูลโคผสม ทำการ ทดลองในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เตรียมตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างทุกวันและดูการเปลี่ยนแปลงเป็นเวลา 7 วัน

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีจากการย่อยสลายมูลโคที่ความเข้มข้น 1 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์เป็นชุดควบคุม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าค่าซีโอดีที่ได้จากการทดลองมีปริมาณลดลง จากภาพที่ 4.13 พบว่าความเข้มข้นมูลโคที่ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มการลดค่าซีโอดีที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเมื่อเปรียบเที ยบประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี (ภาพที่ 4.14) พบว่าที่ความเข้นข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้สูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Gungor-Demirci (2004) ได้อธิบายว่า จุดเริ่มต้นของการทดลอง ซีโอดีที่ละลายได้ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ และอัตราการผ ลิตแก๊สสูงในช่วงเริ่มต้นของการหมักเป็นผลมาจากการย่อยสลายทางชีวภาพอย่างง่ายของซีโอดีที่ถูกใช้หมดไปหลังจากช่วงนี้การย่อยสลายทางชีวภาพอย่างง่ายของซีโอดีในถังปฏิกรณ์จะลดลงและผลลัพธ์ของการใช้อย่างต่อเนื่องนี้ส่งผลต่ออัตราการผลิตแก๊สที่ลดลง และพบว่าการลดลงของค่าซีโอดี 55 – 69 เปอร์เซ็นต์ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพเพิ่มขึ้น 17 เปอร์เซ็นต์ในการการหมักแบบกะขั้นตอนเดียว ในการเพิ่มผลผลิตแก๊สชีวภาพจากมูลสัตว์ปีกโดยการเติมถ่านไม้ (Kumar และคณะ, 1986)



ภาพที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีในมูลโคแต่ละความเข้มข้น

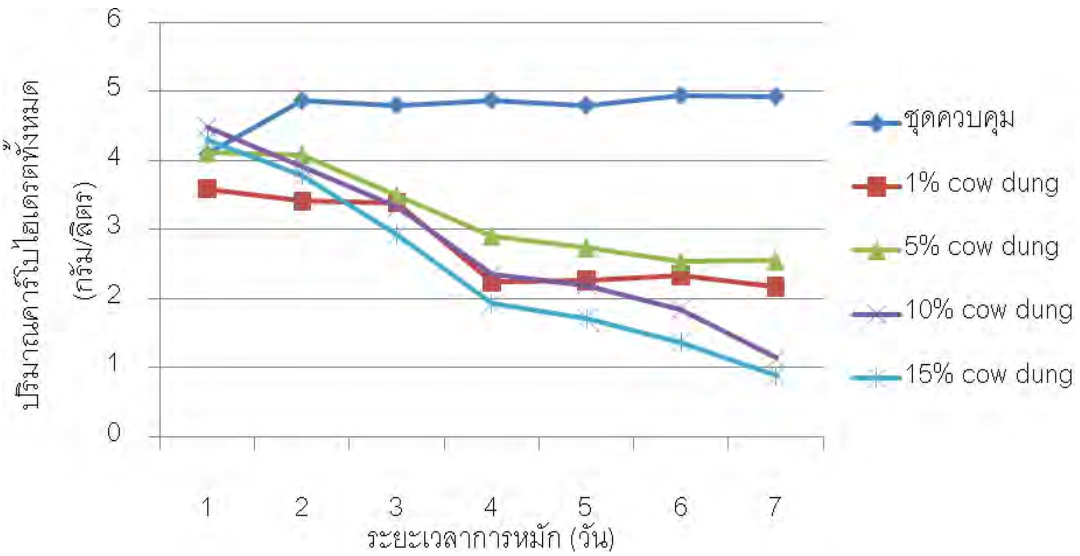


ภาพที่ 4.14 เปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีในมูลโคแต่ละความเข้มข้น

เมื่อศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลายได้ทั้งหมดในความเข้มข้นมูลโค 1 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.15) เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ความเข้มข้น 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ของมูลโค การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีค่าลดลงไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ความเข้มข้นมูลโค 0 เปอร์เซ็นต์) จะเห็นได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในชุดควบคุมไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในชุ ดการทดลองที่แปรผันความเข้มข้นของมูลโคจุลินทรีย์

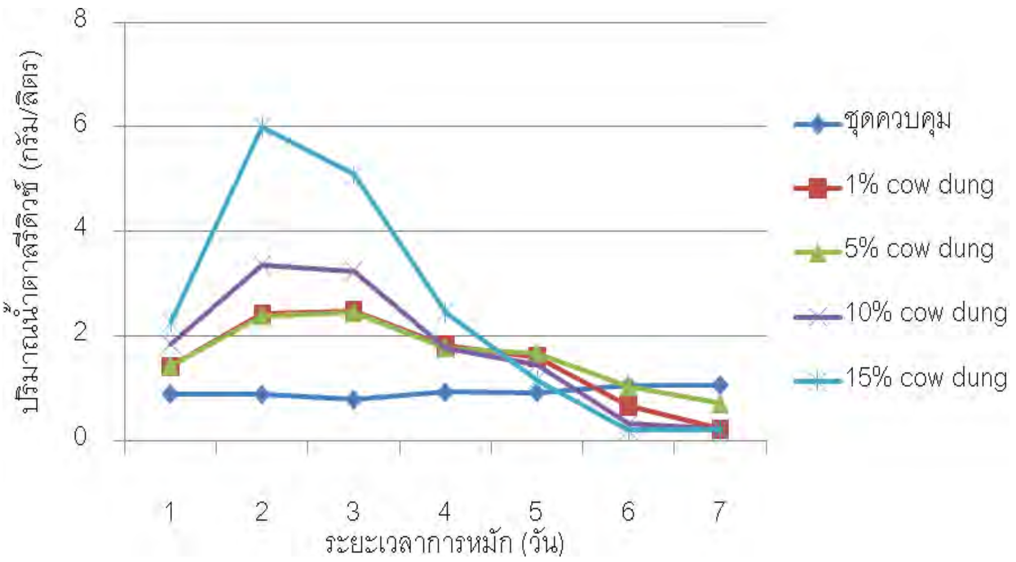
ได้ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตไปบางส่วน ภายใต้ภาวะเช่นนี้จะเกิดการสร้างกรดขึ้นโดยกระบวนการแอซิดิฟิเคชั่น (acidification process) สารจำพวกคาร์โบไฮเดรต และโปรตีน แบคทีเรียจะใช้ออกซิเจนจากน้ำและสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ละ ลายอยู่ ทำให้เกิดกรดขึ้น (Mironl, 2000) ขณะที่ค่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตในความเข้มข้นมูลโคที่ 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเปลี่ยนแปลงน้อย ในวันที่ 5 ของการทดลองปริมาณคาร์โบไฮเดรตของทั้งสอง

ความเข้มข้นมีค่าคงที่ในวันต่อมา แสดงถึง ภาวะของระบบที่ไม่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายแป้งมีจำนวนไม่มากและจุลินทรีย์อาจตายบางส่วน จึงส่งผลต่อการเกิดค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เปลี่ยนแปลง



ภาพที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในมูลโคแต่ละความเข้มข้น

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ในแต่ละความเข้มข้น (ภาพที่ 4.16) พบว่าในทุกความเข้มข้นมีปริมาณรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 2 ของกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นผลจากการย่อยหัวมันมีแป้งที่สามารถนำมาผ่านกระบวนการย่อยของจุลินทรีย์ชนิดไม่สร้างแก๊สมีเทน เพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2549) โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะส่งผลต่อการเปลี่ยนกรดอินทรีย์โมเลกุลเล็ก ซึ่งเป็นผลสอดคล้องกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ลดลง



ภาพที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในมูลโคแต่ละความเข้มข้น

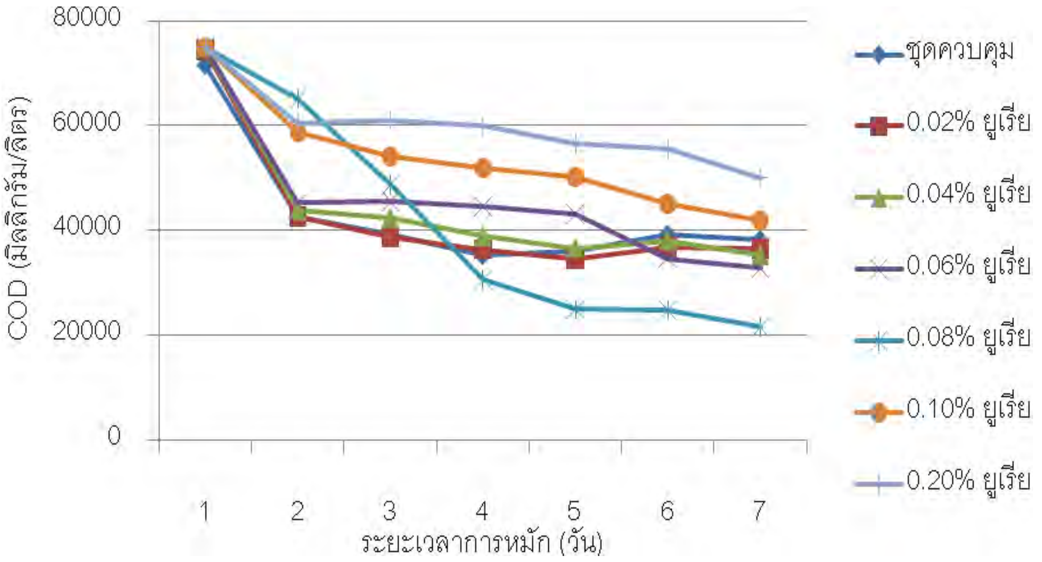
การศึกษาปริมาณมูลโคที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการกระบวนการหมัก พบว่าปริมาณมูลโคที่เหมาะสมและสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักที่ความเข้มข้นมูลโค 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Manilal (1990) พบว่าประสิทธิภาพการหมักน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง โดยทำการศึกษาร่วมกับความเข้มข้นมู ลโคที่ 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้นมูลโคที่ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิดแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพได้ 55 และ 59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และผลของการผสมของเสีย โดยใช้มูลสัตว์ที่ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยทดสอบใน 8 การทดสอบที่ อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าของเสียรวมกับมูลสัตว์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผลิตแก๊สชีวภาพในอัตรา 0.84-0.94 ลิตรต่อลิตรต่อวัน และปริมาณมีเทน 0.26-0.31 ลิตร มีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ (Karim และคณะ, 2005)

4.6.3 ผลของปริมาณความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสม

สารอาหารเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในการผลิตแก๊สชีวภาพ โดยในกระบวนการผลิตพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดสร้างมีเทนมีส่วนเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนสารอินทรีย์ไปเป็นแก๊สมีเทน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สอื่นๆ โดยกระบวนการเปลี่ยนสารอินทรีย์ไปเป็นแก๊สมีเทนขึ้นกับปริมาณสารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดสร้างมีเทนและเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่สร้างผลิตมีเทนซึ่งเป็นส่วนประกอบในกระบวนการแรกในการย่อย (Bardiya และ Gaur, 1999) ส่วนสารอาหารที่จำเป็นต่อจุลินทรีย์ในการผลิตแก๊สชีวภาพได้แก่ คาร์บอน และไนโตรเจน ซึ่งอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 20-30:1 (Sanders และ

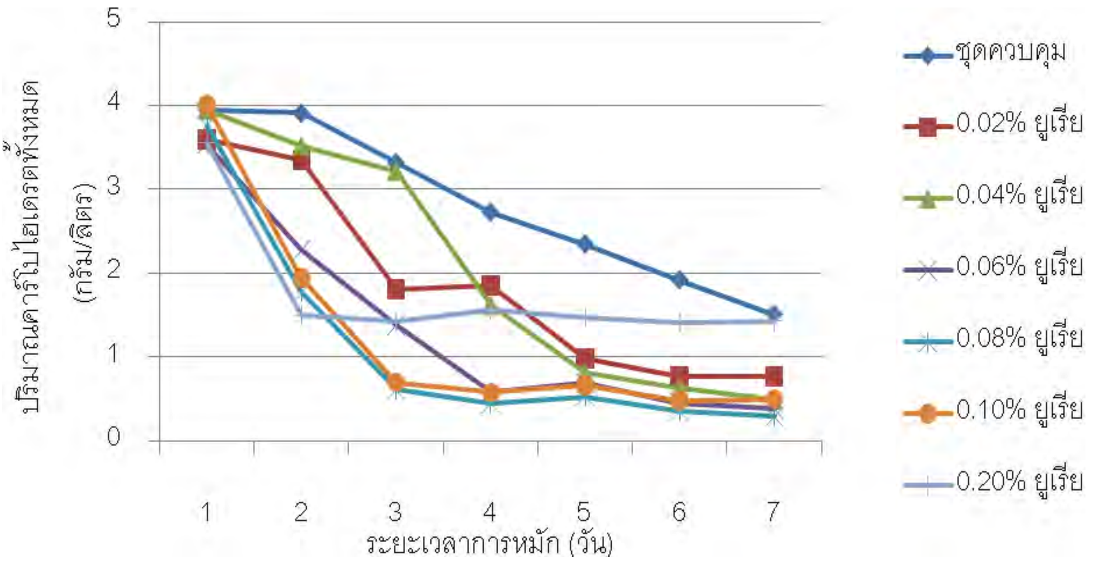
Bloodgood, 1965; Polprasert, 1989) เชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน นำคาร์บอนไปใช้เป็นพลังงาน ส่วนไนโตรเจนจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาสภาพของเซลล์ (University of Florida, 2002) ซึ่งส่วนประกอบและปริมาณแก๊สชีวภาพจะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบและองค์ประกอบในวัตถุดิบ (Prema และคณะ, 1992; Zhang และ Zhang, 1999) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการเติมยูเรียเพื่อให้ปริมาณสารอาหารเพียงพอต่อจุลินทรีย์ โดยหาความเข้มข้นของยูเรียที่เหมาะสมต่อการหมัก โดยใช้ความเข้มข้นยูเรียที่ 0.02-0.2 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นที่ 0 เปอร์เซ็นต์เป็นชุดควบคุม โดยทำการทดลองในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เตรียมตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน

จากภาพที่ 4.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าซีโอดี เมื่อมีการเติมยูเรียที่ความเข้มข้น 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ ในการหมักร่วมกันระหว่างมันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และมูลโค เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ชุดควบคุม คือการหมักร่วมกันระหว่างมันสำปะหลัง เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และมูลโค เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่เติมยูเรีย ทั้งนี้ผลการทดลองพบว่าค่าซีโอดีมีแนวโน้มลดลงตามเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น ซึ่งค่าซีโอดีมีแนวโน้มลดลงในทำนองเดียวกันที่ทุกความเข้มข้นของยูเรีย ถ้าพิจารณาถึงความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์แล้ว พบว่า ที่ความเข้มข้นของยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดค่าซีโอดีได้มากกว่าที่ความเข้มข้นของยูเรีย 0.06 เปอร์เซ็นต์ ณ วันที่ 7 ซึ่งหมายถึงปริมาณการผลิตแก๊สชีวภาพที่ปริมาณสูงกว่า



ภาพที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีในมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

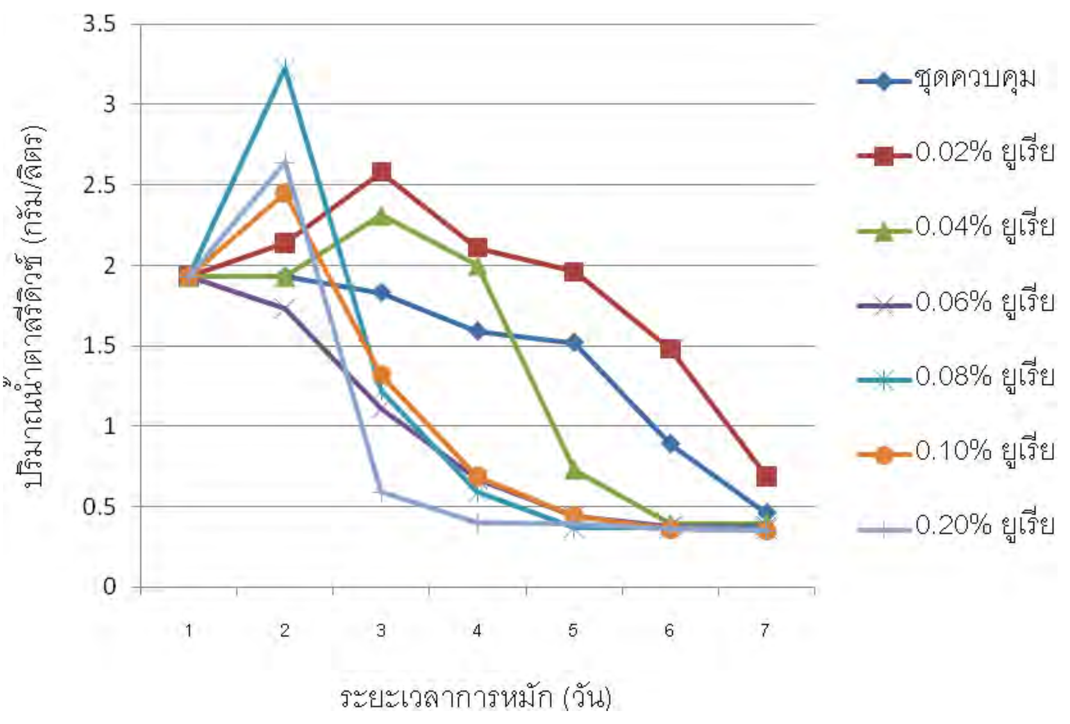
เมื่อศึกษาถึงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด เมื่อเติมความเ ข้มข้นของยูเรียที่ 0 0.02 0.04 0.06 0.08 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดมีค่าสูงที่สุดในวันแรก หลังจากนั้นปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจะลดลงเรื่อยๆตามระยะเวลา ทั้งนี้ แสดงถึงปริมาณคาร์โบไฮเดรตถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายไป ปริมาณการลดลงของคาร์ โบไฮเดรตแตกต่างกัน โดยพบที่ความเข้มข้น 0.08 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มการลดลงมากที่สุด ดังภาพที่ 4.18 เนื่องจากเกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ได้มากที่สุด ดังนั้นความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสมที่จะเติมเข้าไปในระบบ คือ ที่ความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ภาพที่ 4.19 เมื่อเติมยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ที่ความเข้มข้นยูเรีย 0.08 – 0.20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าสูงที่สุดใ นวันสองของการย่อย หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการย่อย แสดงถึงการนำน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้ในกระบวนการสร้างกรด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงแสดงถึงผลต่อการย่อยของจุลินทรีย์ พบว่าความเข้มข้นยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์ สามารถย่อยได้ดี แสดงถึง การผลิตแก๊สชีวภาพที่สูง ตามการรายงานของ Idnani และคณะ. (1971) ได้ทำการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากมูลโคร่วมกับน้ำเสียทางการเกษตร โดยการเติมและพบว่าปริมาณยูเรียที่เหมาะสมในการเติมอยู่ที่ 0.04-0.08 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับสารอาหารในน้ำเสียทางการเกษตร ซึ่งปริมาณยูเรียดังกล่าวให้ปริมาณแก๊สชีวภาพที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Anunputtikul และ Rodtong (2004) พบว่าการเติมยูเรีย 0.04

เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของของแข็งทั้งหมด สามารถผลิตแก๊สแก๊สชีวภาพได้ 1.95 ลิตรต่อวัน โดยมีองค์ประกอบแก๊สมีเทน 67.92 เปอร์เซ็นต์



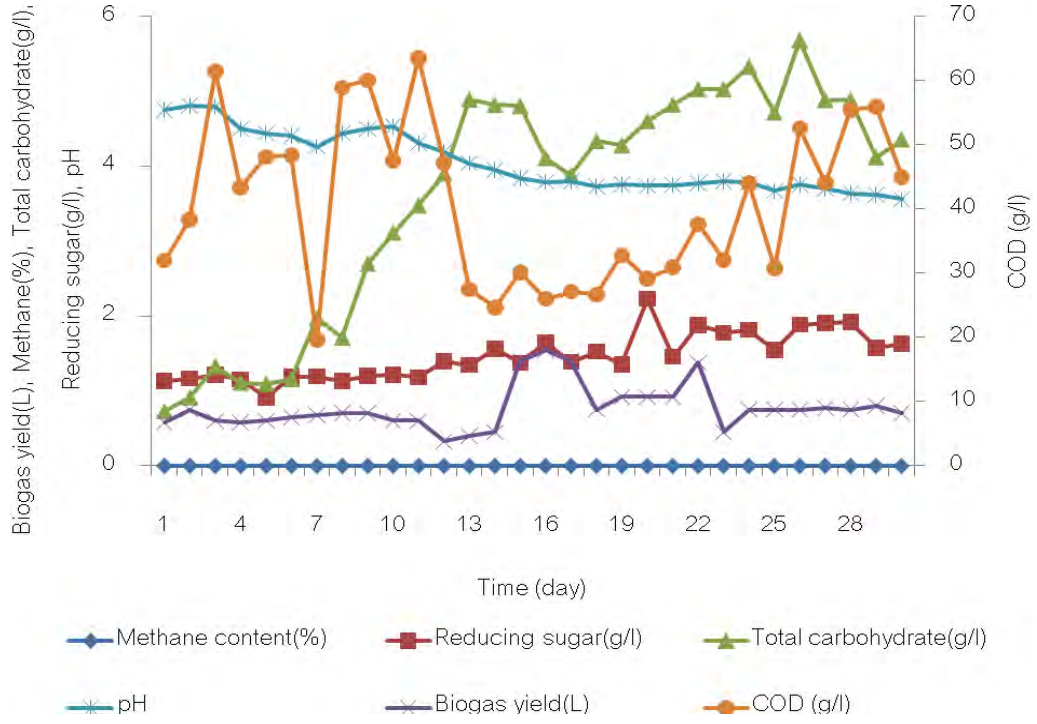
ภาพที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรียที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการทดลองพบว่าปริมาณยูเรียที่เหมาะสมต่อการทดลองอยู่ที่ 0.08 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่งผลให้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนอยู่ที่ 20-25 ต่อ 1 ซึ่งมีการรายงานของ Polprasert (1989) และ Sander และ Bloodgood (1965) กล่าวไว้ว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 20-30 ต่อ 1 โดยพบว่าอัตราส่วนต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสารอินทรีย์ได้เท่ากับ 16 ต่อ 1 และจะไม่สามารถผลิตแก๊สได้เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงกว่า 52 ต่อ 1 รวมถึงการทดลองของ Sterling และคณะ. (2001) พบว่าการเติมยูเรียที่ 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) เป็นสาเหตุให้ปริมาณแก๊สชีวภาพลดลง โดยอาจจะเป็นคุณลักษณะการยับยั้งแอมโมเนียของการเพิ่มยูเรียที่สูงกว่า (คาร์บอนต่ำต่อไนโตรเจน)

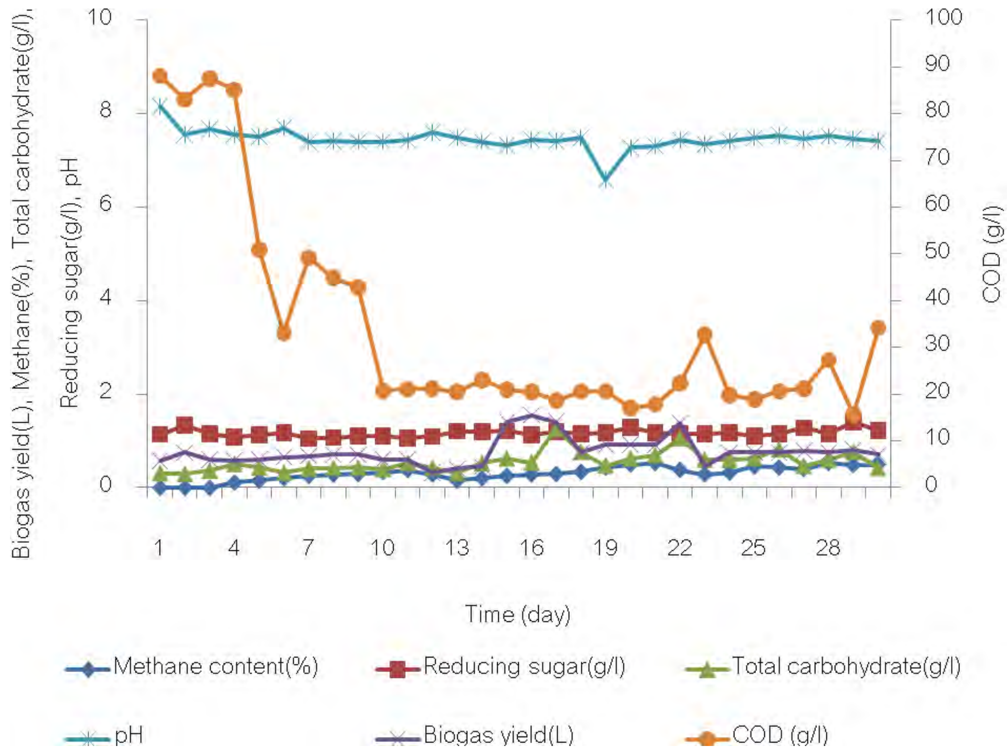
4.7 ผลของการศึกษาการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและผลของปริมาตรแก๊สที่เกิดขึ้น

การผลิตแก๊สชีวภาพในถังหมักแบบกะขั้นตอนเดียวปริมาตร 3 ลิตร (ภาพที่ 4.19) โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าในแผนการทดลองที่ 1 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์) และ 5 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *A.awamori*) จะอยู่ในช่วงของการสร้างกรดเท่านั้น ซึ่งทำให้ไม่พบมีเทนในแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้น ซึ่งกระบวนการหมักเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรี ยชนิดต่างๆ ซึ่งต้องการระดับความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกันไป ระดับความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกันของกระบวนการหมักของแบคทีเรีย แบ่งระยะของการหมักเป็น acid phase ระดับของพีเอชจะมีค่าระหว่าง 4.0 – 6.5 ในระยะ Methane forming phase ระดับพีเอชจะเป็น 7.0 – 7.8 (Alicbusan และคณะ, 1975)

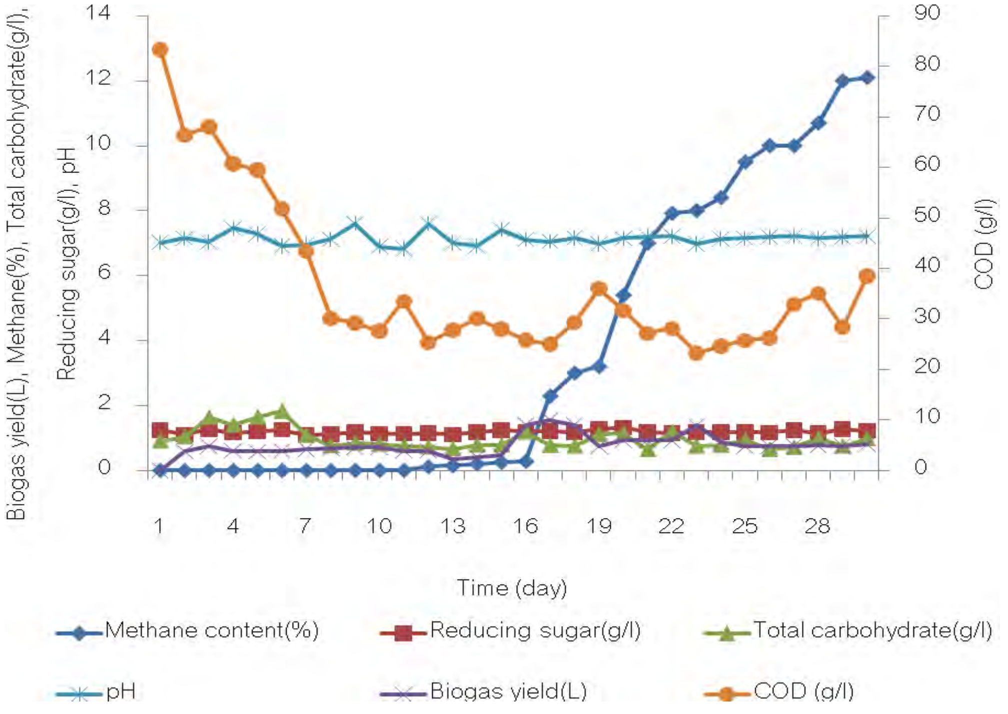
ส่วนแผนการทดลองอื่นๆเกิดขึ้นทั้งกระบวนการสร้างกรด และกระบวนการสร้างแก๊สมีเทน จึงพบแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพโดยแต่ละแผนการทดลองให้ปริมาณมีเทนที่แตกต่างกัน โดยแผนการทดลองที่ 2 (มูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์) ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.77 ลิตรต่อวัน และให้สัดส่วนแก๊สมีเทนเฉลี่ยเท่ากับ 0.29 เปอร์เซ็นต์ การเติมมูลโคเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนหมักมีผลต่อแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้น โดยมีแก๊สมีเทนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากการรายงานของ Manilal (1990) พบว่าการเติมมูลโคมีผลต่อทั้งปริมาณแก๊สชีวภาพและแก๊สมีเทนที่ เกิดขึ้นในระบบการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน แผนการทดลองที่ 3 ใช้มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.76 ลิตรต่อวัน และให้สัดส่วนแก๊สมีเทนเฉลี่ยเท่ากับ 3.68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแผนการทดลองที่ 4 ใส่มันสำปะหลั งเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.73 ลิตรต่อวัน และให้สัดส่วนแก๊สมีเทนเฉลี่ยเท่ากับ 34.08 เปอร์เซ็นต์ โดยแก๊สมีเทนสูงสุดในวันที่ 30 ของการทดลองซึ่งเท่ากับ 54.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วน การเติมเชื้อรา *A.awamori* ในแผนการทดลองที่ 6 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยมันสำปะหลัง ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.64 ลิตรต่อวัน และให้สัดส่วนแก๊สมีเทนเฉลี่ยเท่ากับ 9.71 เปอร์เซ็นต์ โดยแก๊สมีเทนสูงสุดในวันที่ 30 ของการทดลองซึ่งเท่ากับ 34.8 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากในช่วงแรกของแผนการทดลองที่เติมเชื้อรา *A.awamori* มีช่วงของค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำ ซึ่งส่งผลต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์สร้างมีเทนได้ตายไปบางส่วนและทำให้ได้สัดส่วนแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพเริ่มตรวจพบในวันที่ 10 ของการทดลอง



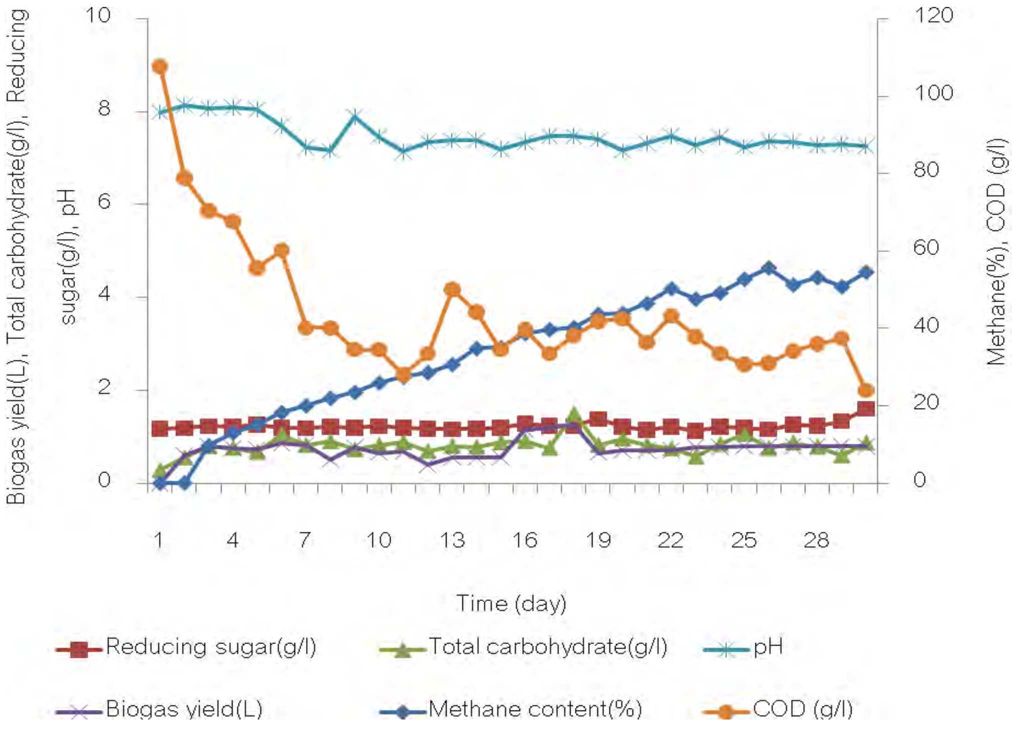
ภาพที่ 4.20 **(ก)** แผนการทดลองที่ 1 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์)



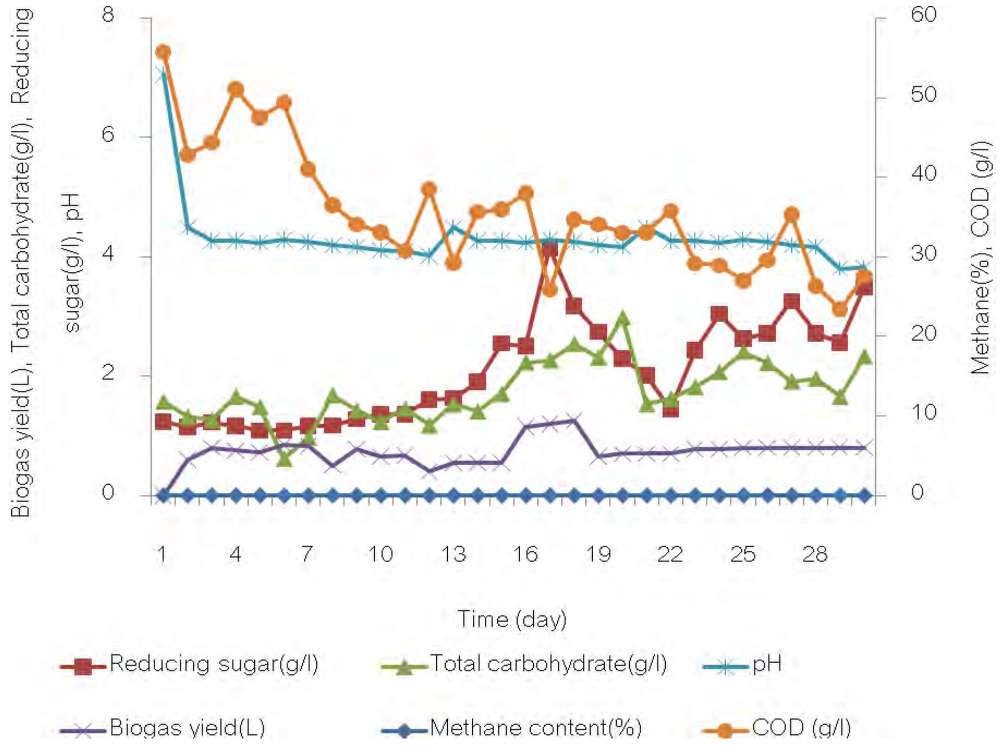
ภาพที่ 4.20 **(ข)** แผนการทดลองที่ 2 (มูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์)



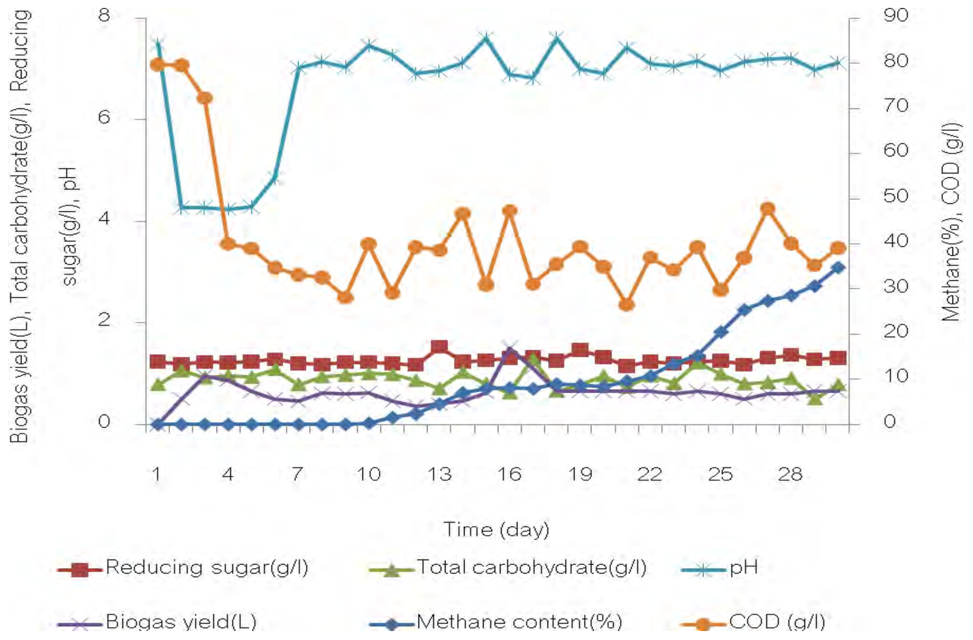
ภาพที่ 4.20 (ค) แผนการทดลองที่ 3 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์)



ภาพที่ 4.20 (ง) แผนการทดลองที่ 4 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์)



ภาพที่ 4.20 (จ) แผนการทดลองที่ 5 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *A.awamori*)



ภาพที่ 4.20 (ฉ) แผนการทดลองที่ 6 (มันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *A.awamori*)

ในกระบวนการหมักประกอบด้วยแบคทีเรียต่างชนิดกัน ซึ่งต้องการระดับความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกันไป ระดับความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกันของกระบวนการหมักของแบคทีเรีย ระยะของการหมักที่เป็น acid phase ระดับของพีเอชจะมีค่าระหว่าง 4.0 – 6.5 ในระยะ Methane forming phase ระดับ พีเอชจะเป็น 7.0 – 7.8 (Alicbusan และคณะ, 1975) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าค่าความเป็นกรดด่างชุดการทดลองที่ 2 3 4 และ 6 มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.5-8.2 ซึ่งจะพบแก๊สมีเทนเป็นองค์ประกอบในแก๊สชีวภาพ มีการรายงานช่วงค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำจะส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้โดยเฉพาะจุลินทรีย์ชนิดที่สร้างแก๊สมีเทน ในกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ (Tanticharoen และคณะ, 1984) ซึ่งสอดคล้องกับ Vicenta และคณะ (1984) รายงานว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพในเปลือกสัปปะรดพบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 6.8-7.2 โดยช่วงของการผลิตถูกจำกัดอยู่ที่ 6.5-7.2 บางครั้งจุลินทรีย์สร้างมีเทนสามารถเจริญได้ที่ช่วงความเป็นกรดด่าง 6.5-8.2 (Buyukkamaci และ Filibeli, 2004) Cuzin และคณะ (1992) แสดงข้อมูลจำนวนแบคทีเรียที่น้อยกว่า 10 เท่า และ 100 เท่าของจุลินทรีย์สำหรับการหมักและจุลินทรีย์สร้างมีเทน ตามลำดับ ณ อัตราการโหลดเดียวกันก่อนกระบวนการสร้างกรด การผลิตแก๊สชีวภาพจะลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตปกติ

การเติมยูเรียลงไปในระบบส่งผลต่อสองปัจจัยในกระบวนการหมัก คือเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากปัจจัยในการย่อยสลายของสารอินทรีย์ขึ้นอยู่กับปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน ซึ่งสัดส่วนที่เหมาะสม คือ คาร์บอน : ไนโตรเจน ควรอยู่ระหว่าง 20:1 ถึง 30:1 (Bardiya และ Guar, 1997) อีกปัจจัยหนึ่งคือผลต่อค่าความเป็นกรดด่าง ดังนั้นการเติมสารอาหารจำพวกไนโตรเจนเพื่อเพิ่มผลผลิตแก๊สชีวภาพจากหัวมันสำปะหลัง ไนโตรเจนที่เติมเข้าสู่ระบบสามารถเติมได้ทั้งในรูปของสารอนินทรีย์ (แอมโมเนีย) และสารอินทรีย์ (ยูเรีย มูลสัตว์ และของเสียจากอาหาร) ไนโตรเจนเมื่อถูกปลดปล่อยออกจากสารอินทรีย์นั้นจะกลายเป็น แอมโมเนียซึ่งสามารถละลายน้ำได้ (Zhang และ Zhang, 1999) ในการศึกษานี้ยูเรียถูกเลือกให้เป็นแหล่งไนโตรเจนเนื่องจากง่ายต่อการย่อยสลายให้กลายเป็นแอมโมเนียโดยความหลากหลายของจุลินทรีย์ (Sterling และคณะ, 2001) ดังนั้นความเข้มข้นของอัลคาไลน์ที่เพิ่มขึ้นก็เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของไอออนของแอมโมเนียเช่นเดียวกับความเป็นกรดด่าง (Kroeker และคณะ, 1979) ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับกระบวนการผลิตแก๊สชีวภาพ (Pound และคณะ, 1981) อย่างไรก็ตาม Vicenta และคณะ (1984) รายงานการเติมยูเรียลงในถังการผลิตแก๊สชีวภาพโดยใช้เปลือกสัปปะรดไม่สามารถเพิ่มการผลิตแก๊สได้ การเติมยูเรียเกินพิกัดนั้นสามารถยับยั้งการผลิตได้ (Sterling และคณะ, 2001) ซึ่งจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการเติมยูเรียให้ปริมาณแก๊สมีเทนในสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการทดลองที่ไม่มีการเติมยูเรีย

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจากทุกการทดลองมีค่าคงที่ในทุกการทดลอง ยกเว้นในชุดการทดลองที่ประกอบด้วยมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์ซึ่งปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงขึ้นและไม่คงที่เนื่องจากการย่อยสลายในระบบไม่สมบูรณ์ ทำให้การเปลี่ยนแปลงของค่าซีโอดี มีค่าไม่คงที่ นอกจากนี้ความสามารถในการย่อยสลายของจุลิ นทรีย์และการนำน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้เพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย ส่วนการที่มีการเติมมูลโค และยูเรีย พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดค่อนข้างคงที่ ส่วนการกำจัดซีโอดี ค่าซีโอดีในวันแรกมีค่าสูงสุดและจะลดลงเรื่อยๆตามลำดับ โดยกำจัดซีโอดีได้เฉลี่ ย 50 -70 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งระบบ แสดงถึงแป้งถูกย่อยสลายกลายไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้และจุลินทรีย์สามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปใช้เพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพ

อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้อยู่ในช่วง 28 – 32 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่ง ที่จะเกิดกระบวนการหมักให้แก๊สมีเทน (Bunchueydee, 1984) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทยนั้นควรจะผลิตในระดับ Mesophilic คือ 30-40 องศาเซลเซียส (Anunputtikul และ Rodtong, 2004) และเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราจำพวก *Aspergillus* spp. (Astoreca และคณะ, 2007) ส่วนความเร็วรอบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากการศึกษาของนันทพงศ์ (2009) พบว่าผลการทดลองของความลาดชันความเร็วต่อประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีและการผลิตแก๊สชีวภาพ ในถังปฏิก รณ์กวนสมบูรณ์ในแนวนอนและแนวตั้ง โดยทำการศึกษาที่ความลาดชันความเร็ว 25 50 75 และ 100 ต่อวินาที ซึ่งเท่ากับความเร็วรอบมอเตอร์ที่ 40 80 120 และ 160 รอบ พบว่าความเร็วที่เหมาะสมสำหรับการทดลองคือ 50 ต่อนาทีหรือ 80 รอบมอเตอร์ ส่วนแนวระนาบการกวนของเหลวพบว่าถังปฏิ กรณ์กวนสมบูรณ์ในแนวนอนสามารถผลิตแก๊สชีวภาพและมีสัดส่วนของแก๊สมีเทนในแก๊สชีวภาพสูงกว่าถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ในแนวตั้ง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

มันสำปะหลังที่เพาะปลูกในประเทศไทยที่ได้นำมาใช้ในงานวิจัยนี้มี 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ห้วยบง พันธุ์เกษตรศาสตร์-60 พันธุ์ซัดดัม และพันธุ์เขียวปลดหนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณความชื้นโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 60 - 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เฉลี่ย 0.70 – 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าซีโอดีโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1250 – 1700 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพันธุ์ห้วยบงให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่าซีโอดีสูงที่สุด

มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบงมีปริมาณความชื้น 16.04 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีน 2.47 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมัน 0.51 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 79.18 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแป้ง 70.92 เปอร์เซ็นต์ ขี้เถ้า 1.80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสเฟต 307.26 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณของแข็งทั้งหมด 83.96 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนจากการคำนวณ คือ 84:1

มูลโคสดเก็บใน 24 ชั่วโมง มีสีน้ำตาลเข้มปนกากอาหาร มีค่าเฉลี่ยของปริมาณต่างๆ คือ มีปริมาณความชื้น 79 เปอร์เซ็นต์ หรือ 790 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าบีโอดี 13.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าซีโอดี 125.5 มิลลิกรัมต่อกรัม ค่าของแข็งทั้งหมด 163.3 มิลลิกรัมต่อกรัม และค่าของแข็งระเหยได้ทั้งหมด 108.0 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 7.8 เปอร์เซ็นต์ หรือ 78 มิลลิกรัมต่อกรัม ไนโตรเจนทั้งหมด 0.37 เปอร์เซ็นต์ หรือ 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 0.055 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.55 มิลลิกรัมต่อกรัม พบปริมาณโลหะทองแดง 14.2 x10^{-4} โดยน้ำหนักแห้ง

การศึกษาการย่อยสลายมันสำปะหลังด้วยกระบวนการทางเคมีและทางชีวภาพ พบว่ากระบวนการทางเคมีโดยใช้กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายดีที่สุด ให้ค่าซีโอดี เท่ากับ 36806±394.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยสลายสูงสุด เท่ากับ 15.16±1.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณคารโบไฮเดรตทั้งหมดเท่ากับ 9.28±1.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนการใช้เอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus awamori* ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวภาพ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเป็นอันดับ 2 ค่าซีโอดี เท่ากับ 40762.41±566.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่ได้จากการย่อยสลาย เท่ากับ 7.85±1.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

เท่ากับ 11.73±0.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *A. awamori* มีประสิทธิภาพในการกำจัดค่าซีโอดีสูงที่สุด

การผลิตแก๊สชีวภาพภายใต้ถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์พบว่า การใช้วัตถุดิบมันสำปะหลังเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับมูลโคเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และปรับสภาพด้วยยูเรียที่ 0.08 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณแก๊สชีวภาพ และสัดส่วนแก๊สมีเทนสูงสุด เท่ากับ 1.03 ลิตรต่อวัน และ 34.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบแก๊สชีวภาพตั้งแต่วันที่ 2 หลังจากการหมักและให้ความเข้มข้นสูงสุดในวันที่ 26 ของการทดลองซึ่งเท่ากับ 54.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเติมเชื้อรา *A.awamori* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยทำให้ได้ปริมาณแก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.64 ลิตรต่อวัน โดยแก๊สมีเทนสูงสุดในวันที่ 30 ของการทดลองซึ่งเท่ากับ 34.8 เปอร์เซ็นต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.ควรศึกษาทดลองในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์ขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพในระดับชุมชน

2.ควรศึกษาทดลองในถังปฏิกรณ์กวนสมบูรณ์แบบต่อเนื่องเพื่อใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพในระดับชุมชน

3.ควรมีการทดลองในภาวะเมื่อเปลี่ยนชนิดของสารอินทรีย์เป็นมูลสัตว์ประเภทอื่นๆ เพื่อให้สอดคล้องกับการใช้ประโยชน์ในชุมชน

4.ศึกษาเพิ่มเติมเรื่องการใช้กากตะกอนที่ได้จากการหมักเพื่อทำปุ๋ย โดยหาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม หลังการหมัก

5.ศึกษาผลและปริมาณยับยั้งของโลหะชนิดต่างๆ เช่น ทองแดง แคดเมียม สังกะสี นิเกิล ตะกั่ว และโครเมียม ที่มีผลต่อระบบ

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ . การผลิตเอทานอลจากมันเส้น จากมันสำปะหลังสู่เอทานอล (เทคโนโลยีการผลิตเอทานอลจากมันสำปะหลัง). วิศวกรรมสาร. 59(2) (มี.ค.-เม.ย. 2549): 26-28.

กัลยา อยู่นาน และ จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร. 2547. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยสลายเปลือกมันสำปะหลัง เพื่อการผลิตน้ำตาลรีดิวส์โดยสารละลายกรดเจือจางและเอนไซม์. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. หน้า 365-373. 3-6 กุมภาพันธุ์ 2547. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชยะ หัสดิเสวี. 2530. การใช้ปัจจัยในการผลิต ต้นทุนการผลิต และกำไรของโรงงานมันเส้นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาเศรษฐศาสตร์เกษตร คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐธยาน์ พงศ์สถาบดี. 2551. กระบวนการบำบัดน้ำทางวิศวกรรมเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: บริษัท มิสเตอร์ก๊อปปี้ (ประเทศไทย) จำกัด.

นันทพงศ์ จันทมาศ. 2552. ผลของความลาดชันความเร็วและอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้ถังปฏิกรณ์ AnSBR. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2537. เอนไซม์ทางอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พักตร์ประไพ ประจำเมือง และ วิชัย ลีลาวัชรมาศ. 2546. เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง. วารสารศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 11(4) (ตุลาคม-ธันวาคม): 28-31.

พิชิต สกุลพราหมณ์, มงคล โฉมงาม และคณะ, 2519. การศึกษาการกำจัดมูลสัตว์เลี้ยงบางชนิดโดยวิธีการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศและผลผลิตเชื้อเพลิงแก๊สธรรมชาติ. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และกองสุขาภิบาล กรมอนามัย, (กรกฎาคม – พฤศจิกายน).

พิสิฐ ศุกรียพงศ์. 1978. แก๊สเชื้อเพลิงจากมูลสัตว์และผลที่มีต่อการพัฒนาเศรษฐกิจในชนบทไทย. นครปฐม: คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 12 มิถุนายน 2521.

วิชาการเกษตร, กรม. มันสำปะหลัง [ออนไลน์] 2553. แหล่งที่มา: http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=14 [2553,10 มกราคม].

วันเพ็ญ วิโรจกุฏ. 1987. Biogas, ขอนแก่น: ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น, พฤษภาคม 2530.

ศูนย์พัฒนาความรู้การซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้า. 2007. โครงสร้างตลาดสินค้ามันสำปะหลังภายในประเทศ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: http://www.aftc.or.th/itc/products_analyze.php?id=80&fgrp_id=6&fmnu_id=28
[สืบค้นวันที่ 2553,10 มกราคม].

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 2550. “แก๊สชีวภาพ” พลังงานทางเลือก [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ops.go.th/finance/index.php?option=com_content&view=article&id=116:2009-06-24-01-37-01&catid=59:2009-06-22-04-32-15&Itemid=33. [สืบค้นวันที่ 2552,1 พฤศจิกายน].

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 2550. ราคามันสำปะหลัง[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.tradestrategies.org/Product_data/data_show_website/Cassava_Market/Future.htm. [สืบค้นวันที่ 2552,1 พฤศจิกายน].

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์. 2549. ระบบบำบัดน้ำเสีย การเลือกใช้ การออกแบบ การควบคุม และการแก้ปัญหา. กรุงเทพมหานคร: บริษัท สำนักพิมพ์ท้อป จำกัด.

เสริมพล รัตสุข และ ไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์. 2518. การกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งชุมชน. กรุงเทพฯ: สถาบันวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย.

โสภณ สินธุประมา ชาญ ถิรพร และอนุชิต ทองกล่ำ. 2526. การเขตกรรมและการจัดระบบการปลูกพืชในมันสำปะหลัง. เอกสารวิชาการเล่มที่ 7. กรมวิชาการเกษตร: 41 – 55.

ภาษาอังกฤษ

Abasaeed, A.E., Lee, Y.Y., and Watson, J.R. 1991. Effect of trasient heat transfer and particle size on acid hydrolysis of hardwood cellulose. Bioresource Technology 35 (January): 15-21.

Adegbola, A. A., and Asaolu, V.O. 1986. Preparation of cassava peels for use in small ruminant production in Western Nigeria. In Preston, T.R., and Nuwanyakpa, M.Y.(Eds.), Toward Optimum Feeding of Agricultural By-products to Livestock in Africa. Proceeding of Workshop held at the University of Alexandria, Egypt. 1985, pp. 109-115. ILCA, Addis Ababa, Ethiopia.

Adelekan, B. A., and Bamgboye, A.I. 2009. Effect of Mixing Ratio of Slurry on Biogas Productivity of Major Farm Animal Waste Types. Journal of applied bioscience 22 (September): 1333-1343

Adeyanju, A. A. 2008. Effect of seeding of wood-ash on biogas production using pig waste and cassava peels. Journal of Engineering and Applied Science 3 (March): 242-245.

Alicbusan, R.V. 1975. Microbiology of fermentating organic waste in bio-gas Production. ESCAP workshop on bio-gas technology and utilization, 333-336. Philipines: ESCAP. (Mimeographe)

Al-Masri, M.R. 2001. Changes in biogas production due to different ratios of some animal and agricultural wastes. Bioresource Technology 77 (1) (March): 97-100.

Alvarez, R., and Gunnar, L. 2008. Semi-continuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure, and fruit and vegetable waste. Renewable Energy 33 (4) (April): 726-734.

Andrea, A., Carina, M., María, L., Ramireza, M. C., and Ana, D. 2007. Water activity and temperature effects on growth of *Aspergillus niger*, *A. awamori* and *A. carbonarius* isolated from different substrates in Argentina. International Journal of Food Microbiology 119 (3) (November): 314-318.

Andrew, G., Hashimoto, R. L., and Hruska, U. S. 2004. Effect of mixing duration and vacuum on methane production rate from beef cattle. Biotechnology and

Bioengineering 24 (1) (February): 9-23.

Anjan, K. K., and Shiv, P. S. 2001. Effect of mixing digested slurry on the rate of biogas production from dairy manure in batch fermentater. Energy Source 23 (8) (September): 711-715.

Anunputtikul, W., and Rodtong, S. 2004. Laboratory scale experiment for biogas Production from cassava tubers. The Joint 4th International Conference on "Sustainable Energy and Environment (SEE)", Hua Hin, Thailand. 2004, pp. 238-243.

Bardiya, N. and Gaur, A.C. 1997. Effects of carbon and nitrogen ratio on rice straw biomethanation. Journal Rural Energy 4 (1-4) (June): 1-16.

Barker, J.C. 2001. Biological and Agricultural Engineering North Carolina State University, Raleigh, NC. USA: North Carolina Cooperative Extension Service, Last Electronic Revisio.

Barker, J.C., Crouse, D. A., Zublena, J. P., and Yong, J. 2001. North Carolina Farm*A*Syst: Improving Storage, Handling, and Disposal of Livestock Waste. USA: North Carolina Cooperative Extension Service.

Biogas Costa Rica. 2009. Biogas Discussions [Online]. Available from: http://www.ruralcostarica.com/biogas-disvcussions.html. [2010, January 16].

Bhumiratana, S., Tanticharoen, M., Putamayothin, N., and Supajunya, N. 1984. Biogas technology in Thailand. In Bidin, R., Chong, C.N., and Wang, C.W.,(eds.), Proceeding of the Second ASEAN Workshop on Biogas Technology Applied to the Management and utilization of Food Waste Material. Malaysia. 1984, pp. 104-110. Malaysia: Kuala Terengganu.

Bruce, A. M., Kouzeli-Katsiri, A., and Newman, P.J. 1984. Anaerobic Digestion of Sewage Sludge and Organic Agriculture Wastes. New York: Elsevier Science Publisher Co., Inc.

Bunchueydee, P. 1984. Industrial biogas: A feasibility study of waste utilization from agro-industry in Thailand. Bangkok: Division of Energy Research and Development National Energy Administration Ministry of Science, Technology and Energy.

Buyukkamaci, N., and Filibeli, A. 2004. Volatile fatty acid formation in an anaerobic

hybrid reactor. Process Biochemistry 39 (11) (July): 1491-1494.

Cara, C., Ruiz, E., Oliva, J. M., Saez, F., and Castro, E. 2008. Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification. Bioresource Technology 99 (April): 1869-1876.

Coleman, G., and Elliott, W.H. 1961. Studies on α-Amylase formation by *Bacillus subtilis*. Biochemistry Journal 83 (May): 256-263.

Cuzin, N., Farinet, J.L., Segretain, C., and Labat, M. 1992. Methanogenic Fermentation of Cassava peel using a pilot plug flow digester. Bioresource Technology 41 (November): 259-264.

Degrement. 1991. Water Treatment Handbook. 6th ed., Paris: Lavoisier Publish.

Department of Animal Science.1992. Final report of the important of nutritive and economic value of cassava root products. Khon Kaen: Khon Khen University.

Diaz, F.L., Savage, G.M., Eggert, L.L., and Golueke, C.G. 1993. Composting and Recycling Municipal solid wastes. USA: CCR Press.

Energy Policy and Planning Office. 2002. Biogas Production from Animal Manure [On line]. Available from: http://www.eppo.go.th/div2/gas.htm. [November 16, 2009].

Energy Policy and Planning Office. 2003. Biogas Production from Animal Manure [On line]. Available from: http://www.eppo.go.th/vrs/VRS38-10Biomass.html/gas.htm. [November 16, 2009].

Fox, M.H., Noike, T., and Ohki, T. 2003. Alkaline subcritical-water treatment and alkaline heat treatment for the increase in biodegradability of newsprint waste. Water Science Technology 48 (4) (September): 77–84.

Gallert, C., and Winter, J. 2002. Solid and liquid residues as raw materials for biotechnology. Naturwissenschaften 89 (11) (November): 483-496.

Garba, B. 1996. Effect of temperature and retention period on biogas production from ligrocellulosic material. International Journal of Renewable Energy 9 (1–4) (September-December): 938 –941.

Ghaly, A.E. 1996. A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. Bioresource Technology 58 (1) (October): 61–72.

Gray, P. P., Dunnill, P., and Lilly, M.D. 1972. Fermentation Technology Today, Japan:

Society of Fermentation Technology, 347.

Güngör-Demirci, G., and Demirer, G. N. 2004. Effect of initial COD concentration, nutrient addition, temperature and microbial acclimation on anaerobic treatability of broiler and cattle manure. Bioresource Technology 93 (June): 109–117.

Hawkes, F.R., Guwy, A.J., Rozzi, A.G. and Hawkes, D.L. 1993. A new instrument for on-line measurement of bicarbonate alkalinity. Water Research 27 (January): 167–170.

Hill, D. T. 1982. Optimum operational design criteria for anaerobic digestion of animal manure. Transactions of the ASAE 25 (March): 1029–1032.

Hills, D.J. 1979. Effects of carbon: Nitrogen ratio on anaerobic digestion of dairy manure. Agricultural Wastes 1 (4) (November): 267-278.

Idnani, M.A., and Laura, R. D. 1971. Retarding effect of desiccation on nitrogen mineralization in organic manures current science. Current Science 40 (7) (April): 158.

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

Karim, K., Klasson, K.T., Hoffman, R., Drescher, S.R., DePaoli, D.W., and Al-Dahhan, M.H. 2005. Anaerobic digestion of animal waste: Effect of mixing. Bioresource Technology 96 (14) (September): 1607-1612.

Karthikeyan, V., Sathyamoorthy, G.L., and Murugesan, R. 2007. Vermicomposting of Market Waste in Salem, Tamilnadu, India. Proceedings of the International Conference on Sustainable Solid Waste Management, Chennai, India. 2007, pp. 276-281.

Kashyap, D.R., Dadhich, K.S., and Sharma, S.K. 2003. Biomethanation under psychrophilic conditions: a review. Bioresource Technology 87 (April): 147–153.

Knight, J.W. 1969. The Starch industry. London: Pergamam Press.

Kroeker, E. J., Schulte, D. D., Sparling, A. B., and Lapp, H. M. 1979. Anaerobic treatment process stability. Journal Water Pollut Control Fed 51(4) (September) :718-727.

Kugelman, I.G., and Chin, K.K. 1971. Toxicity synergism and antagonism in anaerobic waste treatment process. Washing DC: American Chemical Society.

Kumar, S., Jain, M. C., and Chhonkar, P. K. 1986. A note on stimulation of biogas production from cattle dung by addition of charcoal. Biological wastes 20 (August): 209-215.

Lancaster, P. A., Ingram, J.S., Lim, M.Y., and Coursey, D.G. 1982. Traditional cassava-based products : Survey of processing techniques. Economic Botany 36 (January): 12-45.

Leui, SS. 1975. Production of methane from farm wastes. In DaSilva, E.J. ESCAP workshop on bio-gas technology and utilization. Montana State Library: 1515 E 6th Avenue Helena, United States. 1975, pp.175-186. Newsletter: United States.

Loehr, R.C. 1974. AGRECULTURE Waste Managament: Problems, Process and Approaches. New York: Academic press.

Macarty, O. 1964. Anaerobic waste treatment fundamental I. Journal of Public Work 9 (August): 95.

Macarty, O. 1964. Anaerobic waste treatment fundamental II. Journal of Public Work 10 (December): 107-112.

Mackie, R. I., and Bryant, M. P. 1995. Anaerobic digestion of cattle waste at mesophilic and thermophilic temperatures. Applied Microbiology and Biotechnology 43 (2) (June): 346-350.

Manilal, V.B., Narayanan, C.S., and Balagopalan, C. 1990. Anaerobic digestion of cassava starch factory effluent. World Journal of Microbiology and Biotechnology 6 (June): 149-154.

Metcalf, E., and Eddy F.L. 1991. Wastewater Engineering Treatment, Disposal and Reuse. 3rd Edition. New York: Mc Graw Hill.

Mignone, A.N. 2005. Biological inhibition/Toxicity control in municipal anaerobic digestion facilities [Online]. Available from: http://www.awpca.net/Biologicalinhibitin.[2005, July 10].

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31(3) (August): 426-428.

Milono, P., Lindajati, T., and Aman, S. 1981. Biogas production from agricultural organic residues. In The First ASEAN Seminar-Workshop on Biogas Technology, Working Group Food Waste Materials. ASEAN Committee on Science and

Technology, Manila, Philipines. 1981, pp. 52-65. Cited in Lyagba, E.T., Mangibo, L. A., and Mohammad, Y.S. 2009. The study of cow dung as co-substrate with rice husk in biogas production. Scientific Research and Essay 4 (9) (September): 861-866.

Mironl, Y., Zeeman G., Jules B., Lier, V.M., and Lettinga, G.M. 2000. The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. Water Research 34(5) (April): 1705-1713.

Moller, H.B., Sommmer, S.G., and Ahring, B.K. 2002. Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions. Bioresource Technology 85 (November): 189–196.

Nasiman, S. 1996. Treatment and reuse of textile wastewater by overland flow. Desalination. 106 (August): 179-182

Nigam, P., and Singh, D. 1995. Enzyme and microbial system involved in starch processing. Enzyme and Microbial Technology 17 (September): 770-778.

Nigam, J.N. 2002. Bioconversion of Water-Hyacinth (*Eichornia crassipes*) Hemicellulose Acid Hydrolysate to Motor Fuel Ethanol by Xylose-Fermenting Yeast". Journal Biotechnology 97 (August): 107-116.

Obioha, F.C., and Anikwe, P. C. N. 1982. Utilization of ensiled and sun-dried cassava peels by growing swine. Nutrition Reports International 26 (February): 961-972.

Osei, S.A., Asiamah ,M., and Atuahene, C.C. 1990. Effects of fermented cassava peel meal on the performance of layers. Animal Feed Science and Technology 24(June): 295-301.

Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Soccol, V.T., Vandenberghe, L.P.S., and Mohan, R. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues: II Cassava bagasse. Bioresource Technology 74 (August): 81–87.

Pedocchi, F., and Piedra-Cveva, I. 2005. Camp and Stein's Velocity Gradient Formalization. Journal of Environmental Engineering 131 (10) (October): 1369-1376.

Polprasert, C. 1996. Organic Waste Recycling Technology and Management. 2nd Edition. Bangkok: John Wiley & Sons.

Polprasert, C. 1989. Organic Waste Recycling, Asian Institute of Technology. Bangkok: John Wiley and Sons London.

Pound, B., Done, F., and Preston, T. R. 1981. Biogas production from mixtures of cattle slurry and pressed sugar cane stalk, with and without urea. Tropical Animal Health and Production 6(1) (August): 11-21.

Prema, V., Devi, S. S. and Nand, K. 1992. Anaerobic digestion of fruit and vegetable processing wastes for biogas production. Bioresource Technology 40 (1) (February): 43-48.

Rao, P. P., and Seenayya, G. 1994. Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. World Journal of Microbiology and Biotechnology Subject Collection Chemistry and Materials Science 10 (2) (March): 211-214.

Reddy, H.G.R., Haeri, M.S., and George, C. L. 1975. Report of the Preparatory Mission of Bio-gas Technology and Utilization. ESCAP Workshop on Bio-gas Technology and Ultilization, 248-254. Philippines: ESCAP. (Mimeographed)

Roble, N. D., Ogbonna, J.C. and Panaka, H. 2003. L - Lactic acid production from raw cassava starch in a circulating loop bioreactor with cells immobilized in loofa (*Luffa cylindrica*). Biotechnology Letters 25 (July): 1093-1098.

Rojanaridpiched, C., Vichukit,V., Sarobol, E., and Changlek, P. 2002. Breeding and dissemination of new cassava varieties in Thailand. Paper presented at the 7th Regional Cassava Workshop, held in Bangkok, Thailand. 2002, pp.161-166.

Rosenblum, J. L., Irwin, C.I., and Alpers, D. H. 1988. Starch and glucose oligosaccharides protect salivary-type amylase activity at acid pH. American Journal of Physiology 254 (17) (August): 775-780.

Sapari, N. 1996. Treatment and reuse of textile wastewater by overland flow. Desalination 9 (1-3) (August): 179-182.

Sanders, F. A., and Bloodgood, D. E. 1965. The effect of nitrogen-to-carbon ratio on Anaerobic decomposition. Journal Water Control Federation 37 (November): 1741.

Seenayya, G., Rao, C.V., Shivaraj, D., Preeti Rao, S. and Venkatswamy, M., 1992. Biogas production technology: An Indian perspective. *Final report submitted*

to Department of Non-Conventional Energy Sources, Government of India, New Delhi, Current Science 77 (July): 44-58.

Singh, L., Maurya, M.S., Ramana, K.V., and Alam, S.I. 1995. Production of biogas from night soil at psychrophilic temperature. Bioresource Technology 53 (2) (May): 147-149.

Sun, Y., and Cheng, J.J. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. Bioresource Technology 96 (September): 1599-1606.

Sharma, D.K. 2002. Studies on availability and utilization of onion storage waste in a rural habitat. Doctor's thesis, Centre for Rural Development and Technology, Indian Institute of Technology, Delhi, India.

Sreethawong, T., Chatsiriwatana, S., Rangsunvigit, P., and Chavadej, S. 2010. Hydrogen production from cassava wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor: Effects of operational parameters, COD:N ratio, and organic acid composition. International Journal of Hydrogen Energy, I-II.

Sriroth, K., and Piyachomkwan, K. 2003. Technology of starch. Bangkok :Kasetsart University Press.

Sterling, M. C., Lacey, R. E., Engler, C. R., and Ricke, S. C. 2001. Effects of ammonia nitrogen on H_2 and CH_4 production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. Bioresource Technology 77 (1) (March): 9-18.

Sushil, K. M., Jain, C., and Chhonkar, P. K. 1987. A note on stimulation of biogas production from cattle dung by addition of charcoal. Biological Wastes 20 (3) (August): 209-215.

Taherzadeh, M.J., and Karimi, K. 2007. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. BioResources 2 (August): 472-499.

Tchobanoglous, G., Burton, F.L., and Stensel H.D. 2003. Wastewater engineering: treatment and reuse, International Edition. McGraw-Hill Book Company Limited.

Thai Topioca Development Institute. 2000. Welcome to tapioca [Online]. Available from: http://www.tapiocathai.org/K2.html [2009 , June 29].

The Times. 2008. The power of cow dung can be electric Chris Ayres in Los Angeles [Online]. Available from: http://www.timesonline.co.uk/tol/news/environment/article3492378.ece. [2008, March 6].

Tsao, G.T., and Chiang, L. 1983. Cellulose and hemicellulose technology. The filamentous fungi, Fungal Technology, New York: Edward Arnold.

Ueda, S., Zenin, C.T., Monteiro, D., and Park, Y.K. 1981. Production of ethanol from raw cassava starch by a nonconventional fermentation method. Biotechnology Bioenergy 23 (February): 291-299.

University of Florida, Civil Engineering Laboratory. 2001. Waste Digester Design [Online]. Available from: http://www.ce.ufl.edu/activities/waste/wddstu.html. [2009, December 6].

Vicenta, M., Pacheso, G., Alamis, M.L. A., Anglo, P.G., Tan, B.V., and Silverio, C. M. 1984. A study of some factors affecting biogas production from pineapple peelings. In: Bidin, R., Chong, C.N., and Wang, C.W. (Eds.) Proceeding of the Second ASEAN Workshop on Biogas Technology Applied to the Management and utilization of Food Waste Material. Malaysia. 1984, pp.104-110. Malaysia: Kuala Terengganu.

Webber, M. E., and Amanda, D. C. 2008. Cow power: the energy and emissions benefits of converting manure to biogas. Environmental Research Letters 3 (March): 034002.

Wohlt, J. E., Frobish, R. A., Davis, C. L., Bryant, M. P., and Mackie, R. I. 1990. Thermophilic methane production from dairy cattle waste. Biological Wastes 32 (August): 193 - 207.

Yadvika, S., Sreekrishnan, T.R., Kohli, S., and Rana, V., 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. Bioresource Technology 95 (October): 1-10.

Yoonan, K., and Kongkiattikajorn, J. 2004. A Study of Optimal Conditions for Reducing Sugars Production from Cassava Peels by Diluted Acid and Enzymes. The Kasetsart Journal 38 (5) (August): 29 - 35.

Xie, I., Cheng, J., Zhou, J., Song, W., Liu, J., and Cen, K. 2008. Production of hydrogen and methane from potatoes by two-phase anaerobic fermentation. Bioresource Technology 99 (13) (September): 5942-5946

Zhang, R., and Zhang, Z. 1999. Biogasification of rice straw with an anaerobic-phased solids digester system. Bioresource Technology 68 (3) (June): 235–245.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารกึ่งแข็ง PDA (Potato Dextrose Agar)

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco Laboratories โดยชั่ง PDA 39 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเหลว PDB (Potato Dextrose Broth)

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Hi media โดยชั่ง PDB 24 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารกึ่งแข็ง NA

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Scharlau โดยชั่ง NA 28 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ควา มดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารเหลว NB

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Oxoid โดยชั่ง NB 13 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลายตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

1.1 สารละลาย DNS reagent

น้ำกลั่น	1	ลิตร
3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด	10	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	16	กรัม
โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต	300	กรัม

เมื่อผสมเข้ากันดีแล้ว นำสารละลาย DNS reagent ที่ได้ใส่ในขวดสีชา

2. สารละลายตรวจวัดปริมาณซีโอดี

2.1 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)

โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)	10.2	กรัม
(อบแห้ง 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง)		
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร
กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)	167	มิลลิลิตร
เมอร์คิวรี่ทูซัลเฟต ($HgSO_4$)	33.3	กรัม

เมื่อผสมกันแล้วตั้งทิ้งให้ละลาย และปล่อยให้เย็นจึงเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตร

2.2 สารละลายกรดซัลฟิวริก-ซิลเวอร์ซัลเฟต ($Ag_2SO_4.H_2SO_4$)

กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)	2.5	ลิตร
ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4)	22	กรัม

เติมซิลเวอร์ซัลเฟตลงในกรดซัลฟิวริก แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ ซิลเวอร์ซัลเฟตละลาย

2.3 สารละลายมาตรฐานซีโอดี

โพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลต ($C_8H_5O_4K$)	0.85	กรัม
น้ำกลั่น	800	มิลลิลิตร

เมื่อโพแทสเซียมไ ฮโดรเจนทาเลตละลายหมดแล้ว เจือจางให้เป็น 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตร

3. สารละลายตรวจวัดปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

3.1 สารละลายฟีนอล

ฟีนอล	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

เมื่อผสมเข้ากันดีแล้ว นำสารละลายฟีนอลที่ได้ใส่ในขวดดูแลนท์

4. สารละลายสำหรับปรับสภาพวัตถุดิบ

4.1 สารละลาย acid detergent

เตรียมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล โดยตวงจากกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (98 เปอร์เซ็นต์โดยมวล) ปริมาตร 27.2 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมกรดลงในน้ำกลั่นประมาณ 900 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมตรสุทธิให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

4.2 สารละลาย base detergent

เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล โดยเตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Sinechem Pty Ltd.) มวลโมเลกุล 40 จำนวน 10 กรัม ค่อยๆเติมกรดลงในน้ำกลั่นประมาณ 900 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมตรสุทธิให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

ภาคผนวก ค
วิธีการวัดแอกทิวิตีเอนไซม์

การวัดแอกทิวิตีอะไมเลสดัดแปลงจากวิธีของ Bernfold (1955)

1. สารละลายโซเดียมแอซิติกบัฟเฟอร์ (200 mM, ph 5.5)

โซเดียมแอซิเตตไตไฮเดรด	12	กรัม
กรดแอซิติก	690	ไมโครโมล
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

(1) ละลายโซเดียมแอซิเตตไตไฮเดรด 12 กรัม ในน้ำกลั่น 440 มิลลิลิตร

(2) เจือจางกรดแอซิติก 690 ไมโครโมล ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร

(3) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายให้มีค่า 5.5

2. สารละลายแป้งเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

แป้งจากหัวมันสำปะหลัง	3	กรัม
โซเดียมแอซิติกบัฟเฟอร์	30	มิลลิลิตร

ละลายแป้งจากหั วมันสำปะหลังในสารละลายโซเดียมแอซิติกบัฟเฟอร์โดยการต้ม จนกระทั่งละลายหมด ทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้

3. วิธีการวัด

(1) นำเอนไซม์ที่ต้องการทดสอบปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

(2) เติมสารละลายแป้งเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ข้อ 1.2) ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

(3) นำไปบ่มในอ่างแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(4) นำสารละลาย 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลท เติมสารละลาย DNS reagent (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

(5) นำไปบ่มในอ่างแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(6) ดูดสารละลายในข้อ (5) มาปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลท เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท โดยใช้น้ำกลั่นแทนเอนไซม์เป็นหลอดควบคุม (blank) จากนั้นนำค่าการดู ดกลืนแสงที่ได้ไป

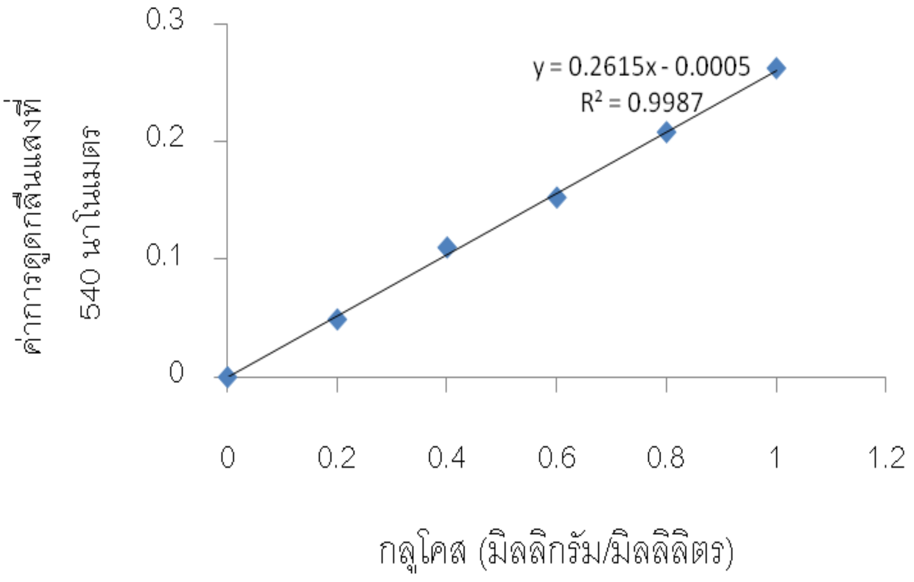
เทียบหาปริมาณกลูโคส จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.2 – 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อนำไปคำนวณหาค่าแอกทิวิตีเอนไซม์

4. กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคสสำหรับวัดแอกทิวิตีของอะไมเลส

เตรียมน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น ดังนี้ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเจือจางจากสารละลายน้ำตาลกลูโคส 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร วิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงตามวิธีข้อ 1.3 โดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆแทนเอนไซม์ เติมสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงไปผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในอ่างแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำตามขั้นตอนในข้อ (6) นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

ตารางแสดง ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานกลูโคส

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Stock Glucose (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	0	100.0
0.2	10.0	40.0
0.4	20.0	30.0
0.6	30.0	20.0
0.8	40.0	10.0
1.0	50.0	50.0



กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

ภาคผนวก ง
กราฟมาตรฐาน

1.ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกรา ฟมาตรฐานของน้ำตาล สำหรับนำไปคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตารางแสดง ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานกลูโคส

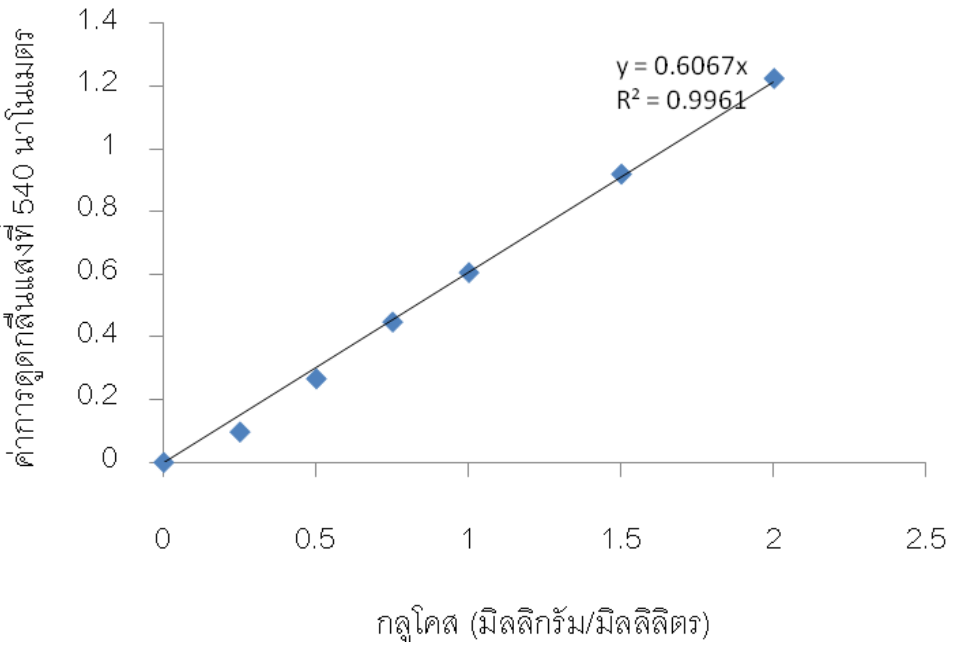
ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Stock Glucose (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	0	100.0
0.25	12.5	87.5
0.50	25.0	75.0
0.75	37.5	62.5
1.00	50.0	50.0
1.50	75.0	25.0
2.00	100.0	0

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสมาใส่ในหลุมของไมโครเพลต 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย DNS 100 ไมโครลิตร

(2) นำไปบ่มในอ่างแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

(3) ปิเปตสารละลายหลังจากการบ่มในข้อ (2) ใส่ลงในหลุมของไมโครเพลตที่เติมน้ำกลั่นไว้ 200 ไมโครลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร

(4) เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับค่าความเข้มข้นของกลูโคส จะได้กราฟมาตรฐานของน้ำตาล



กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

2.ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานซีโอดี สำหรับนำไปคำนวณค่าซีโอดี

ตารางแสดง ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานซีโอดี เพื่อใช้ในการคำนวณค่าซีโอดีของตัวอย่าง

สารละลายมาตรฐาน ซีโอดีที่เตรียมขึ้น	ปริมาตร(มิลลิลิตร) ที่ปิเปตจากสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลต	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)
I	0	5000	Blank
II	100	4900	20
III	250	4750	50
IV	500	4500	100
V	1000	4000	200
VI	2000	3000	400
VII	3000	2000	600
VIII	4500	500	900

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานซีโอดีแต่ละหมายเลขลงในหลอดแก้วทรงสูงมีฝาปิดเทฟลอน

(2) ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด

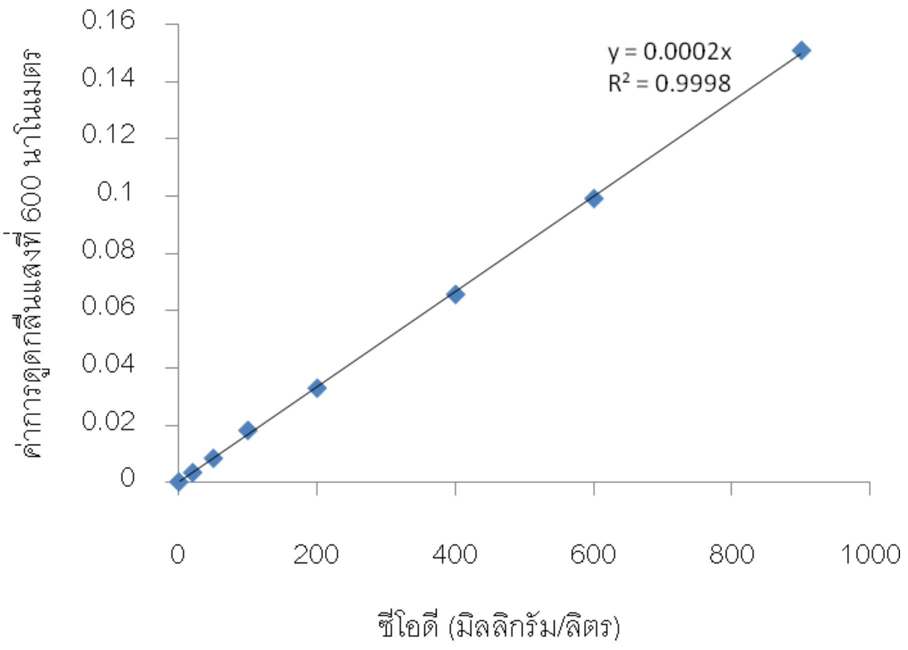
(3) ปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริก-ซิลเวอร์ซัลเฟต จำนวน 7 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด

(4) ปิดฝาจุกแต่ละหลอดและเขย่าให้ผสมเข้าด้วยกัน

(5) นำแต่ละหลอดเข้าตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(6) ทำให้สารละลายเย็นลง แล้วนำแต่ละหลอดไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง ณ ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

(7) เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับค่าซีโอดีของสารละลายมาตรฐานซีโอดีแต่ละหมายเลข จะได้กราฟมาตรฐานซีโอดี



กราฟมาตรฐานของซีโอดี

3.ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาล สำ หรับนำไปคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด

ตารางแสดง ปริมาณสารที่ใช้ในการทำกราฟมาตรฐานกลูโคส

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	กลูโคส (2 กรัมต่อลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	0	50
0.2	5	45
0.4	10	40
0.6	15	35
0.8	20	30
1.0	25	25

(1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสมาใส่ในหลุมของไมโครเพลต 50 ไมโครลิตร

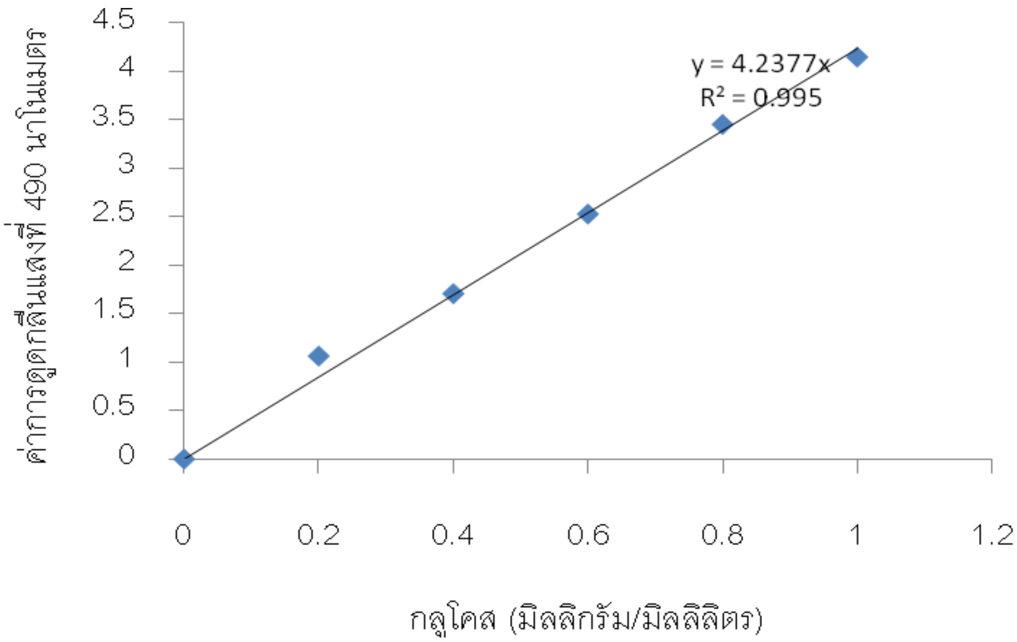
(2) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 150 ไมโครลิตรลงไปทันที

(3) เติมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)ลงไป 30 ไมโครลิตร

(4) นำไปบ่มในอ่างแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

(5) จากนั้นทิ้งให้เย็น ณ อุณหภูมิห้อง (เช็ดก้นไมโครเพลตให้สะอาด) และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 490 นาโนเมตร

(6) เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับค่าความเข้มข้นของกลูโคส จะได้กราฟมาตรฐานของน้ำตาล



กราฟมาตรฐานของปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

4. ปริมาณแก๊สมีเทนที่เกิดขึ้น

ตัวอย่างโครมาโทแกรมของมีเทน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 10 ตุลาคม พ.ศ. 2528 ที่เขตบางรัก จังหวัดกรุงเทพมหานคร ระดับปริญญาตรีสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) จากคณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ .ศ. 2549 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550 โดยงานวิจัยชิ้นนี้ได้มีการนำเสนอผลงานวิจัยบางส่วนแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง การคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังและกระบวนการเตรียมตัวอย่างเบื้องต้นเพื่อการผลิตแก๊สชีวภาพ ในงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยสร้างสรรค์ ศิลปากรวิจัยครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 28-29 มกราคม 2553 ณ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม และหัวข้อเรื่อง ผลของปริมาณมูลโคและยูเรีย ในการผลิตแก๊สชีวภาพร่วมกับมันสำปะหลัง ในโครงการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 11 วันที่ 12 กุมภาพันธุ์ 2553 ณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น นอกจากนี้ได้นำเสนอแบบบรรยายในหัวข้อเรื่อง ANAEROBIC DIGESTER FOR BIOGAS PRODUCTION FROM COW DUNG AND CASSAVA ในงาน Technology and Innovation for Sustainable Development International Conference (TISD2010) ประจำปี 2553 ระหว่างวันที่ 4-6 มีนาคม 2553 โดยได้ตีพิมพ์ในรายงานการประชุมฉบับสมบูรณ์