



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตแก๊สชีวภาพและพัฒนาแบบจำลองโดยระบบยูเอเอสบีจากของเสียอินทรีย์

ร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์

Biogas production and modeling of UASB with microbial immobilization  
of organic waste

นางสาววชิรา ดาวสุด

นางสาวญาณิศา ละอองอุทัย

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

(เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 256109A1080046

สัญญาเลขที่ 220/2561

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตแก๊สชีวภาพและพัฒนาแบบจำลองโดยระบบยูเอเอสบีจากของเสียอินทรีย์  
ร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์

Biogas production and modeling of UASB with microbial immobilization  
of organic waste

นางสาวชिरา ดาวสุด

นางสาวญาณิศา ละอองอุทัย

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 220/2561 รวมทั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่อำนวยความสะดวกและเครื่องมือในการทำวิจัย รวมถึงคณาจารย์และนิสิตของภาควิชาวิศวกรรมเคมีที่ให้คำแนะนำและทำการทดลองทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาววชิรา ดาวสุด

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์  
มหาวิทยาลัยบูรพา

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบถังหมักแบบยูเอเอสซีพร้อมกับการตรึงจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน เพื่อนำผลที่ได้ไปเป็นต้นแบบและข้อมูลจากการทดลองไปประยุกต์ใช้ต่อไป ถังหมักแบบยูเอเอสซีที่ออกแบบมีปริมาตร 4.65 ลิตร ความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางของถังเท่ากับ 35 และ 14.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ภายในถังจะมีแผงกั้นรูปทรงสามเหลี่ยมยื่นออกมาจากผนังเพื่อเปลี่ยนทิศทางของแก๊สที่เกิดขึ้นให้ลอยขึ้นไป GSS (Gas-Solid separator) ที่ทำหน้าที่แยกแก๊สและของเหลวออกจากกัน ส่วนล่างของถังมีลักษณะเป็นกรวยเพื่อป้องกันการเกิดเดดโซน (dead zone) ในการหมักแก๊สชีวภาพด้วยถังหมักแบบยูเอเอสซีที่ออกแบบนั้นจะทำการตรึงจุลินทรีย์ด้วยถ่านกัมมันต์และตะกอนเลนบ่อกึ่งเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น ระยะเวลาในการกักเก็บของเหลว (Hydraulic Retention Time, HRT) 15 วัน โดยปรับอัตราการไหลให้คงที่อยู่ที่ 310 มิลลิลิตรต่อวัน และปรับค่าความเป็นกรดต่างก่อนป้อนเข้าสู่ถังหมักให้มีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 ทำการหมักจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะคงตัว (Steady State) ซึ่งเกิดปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมรวมทั้งสิ้น 163.88 มิลลิลิตร และมีแก๊สมีเทนเป็นองค์ประกอบ 24.74 % จากผลการทดลองพบว่าถังหมักแบบยูเอเอสซีพร้อมกับการตรึงจุลินทรีย์ที่ได้ออกแบบนี้สามารถดำเนินการหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพได้อย่างน่าพอใจ

คำสำคัญ : ระบบยูเอเอสซีพร้อมกับการตรึงจุลินทรีย์, ก๊าซชีวภาพ, ตะกอนเลนบ่อกึ่ง

## Abstract

A design of UASB with microbial immobilization of organic waste for biogas production is presented and used as a prototype to generate data of biogas fermentation. The UASB was designed in 4.65 liters of volume, 35 and 14.50 centimeters in height and diameter, respectively. Inside the tank, there was a triangular barrier protruding from the wall to change the direction of the floating gas to the GSS (Gas-Solid separator) which acted to separate the gas and liquid from each other. The lower part of the tank was designed in a cone shape to prevent dead zones. In the biogas fermentation using the designed UASB fermentation tank, microbial immobilization with activated carbon and shrimp pond sediment were the starter cultures. The hydraulic retention time, HRT and inlet flow rate were set as 15 days and 310 milliliters/day, respectively. The pH of waste water was adjusted before entering into the fermentation tank to 6.5-7.5. The fermentation for 23 days resulted in the total accumulated biogas 163.88 milliliters with 24.64 % of methane. From the results, it was found that the designed UASB with microbial immobilization fermentation tank was able to produce biogas in a satisfactory way.

Keywords: UASB with microbial immobilization system, biogas, shrimp pond sediment

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง .....	จ
สารบัญรูปภาพ.....	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม</b> .....	<b>3</b>
2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นที่ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย.....	3
2.2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง.....	14
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b> .....	<b>18</b>
3.1 การเก็บข้อมูลการทดลอง.....	18
3.2 การออกแบบถังหมักระบบยูเอเอสบี.....	18
3.3 การหมักแก๊สชีวภาพด้วยระบบยูเอเอสบี .....	23
3.4 การวิเคราะห์ผล.....	26
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล</b> .....	<b>28</b>
4.1 ถังหมักระบบยูเอเอสบี.....	28
4.2 การหมักแก๊สชีวภาพ.....	29
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....	<b>34</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	34
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	34
5.3 ผลผลิต.....	34
เอกสารอ้างอิง.....	35
ประวัตินักวิจัย.....	37

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ประโยชน์ของการผลิตแก๊สชีวภาพจากการบำบัดน้ำเสีย.....	8
3.1 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพ.....	18
3.2 สภาพที่ใช้ในการหมักแก๊สชีวภาพ.....	26
4.1 ค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการหมักและผลการทดลอง.....	29
4.2 ปริมาณแก๊สชีวภาพต่อวันและปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมที่ได้จากการทดลอง.....	30
4.3 คุณสมบัติของน้ำเสียในระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์.....	32
4.4 องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพที่ได้จากการหมักในระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์.....	33

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ระบบยูเอเอสพี .....	10
2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของจุลินทรีย์ .....	15
3.1 องค์ประกอบภายในถังหมักแบบยูเอเอสพี .....	19
3.2 การทำหน้าที่กั้นตะกอนไม่ให้ไหลปนไปกับน้ำขาออกของเขื่อน.....	20
3.3 ความแตกต่างของทิศทางการไหลของน้ำที่ป้อนเข้าเมื่อกันถังมีลักษณะต่างกัน.....	20
3.4 แบบถังหมักระบบยูเอเอสพี .....	21
3.5 แบบฝาถังระบบยูเอเอสพี.....	22
3.6 ถังหมักระบบยูเอเอสพีแสดงแบบสามมิติ.....	23
3.7 รูปแบบชุดการทดลองการหมักแก๊สชีวภาพ.....	25
4.1 ถังหมักระบบยูเอเอสพี .....	28
4.2 บ่อน้ำเสียที่ทำการเก็บน้ำตัวอย่าง .....	29
4.3 ปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นต่อวัน.....	31
4.4 ปริมาณแก๊สชีวภาพสะสม.....	31
4.5 ค่า COD ของน้ำเสียระบบยูเอเอสพีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์.....	32



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันมีความต้องการใช้เชื้อเพลิงและพลังงานเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากการเพิ่มจำนวนประชากรที่มากขึ้นเรื่อยๆ แต่ในขณะเดียวกันเชื้อเพลิงและพลังงานกลับมีปริมาณค่อนข้างจำกัด ดังนั้นจึงส่งผลให้เกิดการหาพลังงานทดแทนมาใช้ทดแทน เทคโนโลยีการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic Digestion) เริ่มมีบทบาทมากขึ้นในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งอาจมาจากขยะมูลฝอย โรงงานอุตสาหกรรมทางการเกษตร หรือฟาร์มสัตว์เลี้ยง เนื่องจากการบำบัดด้วยวิธีนี้จะให้ผลพลอยได้เป็นแก๊สชีวภาพ (Biogas) โดยองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพจะมีแก๊สมีเทนประมาณ 65-70% แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 28-38% และแก๊สอื่นๆ เช่น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ และแก๊สไนโตรเจน เป็นต้น ประมาณ 2-3% ซึ่งแก๊สมีเทนเป็นแก๊สที่ให้ค่าพลังงานความร้อนสูง ดังนั้นแก๊สชีวภาพจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นพลังงานทดแทนได้ อีกทั้งการจัดการของเสียและน้ำเสียด้วยเทคโนโลยีแก๊สชีวภาพยังสามารถช่วยลดปัญหามลพิษทางน้ำด้วยการบำบัดและลดสารปนเปื้อนของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ซึ่งเป็นการช่วยลดปัญหากลิ่นเหม็นและแมลง รวมถึงทำลายแหล่งเพาะพันธุ์และป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรค รวมถึงช่วยลดอัตราการเกิดภาวะเรือนกระจกจากการลดปริมาณการปล่อยแก๊สมีเทนสู่บรรยากาศได้อีกด้วย และเนื่องจากในภาคตะวันออกมีของเสียอินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพ เช่น ของเสียจากการเกษตร และโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งระบบที่ใช้ในการผลิตแก๊สชีวภาพในปัจจุบันมีหลายระบบ เช่น บ่อหมัก (Anaerobic Pond) ถังหมัก (High Rate Anaerobic Contact) ถังกรองไร้ออกซิเจน (Anaerobic Filter หรือ Anaerobic Fixed Film) และระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB)) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพแล้วพบว่าระบบ UASB มีข้อดีเหนือกว่าระบบอื่น โดยระบบยูเอเอสบีเป็นระบบผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำเสียที่ใช้หลักการป้อนน้ำเสียเข้าสู่ด้านล่างของถังปฏิกรณ์ ซึ่งน้ำเสียจะไหลผ่านชั้นตะกอนจุลินทรีย์ โดยไม่มีตัวกลางให้จุลินทรีย์เกาะ จากนั้นน้ำเสียถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน แล้วทำให้เกิดแก๊สชีวภาพ ระบบนี้เป็นระบบที่มีความน่าสนใจเนื่องจากเป็นเทคโนโลยีชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนที่ได้ถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพสูงและมีค่าใช้จ่ายในการเดินระบบต่ำ สามารถรับภาระสารอินทรีย์ได้สูงกว่าระบบไม่ใช้อากาศแบบอื่นๆ จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งการผลิตแก๊สชีวภาพและบำบัดน้ำเสียพร้อมกัน รวมถึงไม่ทำให้เกิดปัญหาเรื่องการอุดตันเนื่องจากตะกอนรวมกันเป็นเม็ด แต่เนื่องจากข้อจำกัดของระบบนี้ คือ การสร้างเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ยากซึ่งมีผลต่อการผลิตแก๊สชีวภาพ ดังนั้นเทคโนโลยีหนึ่งที่น่าสนใจคือการประยุกต์การตรึงจุลินทรีย์ด้วยตัวกลางที่มีรูพรุนจำนวนมากร่วมกับระบบ UASB เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแก๊สชีวภาพ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ออกแบบและประยุกต์ระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์สำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพจากของเสียอินทรีย์

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ของเสียอินทรีย์ที่ใช้ในระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ด้วยถ่านกัมมันต์เป็นของเสียจากอุตสาหกรรมทางภาคตะวันออกซึ่งได้มาจากกระบวนการผลิตสับปะรดกระป๋อง
2. ออกแบบและผลิตถังปฏิกรณ์ระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ด้วยถ่านกัมมันต์ ขนาด 5 ลิตร ที่มีการควบคุมอัตราการไหลและเก็บข้อมูลของกระบวนการด้วยระบบอัตโนมัติที่ติดตั้งเซ็นเซอร์
3. จุลินทรีย์หัวเชื้อมาจากตะกอนเลนป่อกุ้งทางภาคตะวันออก
4. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของของเสียขาเข้าและขาออก
5. วิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แก๊สชีวภาพที่ผลิตได้จากน้ำเสียจากการผลิตในอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นพลังงานทดแทนได้
2. ถังปฏิกรณ์แบบยูเอเอสปีสำหรับหมักแก๊สชีวภาพจากน้ำเสียในการผลิตของอุตสาหกรรมร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์
3. ข้อมูลที่ได้จากโครงการวิจัยสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการผลิตพลังงานทางเลือกให้กับชุมชนหรือโรงงานอุตสาหกรรมในการที่จะนำเอาของเสียทางชีวภาพหรือของเสียอินทรีย์มาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับของเสียอินทรีย์และกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงกุ้งรวมถึงอุตสาหกรรมการเลี้ยงส่งออกใหญ่ๆ ที่ผลิตกุ้งจำนวนมาก สามารถประยุกต์งานวิจัยดังกล่าวเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืนของโรงงานได้

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นที่ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย

##### 1. ความเป็นมาของการผลิตแก๊สชีวภาพ

นักวิทยาศาสตร์ค้นพบแก๊สที่เกิดจากการย่อยสลายมูลฟุ้งของสารอินทรีย์ครั้งแรกในศตวรรษที่ 17 โดย Robert Boyle และ Stephen Hale ทั้งสองคนได้กล่าวถึงการกวนตะกอนในลำธารและทะเลสาบ ซึ่งทำให้มีแก๊สที่สามารถติดไฟได้ลอยขึ้นมา ในปี 1859 Sir Humphrey Davy ได้กล่าวไว้ว่าในแก๊สที่เกิดจากขี้วัวนั้นมีแก๊สมีเทนอยู่ด้วย จึงมีการสร้างถังหมักแก๊สในสภาวะไร้อากาศขึ้นเป็นครั้งแรกในอินเดีย ต่อมาในปี 1985 ในอังกฤษได้มีการคิดค้นนวัตกรรมใหม่ขึ้นมาโดยใช้ถังปฏิกรณ์ผลิตแก๊สแล้วนำแก๊สไปจุดไฟส่องสว่างตามถนน พอถึงปี 1907 ก็ได้มีการออกสิทธิบัตรสำหรับถังหมักแก๊สชีวภาพในเยอรมนี ในปี 1930 การหมักแก๊สในสภาวะไร้อากาศก็เริ่มเป็นที่รู้จักในแวดวงนักวิชาการกันมากขึ้น ทำให้มีการวิจัยค้นคว้าเกี่ยวกับการหมักแก๊สในสภาวะไร้อากาศมากขึ้น และสามารถค้นพบจุลินทรีย์ที่เป็นตัวทำให้เกิดปฏิกิริยาและสภาวะแวดล้อมที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เหล่านั้น

ปัจจุบันในชนบทของประเทศกำลังพัฒนามีการใช้แก๊สชีวภาพจากขยะทางการเกษตรหรือเศษอาหารจากครัวเรือน ซึ่งเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับพลังงานราคาถูก ไม่ว่าจะเพื่อแสงสว่างหรือการทำอาหาร ในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา ทั้งรัฐบาลของอินเดียและจีนต่างก็ได้ให้การสนับสนุนการผลิตแก๊สชีวภาพระดับครัวเรือน ซึ่งนอกจากจะลดค่ายังชีพแล้ว ยังเป็นการลดภาระของโครงข่ายพลังงานของชาติด้วย สำหรับประเทศพัฒนาแล้ว การนำเทคโนโลยีการผลิตแก๊สชีวภาพไปใช้นั้นจะช่วยลดการปล่อยแก๊สเรือนกระจกสู่สิ่งแวดล้อมอีกด้วย ซึ่งในทุกวันนี้โลกกำลังเผชิญปัญหาสิ่งแวดล้อมและพลังงาน แก๊สชีวภาพจึงยิ่งมีความสำคัญมากขึ้น ทำให้รัฐบาลของหลายๆ ประเทศรวมถึงประเทศไทยต่างก็ให้การส่งเสริมการผลิตแก๊สชีวภาพ และสนับสนุนผู้ที่ทำการผลิตแก๊สชีวภาพในรูปแบบต่างๆ [1]

##### 2. กระบวนการเกิดแก๊สชีวภาพ

แก๊สชีวภาพ คือ ก๊าซที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Anaerobic digestion) โดยทั่วไปแก๊สชีวภาพจะประกอบด้วย ก๊าซมีเทน ( $CH_4$ ) ประมาณร้อยละ 50-70 ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) ประมาณร้อยละ 30-40 ส่วนที่เหลือจะเป็นก๊าซชนิดอื่นๆ เช่น แอมโมเนีย ( $NH_3$ ) ไฮโดรเจน ( $H_2$ ) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ ) แต่จะมีอยู่ในปริมาณที่น้อย ก๊าซมีเทนเป็นก๊าซที่ให้ค่าพลังงานความร้อนสูง โดยสามารถให้พลังงานความร้อนได้ประมาณ 9,000 กิโลแคลอรีต่อลูกบาศก์เมตร หรือ 21,000 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร ดังนั้นจึงสามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เช่น เผาเพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง ใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ หรือใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้า เป็นต้น [2]

แก๊สชีวภาพ (Biogas) เป็นก๊าซที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนด้วยแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน (Methane producing bacteria) โดยแบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่ ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กลง จากนั้นแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทนจะใช้อินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กเป็นสารอาหารและย่อยสลายให้เกิดเป็นก๊าซมีเทน ( $CH_4$ ) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) โดยมีก๊าซอื่นๆ เกิดขึ้นในปริมาณเล็กน้อย เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ ) และก๊าซแอมโมเนีย ( $NH_3$ ) เป็นต้น กระบวนการเกิดชีวภาพต้องระวังไม่ให้อากาศเข้าไปสัมผัสกับแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนลดลง แก๊สชีวภาพสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ เมื่อมีแบคทีเรีย สารอินทรีย์ และอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมในสภาวะไร้อากาศ ในธรรมชาตินั้นแก๊สชีวภาพมักจะเกิดขึ้นบริเวณที่มีการหมัก เช่น ก้นบ่อ ก้นแม่น้ำ ก้นทะเลสาบ หนองน้ำ บึง และนาข้าวที่มีน้ำท่วมขัง เป็นต้น [3]

## 2.1 กระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน คือ

### ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

เป็นการกระบวนการที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์แบคทีเรีย โดยสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่จะถูกแบคทีเรียย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ให้กลายเป็นสารประกอบเชิงเดี่ยว (Monomer) สำหรับใช้ในกระบวนการสร้างกรด แบคทีเรียที่หน้าที่ในการย่อยสลาย คือ แบคทีเรียจำพวกแฟคคัลเททีฟแอนโรบิคแบคทีเรีย (Facultative anaerobic bacteria) โดยกลุ่มของแบคทีเรียในขั้นตอนนี้จะแบ่งได้ตามชนิดของเอนไซม์ที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ คือ Cellulytic, Lipolytic และ Proeolytic [2]

### ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis)

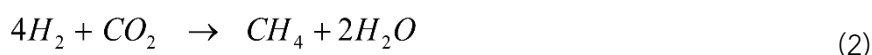
เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรีย การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะใช้สารที่ได้จากการย่อยในขั้นตอนแรกเป็นสารตั้งต้นสำหรับแบคทีเรียประเภทสร้างกรด โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนสารอาหารดังกล่าวให้เป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) เป็นต้น โดยกรดที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะมีสัดส่วนของกรดซิกสูงที่สุด นอกจากนี้ยังมีการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นในขั้นตอนนี้ด้วย [2]

### ขั้นตอนที่ 3 กระบวนการสร้างกรดอะซิติก (Acetogenesis)

เป็นขั้นตอนที่แบคทีเรียสร้างสารอะซิติกจำพวกอะซิโตน (Acetone) จะเปลี่ยนสารจำพวก กรดไขมันระเหยง่าย ให้เป็นสารอะซิเตต, ฟอ์เมต, ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสารอาหารตั้งต้นของแบคทีเรียขั้นต่อไป [4]

#### ขั้นตอนที่ 4 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

กรดอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็ก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ( $CO_2$ ) และก๊าซไฮโดรเจน ( $H_2$ ) ที่เกิดจากขั้นตอนการสร้างกรดจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methane forming bacteria) การเกิดก๊าซมีเทนเกิดได้ 2 แบบ แบบแรก คือ เกิดจากการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ไปเป็นก๊าซมีเทน และอีกส่วนหนึ่งจะเกิดจากการรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน โดยแบคทีเรียประเภท Hydrogen-Utilizing Methane Bacteria ดังสมการที่ 1 และ 2 [2]



#### 2.2 แบคทีเรียในกระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ต้องอาศัยการทำงานของแบคทีเรียหลายชนิดรวมกัน ซึ่งแบคทีเรียที่มีบทบาทต่อกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มผลิตก๊าซมีเทน (Methane producing bacteria)

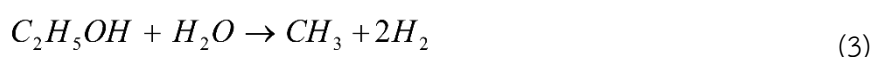
##### 1. แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid forming bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Facultative anaerobic bacteria ซึ่งสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน โดยรับพลังงานจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดไขมัน กรดอินทรีย์ระเหยง่าย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซแอมโมเนีย เป็นต้น แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดจะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1) อะซิโตเจนนิคแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากสามารถใช้สารอินทรีย์เป็นอาหารได้หลายชนิดและมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง แบคทีเรียกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเดี่ยวที่ละลายน้ำได้ เช่น กรดอะซิติก กรดไพรูวอิก กรดบิวทีริก เป็นต้น

2) อะซิโตเจนนิคแบคทีเรีย แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นพวกที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ได้จากการย่อยสลายของแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนนิคแบคทีเรีย แล้วเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

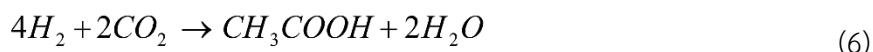
**Hydrogen producing acetogenic bacteria** แบคทีเรียในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ได้จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนไฮโดรไลซิส ซึ่งได้แก่ แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ ได้เป็นกรดอะซิติก ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 3, 4 และ 5



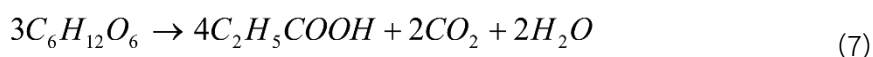


**Homoacetogenic bacteria** แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1) Autotroph ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้สารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนในการเจริญเติบโต และได้ผลสุดท้ายเป็นกรดอะซิเตต ดังสมการที่ 6



2) Heterotroph ได้แก่ แบคทีเรียที่ใช้สารประกอบที่มีคาร์บอนหลายอะตอมในการเจริญเติบโต ผลผลิตที่ได้มีทั้งอะซิเตต และโพรพิอเนต ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการผลิตก๊าซมีเทน ดังสมการที่ 7



2. แบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน (Methane producing bacteria)

แบคทีเรียที่สร้างผลิตมีเทนจะเจริญเติบโตได้ช้า และยังความไวต่อการเปลี่ยนแปลงมาก โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตมีเทนแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ

1) Hydrogenotrophic methanogen ซึ่งเปลี่ยนก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นก๊าซมีเทน ดังสมการที่ 8



แบคทีเรียกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญคือจะใช้ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการสร้างกรด โดยช่วยคงสภาวะให้มีปริมาณก๊าซไฮโดรเจนต่ำลง ซึ่งมีผลต่อการเกิดอะซิเตตอย่างต่อเนื่อง

2) Acetotrophic methanogens จะเปลี่ยนอะซิเตตไปเป็นก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 9



ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นประมาณ 2 ใน 3 เกิดจากการเปลี่ยนอะซิเตตไปเป็นก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียกลุ่ม Acetotrophic methanogens และที่เหลือเป็นผลของปฏิกิริยาระหว่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียกลุ่ม Hydrogenotrophic methanogens [3]

### 3. ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณการเกิดแก๊สชีวภาพ

1. ค่าความเป็นกรดต่าง (Potential of Hydrogen ion, pH) ช่วงค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอยู่ในช่วง 6.5–7.5 ในช่วงแรกของการหมักแบคทีเรียที่สร้างกรด

(Acidogenic Bacteria) จะสร้างกรดเป็นจำนวนมากทำให้ค่าความเป็นกรดต่าง ถ้าค่าความเป็นกรดต่างมีค่าต่ำกว่า 5 จะทำให้มีอันตรายต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน กล่าวคือแบคทีเรียตาย ส่งผลให้กระบวนการย่อยหยุดลง เนื่องจากแบคทีเรียสร้างมีเทนอ่อนไหวต่อความเป็นกรดต่างมาก

2. อุณหภูมิในการเดินระบบ (Temperature) แบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่ต่ำมากหรือสูงมากได้ ถ้าหากอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า  $10^{\circ}\text{C}$  แบคทีเรียจะหยุดทำงาน โดยอุณหภูมิในการเดินระบบแบ่งเป็นสองระดับตามสปีชีส์ของแบคทีเรียสร้างมีเทน ได้แก่

- กลุ่มแบคทีเรียเมโซฟิลิก (Mesophilic) ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิประมาณ  $20^{\circ}\text{C}$ – $45^{\circ}\text{C}$  แต่ที่เหมาะสมที่สุดคือ ช่วง  $37^{\circ}\text{C}$ – $41^{\circ}\text{C}$
- กลุ่มแบคทีเรียเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic) ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ ประมาณ  $50^{\circ}\text{C}$ – $52^{\circ}\text{C}$  แต่ก็สามารถทำงานในอุณหภูมิที่สูงขึ้นไปถึง  $70^{\circ}\text{C}$

การย่อยสลายสารอินทรีย์และการผลิตแก๊สชีวภาพจะเกิดขึ้นในอัตราสูงมากในช่วงอุณหภูมิ ปานกลาง และอุณหภูมิสูง โดยกลุ่มแบคทีเรียเมโซฟิลิกนั้นมีจำนวนสปีชีส์มากกว่ากลุ่มแบคทีเรียเทอร์โมฟิลิก นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าเทอร์โมฟิลิกอีกด้วย ทำให้ระบบหมักแก๊สชีวภาพที่ใช้กลุ่มแบคทีเรียเมโซฟิลิกมีความเสถียรกว่า แต่ขณะเดียวกันอุณหภูมิที่สูงกว่าในระบบที่ใช้เทอร์โมฟิลิกก็เป็นการช่วยเร่งปฏิกิริยาส่งผลให้อัตราการผลิตแก๊สสูงกว่า ข้อเสียอีกข้อของกลุ่มแบคทีเรียเทอร์โมฟิลิก คือ การที่ต้องใช้พลังงานจากภายนอกมาเพิ่มความร้อนให้ระบบ ทำให้อาจได้พลังงานสุทธิที่ต่ำกว่า

3. ระยะเวลาการกักเก็บของเหลวในถังหมัก (Retention time) คือ ระยะเวลาที่กักเก็บของเหลวไว้ในระบบจนกระทั่งหลุดออกจากระบบ ระยะเวลาที่กักเก็บของเหลวมีความสำคัญเนื่องจากถ้าเวลาที่กักเก็บยาวนานเกินไปจะทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการก่อสร้าง เพราะต้องใช้ถังหมักขนาดใหญ่ ในทางตรงข้ามหากใช้เวลาที่กักเก็บสั้นเกินไป แบคทีเรียจะเติบโตไม่ทันและเกิดการหลุดออกจากระบบจำนวนมาก ซึ่งส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบลดลง ดังนั้นการควบคุมระยะเวลาที่กักเก็บของเหลวที่เหมาะสมจะช่วยให้แบคทีเรียที่อยู่ในระบบมีปริมาณคงที่ หรือมีปริมาณเพิ่มขึ้น ระยะเวลาที่กักเก็บของเหลวเป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อมภายในระบบและลักษณะของของเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบ รวมไปถึงชนิดของแบคทีเรียในระบบ

4. สารอาหาร (Nutrient) สารอาหารสำคัญที่แบคทีเรียต้องการเพื่อการเจริญเติบโต ได้แก่ คาร์บอนและไฮโดรเจน นอกจากนี้ยังมี ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม และแคลเซียม อีกทั้งธาตุอื่นๆ ที่จำเป็นในปริมาณน้อยมากๆ เช่น เหล็ก, แมงกานีส และสังกะสี เป็นต้น แต่ในน้ำเสียโดยทั่วไปจะมีธาตุอาหารเหล่านี้ในระดับที่เพียงพออยู่แล้ว ดังนั้น ในการหมักจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใดๆ ลงไปเพิ่มเติม

#### 4. ประโยชน์ของการผลิตแก๊สชีวภาพจากการบำบัดน้ำเสีย

แก๊สชีวภาพที่ผลิตได้จากการบำบัดน้ำเสียนั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมายในหลากหลายด้าน ทั้งในด้านพลังงาน ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านเกษตรกรรม และด้านอุตสาหกรรม ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ประโยชน์ของการผลิตแก๊สชีวภาพจากการบำบัดน้ำเสีย

ประโยชน์ของการผลิตแก๊สชีวภาพจากการบำบัดน้ำเสีย	
1. ด้านพลังงาน	<input type="checkbox"/> สามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการหุงต้ม <input type="checkbox"/> สามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์ <input type="checkbox"/> สามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้เป็นเชื้อเพลิงให้ความร้อนในภาคอุตสาหกรรม <input type="checkbox"/> สามารถนำแก๊สชีวภาพไปใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการผลิตไฟฟ้า
2. ด้านสิ่งแวดล้อม	<input type="checkbox"/> ช่วยลดปัญหามลพิษทางน้ำด้วยการบำบัดและลดสารปนเปื้อนของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย <input type="checkbox"/> ช่วยลดปัญหากลิ่นเหม็นและแมลง <input type="checkbox"/> ทำลายแหล่งเพาะพันธุ์และป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรค <input type="checkbox"/> ลดปริมาณการปล่อยแก๊สมีเทนสู่บรรยากาศ ซึ่งส่งผลต่อการเกิดภาวะเรือนกระจก
3. ด้านเกษตรกรรม	<input type="checkbox"/> น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยน้ำ ส่วนกากตะกอนที่ผ่านการย่อยสลาย สามารถนำไปทำปุ๋ยอัดเม็ด เพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน
4. ด้านอุตสาหกรรม	<input type="checkbox"/> สามารถนำน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วกลับไปใช้ในกระบวนการผลิต

#### 5. การบำบัดน้ำเสีย

น้ำเสีย คือ น้ำที่มีการปนเปื้อนของสิ่งสกปรก หรือสิ่งปฏิกูลที่ไม่พึงประสงค์ ทำให้คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงไปจนไม่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ โดยแหล่งที่มาของน้ำเสียแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ น้ำเสียจากชุมชน น้ำเสียจากเกษตรกรรม และน้ำเสียจากอุตสาหกรรม ซึ่งปัญหาน้ำเสียส่งผลกระทบต่อมากมายในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านสิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดมลพิษทางน้ำ ส่งผลให้เกิดกลิ่นเหม็นและการแพร่ระบาดของเชื้อโรคต่าง ซึ่งทำให้ประชาชนที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง ได้รับความเดือดร้อน ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียจึงเป็นกรรมวิธีที่สำคัญเข้ามาช่วยในการลดหรือกำจัดสิ่งสกปรกที่ปนเปื้อน เพื่อเป็นการช่วยลดมลภาวะทางน้ำและยังสามารถนำน้ำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก

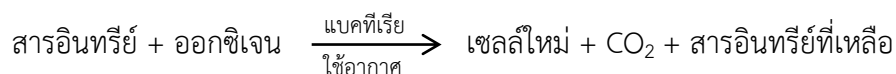


การบำบัดทางชีวภาพ (Biological Treatment) เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพหรือใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสียโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารคาร์บอนอินทรีย์ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส โดยความสกปรกเหล่านี้จะถูกใช้เป็นอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ในถังเลี้ยงเชื้อเพื่อการเจริญเติบโต ทำให้น้ำเสียมีค่าความสกปรกลดลง กระบวนการบำบัดทางชีวภาพสามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามชนิดของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่ การบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ หรือใช้ออกซิเจน (Aerobic Wastewater Treatment, Aerobic digestion) และการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศหรือไร้ออกซิเจน (Anaerobic Wastewater Treatment, Anaerobic Digestion)

### 5.1 ประเภทของการบำบัดน้ำเสีย

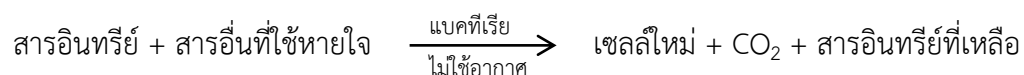
การบำบัดน้ำเสียและสลัดจ์อินทรีย์มี 2 วิธี คือ แบบใช้อากาศ และแบบไม่ใช้อากาศ การบำบัดแบบใช้อากาศอาศัยแบคทีเรียที่หายใจด้วยออกซิเจนในอากาศ ส่วนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศอาศัยแบคทีเรียที่หายใจด้วยสารอย่างอื่นที่ไม่ใช้อากาศ

1. การบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ การบำบัดน้ำเสีย หมายถึง การบำบัดน้ำเสียที่อาศัยการทำงานของแบคทีเรียที่หายใจด้วยออกซิเจน (ในอากาศ) เป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์



การย่อยสลายแบบนี้จะใช้เวลาสั้นในการย่อยสลาย แต่จะเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง เนื่องจากต้องอาศัยเครื่องจักรกลในการเติมอากาศให้กับน้ำเสีย ทำให้สิ้นเปลืองพลังงานและค่าใช้จ่าย ระบบนี้จะมีการสร้างเซลล์ของจุลินทรีย์จำนวนมากจึงต้องกำจัดตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินออกอีกด้วย นอกจากนี้ยังไม่สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกับน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงมากๆ เนื่องจากมีข้อจำกัดในการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอกับระบบ

2. การบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ หมายถึง การบำบัดน้ำเสียที่อาศัยการทำงานของแบคทีเรียที่หายใจด้วยสารอื่นที่ไม่ใช้อากาศ

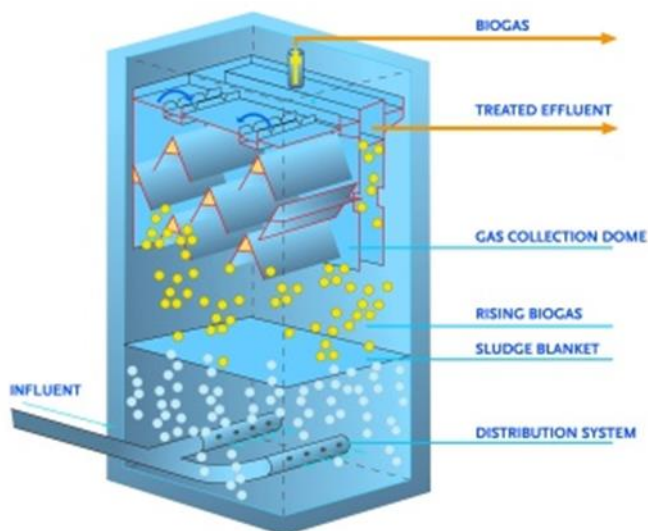


โดยทั่วไป มักเข้าใจกันว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ หมายถึง ระบบไม่ใช้อากาศในการผลิตแก๊สมีเทน ซึ่งเป็นระบบที่อาศัยการทำงานของแบคทีเรียที่หายใจด้วย CO<sub>2</sub> การบำบัดน้ำเสียจึงเขียนแทนได้ด้วยสมการ ดังนี้



การบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศหรือไร้ออกซิเจน เป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีสารประกอบอินทรีย์สูง เช่น น้ำเสียจากชุมชน, น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และน้ำเสียจากกระบวนการเลี้ยงสัตว์ เป็นต้น สารอินทรีย์ในน้ำเสียประมาณ 80-90% จะถูกย่อยสลายไปเป็นแก๊สมีเทน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งก็คือแก๊สชีวภาพนั่นเอง ระบบแบบนี้ใช้พลังงานในปริมาณน้อยสำหรับการย่อยสลายสารอินทรีย์ เนื่องจากไม่ต้องมีการเติมออกซิเจนให้กับระบบทำให้ช่วยลดค่าใช้จ่าย อีกทั้งยังเกิดตะกอนส่วนเกินในปริมาณน้อยมากอีกด้วย ข้อจำกัดของระบบนี้ คือ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายมีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้าจึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้ระยะเวลาในการกักเก็บของเหลว (HRT) นานขึ้น

## 6. ระบบยูเอเอสบี UASB (Up flow Anaerobic Sludge Blanket)



รูปที่ 2.1 ระบบยูเอเอสบี [5]

ระบบยูเอเอสบีเป็นระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศชนิดหนึ่งแสดงดังรูปที่ 2.1 หลักการในการเดินระบบ จะทำการเลี้ยงตะกอนแบคทีเรียให้สะสมอยู่ในถังปฏิกิริยา และมีปริมาณตะกอนที่หลุดออกจากระบบน้อยโดยไม่มีตัวกลางเพื่อให้ตะกอนเกาะติด ทั้งนี้ตะกอนแบคทีเรียที่อยู่ภายในระบบจะรวมตัวกันในรูปของเม็ดตะกอน (Granule) ที่มีน้ำหนักมากตกตะกอนได้ดี เกิดเป็นลักษณะชั้นตะกอนในบริเวณด้านล่างของถัง ทั้งนี้ขนาดของเม็ดตะกอนจะขึ้นอยู่กับลักษณะของน้ำเสียที่จ่ายเข้าสู่ระบบ

กลไกการทำงานและลักษณะของตะกอนที่เกิดขึ้นในระบบ เนื่องจากมีตะกอนบางส่วนที่มีขนาดเล็ก และตกตะกอนไม่ได้ปะปนอยู่ในระบบ การที่จะรักษาตะกอนส่วนนี้ไว้ต้องติดตั้งส่วนตกตะกอนและอุปกรณ์ที่ใช้ในการแยกแยกน้ำเสีย ตะกอนแบคทีเรียและแก๊สชีวภาพออกจากกัน (Gas – Solid Separator , GSS) ไว้

ตอนบนของถังหมัก เพื่อป้องกันไม่ให้ตะกอนหลุดออกจากถัง และเป็นการเพิ่มเวลาเก็บกักตะกอนในถัง ปฏิกริยาให้นานขึ้น จากคุณสมบัติและลักษณะการทำงานของระบบยูเอเอสบี ทำให้สามารถแบ่งส่วนประกอบภายในถังยูเอเอสบีได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เกิดปฏิกริยาการย่อยสลายพร้อมด้วยระบบกระจายน้ำเสียในบริเวณด้านล่างของถัง และส่วนตกตะกอนและแยกก๊าซบริเวณด้านบน โดยมีกลไกและลักษณะการทำงานของส่วนต่างๆมีรายละเอียดดังนี้

ก. ส่วนที่เกิดปฏิกริยาจะอยู่ทางด้านล่างของถัง ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ การไหลของน้ำเสียเป็นการไหลจากด้านล่างขึ้นด้านบน การกระจายน้ำเข้าถังจะเป็นไปอย่างสม่ำเสมอทั้งหน้าตัดของถัง แบคทีเรียในถังยูเอเอสบีจะควบคุมให้มีความหนาแน่นและสะสมเป็นชั้นตะกอนในบริเวณด้านล่างของถัง เมื่อเริ่มเดินระบบแบคทีเรียในชั้นตะกอนที่อยู่กันอย่างหนาแน่นจะเกิดการรวมกันเป็นเม็ด (Granule) โดยเม็ดตะกอนที่มีความหนาแน่นสูงจะจมตัวอยู่ด้านล่าง มีการจัดเรียงตัวจากขนาดใหญ่ขึ้นไปหาเล็ก สะสมเป็นชั้นตะกอนอยู่ในบริเวณด้านล่างของถัง ส่วนกลุ่มที่มีความหนาแน่นและมีความเร็วในการจมตัวต่ำจะฟุ้งกระจายขึ้นเป็นชั้นตะกอนแขวนลอย

ข. ส่วนตกตะกอนและแยกก๊าซ เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ควบคุมแบคทีเรียที่หลุดออกไปกับน้ำ ทั้งและทำหน้าที่รวบรวมก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป จึงมีการติดตั้งอุปกรณ์แยกก๊าซ (GSS) น้ำเสียและตะกอนแบคทีเรียไว้ด้านบนของถัง ซึ่งเรียกว่าเป็นอุปกรณ์ Gas –Solid separator หรือ GSS โดยการออกแบบขึ้นอยู่กับลักษณะและรูปร่างของถังปฏิกริยาโดยใช้หลักการออกแบบเดียวกัน คือ

- แยกน้ำกับก๊าซ โดยอาศัยหลักการที่ว่ากระแสสามารถไหลเลี้ยวไปมาได้ ในขณะที่ก๊าซมีการลอยตัวจากด้านล่างขึ้นสูงด้านบนเป็นเส้นตรงเท่านั้น ยกเว้นมีสิ่งกีดขวางหรือแผ่นปะทะใดๆมาเปลี่ยนทิศทางการลอยตัวขึ้น เมื่อผ่านพ้นสิ่งกีดขวาง จึงลอยตัวเป็นเส้นตรงดังเดิม จึงมีการออกแบบและติดตั้งแผ่นปะทะเพื่อขวางทิศทางการไหล ทำให้น้ำและก๊าซมาปะทะ แล้วเบี่ยงเบนการไหลของน้ำและก๊าซออกจากกัน

- แยกตะกอนออกจากน้ำ โดยทำให้เกิดการตกตะกอนของตะกอนแบคทีเรียที่ไหลขึ้นมากับน้ำ การตกตะกอนจะเกิดในส่วนบนสุดของถัง ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีก๊าซ มีความปั่นป่วนของกระแสน้ำต่ำทำให้สามารถแยกน้ำและตะกอนได้โดยง่าย ดังนั้น GSS จึงต้องมีพื้นที่ส่วนที่เป็นน้ำนิ่งเพียงพอที่ตะกอนจะตกลงมายังถังปฏิกริยาได้

ลักษณะกลไกการทำงานของ GSS การไหลของเม็ดตะกอนน้ำเสียและแก๊สชีวภาพ โดยขั้นตอนในการทำงานและการแยกอนุภาคต่างๆออกจากกัน สามารถอธิบายเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

- 1) ตะกอนแบคทีเรียแก๊สชีวภาพ และอนุภาคของน้ำเกาะและไหลขึ้นมาพร้อมกัน
- 2) เมื่อกระทบกับแผ่น GSS ทำให้เกิดการแยกออกจากกัน
- 3) อนุภาคน้ำจะไหลไปตามแผ่น GSS ออกไปยังทางน้ำออกด้านบน
- 4) ตะกอนแบคทีเรียขนาดใหญ่ที่ไม่มีก๊าซสะสมอยู่จะตกลงกลับลงมา
- 5) แก๊สชีวภาพซึ่งไม่สามารถไหลย้อนกลับได้เช่นเดียวกับน้ำจะไหลขึ้นไปสะสมยังส่วนรวบรวมก๊าซ

ด้านบน

6) กรณีที่กลุ่มของตะกอนแบคทีเรีย แก๊สชีวภาพ และอนุภาคของน้ำ ไม่ไปชนกับแผ่น GSS จะเกิดการแยกตัวเมื่อถึงผิวน้ำ

7) สำหรับตะกอนที่มีขนาดเบาที่สามารถไหลตามกระแสได้ออกมาได้จะเกิดการตกตะกอนในส่วนบนของแผ่น GSS เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีความเร็วการไหลของน้ำต่ำและน้ำค่อนข้างนิ่ง

### ข้อดีและข้อจำกัดของระบบยูเอเอสบีในการบำบัดน้ำเสีย มีดังนี้

- มีความต้องการพลังงานต่ำ เนื่องจากไม่มีการเติมอากาศ
- ไม่ต้องใช้สารตัวกลางสำหรับให้แบคทีเรียเกาะ ทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างลง
- เกิดตะกอนแบคทีเรียส่วนเกินน้อย เนื่องจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าระบบบำบัดแบบใช้อากาศ เช่น ระบบตะกอนเร่ง เป็นต้น
- สามารถรับภาระสารอินทรีย์ได้สูง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำเสีย ซึ่งปกติจะอยู่ในช่วง 2 – 10 กก.ซีโอดี/ม<sup>3</sup>.-วัน
- ผลผลิตที่ได้คือแก๊สชีวภาพซึ่งมีก๊าซมีเทนเป็นองค์ประกอบหลัก สามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ โดยสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงโดยตรงหรือใช้ทดแทนน้ำมันและก๊าซเชื้อเพลิงได้
- น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วมีของแข็งแขวนลอยต่ำ
- ใช้สารเคมีในการปรับพีเอชน้อยขึ้นอยู่กับความเป็นด่างและพีเอชของน้ำเข้า
- ไม่มีปัญหาเรื่องการอุดตันของถังปฏิกรณ์ เนื่องจากแบคทีเรียจะรวมกันเป็นเม็ดและเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระภายในถังปฏิกรณ์
- สามารถหยุดระบบได้ทันทีที่ต้องการและพร้อมจะทำงานต่อได้อย่างมีประสิทธิภาพดังเดิมในเวลาประมาณ 2 สัปดาห์

### ข้อจำกัด

- ต้องการอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการกวน
- ต้องเลี้ยงแบคทีเรียให้จับตัวเป็นเม็ด มิฉะนั้นประสิทธิภาพของระบบจะต่ำหรือสามารถรับอัตราการบำบัดทุกสารอินทรีย์น้อย
- ต้องพยายามรักษาตะกอนของแบคทีเรียในระบบให้มีปริมาณเหมาะสม และมีการหลุดออกจากระบบต่ำ
- ต้องใช้เวลาในการเริ่มต้นเดินระบบ (Start – Up) ค่อนข้างนาน โดยทั่วไปจะอยู่ที่ประมาณ 3 – 6 เดือน ในกรณีที่ไม่มีตะกอนเม็ดเป็นตะกอนหัวเชื้อ (Seed)
- แบคทีเรียโดยเฉพาะพวกผลิตมีเทน มีความสามารถเจริญเติบโตได้ดี ในช่วงสภาพเหมาะสมที่แคบ เช่น pH 6.8 – 7.2 จึงจำเป็นที่จะต้องมีการควบคุมพีเอชที่ดีและมีประสิทธิภาพ
- น้ำที่ผ่านการบำบัดยังไม่ได้มาตรฐานน้ำทิ้งต้องการระบบบำบัดขั้นสุดท้ายก่อนทิ้งลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ

- น้ำเสียที่เข้าระบบควรมีของแข็งแขวนลอยและไขมันต่ำกว่า 500 มก./ล.

### สภาพทางชีววิทยาของการย่อยสลายในถังยูเอเอสบี

การรักษาตะกอนแบคทีเรียไม่ให้ออกจากถังปฏิกรณ์ และควบคุมในสภาพทางจุลชีวศาสตร์ตลอดจน ปริมาณสารอาหารที่เหมาะสม ช่วยให้แบคทีเรียที่อยู่ในระบบรวมตัวกันจนอยู่ในรูปของเม็ดตะกอน ซึ่งทำให้ ตะกอนในถังปฏิกรณ์ตกตะกอนได้ดีขึ้น โดยตะกอนที่เกาะยึดกันเป็นเม็ดอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลางตั้งแต่เล็กกว่า 1 มม. จนถึง 5 มม. ซึ่งเม็ดตะกอนที่มีประสิทธิภาพจะมีค่า Methanogenic Activity (MA) ตั้งแต่ 0.35 กก.ซีไอดี/กก.VSS – วัน ขึ้น ไปค่า MA เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของตะกอน แบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็นก๊าซมีเทน ลักษณะเม็ดตะกอนมีหลายชนิดดังต่อไปนี้

- Sorcina Granule เป็นชนิดที่มีแบคทีเรียรูปร่างกลมเกาะกันเป็นกลุ่ม โดยส่วนใหญ่เม็ดตะกอนชนิดนี้ สร้างขึ้นมาจากน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกมากกว่า 1,000 มก./ล. ซึ่ง เม็ดตะกอนจะมีขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง < 0.5 มม.) ถูกชะล้างออกจากถังปฏิกรณ์ได้ง่าย รวมไปถึงมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำ ดังนั้นเพื่อควบคุมประสิทธิภาพในการทำงานของระบบ ต้องใช้ความเร็วไหลขึ้นของน้ำที่เหมาะสมเพื่อกำจัด ตะกอนชนิดนี้ให้หลุดออกจากระบบ โดยปกติจะใช้ความเร็วในการไหลขึ้นของน้ำไม่เกิน 1.0 ม./ชม.

- Spinky Granule ซึ่งมีความยาวมากกว่า 1 มม. มีความหนาแน่นน้อยกว่า 0.5 มม.ประกอบด้วยแคลเซียม คาร์บอเนต (CaCO<sub>3</sub>) มากกว่า 60% และมักพบในระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตแป้งข้าวโพด

- Filamentous มีรูปร่างเป็นแท่งต่อกันเป็นสาย ประกอบด้วย Methanothrix ชนิดเป็นเส้น มักเกิด ขึ้นมาจากน้ำเสียที่มีแต่กรดไขมันระเหยง่าย

- Rod มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมประกอบด้วย Methanothrix ชนิดที่เป็นเส้นสั้นรวมกันประมาณ 5 เซลล์ มักพบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันและโรงงานน้ำตาล [5,6]

### ลักษณะของน้ำเสียและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อระบบ UASB

สำหรับน้ำเสียที่จะบำบัดด้วยระบบ UASB (รวมถึงระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศอื่นๆ) ควร หลีกเลี่ยงน้ำเสียที่มีคุณสมบัติต่อไปนี้

1. มีแอมโมเนียเข้มข้นสูง (> 1,000 mg NH<sub>4</sub>-N/L) เพราะจะยับยั้งการเกิด Granule และถ้าเข้มข้น สูง ถึง 2,000 – 3,000 mg NH<sub>4</sub>-N/L จะยับยั้งปฏิกรณ์ในขั้นที่ก่อให้เกิดก๊าซมีเทน (Methanogenesis)

2. มีโซเดียมเข้มข้นสูง (> 5 – 10 g/L) จะยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียพวก Acetate Utilizing Methanogen

3. มีซัลเฟตเข้มข้นสูง จะทำให้มีแบคทีเรียประเภทที่ใช้ซัลเฟตเจริญขึ้นมาก ซึ่งแบคทีเรียประเภทนี้จะ ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H<sub>2</sub>S) และหากมีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เข้มข้นมากจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ที่ผลิตก๊าซมีเทน

4. มีแคลเซียมเข้มข้นมาก ถ้าแคลเซียมมีความเข้มข้นระหว่าง 80 – 200 mg/L จะช่วยให้เกิด Granule ได้ดี แต่หากมีความเข้มข้นสูงถึง 800 – 1,000 mg/L จะลดการทำงานของ Granular Sludge สำหรับช่วง pH

ที่เหมาะสมต่อการเดินระบบ UASB คือ 6.5 – 7.5 เนื่องจากเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทน และยังทำให้มีความสามารถในการควบคุมการเปลี่ยนแปลง pH (Buffer Capacity) ซึ่งจะช่วยป้องกันการช็อกเนื่องจากสภาพเป็นกรด ซึ่งมีสาเหตุมาจากการที่ระบบรับของเสียมากเกินไป [6-9]

## 2.2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันการผลิตแก๊สชีวภาพในระบบอุตสาหกรรมนั้นทำกันหลายรูปแบบขึ้นกับชนิดและสถานะของเสียอินทรีย์ที่ถูกปล่อยออกมาซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในสถานะของเหลวที่ถูกผลิตออกมาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหากต้องการกำจัดของเสียและผลิตแก๊สชีวภาพในกระบวนการเดียวกันจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่อุตสาหกรรมสนใจ และยังเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์กับโรงงานอีกด้วย ระบบหนึ่งที่เป็นที่นิยมในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์และผลิตแก๊สชีวภาพได้ในกระบวนการเดียวกัน คือ ระบบยูเอเอสบี ที่สามารถรันระบบแบบต่อเนื่องได้และผลิตแก๊สชีวภาพได้ต่อเนื่องเช่นเดียวกัน [7] แต่ยังมีปัญหาคือแก๊สที่เกิดขึ้นได้ดั้นนั้นมาจากการเกิดก้อนจุลินทรีย์ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ประกอบไปด้วย aerobic bacteria อยู่ภายนอกก้อน และภายในเป็นจุลินทรีย์กลุ่ม anaerobic bacteria และ archaea [10] ซึ่งเกิดขึ้นได้ยาก โดยจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทนนั้นเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในก้อนจุลินทรีย์ดังกล่าว จากการที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่ชอบออกซิเจนการที่จะหาสภาวะหรือสารตัวกลางที่ให้จุลินทรีย์ยึดเกาะเพื่อหลบหลีกการสัมผัสกับออกซิเจนจึงน่าจะเป็นแนวทางที่ตัวอย่างหนึ่งที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับระบบยูเอเอสบีนี้

การตรึงจุลินทรีย์ใช้กันอย่างแพร่หลายในการผลิตสารในระดับอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มปริมาณของผลิตภัณฑ์ เช่น การผลิตเอทานอล [11] และการผลิตกรดอะซิติก [12] ข้อดีอีกอย่างของการตรึงเอนไซม์ คือสามารถลดการยับยั้งเซลล์ด้วยผลิตภัณฑ์ที่ผลิตออกมา ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่สูงขึ้นนั่นเอง

ในการเพิ่มปริมาณแก๊สมีเทนได้มีงานวิจัยหลายงานวิจัยพบว่าการตรึงจุลินทรีย์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมีเทนได้ ตัวอย่าง เช่น molecular sieve, zeolite และ activated carbon [13, 14] แต่ในการประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์กับระบบยูเอเอสบีนั้นยังค่อนข้างมีงานวิจัยมากนัก ซึ่งคาดว่าหากงานวิจัยนี้สำเร็จน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมีเทนต่อไป เพื่อลดปัญหาการปล่อยของเสียสู่สิ่งแวดล้อมและการขาดแคลนพลังงานในอนาคต

### การจำแนกจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ หรือ จุลชีพ (Microorganism) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าสามารถพบจุลินทรีย์ได้ในทุกสภาวะแวดล้อม แม้กระทั่งในสภาวะที่มีความรุนแรง เช่น ใต้มหาสมุทรที่มีแรงดันของน้ำสูงๆ ในน้ำพุร้อนบริเวณภูเขาไฟใต้ทะเลลึก ในน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิเย็นจัด และในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เป็นต้น เนื่องจากจุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมนั้นๆได้

จุลินทรีย์บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายพืช บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายสัตว์ บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายพืชและสัตว์รวมกัน จึงทำให้เกิดความยุ่งยากในการจัดหมวดหมู่ จึงได้มีผู้เสนออาณาจักรซึ่งประกอบไปด้วยสิ่งมีชีวิตที่ไม่อาจจัดเป็นพืช หรือสัตว์นั้นรวมเข้าด้วยกันไว้ เป็นอาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista) โดย

นักสัตววิทยาชาวเยอรมันชื่อ Ernest Heinrich Haeckel เรียกสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรนี้ว่า โปรติส (Protist) คือ สิ่งมีชีวิตเซลล์เดี่ยวที่ประกอบไปด้วยแบคทีเรีย รา สาหร่าย และโปรโตซัว โดยไม่รวมถึงไวรัส เนื่องจากไวรัส ไม่ใช่เซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยพื้นฐานของชีวิต

อาณาจักรโปรติสตา (Protista ) แบ่งออกเป็น 3 พวก คือ

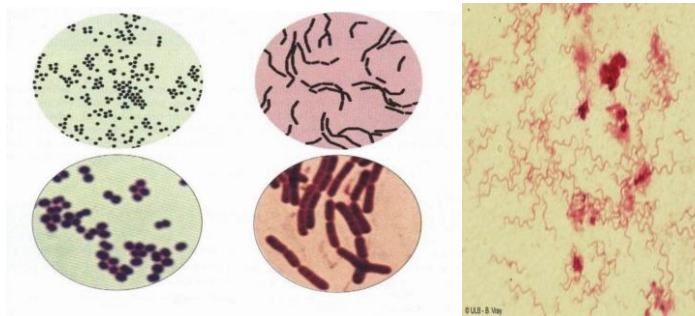
1. ยูคาริโอต (Eukaryote) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นสูง มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส รวมทั้งไมโทคอนเดรีย เอนโดพลาสมิก เรติคิวลัม กอนไจโบดี้ และคลอโรพลาสต์ ตัวอย่างเช่น โปรโตซัว รา สาหร่ายอื่น ๆ (ยกเว้นสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว)

2. ยูแบคทีเรีย (Eubacteria) ได้แก่ พวกแบคทีเรียต่างๆ และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) ซึ่งมีโครงสร้างไม่สลับซับซ้อน

3. อาร์คีแบคทีเรีย (Archaeobacteria) ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มพวก Halophile และ Thermophiles ซึ่งมีองค์ประกอบของผนังเซลล์ อาร์เอ็นเอ โปรตีน และไขมันต่างจากกลุ่มอื่นๆ [15]

**ลักษณะที่ใช้เป็นหลักในการจำแนกกลุ่มของจุลินทรีย์**

1. **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristics)** โดยดูจากโครงสร้าง ขนาด รูปร่างของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ การศึกษาต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายประมาณ 1,000 เท่า เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละเซลล์มีขนาดเป็นหน่วยไมโครเมตร ทำให้สามารถเห็นรูปร่างได้ เช่น แท่ง ทรงกลม หรือเกลียว มีการจัดเรียงตัวแบบใด เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.2 รวมทั้งสามารถศึกษาโดยการตรวจสอบชนิด (Identify) แบคทีเรียได้ เช่น สร้างแคปซูล โครงสร้างของเอนโดสปอร์ และดูชนิดของแฟลกเจลลา เป็นต้น



รูปร่างเป็นแท่ง    รูปร่างเป็นเกลียว    รูปร่างทรงกลม  
รูปที่ 2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยากายนอกของจุลินทรีย์

2. **องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ (Chemical composition)** เซลล์ของจุลินทรีย์ประกอบด้วยสารอินทรีย์แตกต่างกันหลายชนิด ซึ่งปัจจุบันมีเทคนิคใหม่ๆ ที่มาสามารถแยกโครงสร้างต่างๆ ของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบจากส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน ศึกษาสารพันธุกรรมและสารที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์ [16] ราและสาหร่ายก็มีองค์ประกอบที่แตกต่างจากของแบคทีเรีย หรือความแตกต่างของไวรัสแต่ละชนิดอยู่ที่ชนิดของกรดนิวคลีอิกว่าเป็นอาร์เอ็นเอ (RNA) หรือ ดีเอ็นเอ (DNA)

3. **ลักษณะของการเลี้ยงเชื้อ (Cultural characteristics)** เซลล์หนึ่งเซลล์ของจุลินทรีย์จะเจริญรวมเป็นกลุ่มก้อนเรียกว่า โคลนีย์ (colony) จนสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ทำให้สามารถศึกษาจากลักษณะของโคลนีย์ เช่น ความมัน ความด้าน สี ชุ่ม ทึบ ทำให้รังควันเป็นเม็ดละเอียดหรือหยาบ ขอบเขตการเจริญกระจายออกหรือเป็นจุดเล็กๆ มีลักษณะขอบเรียบหรือขรุขระ เป็นเมือกหรือแห้งหรือเป็นเกล็ด เป็นต้น [17] จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการสารอาหารแตกต่างกัน บางชนิดต้องการสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล ฟิริมิติน วิตามิน โคเอนไซม์ เป็นต้น บางชนิดต้องเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแต่สารอนินทรีย์เท่านั้น นอกจากอาหารแล้วจุลินทรีย์ยังต้องการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต บางชนิดเจริญเติบโตในสภาวะที่อุณหภูมิสูง บางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส และบางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส ก๊าซก็ยังมีผลจำเป็นกับจุลินทรีย์บางชนิดที่ต้องใช้ออกซิเจนเป็นแหล่งพลังงาน จุลินทรีย์บางชนิดไม่ต้องการแสงในการเจริญเติบโต

4. **ลักษณะทางเมตาบอลิซึม (Metabolism characteristics)** จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีกระบวนการดำรงชีวิตที่ต่างกัน ซึ่งปฏิกิริยาเคมีที่เรียกว่า เมตาบอลิซึม ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เช่น จุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์แสงได้โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO<sub>2</sub>) เป็นวัตถุดิบ (Photoautotrophs) บางชนิดไม่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน แต่ใช้กระบวนการออกซิโดซีสสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์สารแทน [18] เมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ยังแตกต่างกันที่กระบวนการของการสังเคราะห์ห้องประกอบของเซลล์

5. **ลักษณะของแอนติเจน (Antigenic characteristics)** การศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของแอนติเจน - แอนติบอดี โดยทำการวิเคราะห์จากองค์ประกอบของเซลล์เป็นแอนติเจนเมื่อเข้าไปในร่างกายของสัตว์ทดลองจะกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีที่เป็นซีรัมไปจับกับแอนติเจนนั้น ซึ่งปฏิกิริยานี้มีความจำเพาะเจาะจงสูง ดังนั้นแอนติบอดีที่สร้างขึ้น จึงใช้เป็นตัวช่วยในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้

6. **ความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity)** การมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในร่างกาย เมื่อได้รับสารอาหารจากร่างกายจึงเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้น โดยผู้ที่ให้จุลินทรีย์อยู่อาศัยเสียประโยชน์แล้วเจ็บป่วย เรียกว่า มีการติดเชื้อ (infection) เกิดขึ้น การติดเชื้อมีสาเหตุจากจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา โปรโตซัว เป็นต้น

7. **ลักษณะทางนิเวศวิทยา (Ecological characteristics)** จุลินทรีย์สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ซึ่งแหล่งที่พบหรือที่อยู่อาศัยมีความสำคัญในการบ่งบอกลักษณะของจุลินทรีย์นั้นๆ ได้ เช่น จุลินทรีย์ที่อยู่ในดินที่มีหญ้าปกคลุมจะแตกต่างกับจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินทราย [19] หรือจุลินทรีย์ที่อยู่ในช่องปากจะแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ และจุลินทรีย์บางชนิดสามารถอาศัยอยู่ในบางบริเวณเท่านั้น

8. **ลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic characteristics)** สารพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอ 2 สาย มีลักษณะคงที่ ดังนั้นจึงเป็นวิธีการจำแนกที่สมบูรณ์ที่สุด โดยเฉพาะเมื่อมีข้อมูลพื้นฐานของมูลที่เทียบเคียงไว้แล้ว ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์โดยศึกษาจาก องค์ประกอบของเบสบนดีเอ็นเอ (DNA base composition) การวิเคราะห์ปริมาณของกรดนิวคลีอิกโดยการหาปริมาณเบสกวานินและไซโตซีนในเซลล์ [18]



ในปัจจุบันมีวิธีการจำแนกชนิดจุลินทรีย์โดยการหาลำดับ (sequence) ของนิวคลีโอไทด์บนดีเอ็นเอ ลำดับของนิวคลีโอไทด์เบสนี้จะจำเพาะกับชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นหลักที่สำคัญที่สุดในการจำแนกหมวดหมู่จุลินทรีย์ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนานำเอาเทคนิคที่เรียกว่า เมตาจีโนมิกส์ (Metagenomics) มาใช้ในการจำแนก

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเก็บข้อมูลการทดลอง

ในการหมักแก๊สชีวภาพโดยการหมักด้วยระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์จากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรม จะทำการเก็บข้อมูลจากกระบวนการหมักดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักแก๊สชีวภาพ

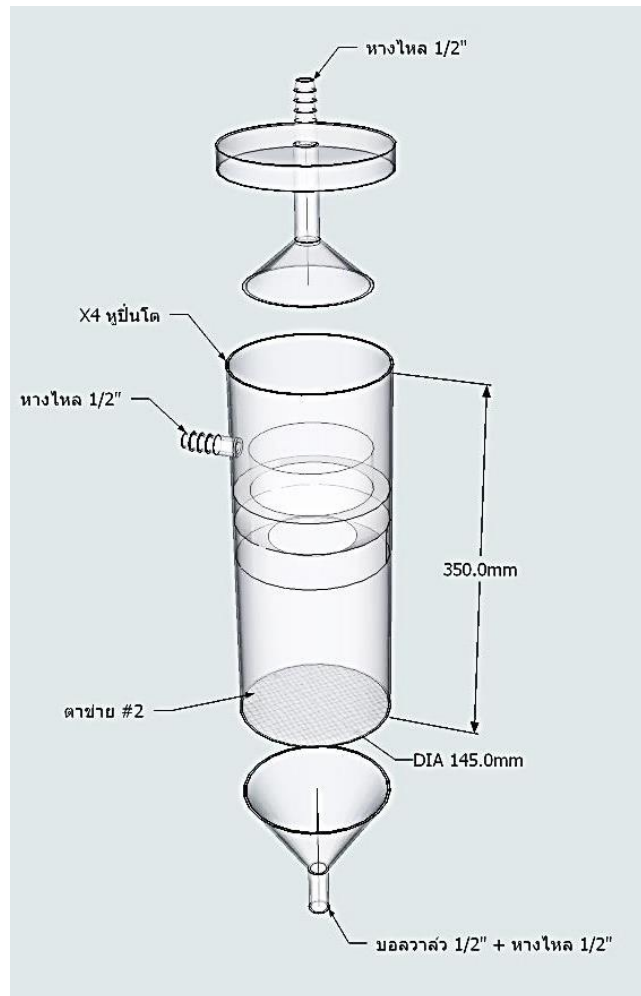
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	- ปริมาณสารตั้งต้น - อัตราการป้อนน้ำเสีย
<b>ตัวแปรตาม</b>	- ค่าความเป็นกรดต่างภายในถังหมัก - อุณหภูมิภายในถังหมัก - ปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการหมัก
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	- อุณหภูมิห้อง - ค่าความเป็นกรดต่างก่อนเข้าถังหมักอยู่ในช่วง 6.5-7.5
<b>ตัวแปรวัด</b>	- อุณหภูมิภายในถังหมัก - ค่าความเป็นกรดต่างภายในถังหมัก - ปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการหมัก

#### 3.2 การออกแบบถังหมักแบบยูเอเอสปี

ถังหมักที่ออกแบบในการวิจัยนี้จะปรับปรุงมาจากถังหมักแบบกะ เป็นถังหมักที่ทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิมหรือสแตนเลส 316L ลักษณะเป็นทรงกระบอกรูปกระสวย ก้นถังเป็นรูปกรวยและสามารถเปิดส่วนบนของถังออกเพื่อใส่สารตรึงเซลล์ได้ โดยชุดทดลองมีขนาดประมาณ 5 ลิตร และท่อต่างๆ ทำด้วยสายยางที่ทนต่อการกัดกร่อน โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความสูงของถัง 14.50 และ 35 เซนติเมตร ตามลำดับ

##### 3.2.1 การออกแบบส่วนต่างๆ ของถังหมักแบบยูเอเอสปี

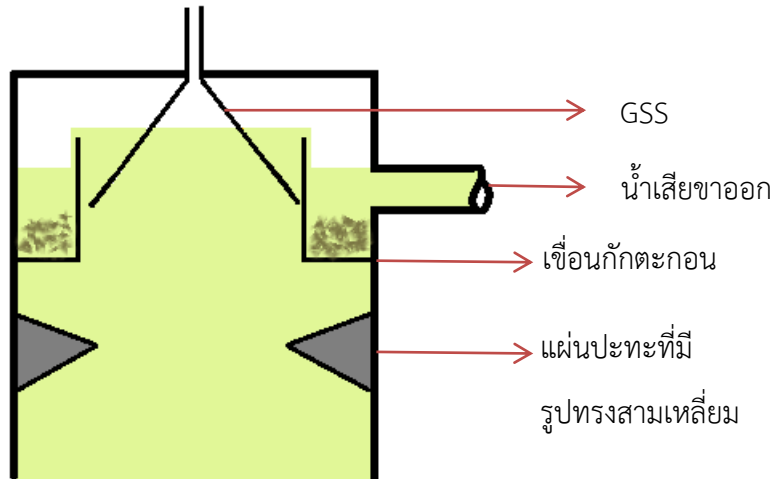
Gas-Solid Separator (GSS) อุปกรณ์ที่ทำหน้าที่แยกแก๊สชีวภาพออกจากของผสมระหว่างแก๊สชีวภาพ น้ำ และเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ออกแบบให้ติดกับฝาถังเพื่อป้องกันการถอดล้าง โดยให้ส่วนบนของ GSS เป็นฝาถังที่สามารถเปิดปิดได้ด้วยหูปีนโตเพื่อช่วยให้ปิดได้แน่นมากขึ้น โดย GSS ที่ทำหน้าที่แยกแก๊สขึ้นไปยังภาชนะบรรจุนั้นมีลักษณะคล้ายกรวยที่ทำมุม 40° ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 องค์ประกอบภายในถังหมักแบบยูเอเอสซี

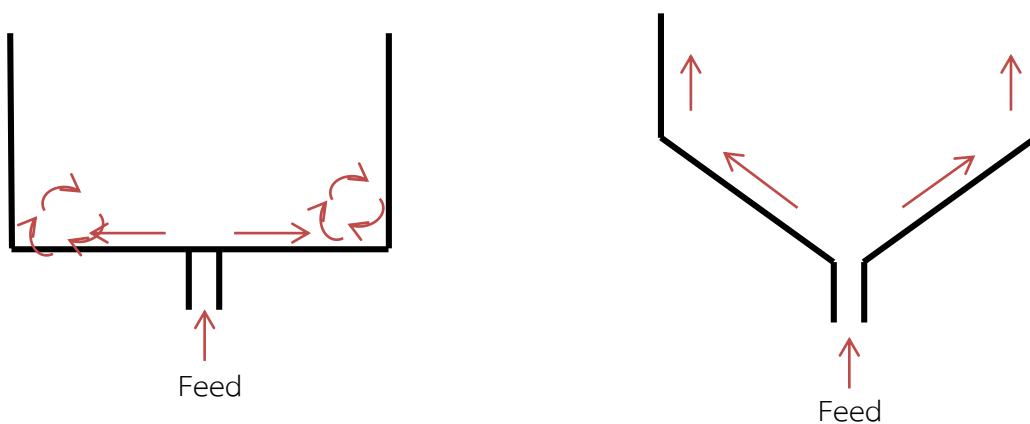
จากรูปที่ 3.1 เพื่อให้แก๊สลอยขึ้นสู่ GSS จึงได้ออกแบบให้มีแผ่นปะทะที่มีรูปทรงสามเหลี่ยมยื่นออกมาจากผนังด้านในของถัง โดยอาศัยหลักการที่น้ำสามารถไหลเลี้ยวไปมาได้ ในขณะที่แก๊สมีการลอยตัวจากด้านล่างขึ้นสู่ด้านบนเป็นเส้นตรงเท่านั้น ยกเว้นมีสิ่งกีดขวางหรือแผ่นปะทะใดๆ มาเปลี่ยนทิศทางการลอยตัวขึ้น หลังจากผ่านพื้นสิ่งกีดขวางนั้นแล้วก็จะลอยตัวเป็นเส้นตรงดังเดิม จึงออกแบบและติดตั้งแผ่นปะทะที่มีลักษณะทรงสามเหลี่ยมยื่นออกมาเพื่อวางทิศทางการไหล ทำให้น้ำและแก๊สมาปะทะแล้วเบี่ยงเบนการไหลของน้ำและแก๊สออกจากกัน หากปิดฝาเข้ากับตัวถัง ตำแหน่งของ GSS จะอยู่ระหว่างเขื่อนน้ำล้นกับผนังสามเหลี่ยมพอดี และติดตั้งตะแกรงไว้เพื่อช่วยในการกั้นตะกอนให้ลอยตัวอยู่เป็นชั้นสัดจ้ไม่ให้จมลงสู่ก้นถัง

จากรูปที่ 3.2 จะเห็นว่ามีส่วนที่เป็นเขื่อนกั้นตะกอนก่อนที่น้ำจะออกจากถังหมักแบบยูเอเอสซีเพื่อไม่ให้ตะกอนไหลออกไปกับน้ำ



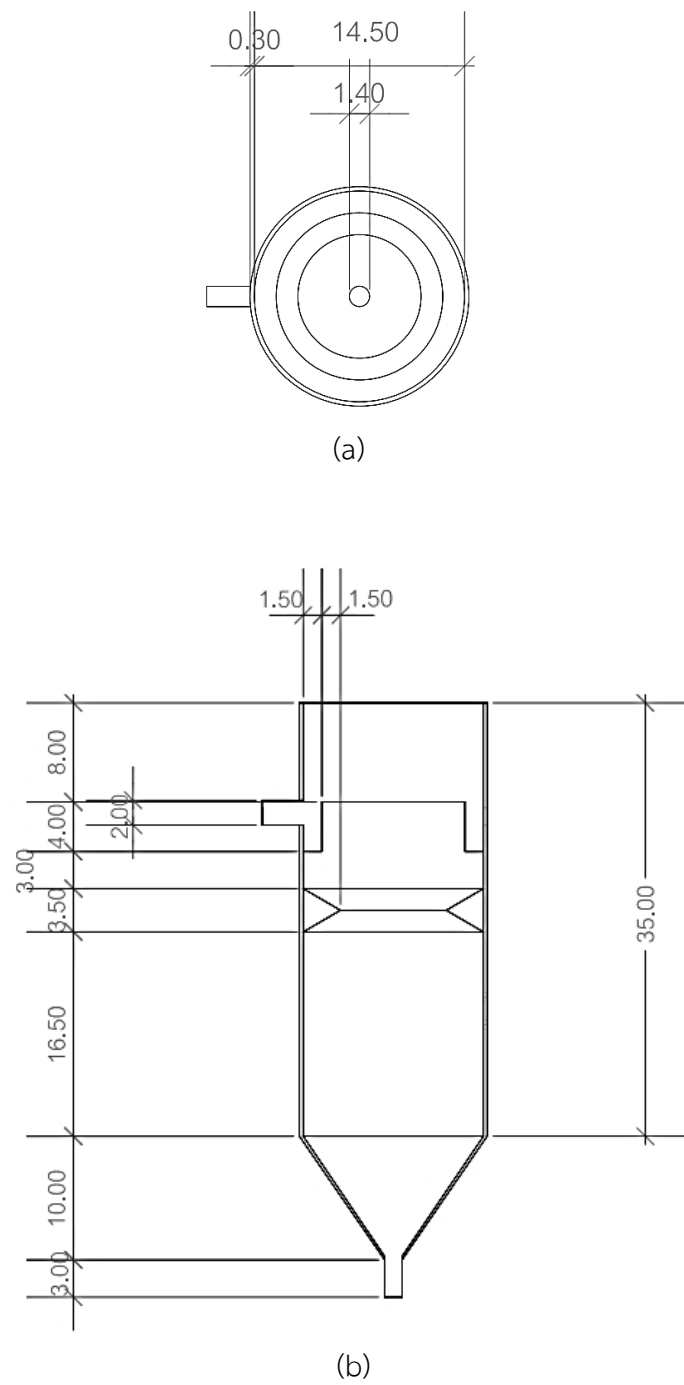
รูปที่ 3.2 การทำหน้าที่กั้นตะกอนไม่ให้ไหลปนไปกับน้ำขาออกของเชื้อน

โดยทั่วไป กังถังยูเอเอสบีจะมีลักษณะแบนราบ จึงทำให้เกิดปัญหาเดดโซน (Dead Zone) จึงออกแบบกัณฑ์ให้มีลักษณะเป็นกรวยสามเหลี่ยม ซึ่งนอกเหนือจากจะเป็นการป้องกันการเกิดเดดโซนแล้วยังเป็นการช่วยให้การไหลเป็นไปได้ง่ายขึ้นอีกด้วย ดังแสดงในรูปที่ 3.3

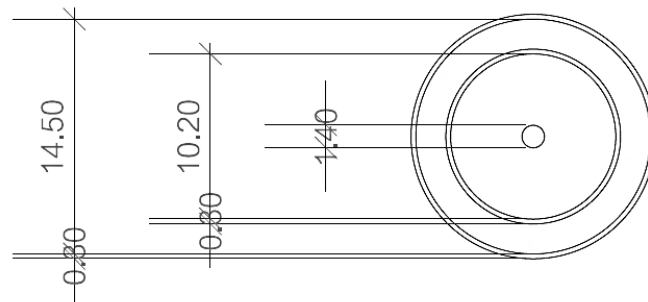


รูปที่ 3.3 ความแตกต่างของทิศทางการไหลของน้ำที่ป้อนเข้าเมื่อกังถังมีลักษณะต่างกัน

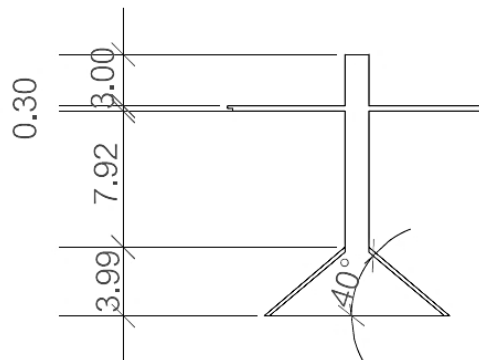
จากการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของถังหมักแก๊สชีวภาพแบบระบบยูเอเอสบี เพื่อนำมาออกแบบและสร้างถังหมักยูเอเอสบีในขนาดทดลอง (Lab scale) โดยถังมีขนาด 5 ลิตร สามารถบรรจุน้ำเสียที่ใช้ในการบำบัดภายในได้ 4.65 ลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงของถัง รวมถึงสัดส่วนต่างๆ ดังรูปที่ 3.4 และออกแบบให้กรวยที่ทำหน้าที่แยกแก๊สออกจากน้ำเสีย (Gas- solid separator) ที่อยู่ติดกับฝาถังมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูงของฝาถัง รวมถึงสัดส่วนต่างๆ ดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.4 แบบถังหมักระบบยูเอเอสบี (a) มุมมองจากด้านบน (b) ภาพตัดด้านหน้า (หน่วยเซนติเมตร)



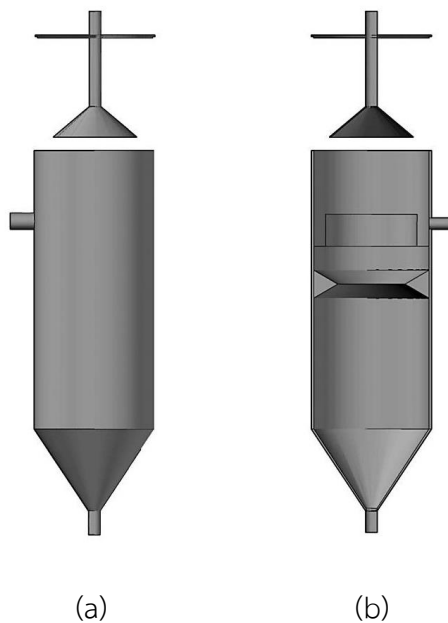
(a)



(b)

รูปที่ 3.5 แบบฝาลังระบบยูเอเอสปี (a) มุมมองจากด้านบน (b) ภาพตัดด้านหน้า (หน่วยเซนติเมตร)

เมื่อทำการออกแบบถังหมักแบบในรูปแบบของภาพสามมิติจะสามารถแสดงลักษณะต่างๆ ได้ดังรูปที่ 3.6 โดยรูปที่ 3.6 (a) แสดงถึงลักษณะทางภายนอกของถังหมัก และรูปที่ 3.6 (b) แสดงส่วนประกอบภายในถังหมักแบบสามมิติ



รูปที่ 3.6 ถังหมักระบบยูเอเอสบีแสดงแบบสามมิติ (a) ภายนอกถัง (b) ภายในถัง

### 3.3 การหมักแก๊สชีวภาพด้วยระบบยูเอเอสบี

ในการหมักแก๊สชีวภาพด้วยระบบยูเอเอสบีจะทำการหมักแบบไหลต่อเนื่อง ดังนั้นต้องทำการติดตั้งอุปกรณ์ต่างๆ ให้พร้อมสำหรับการใช้งาน โดยมีอุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ และวิธีการหมักแก๊สชีวภาพดังต่อไปนี้

#### 3.3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้

วัตถุดิบและสารเคมี :

1. น้ำเสียจากกระบวนการผลิตสับปะรดกระป๋อง
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
3. น้ำกลั่น
4. น้ำดีไอ (Deionized water)
5. ถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon)
6. ตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้ง

เครื่องมือและอุปกรณ์ :

1. ถังหมักแบบยูเอเอสบี
2. เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple Probe)
3. แท่งอิเล็กโทรดสำหรับวัดค่าพีเอช (pH Electrode)
4. ปุ่ม
5. ซิลิโคน

6. คอมพิวเตอร์
7. เครื่องวัดปริมาณแก๊ส (Bubble counter and Gas Meter)
8. ถังเก็บแก๊ส (Gas Collector)
9. ตัวแปลงสัญญาณอะนาล็อกเป็นดิจิทัล (Transmitter)
10. ถังบรรจุน้ำขาเข้าและขาออก
11. เครื่องอบ
12. โถดูดความชื้น
13. หลอดเก็บตัวอย่างน้ำ
14. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
15. ถังซีปรีค
16. ปีเปตปริมาตร 15 มิลลิลิตร
17. ปีเกอร์ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

### 3.3.2 ขั้นตอนการตรึงจุลินทรีย์

ทำการตรึงจุลินทรีย์โดยใช้ถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon) ในตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งร่วมกับการหมักน้ำเสีย ซึ่งใช้ถ่านกัมมันต์ปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร โดยมีขั้นตอนการเตรียมการตรึงจุลินทรีย์ดังนี้

1. เตรียมถ่านกัมมันต์ปริมาณ 25 กรัม
2. นำถ่านกัมมันต์ที่ได้ไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ถ่านกัมมันต์ที่อบแล้วไปแช่ในตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งปริมาตร 150 มิลลิลิตรเป็นเวลา 1 วัน จึงจะสามารถนำเอาถ่านกัมมันต์ที่ตรึงจุลินทรีย์ด้วยตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งไปใช้ในการหมักในขั้นตอนต่อไปได้

### 3.3.3 ขั้นตอนการฆ่าเชื้อหลอดเก็บตัวอย่างน้ำ

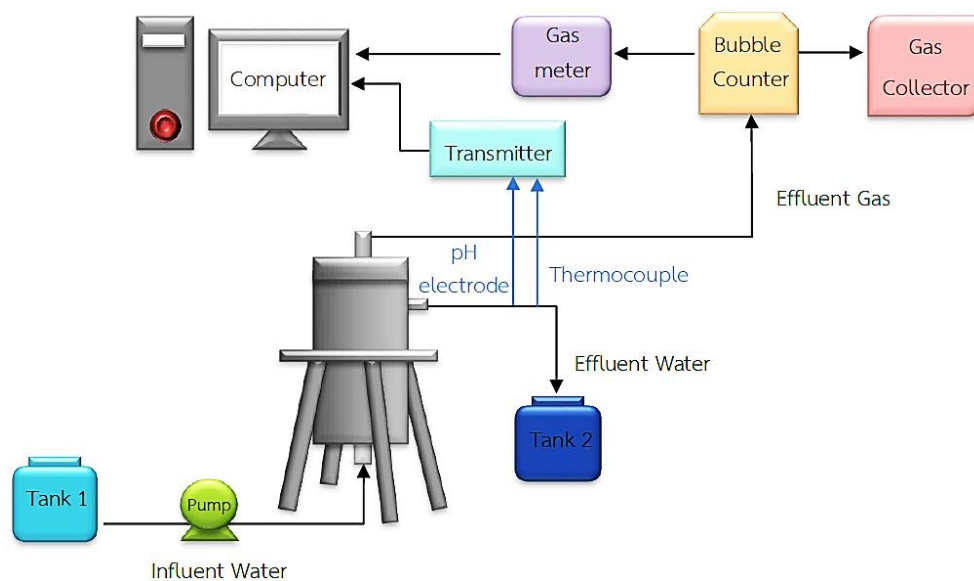
ทำการนึ่งฆ่าเชื้อหลอดเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อที่จะนำไปเก็บตัวอย่างน้ำขาเข้าและขาออกจากถังหมัก โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เติมน้ำดีลงในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ โดยเติมให้ท่วมที่ใส่หลอดเก็บตัวอย่าง
2. นำหลอดเก็บตัวอย่างน้ำไปใส่ในหม้อฆ่าเชื้อแล้วปิดฝาหม้อให้สนิท
3. เปิดเครื่องและตั้งเวลา 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ปล่อยความดันภายในหม้อออกให้หมดแล้วทำการเปิดฝาหม้อ นำหลอดเก็บตัวอย่างน้ำที่ทำการฆ่าเชื้อแล้วออกมา จะได้หลอดเก็บตัวอย่างที่พร้อมนำไปใช้งานในขั้นตอนต่อไป



### 3.3.4 รูปแบบของชุดการทดลอง

น้ำเสียที่ถูกปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมแล้วจะถูกส่งเข้าทางด้านล่างของถังหมักโดยใช้ปั๊มที่อัตราการไหล 310 มิลลิลิตรต่อนาที ภายในถังหมักจะเกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียทำให้เกิดเซลล์ของจุลินทรีย์และแก๊สต่างๆ ซึ่งแก๊สที่เกิดขึ้นจะเกาะอยู่ตามผิวของตะกอนจุลินทรีย์ การลอยขึ้นของตะกอนจุลินทรีย์ที่มีแก๊สเกาะจะกระทบกับตะแกรงที่กั้นไว้บริเวณก้นถังหมัก ซึ่งจะช่วยให้ตะกอนจุลินทรีย์ให้ตกตะกอนกลับสู่ถังหมักอีกครั้ง ส่วนแก๊สที่ถูกแยกออกจากน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จะลอยขึ้นสู่ส่วนที่เก็บแก๊ส ส่วนน้ำเสียจะไหลออกจากถังหมักไป ส่วนตะกอนจุลินทรีย์จะตกลงมา แล้วจมตัวลงสู่ส่วนที่เป็นถังหมักอีกครั้งหนึ่ง โดยอาศัยแรงโน้มถ่วง โดยต้องทำการวัดค่าอุณหภูมิและค่า pH ทุกๆ 1 นาทีโดยใช้เทอร์โมคัปเปิลและแท่งอิเล็กโทรดสำหรับวัดพีเอช ตามลำดับ จากนั้นข้อมูลค่าอุณหภูมิและค่า pH จะถูกบันทึกโดยระบบคอมพิวเตอร์ผ่านตัวแปลงข้อมูล (Transmitter) จากข้อมูลอะนาล็อกเป็นข้อมูลดิจิทัล ส่วนปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจะถูกวัดโดยเครื่องวัดปริมาณแก๊ส (Bubble counter) ทุกๆ 1 นาที และแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บไว้ในถุงเก็บแก๊ส (Gas collector) ซึ่งรูปแบบของชุดการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 รูปแบบชุดการทดลองการหมักแก๊สชีวภาพ

### 3.3.5 ขั้นตอนการหมักแก๊สชีวภาพ

ในการหมักจะดำเนินการที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศ โดยกำหนดอัตราการป้อนน้ำเสียให้มีค่าเท่ากับ 310 มิลลิลิตรต่อวัน โดยสภาวะที่ใช้ในการหมักแสดงได้ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สภาวะที่ใช้ในการหมักแก๊สชีวภาพ

ระยะเวลาในการกักเก็บของเหลว (วัน)	15
อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อวัน)	310

โดยมีขั้นตอนการเดินระบบดังนี้

1. ติดตั้งส่วนประกอบต่าง ๆ ของถังหมักแบบยูเอเอสบี รวมถึงการติดตั้งเทอร์โมคัปเปิลและแท่งอิเล็กโทรดสำหรับวัดค่าพีเอชไว้ภายในถังหมักเพื่อวัดอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดต่าง
2. ใส่ถ่านกัมมันต์ที่ทำการตรึงจุลินทรีย์ด้วยตะกอนเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งแล้วลงในถังหมัก
3. ทาซิลิโคนบริเวณที่อาจจะทำให้เกิดการรั่วซึมของแก๊สได้
4. ทำการปรับค่าความเป็นกรดต่างของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตน้ำسابระดระป้องกันให้มีค่าอยู่ในช่วง 6.5 – 7.8 ก่อนทำการหมักโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์
5. ป้อนน้ำเสียที่ทำการปรับค่าความเป็นกรดต่างแล้วเข้าสู่ถังหมักด้วยอัตราการป้อนน้ำเสียเท่ากับ 310 มิลลิลิตรต่อวัน
6. บันทึกค่าอุณหภูมิ, ค่าความเป็นกรดต่าง และปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดจากการหมักทุก ๆ 1 นาทีด้วยเทอร์โมคัปเปิล, แท่งอิเล็กโทรดสำหรับวัดค่าพีเอช และเครื่องวัดปริมาณแก๊สที่ผูกเชื่อมต่อกับระบบคอมพิวเตอร์ โดยแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บไว้ในถุงเก็บแก๊ส
7. ทำการเก็บตัวอย่างน้ำขาเข้าและขาออกของถังหมักทุกวันที่ทำกรหมักปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ปิเปตแล้วนำไปแช่ในตู้เย็น
8. ทำการเก็บตัวตรึงจุลินทรีย์หรือถ่านกัมมันต์ทุกครั้งหลังจากทำการทดลองใส่ลงในถุงซิปล็อคแล้วนำไปแช่ในตู้เย็น

### 3.4 การวิเคราะห์ผล

ในการวิเคราะห์ผลนั้น จะทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียขาเข้าและออก และองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพรวมทั้งปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น ค่าความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่เวลาต่างๆ ในระหว่างกระบวนการหมัก โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### 3.4.1 วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียขาเข้าและออกดังนี้

- ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง
- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids, TS)
- ปริมาณของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolved Solids, TDS)

- ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids, TSS)
- ปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมด (Total Volatile Solids, TVS)
- ค่าความต้องการออกซิเจน BOD หรือ COD
- ค่า CN ratio ของน้ำขาเข้า

3.4.2 วิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ ภายหลังจากหมักด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) เพื่อหาองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพดังนี้

- แก๊สไฮโดรเจน ( $H_2$ )
- แก๊สมีเทน ( $CH_4$ )

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล

การศึกษาปริมาณการเกิดแก๊สชีวภาพในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน โดยทำการหมักด้วยถังหมักยูเอเอสพีที่ออกแบบและวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียขาเข้าและออก และองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพที่ผลิตได้ โดยผลการดำเนินงานมีรายละเอียด ดังนี้

#### 4.1 ถังหมักระบบยูเอเอสพี

ถังหมักระบบยูเอเอสพีที่ออกแบบนี้มีลักษณะเป็นถังปิดรูปทรงกระบอก ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ซึ่งถูกออกแบบให้มีขาตั้งเพื่อยกส่วนตัวถังให้สูงขึ้น ทำให้ป้อนน้ำเสียเข้าทางด้านล่างของถังหมักได้สะดวก ในส่วนของช่องขาเข้าของน้ำเสียได้มีการติดตั้งวาล์วเปิด/ปิด เพื่อให้สามารถควบคุมการไหลเข้าของน้ำเสียได้ ภายในถังหมักบริเวณก้นถังมีการติดตั้งตะแกรงไว้เพื่อช่วยในการกั้นตะกอนให้ลอยตัวอยู่เป็นชั้นสัดจ์ไม่ให้งมลงสู่ก้นถัง บริเวณส่วนบนของถังหมักถูกออกแบบให้มีส่วนแยกของเหลวและแก๊สเพื่อแยกแก๊สให้ออกช่องทางออกด้านบนและแยกน้ำเสียให้ออกทางช่องทางออกด้านข้างของถังหมัก นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกลงสู่ชั้นตะกอนด้านล่างทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ในถังหมักหลุดออกไปกับน้ำที่ระบายออกน้อยลง อีกทั้งส่วนตัวถังยังถูกออกแบบให้สามารถแยกส่วนออกจากขาตั้งได้อีกด้วยเพื่อความสะดวกในการทำ ความสะอาดถังหมักและการเก็บรักษา



รูปที่ 4.1 ถังหมักระบบยูเอเอสพี

## 4.2 การหมักแก๊สชีวภาพ

### 4.2.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากบริษัท อาหารสยาม จำกัด (มหาชน) ผู้ผลิตสับปะรดกระป๋อง เลขที่ 218 หมู่ 8 ถ.ซูปเปอร์ไฮเวย์สีตหีบ - ฉะเชิงเทรา ต.หนองอิรุณ อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220 โดยบ่อน้ำเสียที่ทำการเก็บตัวอย่างแสดงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 บ่อน้ำเสียที่ทำการเก็บน้ำตัวอย่าง

### 4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการหมัก

ในการหมักจะกำหนดให้ระยะเวลาการกักเก็บของเหลวในถังหมัก (HRT) เป็น 15 วัน ซึ่งมีอัตราการป้อนเข้าของน้ำเสียเป็น 310 มิลลิลิตรต่อวัน โดยวัดค่า pH ก่อนเริ่มการหมักเท่ากับ 7.02 และอุณหภูมิเริ่มต้นก่อนหมัก คือ 25°C สรุปรายละเอียดได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการหมักและผลการทดลอง

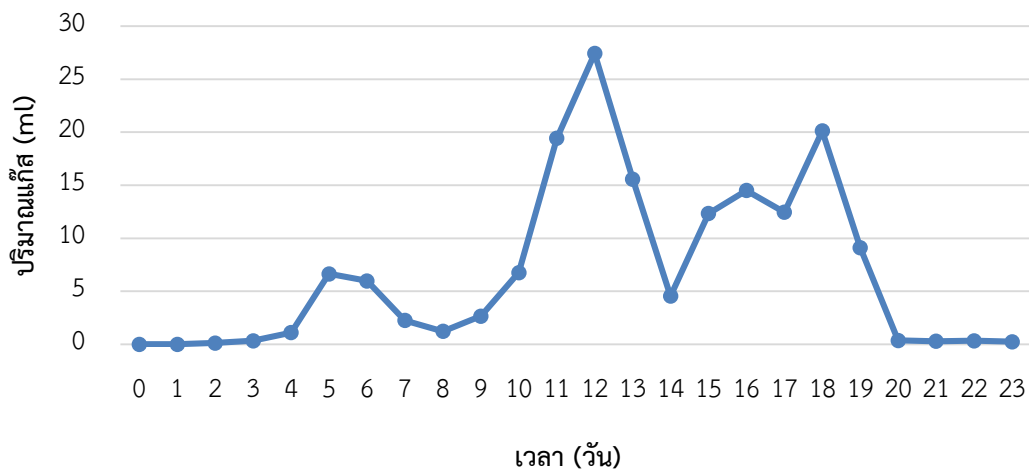
อัตราการป้อนน้ำเสีย (มิลลิลิตร/วัน)	310
ระยะเวลาการกักเก็บของเหลว, HRT (วัน)	15
อุณหภูมิเริ่มต้นก่อนการหมัก (°C)	25
pH เริ่มต้นก่อนการหมัก	7.02
จำนวนวันที่หมัก (วัน)	23
ปริมาณแก๊สต่อวันสูงสุด (มิลลิลิตร/วัน)	27.43
ปริมาณแก๊สรวม (มิลลิลิตร)	163.88

ในการทดลองจะทำการวัดค่าตัวแปรต่างๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิและปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น โดยจะบันทึกข้อมูลทุกๆ 1 นาที โดยใช้แท่งอิเล็กโทรดสำหรับวัดพีเอช เทอร์โมคัปเปิล และเครื่องวัดปริมาณแก๊ส (Bubble counter) ซึ่งเชื่อมต่อกับระบบคอมพิวเตอร์ ตามลำดับ โดยผลการเกิดแก๊สชีวภาพใน ทุกๆ 1 นาที สามารถแสดงในรูปแบบของปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นต่อวันและปริมาณแก๊สสะสมได้ดังตารางที่ 4.2

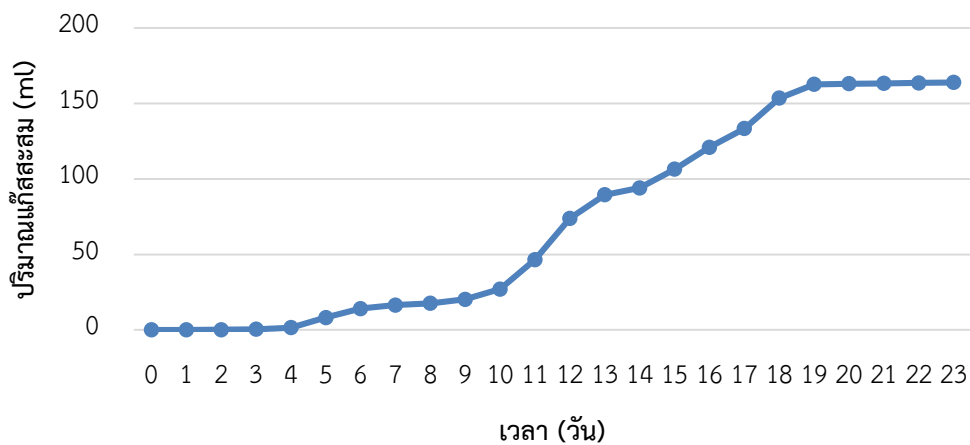
ตารางที่ 4.2 ปริมาณแก๊สชีวภาพต่อวันและปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมที่ได้จากการทดลอง

วันที่	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°C)	pH	ปริมาณแก๊สต่อวัน (มิลลิลิตร)	ปริมาณแก๊สสะสม (มิลลิลิตร)
0	0	28.27	7.005	0	0
1	1440	27.64	7.001	0	0.08
2	2880	29.71	6.998	0.12	0.12
3	4320	28.79	7.000	0.33	0.45
4	5760	28.24	7.000	1.11	1.56
5	7200	28.94	7.001	6.64	8.2
6	8640	30.03	7.001	5.99	14.19
7	10080	30.02	7.000	2.26	16.44
8	11520	30.55	6.999	1.23	17.67
9	12960	27.7	7.000	2.67	20.34
10	14400	28.91	7.000	6.77	27.1
11	15840	28.48	7.000	19.43	46.54
12	17280	29.57	7.001	<b>27.43</b>	73.96
13	18720	29.48	6.999	15.58	89.54
14	20160	30.76	7.001	4.55	94.1
15	21600	30.96	7.001	12.34	106.44
16	23040	29.35	7.001	14.51	120.95
17	24480	30.9	7.002	12.46	133.41
18	25920	31.12	7.000	20.13	153.55
19	27360	29.55	7.001	9.1	162.65
20	30240	29.65	6.999	0.37	163.02
21	30240	29.65	6.999	0.29	163.3
22	31680	34.39	7.001	0.33	163.63
23	33120	32.58	7.001	0.25	<b>163.88</b>

จากตารางที่ 4.2 ซึ่งแสดงถึงปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นต่อวันและปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมของการหมัก แสดงให้เห็นว่าในช่วงวันแรกๆ เกิดแก๊สชีวภาพในปริมาณน้อย และเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 6 จากนั้นเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 12 คือ 27.43 มิลลิลิตร และเริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัว (Steady State) ในวันที่ 20 รวมวันที่ทำการทดลองทั้งหมด 23 วัน ซึ่งผลการทดลองสามารถแสดงให้อยู่ในรูปแบบของกราฟเส้น ดังรูปที่ 4.3 โดยการทดลองนี้เกิดปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมรวมทั้งสิ้น 163.88 มิลลิลิตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.3 ปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้นต่อวัน



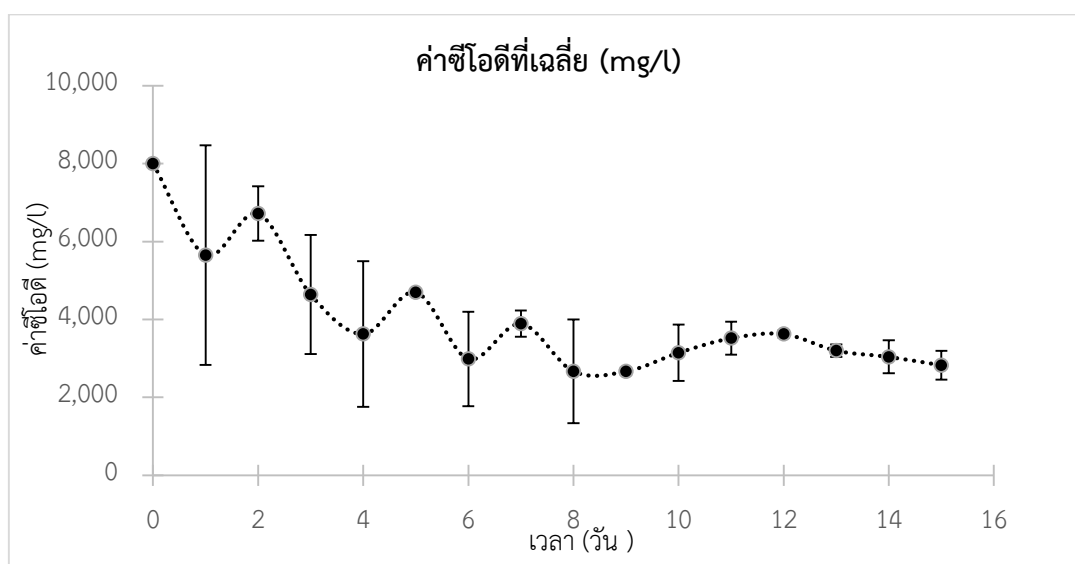
รูปที่ 4.4 ปริมาณแก๊สชีวภาพสะสม

#### 4.2.3 ผลการวิเคราะห์น้ำเสียและองค์ประกอบของแก๊สชีวภาพ

ผลการวิเคราะห์น้ำเสียที่ใช้ในการหมักแสดงได้ดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5 แสดงค่า COD ของน้ำเสียในแต่ละวันของการหมัก ซึ่งน้ำเสียมีค่าซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 8,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการทดลองพบว่าค่าซีโอดีของน้ำเสียจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาและเริ่มมีค่าคงที่ในวันที่ 10 หลังเริ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติของน้ำเสียในระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

คุณสมบัติ	น้ำเสียขาเข้า	น้ำเสียขาออก
1. ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร)	3.88±0.08	4.32±0.06
2. ปริมาณสารระเหยง่าย (มิลลิกรัม/ลิตร)	1.22±0.04	1.18±0.04
3. ปริมาณสารคงตัว (มิลลิกรัม/ลิตร)	0.74±0.02	0.97±0.01
4. ปริมาณสารแขวนลอย (มิลลิกรัม/ลิตร)	0.35±0.02	0.12±0.01
5. ปริมาณสารที่ละลายได้ (มิลลิกรัม/ลิตร)	1.31±0.03	3.45±0.25
6. C/N ratio	9.63	N/A



รูปที่ 4.5 ค่า COD ของน้ำเสียระบบยูเอเอสปีร่วมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์



จากรูปที่ 4.5 พบว่าค่าซีไอดีของน้ำเสียจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาและเริ่มมีค่าคงที่ในวันที่ 10 หลังเริ่มการทดลอง โดยเมื่อนำค่าซีไอดีที่ทดลองได้จากการเก็บตัวอย่างน้ำเสียมาหาเฉลี่ยแสดงดังกราฟ โดยสามารถลดค่า COD ได้ 64.67% และจากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียในระบบยูเอเอสพีรวมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ดังตารางที่ 4.3 พบว่ามีปริมาณสารระเหยง่าย และสารแขวนลอยลดลง ในขณะที่ค่าอื่นเพิ่มขึ้นเนื่องจากสองค่านี้เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณสารอินทรีย์ซึ่งจะถูกย่อยสลายไปในกระบวนการหมักจึงทำให้มีค่าลดลง นอกจากนี้การทดลองได้ส่งกากตะกอนน้ำเสียที่ผ่านการตากแห้งจากโรงงานอาหารสยาม เพื่อวิเคราะห์อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ได้ค่า 9.63 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการผลิตแก๊สชีวภาพ (มีค่าอยู่ระหว่าง 24-26) ซึ่งเป็นไปตามที่ Sialve, Bernet และ Bernard (2009) พบว่าถ้าหากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำมากๆ จะทำให้ไนโตรเจนในระบบมากเกินไปและมีการปล่อยไนโตรเจน โดยไนโตรเจนที่ปล่อยจะอยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมไอออน และมีการปล่อยกรดไขมันระเหยได้เข้าสู่ระบบ ซึ่งแอมโมเนียจะไปเพิ่มค่าพีเอช ถ้าหากค่าพีเอชสูงจะมีผลยับยั้งต่อการทำงาน และมีพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ในระบบการผลิตแก๊สชีวภาพ นั่นอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้การทดลองผลิตแก๊สชีวภาพได้น้อยดังตารางที่ 4.4 ซึ่งมีค่าประมาณ 25%

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของแก๊สชีวภาพที่ได้จากการหมักในระบบยูเอเอสพีรวมกับการตรึงเซลล์จุลินทรีย์

องค์ประกอบแก๊ส (%)				
มีเทน	ไฮโดรเจน	ไนโตรเจน	คาร์บอนไดออกไซด์	รวม
24.74	0	49.06	26.2	100

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

##### 5.1.1 การออกแบบถังหมักแก๊สชีวภาพระบบยูเอเอสบี

ถังหมักแบบยูเอเอสบีที่ออกแบบนั้นมีปริมาตรที่สามารถใช้ในการหมัก 4.65 ลิตร ความสูงและเส้นผ่าศูนย์กลางของถัง คือ 35 และ 14.5 เซนติเมตร ตามลำดับ ภายในถังจะมีแผงกั้นรูปทรงสามเหลี่ยมยื่นออกมาจากผนังเพื่อเปลี่ยนทิศทางของแก๊สที่เกิดขึ้นให้ลอยขึ้นไปที่ GSS ที่ทำหน้าที่แยกแก๊สและของเหลวออกจากกัน ซึ่งถูกทำให้ติดกับฝาถังเพื่อให้ง่ายต่อการล้างทำความสะอาด ด้านล่างของถังติดตั้งวาล์วสำหรับเปิด/ปิดหากต้องการเริ่มต้นหรือหยุดระบบ ขอบของฝาถังมีหูจับติดอยู่เพื่อช่วยให้สามารถปิดฝาถังได้แบบสนิทมากขึ้น และเนื่องจากส่วนก้นของถังมีลักษณะเป็นกรวยเพื่อป้องกันการเกิดเขตโชน (dead zone) จึงไม่สามารถตั้งกับพื้นได้ จึงต้องมีขาตั้งถังยูเอเอสบีเพื่อช่วยในการวางถัง มีลักษณะเป็นขาตั้งคอยประคองตัวถัง โดยออกแบบให้ตัวถังมีที่จับที่ส่วนกลางของถังเพื่อง่ายต่อการเคลื่อนย้าย

##### 5.1.2 ผลการหมักแก๊สชีวภาพโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานสับปรดระบอง

การหมักโดยการกำหนดให้ระยะเวลาการกักเก็บของเหลวในถังหมัก (HRT) เป็น 15 วัน ซึ่งมีอัตราการป้อนเข้าของน้ำเสียเป็น 310 มิลลิลิตรต่อวัน โดยปรับค่า pH ก่อนเริ่มการหมักให้เท่ากับ 7.02 และหมักที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่าในช่วงวันแรกๆ เกิดแก๊สชีวภาพในปริมาณน้อย และเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 6 จากนั้นเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 12 คือ 27.43 มิลลิลิตร และเริ่มเข้าสู่สภาวะคงตัว (Steady State) ในวันที่ 20 รวมวันที่ทำการทดลองทั้งหมด 23 วัน ซึ่งเกิดปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมรวมทั้งสิ้น 163.88 มิลลิลิตร และมีแก๊สมีเทนเป็นองค์ประกอบ 24.74 %

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

การวิจัยนี้ทำการทดลองการหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพเพียงสภาวะเดียว ดังนั้นหากต้องการทราบถึงปริมาณแก๊สชีวภาพที่ผลิตได้ที่สภาวะอื่นๆ ต้องทำการทดลองเพื่อเก็บข้อมูลและใช้ข้อมูลจากการทดลองเพื่อสร้างแบบจำลองของกระบวนการในทำนายการเกิดแก๊สชีวภาพจากกระบวนการหมักด้วยระบบยูเอเอสบีจากของเสียอินทรีย์ร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์ ทั้งยังสามารถประยุกต์ใช้แบบจำลองที่ได้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้ปริมาณสูงที่สุดอีกด้วย

#### 5.3 ผลผลิต

เครื่องปฏิกรณ์ระบบยูเอเอสบีจากของเสียอินทรีย์ร่วมกับการตรึงจุลินทรีย์และข้อมูลของการผลิตแก๊สชีวภาพ

## เอกสารอ้างอิง

- [1] ความเป็นมาของการผลิตก๊าซชีวภาพ (2562). สืบค้นเมื่อวันที่ 12 มีนาคม 2563, จาก <https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%81%E0%B9%8A%E0%B8%B2%E0%B8%8B%E0%B8%A%E0%B8%B5%E0%B8%A7%E0%B8%A0%E0%B8%B2%E0%B8%9E>.
- [2] เกื้อกุล บุญยี่, (2552). การผลิตก๊าซชีวภาพจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศโดยใช้น้ำเสีย ของโรงงานผลิตแอมโมเนียสำหรับปุ๋ยเคมี วิศวะกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [3] คู่มือการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการออกแบบ การผลิต การควบคุมคุณภาพ และการใช้ก๊าซชีวภาพ (Biogas) สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม, (2553). สำนักเทคโนโลยีความปลอดภัย กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.
- [4] สุดารัตน์ ภักดี, (2551). การผลิตก๊าซชีวภาพจากกากถั่วและน้ำเสียจากโรงงานวันเส้นโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน สาขาวิศวะกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [5] ระบบผลิตก๊าซชีวภาพแบบยูเอสบี (UASB), (2552). สืบค้นเมื่อวันที่ 21 ธันวาคม 2562, จาก <http://www.fristweb.com/handsite/biogas/uasb.html>.
- [6] ยุทธนา ตันวงศ์वाल, ความรู้เกี่ยวกับเทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียแบบ UASB เบื้องต้น (ตอนที่ 1) [http://www.reo13.go.th/KM\\_reo13/data\\_know/55-01-31\\_UASB-1.pdf](http://www.reo13.go.th/KM_reo13/data_know/55-01-31_UASB-1.pdf).
- [7] สมชาย ดารารัตน์, เทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียแบบ UASB, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- [8] Metcalf & Eddy, (1991). Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse, McGraw-Hill.
- [9] Hickey, R.F., WU, W.M., Veiga, M.C., and Jones, R., (1991). Start-up, Operation, Monitoring, and Control of High-rate Anaerobic Treatment Systems. Wat. Sci. Tech., 24(8), 207-255.
- [10] Keyser, M., Witthuhn, R. C., Ronquest, L. C., & Britz, T. J. (2003). Treatment of winery effluent with upflow anaerobic sludge blanket (UASB)-granular sludges enriched with *Enterobacter sakazakii*. Biotechnology letters, 25(22), 1893-1898.
- [11] Grote, W., Lee, K. J., & Rogers, P. L. (1980). Continuous ethanol production by immobilized cells of *Zymomonas mobilis*. Biotechnology Letters, 2(11), 481-486.
- [12] Ghommidh, C., Navarro, J. M., & Durand, G. (1982). A study of acetic acid production by immobilized *Acetobacter* cells: oxygen transfer. Biotechnology and bioengineering, 24(3), 605-617.
- [13] Adu-Gyamfi, N., Ravella, S. R., & Hobbs, P. J. (2012). Optimizing anaerobic digestion by selection of the immobilizing surface for enhanced methane production. Bioresource technology, 120, 248-255.

- [14] Adu-Gyamfi, N., Ravella, S. R., & Hobbs, P. J. (2012). Optimizing anaerobic digestion by selection of the immobilizing surface for enhanced methane production. *Bioresource technology*, 120, 248-255.
- [15] นางลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. (2544). จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3 เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 42-73.
- [16] เซาวนี มีหวัง , วงศ์ บุญสืบสกุล , กรรณิการ์ ดวงมาลย์ และสุรางค์ สุธิราวุธ. (2550). การใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography เพื่อการจำแนก *Bacillus* sp. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.
- [17] Cappuccino J.G., & Sherman N. (1992 ). *Microbiology a Laboratory Manual* (3rd ed.). The Benjamin /Cummings.
- [18] ปิยะเนตร พึ่งพา. (2554). การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำทะเลจากบริเวณ หมู่เกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Internal transcribed spacer. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- [19] Heiko N., Andrea T., et al. (2011). Pyrosequencing-Based Assessment of Bacterial Community Structure Along Different Management Types in German Forest and Grassland Soils. *PLoS ONE*, 6(2), e17000.
- [20] Sialve, B., Bernet, N., et al. (2009). Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnol Adv*, 27(4), 409-16.