# บทที่ 3

# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 แผนการวิจัย

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเป็นการทดลองหาศักยภาพในการผลิตไฮโดรเจนของน้ำเสีย 3 ชนิด คือ

1. น้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ

2. น้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีน้ำมันและกลีเซอรีนเป็นส่วนประกอบ

3. น้ำเสียจากโรงงานปลากระป๋องที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ

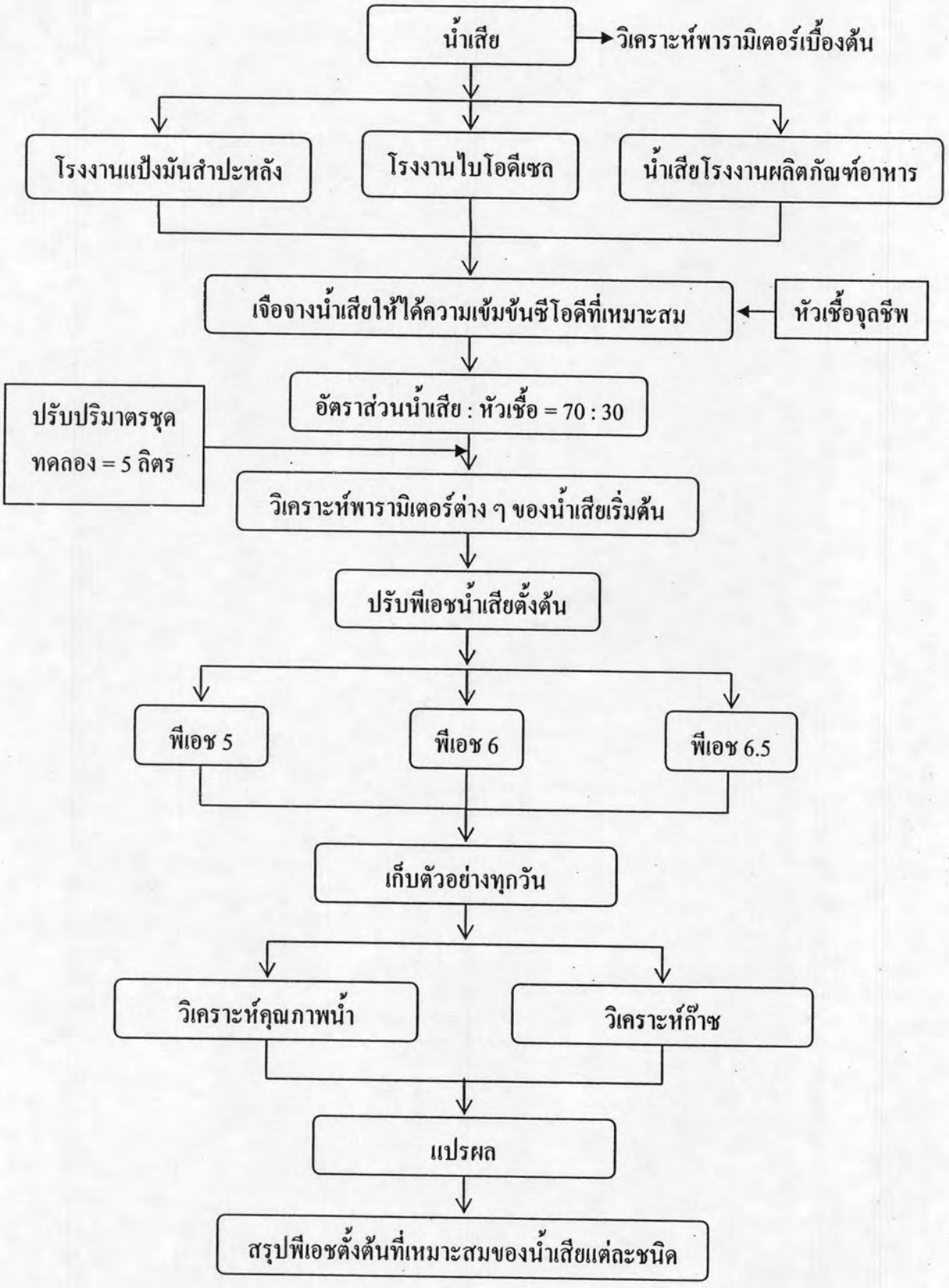
ทำการทดลองแบบแบตช์ ในชุดทดลองแบบแอนแอโรบิกที่มีการใช้น้ำเสียจริงและมีการเติมหัวเชื้อจุลชีพจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดทดลอง เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตไฮโดรเจนตามการแปรผันของค่าพีเอชและสภาวะของหัวเชื้อจุลชีพ

- สำหรับชุดการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมโดยมีการแปรค่าพีเอชต่าง ๆ คือ 5 6 และ 6.5 ดังรูปที่ 3.1 โดยใช้หัวเชื้อจุลชีพที่ไม่ผ่านการต้ม

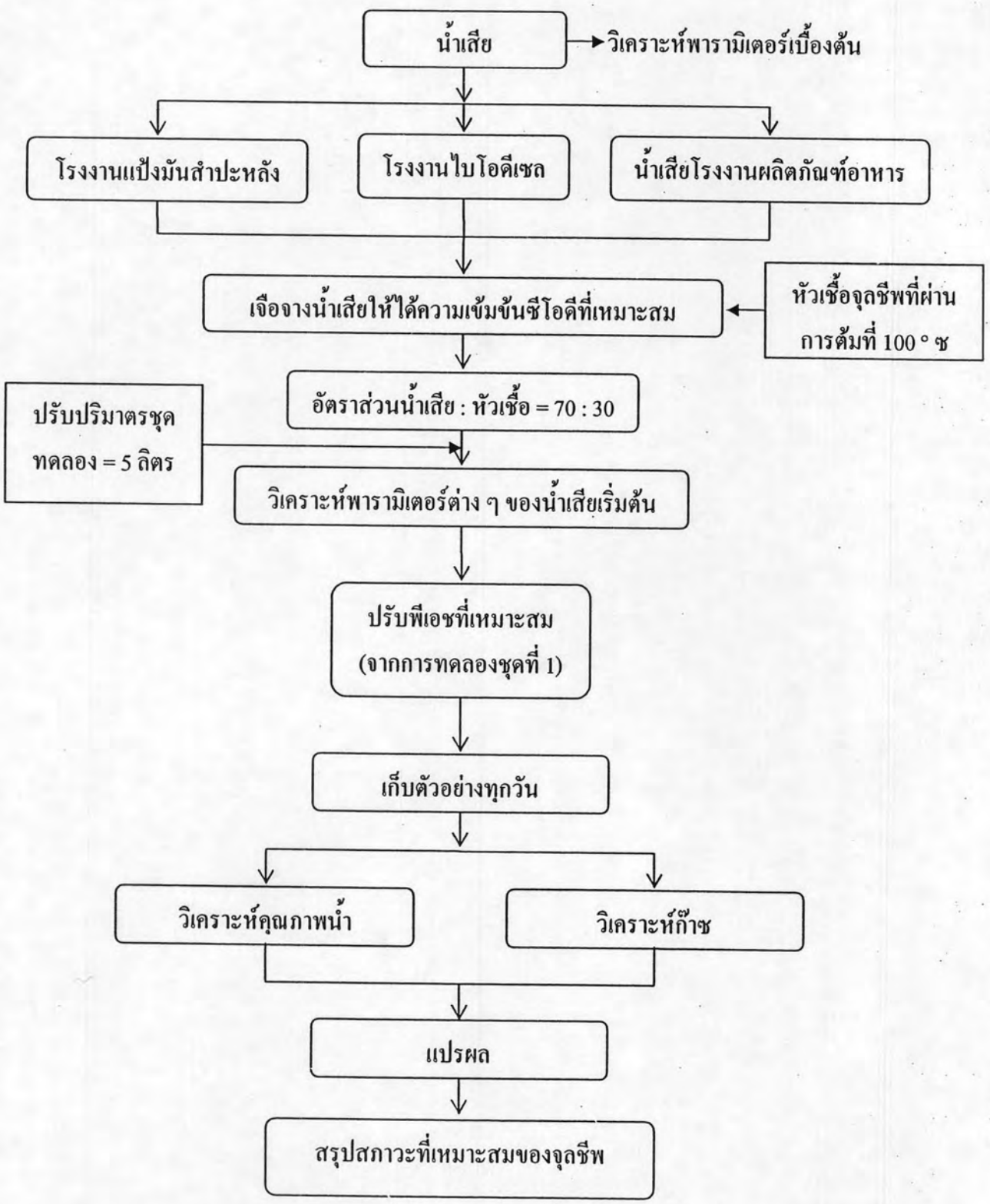
- ส่วนชุดการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาสภาวะของหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมโดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้หัวเชื้อจุลชีพทั้งแบบที่ไม่ผ่านการต้มและผ่านการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 3.2

## 3.2 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรที่ทำการศึกษาแบ่งเป็น 3 ประเภทได้แก่ ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่ ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา และตัวแปรตามที่ทำการวิเคราะห์ โดยแบ่งตามชุดการทดลองเป็น 2 ชุด คือ ตัวแปรที่ทำการศึกษาหาพีเอชที่เหมาะสม และตัวแปรที่ทำการศึกษาสภาวะของหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม แสดงดังตารางที่ 3.1 และตารางที่ 3.2




รูปที่ 3.1 ผังการไหลการทดลองชุดที่ 1 เพื่อหาค่าพีเอชที่เหมาะสม




รูปที่ 3.2 ผังการไหลการทดลองชุดที่ 2 ที่ใช้หัวเชื้อจุลชีพที่ผ่านการต้ม

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในชุดการทดลองที่ 1 การหาพีเอชที่เหมาะสม

| ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่ | ค่าที่ใช้ในการทดลอง |
|---|---|
| ปริมาตรชุดการทดลอง | 5 ลิตร |
| อัตราส่วนหัวเชื้อจุลชีพเริ่มต้น | 300 มิลลิลิตรต่อลิตรน้ำเสีย |
| | |
| ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา | ค่าที่ใช้ในการทดลอง |
| ชนิดและองค์ประกอบของน้ำเสียตั้งต้น | น้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง<br>น้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล<br>น้ำเสียจากโรงงานปลากระป๋อง |
| ซีโอดีตั้งต้นของน้ำเสีย | 600 - 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| ค่าพีเอชน้ำเสีย | 5 6 และ 6.5 |
| | |
| ตัวแปรตามที่ทำการวิเคราะห์ | วิธีการวิเคราะห์ |
| ปริมาณก๊าซชีวภาพทั้งหมด | หลักการแทนที่น้ำสภาพกรด |
| องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ | เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี |
| ของแข็งแขวนลอย | วิธีอบแห้งที่ 103 – 105 องศาเซลเซียส |
| ซีโอดีกรอง | วิธีรีฟลักซ์แบบปิด |
| สภาพด่าง | วิธีการไตเตรท |
| กรดอินทรีย์ระเหย | วิธีการไตเตรท |

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในชุดการทดลองที่ 2 การศึกษาเชื้อจุลชีพที่ต้มที่ 100 ° ซ

| ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่ | ค่าที่ใช้ในการทดลอง |
|---|---|
| อัตราส่วนหัวเชื้อจุลชีพเริ่มต้น | 300 มิลลิลิตรต่อลิตรน้ำเสีย |
| ค่าพีเอช | ค่าเหมาะสมจากชุดการทดลองที่ 1 |
| | |
| ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา | ค่าที่ใช้ในการทดลอง |
| ชนิดและองค์ประกอบของน้ำเสียตั้งต้น | น้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง<br>น้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซล<br>น้ำเสียจากโรงงานผลิตภัณฑ์อาหาร |
| ซีโอดีตั้งต้นของน้ำเสีย | 600 - 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| สภาวะหัวเชื้อจุลชีพ | ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที |
| | |
| ตัวแปรตามที่ทำการวิเคราะห์ | วิธีการวิเคราะห์ |
| ปริมาณก๊าซชีวภาพทั้งหมด | หลักการแทนที่น้ำสภาพกรด |
| องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ | เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี |
| ของแข็งแขวนลอย | วิธีอบแห้งที่ 103 – 105 องศาเซลเซียส |
| ซีโอดีกรอง | วิธีรีฟลักซ์แบบปิด |
| สภาพด่าง | วิธีการไตเตรท |
| กรดอินทรีย์ระเหย | วิธีการไตเตรท |

### 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดแก้วขนาด 5 ลิตร
2. ขวดเก็บก๊าซแบบแทนที่น้ำขนาด 2 ลิตร
3. กระบอกเก็บตัวอย่างก๊าซ
4. อุปกรณ์วัดค่าซีโอดีตามมาตรฐาน
5. เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer)
6. เครื่องวัดพีเอช
7. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatograph, GC)

### 3.4 วิธีการทดลอง

#### 3.4.1 การเตรียมน้ำเสียเพื่อป้อนสู่ขวดหมัก

ทำการเตรียมน้ำเสีย 3 ชนิด ทั้งน้ำเสียจากโรงงานผลิตไบโอดีเซลที่มีน้ำมันและไขมันเป็นส่วนประกอบหลัก น้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบหลัก และน้ำเสียจากโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบหลัก โดยนำน้ำเสียมาเจือจางให้มีค่าความเข้มข้นของ ซีโอดีเท่ากับ 5,000 มก./ล. หลังจากวิเคราะห์อัตราส่วน COD : N : P ของน้ำเสียแล้วทำการเติมสารอาหารเพื่อให้มีค่า COD : N : P เท่ากับ 150:2:0.2

#### 3.4.2 การทดสอบระบบหมัก

การตรวจสอบรอยรั่วเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งของขวดหมักแบบไร้ออกซิเจนเพราะระบบนี้จะต้องเป็นระบบปิดอย่างแท้จริงมิฉะนั้นแล้วก๊าซชีวภาพจะออกมาตามรอยรั่วต่าง ๆ ได้เป็นเหตุให้แรงดันมีไม่มากพอที่จะแทนที่น้ำในระบบเก็บก๊าซ ทดสอบการรั่วของก๊าซชีวภาพโดยใช้น้ำสบู่ทาบริเวณรอยต่อต่าง ๆ แล้วเป่าลมเข้าขวดหมัก จากนั้นอุดรอยรั่วทุกทางด้วยกาวซิลิโคน

#### 3.4.3 การเตรียมหัวเชื้อเพื่อใช้ในการทดลอง

(1) หัวเชื้อที่ไม่ผ่านการต้ม ให้น้ำเสียประเภทที่ใช้ทดลองเพื่อให้เชื้อจุลชีพปรับสภาพให้เหมาะกับน้ำเสียในแต่ละประเภท

(2) หัวเชื้อที่ผ่านการต้ม เริ่มจากให้น้ำเสียประเภทที่ใช้ทดลองเพื่อให้เชื้อจุลชีพปรับสภาพ จากนั้นนำหัวเชื้อจุลชีพมาต้มเดือดที่ 100°C เป็นเวลา 15 นาที และทิ้งให้เย็น

3.4.4 การเริ่มต้นและสภาวะในการดำเนินระบบ (Start-up and operating condition)

(1) ปรับพีเอชของน้ำเสียที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.1 ให้มีค่าพีเอชตั้งต้นเท่ากับ 5 6 และ 6.5

(2) เติมหัวเชื้อจุลชีพตามอัตราส่วนน้ำเสีย : หัวเชื้อจุลชีพ เท่ากับ 70 : 30 โดยปริมาตร ใส่ขวดแก้วซึ่งมีปริมาตร 5 ลิตร

(3) ปรับปริมาณน้ำเสียให้เป็น 5 ลิตร

(4) กวนผสมตลอดเวลาโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer)

(5) เก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อทดสอบหาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ รวมถึงเก็บ ตัวอย่างก๊าซเพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบของก๊าซที่ได้

3.4.5 การวิเคราะห์และเก็บข้อมูล

ทำการบันทึกปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในรูปของปริมาณก๊าซทั้งหมด (Total gas) จากระบบเก็บก๊าซชีวภาพโดยอาศัยหลักการแทนที่น้ำมีหน่วยเป็นลูกบาศก์เซนติเมตรต่อวัน โดยทำการวัดปริมาณก๊าซทุกวัน วิเคราะห์ข้อมูลจากกราฟปริมาณสะสมของผลผลิตก๊าซชีวภาพ ด้วยสมการ modified Gompertz (Van Ginkel, Oh และ Logan, 2005)

$$H(t) = H_{\max} \exp\left\{ - \exp\left[ \frac{R * e}{H_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

เมื่อ $H(t)$ (mL) = ปริมาณของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นที่เวลา t

$H_{max}$ (mL) = ปริมาณของก๊าซชีวภาพที่ได้ทั้งหมด

$R$ (mL/h) = อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ

$\lambda$ (h) = lag phase

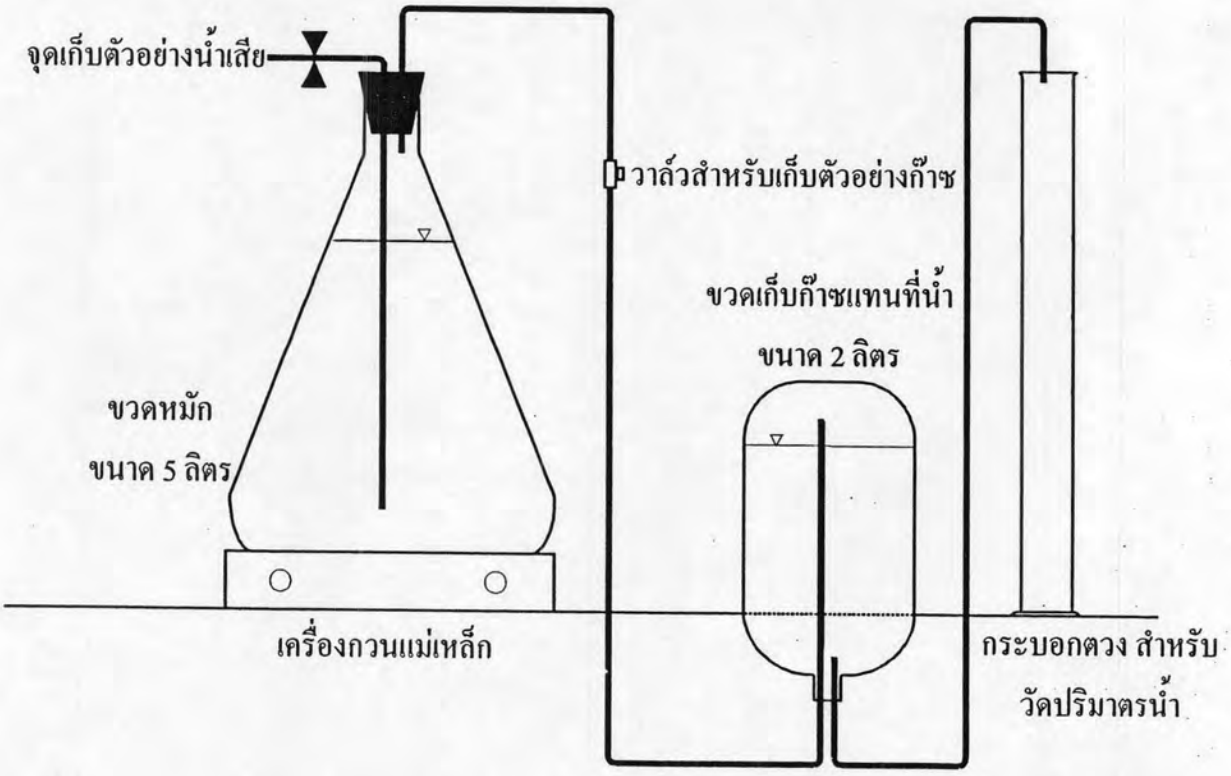
$e = 2.71828$

ค่าคงที่ต่าง ๆ ในสมการ หาได้โดยการสร้างกราฟปริมาณสะสมของผลผลิตก๊าซชีวภาพด้วยสมการ Modified Gompertz ข้างต้น แล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับข้อมูลการทดลองโดยระเบียบวิธีกำลังสองน้อยที่สุด (Method of Least Squares) และใช้ฟังก์ชั่น solver ในโปรแกรม Microsoft Excel ช่วยในการปรับค่าคงที่ในสมการ Modified Gompertz จนกระทั่งได้ค่าอัตราส่วนระหว่างผลรวมค่ากำลังสองของผลต่างของข้อมูลจริงกับข้อมูลจากสมการ ต่อ $r^2$ (SSE/ $r^2$) ที่มีค่าน้อยที่สุด จึงเป็นค่าคงที่ของสมการที่ได้

นอกจากนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพจะกระทำโดยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatography)

3.4.6 การเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียครั้งละประมาณ 50 มิลลิลิตร ทุกวันจากน้ำเสียปริมาตร 5 ลิตร หลังจากเริ่มต้นเดินระบบจนกระทั่งระบบไม่ผลิตก๊าซไฮโดรเจน เพื่อทำการวิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ




รูปที่ 3.3 แผนภาพการทดลอง

3.4.7 การวิเคราะห์

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำได้แก่ ค่าพีเอช (pH), ค่าซีโอดี (COD), ปริมาณกรดอินทรีย์ระเหย (Volatile fatty acid, VFA), ปริมาณของแข็งแขวนลอย (Suspended solids, SS) และปริมาณความเป็นด่างทั้งหมด (Total alkalinity, TAlk) ในตอนท้ายด้วย

ตารางที่ 3.3 วิธีวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ

| พารามิเตอร์ | วิธีวิเคราะห์ | ความถี่ในการเก็บตัวอย่าง | ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (mL) |
|---|---|---|---|
| ค่าพีเอช (pH) | pH meter | ทุกวัน | - |
| ค่าซีโอดี (COD) | วิธีรีฟลักซ์แบบปิด | ทุกวัน | 5 |
| กรดอินทรีย์ระเหย (VFA) | วิธีไตเตรท | ทุกวัน | 50 |
| ของแข็งแขวนลอย (SS) | วิธีอบแห้งที่ 103 – 105°C | ทุกวัน | 10 |
| สภาพด่างทั้งหมด (TAlk) | วิธีไตเตรท | ทุกวัน | - |

หมายเหตุ วิธีการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ ทำตาม Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WPCF, 2005)

3.4.8 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ก๊าซ

ทำการดูดเก็บตัวอย่างก๊าซชีวภาพจากจุดเก็บก๊าซด้วยหลอดเก็บในลักษณะการแทนที่น้ำในหลอดเก็บตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างก๊าซชีวภาพที่ได้นั้นไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบเป็นค่าร้อยละของก๊าซไฮโดรเจน (Hydrogen gas) ก๊าซมีเทน (Methane gas) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide gas) โดยใช้เครื่องโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatography)