รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและของเสียเศษอาหารโดยกระบวนการหมักร่วมไร้อากาศ

Biogas Production from Water Hyacinth and Food waste by Anaerobic Co-digestion Process

นายปิยพงษ์ ทองดำหยู
ดร.ศุภชัย นิติพันธ์
ผศ.ดร. สมพงศ์ โอทอง
นายวีระ เศียรอุ่น

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยทักษิณ
ประจำปีงบประมาณ 2557

คำรับรองคุณภาพ

รายงานวิจัยเรื่อง การผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและของเสียเศษอาหารโดยกระบวนการหมักร่วมไร้อากาศ

ผู้วิจัย ปิยพงษ์ ทองดำหยู และคณะ

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ขอรับรองว่ารายงานวิจัยฉบับนี้ได้ผ่านการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิแล้ว มีความเห็นว่าผลงานวิจัยฉบับนี้มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์

- ☐ ดีมาก
- ☑ ดี
- ☐ ปานกลาง
- ☐ พอใช้
- ☐ ควรปรับปรุง

.....

(อาจารย์ ดร.วันลภ ดิษสุวรรณ์)

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

17 สิงหาคม 2561

รหัสโครงการ R01-2557A10502067

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและของเสียเศษอาหารโดยกระบวนการหมักร่วมไร้อากาศ

Biogas Production from Water Hyacinth and Food waste by Anaerobic Co-digestion Process

นายปิยพงษ์ ทองดำหยู
ดร.ศุภชัย นิติพันธ์
ผศ.ดร. สมพงศ์ โอทอง
นายวีระ เศียรอุ่น

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยทักษิณ
ประจำปีงบประมาณ 2557

บทคัดย่อ

การผลิตก๊าซชีวภาพโดยการย่อยร่วมไร้อากาศผักตบชวาและของเสียเศษอาหาร ผักตบชวาจากแหล่งต่างๆ คือ แม่น้ำ ฟาร์ม ระบบบำบัดน้ำเสีย ทะเลสาบ และบ่อน้ำ มีศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน 226 254 232 231 และ 237 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ ผักตบชวาแต่ละแหล่งมีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนไม่แตกต่างกัน ศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนโดยการหมักร่วมผักชวากับของเสียเศษอาหารโดยใช้อัตราส่วนผักตบชวาร้อยละ 100 90 80 70 60 และ 50 ให้ค่าศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 220 475 43 38 46 และ 49 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ตามลำดับ อัตราส่วนผักตบชวาร้อยละ 90 ต่อของเสียเศษอาหารร้อยละ10 (9:1) มีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงที่สุด และให้ค่าพีเอชอยู่ในช่วงที่เหมาะสม (7.5-8.3) การเตรียมผักตบชวาด้วยร้อยละ 6 CaO ร้อยละ 2 H_2SO_4 ร้อยละ 7.5 ลูกแป้ง ใช้คลื่นไมโครเวฟ 500 W 5 นาที และ หม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที นำไปย่อยร่วมกับเศษอาหารที่อัตราส่วน 9:1 ให้ค่าศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ 65 610 300 637 และ 635 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ตามลำดับ การเตรียมผักตบชวาด้วยคลื่นไมโครเวฟ ร้อยละ 2 H_2SO_4 และหม้อนึ่งความดันไอ ให้ค่าศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพสูง (610-637 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผักตบชวาสด (475 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้) และให้ผลผลิตสูงแตกต่างกับการเตรียมผักตบชวาด้วย CaO และลูกแป้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารในระบบกึ่งต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์แบบกวนผสมสมบูรณ์ มีระยะพักกักเก็บของเสียเป็นเวลา 40 วัน ให้อัตราการผลิตมีเทน 1.8 และ 6.7 ลิตรต่อลิตรต่อวันสอดคล้องกับผลได้มีเทน 319 และ 620 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ พบแบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบหมักคือ *Clostridium* sp. *Ruminococcus* sp. *Moheibacter* sp และ ประชากรอาร์เคียกลุ่มเด่นคือ *Methanoculleus* sp. วัสดุหลังจากการหมักมีปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 1.23 23.7 และ 3.98 กรัมต่อลิตร

Abstract

Biogas production by anaerobic co-digestion of water hyacinth and food waste was investigated. Biomethane potential of water hyacinth from the river, farms, wastewater treatment plant, lake and lagoon area was 226, 254, 232, 231 and 237 ml CH_4/gVS, respectively. Water hyacinth from different sources was not significantly different in methane production potential. Biomethane potential from anaerobic co-digestion of water hyacinth and food waste at ratios of 10:0 9:1 8:2 7:3 6:4 and 5:5 was 220 475.53 43 38 46 and 49 ml CH_4/gVS, respectively. Anaerobic co-digestion of water hyacinth and food waste at mixing ratios of 9:1 has highest methane production potential with final pH of 7.5-8.3. Pretreatment of water hyacinth with 6% CaO, 2% H_2SO_4, 7.5% Lok Pang, Microwave 500 W for 5 min and Autoclave 121°C for 15 min at mixing ratio of 9:1 was 65 610 300 637 and 635 ml CH_4/gVS, respectively. Pretreatment with microwave, H_2SO_4, and autoclave gave high methane production potential (610-637 ml CH_4/gVS) with significantly different with non-pretreat water hyacinth and significant difference with CaO and Lok Pang ($P<0.05$). Biogas production from anaerobic co-digestion of water hyacinth with food waste in semi-continuous stirred tank reactor and hydraulic retention time of 40 days has methane production rate of 1.8 and 6.7 L/L/d corresponding to methane yield of 319 and 620 ml CH_4/gVS. Dominant bacteria in the system were *Clostridium* sp. *Ruminococcus* sp. *Moheibacter* sp and dominant archaea were *Methanoculleus* sp. The digested slurry has nitrogen, phosphorus and potassium of 1.23, 23.7 and 3.98 g/L.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้มีส่วนช่วยให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีทุกท่าน ทั้งด้านข้อเสนอแนะทางวิชาการ แรงงาน หรืออำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ สถานที่วิจัย สุดท้ายขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับทุนอุดหนุนการวิจัย จากมหาวิทยาลัยทักษิณประจำปี 2557 และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้สนับสนุนงบประมาณวิจัยทำให้โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินการแล้วเสร็จ

คณะผู้วิจัย

กันยายน 2560

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
สมมติฐานของการวิจัย	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
ก๊าซชีวภาพ	4
มีเทนและการใช้ประโยชน์	4
กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ	5
แบคทีเรียในการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ	5
ปัจจัยส่งผลต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ	6
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
ผักตบชวา	11
เศษอาหาร	12
3 วิธีดำเนินการวิจัย	13
ศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของผักตบชวาและเศษอาหาร	13
ศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและเศษอาหาร	13
ศึกษาการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหาร	13
วิธีศึกษาผลของการเตรียมผักตบชวาต่อการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพ	14
ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบกึ่งต่อเนื่อง	15
4 ผลการวิจัย	16
ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของผักตบชวาและของเสียเศษอาหาร	16
ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาแหล่งต่างๆ	16
ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร	17
แนวทางในการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวา	19
การผลิตแก๊สชีวภาพจากการย่อยสลายร่วมไร้อากาศในระบบกึ่งต่อเนื่อง	20
5 สรุปผล	29
สรุปผล	29
บรรณานุกรม	30

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาตรตัวอย่างและกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมักที่ใช้ผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร	14
2	องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวาและของเสียเศษอาหาร	16
3	ผลได้มีเทน (Yield) ผลผลิตมีเทน (Production)สูงสุดรายวันจากการผลิตมีเทนด้วยระบบกึ่งต่อเนื่อง	23
4	ปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียมจากตัวอย่างหลังจากการย่อยสลายในระบบต่อเนื่อง	28

สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยผักตบชวาแหล่งต่างๆ (ก.) ผลได้มีเทนจากผักตบชวาแหล่งต่างๆ (ข.)	18
2	ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วนต่างๆ (ก.) ผลได้มีเทนการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วนต่าง (ข.)	19
3	ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วน 9:1 และเตรียมผักตบชวาด้วยวิธีการต่างๆ (ก.) ผลได้มีเทนการย่อยร่วมผักตบชวาเตรียมด้วยกระบวนการทางเคมีกายภาพกับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วน 9:1 (ข.)	21
4	ปริมาณผลผลิตมีเทนรายวัน และปริมาณผลได้มีเทน(Yield)รายวัน	22
5	ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายของการหมักร่วมแบบไร้อากาศในระบบถังกวนแบบต่อเนื่อง	23
7	โครงสร้างประชากรแบคทีเรียจากระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็งแบบกึ่งต่อเนื่อง	26
8	โครงสร้างประชากรแบคทีเรียจากระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็งแบบกึ่งต่อเนื่อง	27

บทที่ 1
บทนำ

วิกฤตการณ์พลังงานเป็นปัญหาเร่งด่วนที่ต้องแก้ไขและหามาตรการป้องกัน เนื่องจากประเทศไทยมีทรัพยากรพลังงาน เช่น น้ำมัน และก๊าซธรรมชาติน้อย จึงจำเป็นต้องพึ่งพาประเทศอื่นๆ ที่สามารถส่งอออกพลังงานมาจำหน่ายได้ ส่งผลให้ขาดความมั่นคงทางด้านพลังงาน นอกจากนี้ทรัพยากรพลังงานที่ใช้ในปัจจุบันเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้แล้วหมดไป จึงเกิดกระแสความสนใจที่จะหาแหล่งวัตถุดิบที่สามารถทดแทนได้ เพื่อผลิตพลังงานทดแทนที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก และสามารถหาได้ในท้องถิ่นต่างๆ ปริมาณขยะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี พ.ศ. 2559 กรมควบคุมมลพิษได้ดำเนินการสำรวจปริมาณขยะมูลฝอยทั่วประเทศจากองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นจำนวน 7,782 แห่ง พบว่าประเทศไทยมีปริมาณขยะมูลฝอยรวม 26.77 ล้านตัน โดยขยะมูลฝอยร้อยละ 46 มาจากองค์กรบริหารส่วนตำบล ร้อยละ 38 มาจากเทศบาล และร้อยละ 16 มาจากกรุงเทพฯ จากขยะมูลฝอยปริมาณ 26.77 ล้านตัน แบ่งเป็นปริมาณขยะมูลฝอยที่ถูกนำไปกำจัดแบบถูกต้อง จำนวน 7.2 ล้านตัน คิดเป็นร้อยละ 27 ปริมาณขยะมูลฝอยที่กำจัดแบบไม่ถูกต้อง 6.9 ล้านตันคิดเป็นร้อยละ 26 ปริมาณขยะมูลฝอยที่ไม่ได้เก็บขนทำให้ตกค้างในพื้นที่ 7.6 ล้านตันคิดเป็นร้อยละ 28 และปริมาณขยะมูลฝอยที่นำกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่ 5.1 ล้านตันคิดเป็นร้อยละ 19 ของปริมาณขยะชุมชนที่เกิดขึ้นทั้งหมด (กรมควบคุมมลพิษ 2560) ขยะจากบ้านเรือนส่วนใหญ่เป็นขยะสด ซึ่งได้แก่ เศษอาหาร เศษผัก และผลไม้ โดยส่วนใหญ่เป็น ขยะอินทรีย์ที่ถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายได้ง่าย หากปล่อยทิ้งไว้โดยไม่มีการจัดการที่ดีจะก่อปัญหาการเน่าเสีย ส่งกลิ่นเหม็นรุนแรง และเป็นแหล่งเพาะเชื้อโรคเป็นที่รำคาญแก่ชุมชน ขยะเหล่านี้มีความชื้นสูงจึงไม่เหมาะสมในการนำไปกำจัด โดยการเผาและไม่สามารถนำมาผ่านขบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (recycle) ดังนั้นจึงนิยมกำจัดขยะสดด้วยการฝังกลบ (landfill) และจากการที่ขยะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนพื้นที่ในการกำจัดขยะ รวมทั้งมีการต่อต้านจากประชาชนในพื้นที่ ปัจจุบันการใช้ประโยชน์จากขยะเศษอาหารส่วนใหญ่นิยมใช้เป็นอาหารสุกร และทำปุ๋ยหมัก ในขยะเศษอาหารส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของเมล็ดข้าวซึ่งเป็นแหล่งของแป้ง หากมีการส่งเสริมให้มีการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากเศษอาหารโดยการใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตก๊าซชีวภาพจะเป็นการเพิ่มคุณค่าให้แก่เศษอาหารได้มาก และเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณขยะ ลดปัญหาการต่อต้านจากชุมชนในท้องถิ่นได้ ใช้เวลาไม่นานในการผลิตและยังนำก๊าซชีวภาพที่ได้ไปใช้ประโยชน์ได้

การผลิตก๊าซชีวภาพจากขยะเศษอาหารในระดับชุมชนมีการส่งเสริมและใช้กันอย่างกว้างขวาง ขยะเศษอาหารเป็นสิ่งที่เหลือทิ้งจากครัวเรือนที่เหลือจากการรับประทาน สามารถพบได้ใน

ทุกครัวเรือน ซึ่งเป็นของเสียที่ส่งกลิ่นเน่าเหม็น เป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรค จึงมีการนำขยะเศษอาหารมาใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน มีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงถึง 0.345 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัม (วุฒิภัณฑ์, 2544) วรพจน์ ศิริรักษ์ (2555) พบว่าการผลิตก๊าซชีวภาพจากขยะเศษอาหารต้องหมักร่วมกับมูลสัตว์จึงจะให้ผลผลิตดี พบว่าการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมขยะเศษอาหารกับมูลสัตว์ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 89 ลิตรต่อถังหมัก 200 ลิตรต่อวัน ความเข้มข้นมีเทนร้อยละ 60 จุดติดไฟได้ดี แต่การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมขยะเศษอาหารเพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 18 ลิตรต่อถังหมัก 200 ลิตรต่อวัน ความเข้มข้นมีเทนร้อยละ 12 ไม่สามารถจุดติดไฟได้ Ratanatamskul และ Manpetch (2559) ได้ผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมขยะเศษอาหารกับใบไม้ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 0.41 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัม ใบไม้และมูลสัตว์ช่วยรักษาสมดุลของพีเอชในระบบหมัก และการย่อยสลายอย่างรวดเร็วของคาร์โบไฮเดรตในขยะเศษอาหาร Bong *et al.* (2561) ขยะเศษอาหารประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักทำให้เกิดการย่อยสลายอย่างรวดเร็วในสภาวะไร้อากาศ การย่อยร่วมกับมูลสัตว์และใบไม้ช่วยให้ระบบผลิตก๊าซชีวภาพมีความสเถียรสูง ดำเนินระบบได้นานขึ้น

การผู้วิจัยสนใจการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการหมักร่วมขยะเศษอาหารกับผักตบชวา เป็นวัชพืชน้ำ และหาได้ง่ายในชุมชุน ผักตบชวาเป็นพืชน้ำที่มีอยู่ตามแหล่งน้ำจืดโดยทั่วไปมักจะเจริญเติบโตครอบคลุมพื้นที่น้ำจนทำให้ไม่สามารถใช้เส้นทางนั้นสัญจรได้ ทำให้แหล่งน้ำตื้นเขินและเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์อันตราย และสัตว์พาหะนำโรค จัดว่าผักตบชวาเป็นวัชพืชน้ำที่ก่อให้เกิดปัญหาอย่างมาก (ทิพย์วัลย์, 2530) ผักตบชวาสามารถลดสารอาหาร ของแข็งแขวนลอย สารอิทรีย์ และโลหะหนักในน้ำเสียได้ (Cornwell *et al*, 1997) ถ้าผักตบชวาส่วนเกินที่ต้องกำจัดทิ้งจากแหล่งน้ำสามารถใช้เป็นวัตถุดิบที่สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ ก็เป็นแนวทางที่ดีที่จะลดมลพิษในแหล่งน้ำและนำผักตบชวามาผลิตพลังงานทดแทนในรูปของก๊าซชีวภาพ เนื่องจากผักตบชวามีองค์ประกอบเป็น เซลลูโลสร้อยละ 32 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 18 และลิกนินร้อยละ 1.3 (วารุณีและคณะ, 2540) ในการทดลองนี้ได้ศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวา และการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหาร การเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาด้วยการย่อยทางเคมี (กรด ด่าง) ทางกายภาพ (ไมโครเวฟ ไอน้ำ) และทางชีวภาพ (เชื้อราจากลูกแป้ง) ก่อนกระบวนการหมัก เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตก๊าซชีวภาพจากขยะเศษอาหารและผักตบชวาซึ่งมีมากในทะเลน้อยจังหวัดพัทลุงและได้พลังงานเป็นผลพลอยได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. **เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของผักตบชวาจากแหล่งน้ำ และศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาแหล่งน้ำต่างๆในจังหวัดพัทลุง**
2. **เพื่อศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมผักตบชวากับขยะเศษอาหาร**
3. **เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการเตรียมผักตบชวาในการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพจาก** การหมักร่วมกับผักตบชวากับขยะเศษอาหาร
4. **เพื่อผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมผักตบชวากับขยะเศษอาหารในระบบต่อเนื่อง** แบบ CSTR และศึกษาความเสถียรในการผลิตก๊าซชีวภาพในระยะยาว และศึกษา ประชากรจุลินทรีย์

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ก๊าซชีวภาพ

การผลิตก๊าซชีวภาพ (biogas) เป็นวิธีหนึ่งในการผลิตพลังงานทดแทนจากชีวมวล โดยผลิตจากการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน (anaerobic digestion) ของเชื้อแบคทีเรียโดยสารอินทรีย์ที่ใช้อาจมาจากส่วนประกอบของขยะมูลฝอย พืชผลผลิตเศษวัสดุทางการเกษตร และมูลสัตว์ เป็นต้น การย่อยแบบไร้ออกซิเจนสามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภท หลักๆ คือ แบบแห้ง (dry digestion) และแบบเปียก (wet digestion) ซึ่งมีการควบคุมการป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบให้ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) ประมาณร้อยละ 20 ถึง 40 และน้อยกว่าร้อยละ 20 ตามลำดับ

ในการผลิตก๊าซชีวภาพ วัตถุดิบชีวมวลมักจะแยกออกเป็นของแข็งระเหยได้กับเศษเถ้า โดยของแข็งระเหยได้ในสารอินทรีย์นิยามว่าเป็นน้ำหนักของสสารที่สามารถระเหยออกได้เมื่อได้รับการเพิ่มอุณหภูมิ เศษกากที่เหลือจะเป็นส่วนของเศษเถ้า ของแข็งระเหยรวม (total volatile solid , TVS) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพและส่วนที่ย่อยไม่ได้ (นคร, 2553) เมื่อดำเนินการทดลองการย่อยสลายกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยใช้ถังปฏิกรณ์ พบว่า ถังปฏิกรณ์อุณหภูมิปานกลางและอุณหภูมิปานกลางมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีมากกว่าร้อยละ 90 โดยที่ภาระสารอินทรีย์ 0.5 กิโลกรัมซีโอดีต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน ไม่มีความแตกต่างในการผลิตก๊าซชีวภาพของถังปฏิกรณ์อุณหภูมิสูงและอุณหภูมิปานกลาง (เพ็ญศิริ, 2551)

การผลิตก๊าซชีวภาพจากเศษอาหารโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของระบบการย่อยสลายเศษอาหารภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน คือที่ระยะพักกักเก็บน้ำ (Hydraulic retention time; HRT) 30 วัน คิดเป็นอัตราภาระสารอินทรีย์ (Organic loading rate ; OLR) 6.39 กรัมซีโอดีต่อลิตร สามารถผลิตก๊าซชีวภาพทั้งหมดได้ 38.4 ลิตรต่อวัน โดยมีองค์ประกอบของก๊าซมีเทนร้อยละ 60.6 และมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยร้อยละ 87.0 79.7 83.3 และ 76.8 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระบบแบบสองขั้นตอนนี้กับระบบแบบขั้นตอนเดียว (อวัสดา, 2545) ที่ใช้เศษอาหารเหมือนกัน พบว่าระบบแบบสองขั้นตอนมีประสิทธิภาพสูงกว่าระบบแบบขั้นตอนเดียว (อาริยา, 2546)

2.2 มีเทนและการใช้ประโยชน์

ก๊าซมีเทน (CH_4) สามารถผลิตได้จากชีวมวลต่างๆถือว่าเป็นพลังงานทดแทนที่ใช้แล้วไม่หมดไป กระบวนการผลิตก๊าซมีเทนเป็นกระบวนการหมักแบบไร้อากาศ จึงสามารถนำมาใช้ในรูปของพลังงานได้ เช่น เผาไหม้เพื่อใช้ประโยชน์จากความร้อนโดยตรง

2.2.1 กระบวนการผลิตก๊าซมีเทนด้วยการย่อยแบบไร้อากาศ

ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของกระบวนการผลิตก๊าซมีเทนด้วยการย่อยแบบไร้อากาศเกิดขึ้น 4 ขั้นตอนตามลำดับ ดังนี้

1) กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ไฮโดรไลซิส เป็นกระบวนการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ปล่อยออกมา

2) กระบวนการสร้างกรด (Acidogenesis)

ผลผลิตจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในขั้นตอนที่ 1 จะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรดนำไปใช้เพื่อผลิตกรดไขมันระเหยง่าย (Volatile fatty acid ; VFA) เช่น กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดพิวทาริก เป็นต้น ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และมีคาร์บอนไม่เกิน 5 อะตอม

3) กระบวนการสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยง่าย (Acetogenesis)

กรดไขมันระเหยง่ายที่ได้จากกระบวนการสร้างกรดจะถูกแบคทีเรียอะซิโตจีนิก (Acetogenic bacteria) เช่น *Bacillus* sp. *Micrococcus* sp. *Clostridium* spp. *Pseudomonas* sp. และ *Escherichia coli* เปลี่ยนให้เป็นกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ปฏิกิริยานี้มีความสำคัญเนื่องจากเป็นการลดการสะสมของกรดไขมันระเหย ซึ่งการสะสมของกรดไขมันระเหยในปริมาณสูงสามารถยับยั้งการสร้างมีเทนได้

4) กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis)

กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างกรดจะถูกแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม Hydrogenotrophic methanogens หรือ Hydrogen utilizing chemolithotrophs และAcetotrophic methanogens หรือ acetoclastic bacteria หรือ acetate splitting bacteria ใช้สร้างมีเทน

ขั้นตอนย่อยสลายสารอินทรีย์ คือ การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกลุ่มแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ ผลที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายส่วนใหญ่ คือ ก๊าซชีวภาพ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นก๊าซมีเทน

2.2.2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตก๊าซมีเทนแบบไร้อากาศ

Fermentative bacteria ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น เซลลูโลส แป้ง โปรตีน ไขมันด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆจนได้สารที่มีโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน กรดไขมัน และสารต่างๆ สารเหล่านี้จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์และถูกเปลี่ยนไปเป็น อะซิเตท โพรไพโอนิก แลคเตท บิวทิเรท และอทานอล ผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นและสภาพแวดล้อมที่จุลินทรีย์เจริญเติบโต ในสภาวะที่มีก๊าซไฮโดรเจนต่ำจุลินทรีย์จะผลิตสารอินทรีย์พวกอะซิเตท คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน แต่ในสภาวะแวดล้อมที่มีก๊าซไฮโดรเจนสูงจุลินทรีย์จะผลิตโพรไพโอนิก แลคเตท และเอทานอล Hydrogen-producing acetogenic bacteria จุลินทรีย์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ ย่อยสลายโพรพิออเนท เอทานอล และ กรดอินทรีย์อื่นๆได้เป็น กรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนHomoacetogenic bacteria ได้แก่ *Butyribacterium methylophicum* จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เป็นพวกที่ใช้ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ได้ผลผลิตเป็นกรดอะซิติก ถ้าใช้สารประกอบที่มีคาร์บอนหลายอะตอม ผลผลิตที่ได้จะเป็นกรดอะซิติก และกรดบิวริก Methanogenic bacteria เป็นจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน จุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นพวก obligate anaerobes คือสามารถเจริญได้ดีในสภาวะไร้อากาศเท่านั้น จุลินทรีย์เหล่านี้จะย่อยสลายอะซิเตท ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ได้เป็นก๊าซมีเทน สามารถเจริญได้ทั้งในช่วงอุณหภูมิปานกลาง และในช่วงอุณหภูมิสูง ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตมีเทนอยู่ในช่วง 6.8 ถึง 7.2 เกลือแร่และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสิ่งที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้ต้องการมาก ส่วนแอมโมเนียและซัลไฟด์เป็นปัจจัยที่ต้องการเพิ่มเติม

2.2.3 ปัจจัยและสภาพแวดล้อมต่างๆที่มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ

การย่อยสลายสารอินทรีย์และการผลิตก๊าซชีวภาพมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้ อุณหภูมิในการเดินระบบ (operating temperature) เมทาโนเจน ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่ต่ำมากหรือสูงมากได้ ถ้าหากอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส แบคทีเรียจะหยุดทำงาน อุณหภูมิในการเดินระบบแบ่งเป็นสองระดับตามสปีชีส์ของเมทาโนเจนได้แก่มีโซฟิลิก (Mesophilic) และเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic) อุณหภูมิที่เหมาะที่เมโซฟิลิกเมทาโนเจนทำงานได้ดีคือประมาณ 20 องศาเซลเซียส ถึง 45 องศาเซลเซียส แต่ที่เหมาะสมที่สุดคือ ช่วง 37 องศาเซลเซียส ถึง 41 องศาเซลเซียส โดยในช่วงอุณหภูมิระดับนี้แบคทีเรียส่วนใหญ่ในถังหมักจะเป็นเมโซฟิลิก เทอร์โมฟิลิกเมทาโนเจน ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือประมาณ 50 องศาเซลเซียส ถึง 52 องศาเซลเซียส แต่ก็สามารถทำงานในอุณหภูมิที่สูงขึ้นไปถึง 70 องศาเซลเซียส แบคทีเรียเมโซฟิลิกนั้นมีจำนวนสปีชีส์มากกว่าแบคทีเรียเทอร์โมฟิลิก นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีกว่า

แบคทีเรียเทอร์โมฟิลิกอีกด้วย ทำให้ระบบหมักก๊าซชีวภาพที่ใช้แบคทีเรียเมโซฟิลิก เสถียรกว่า แต่ขณะเดียวกันอุณหภูมิซึ่งสูงกว่าในระบบที่ใช้เทอร์โมฟิลิกก็เป็นการช่วยเร่งปฏิกิริยาส่งผลให้อัตราการผลิตก๊าซสูงกว่า ข้อเสียอีกข้อของระบบเทอร์โมฟิลิก คือการที่ต้องใช้พลังงานจากภายนอกมาเพิ่มความร้อนให้ระบบ ทำให้อาจได้พลังงานสุทธิที่ต่ำกว่า

ความเป็นกรด-ด่าง (pH Value) ค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตก๊าซชีวภาพอยู่ระหว่าง 7.0 ถึง 7.2 ค่า pH ในถังหมักขึ้นอยู่กับช่วงของการหมักด้วย เพราะในช่วงแรกแบคทีเรียที่สร้างกรดจะสร้างกรดเป็นจำนวนมากและทำให้ค่า pH ลดลง ซึ่งถ้าหาก pH ลดลงต่ำกว่า 5 ก็จะหยุดกระบวนการย่อยและหมักทั้งหมดหรืออีกนัยหนึ่งก็คือแบคทีเรียตาย เมทาโนเจน นั้นอ่อนไหวต่อความเป็นกรดด่างมาก และจะไม่เจริญเติบโตหาก pH ต่ำกว่า 6.5 ความเข้มข้นของ NH_4 จะมากขึ้นตามการย่อยสลายไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้ค่า pH เพิ่มโดยอาจเกิน 8 จนกระทั่งระบบผลิตเริ่มมีความเสถียร pH จะอยู่ระหว่าง 6.8 ถึง 8

อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio) อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของขยะอินทรีย์ที่สามารถใช้ผลิตก๊าซชีวภาพคือตั้งแต่ 8 ถึง 30 แต่อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพคือประมาณ 23 ถ้าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน สูงมาก ไนโตรเจนจะถูก เมทาโนเจน นำไปใช้เพื่อเสริมโปรตีนให้ตัวเองและจะหมดอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ได้ก๊าซน้อย แต่ถ้าหาก C/N Ratio ต่ำมากๆ ก็จะทำให้ไนโตรเจนมีมากและไปรวมกันเป็นแอมโมเนีย แอมโมเนียจะไปเพิ่มค่า pH ซึ่งถ้าหากค่า pH สูงถึง 8.5 ก็จะเริ่มเป็นพิษกับแบคทีเรีย ทำให้จำนวนเมทาโนเจนลดลง นอกจากนี้หาก C/N ratio อยู่นอกเหนือจากช่วง 8 ถึง 30 จะทำให้มีสัดส่วนปริมาณก๊าซที่ได้เป็นก๊าซอื่นๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้น

มูลสัตว์โดยเฉพาะวัวควายมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด รองลงมาก็ได้แก่พวกดอกจอก ผักตบชวาและเศษอาหาร ขณะที่ฟางมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ค่อนข้างจะสูง อย่างไรก็ตามสามารถนำวัตถุดิบที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงมาผสมกับวัตถุดิบที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำได้ เพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต้องการ

ปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบ (Loading) ปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบคือปริมาณสารอินทรีย์ที่เราเติมใส่ถังหมักในแต่ละวัน ซึ่งถ้าหากว่าปริมาณที่เราเติมนั้นมากเกินไป ก็จะส่งผลให้ค่า pH ลดลงมากเกินไป (เนื่องจากในช่วงแรกของกระบวนการคือ acidogenesis กรดจะถูกผลิตขึ้นมา) จนทำให้ระบบล้มเหลวเนื่องจากเมทาโนเจนตายหมด ซึ่งหากสิ่งนี้เกิดขึ้นก็จะต้องเริ่มต้นระบบใหม่หมด แต่ถ้าหากปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบน้อยก๊าซที่ผลิตได้ก็จะน้อยตามไปด้วย เท่ากับว่าไม่ได้เดินระบบเต็มตามกำลังการผลิต ทำให้ถังหมักมีขนาดใหญ่เกินไปโดยไม่จำเป็น

ระยะเวลาการกักเก็บสารอินทรีย์ในถังหมัก (Retention time) ระยะเวลาในการกักเก็บสารอินทรีย์ในถังหมักขึ้นอยู่กับปริมาณ และประเภทของสารอินทรีย์ที่เติมเข้าไปซึ่งมีลักษณะและคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป รวมถึงรูปแบบของระบบต่อถังหมัก หากระยะเวลาในการกักเก็บสั้นไปก็จะไม่พอสำหรับแบคทีเรียที่จะผลิตก๊าซชีวภาพ นอกจากนี้แบคทีเรียยังจะถูกถ่ายออกจากระบบเร็วเกินไปส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียลดลงไป ทำให้แบคทีเรียที่เหลืออยู่ทำการย่อยไม่ทันและอาจทำให้ค่า pH ในถังหมักลดลงขึ้น ขณะเดียวกันการที่ระยะเวลากักเก็บนานเกินไปจะทำให้เกิดตะกอนของสารอินทรีย์ที่แบคทีเรียย่อยสลายแล้วสะสมอยู่ทำให้ถังหมักมีขนาดใหญ่โดยไม่จำเป็น ระยะเวลาในการกักเก็บส่วนใหญ่จะประมาณ 14 ถึง 60 วัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ คือ ค่าปริมาณของแข็ง อุณหภูมิ ขนาด ประเภทของdigester และปริมาณสารอินทรีย์ที่เติม ระยะเวลาในการกักเก็บนั้นเป็นตัวบ่งชี้ว่าแบคทีเรียจะมีชีวิตได้นานเท่าไรโดยไม่มีการเติมอาหาร เนื่องจากระยะเวลาการกักเก็บนั้นหมายถึงระยะเวลาที่แบคทีเรียต้องการเพื่อย่อยอาหารให้หมด ดังนั้นเมื่อไรก็ตามที่แบคทีเรียยังย่อยอาหารไม่หมดก็หมายความว่าแบคทีเรียจะยังไม่ตายจากการขาดอาหาร

ปริมาณของแข็ง (Total Solid Content, TSC) Solid content ของสารอินทรีย์ในการผลิตก๊าซชีวภาพแบ่งเป็นสองระดับคือ High solid (ปริมาณของแข็งสูง) TSC สูงกว่าร้อยละ 20 และ Low solid (ปริมาณของแข็งต่ำ) TSC ต่ำกว่าร้อยละ 15 ถังหมักที่ออกแบบสำหรับเติมสารอินทรีย์ high solid จะต้องใช้พลังงานมากกว่าในการสูบน้ำตะกอน (slurry) แต่เนื่องจากในระบบ high solid ความเข้มข้นของน้ำในถังหมักสูงกว่า พื้นที่ที่ใช้ก็จะน้อยกว่า ในทางกลับกันถังหมัก Low solid สามารถใช้เครื่องสูบน้ำทั่วไปที่ใช้พลังงานน้อยกว่าสูบน้ำตะกอน แต่ก็ต้องใช้พื้นที่มากกว่าเนื่องจากปริมาตรต่อสารอินทรีย์ที่เติมเข้าไปสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการที่น้ำตะกอนมีความใสกว่าก็ทำให้การหมุนเวียนและกระจายตัวของแบคทีเรียและสารอินทรีย์ดีขึ้นและการที่แบคทีเรียสามารถสัมผัสสารอินทรีย์อย่างทั่วถึงก็ช่วยให้การย่อยและการผลิตก๊าซเร็วขึ้น

การคลุกเคล้า (Mixing) การคลุกเคล้าตะกอน น้ำ และ สารอินทรีย์ เป็นส่วนที่สำคัญอีกส่วนเพราะจะทำให้แบคทีเรียสัมผัสกับสารอินทรีย์ได้อย่างทั่วถึง ทำให้แบคทีเรียทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่งผลให้การเกิดก๊าซเร็วขึ้นและมากขึ้น นอกจากนี้ยังป้องกันการตกตะกอนและตะกอนลอย (Scum) ซึ่งตะกอนอาจจะไปอุดช่องทางสำหรับระบายของเหลวจากถัง สารอาหาร (Nutrient) สารอาหารที่แบคทีเรียต้องการเพื่อการเจริญเติบโต นอกเหนือไปจากคาร์บอนและไฮโดรเจนแล้ว ยังมีไนโตรเจน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม นอกจากนี้ก็มีธาตุที่จำเป็นในปริมาณน้อย เช่น เหล็ก แมงกานีส ลิบดินัม สังกะสี โคบอลต์ ซิลิเนียม ทังเสตน และนิเกิลเป็นต้น แต่ขยะอินทรีย์โดยทั่วไปจะมีธาตุอาหารเหล่านี้ในระดับที่สมดุลพอเพียง เพราะฉะนั้นในการหมักจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใดๆ ลงไป สารยับยั้งและสารพิษ

(Imhibiting and Toxic Materials) เช่น กรดไขมันระเหยได้ ไฮโดรเจน หรือแอมโมเนีย รวมถึง ธาตุไอออน สารพิษ โลหะหนัก สารทำความสะอาดต่างๆ เช่น สบู่ น้ำยาล้างต่างๆ และยาปฏิชีวนะ สามารถส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตก๊าซของแบคทีเรียได้

ธาตุไอออนในปริมาณน้อย (เช่น โซเดียม โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ แอมโมเนียม) สามารถช่วยกระตุ้นการเติบโตของแบคทีเรียเช่นกัน แต่ถ้าหากปริมาณนั้นมากก็จะส่งผลเป็นพิษได้ ยกตัวอย่างเช่น แอมโมเนียในปริมาณ 50 ถึง 200 มิลิกรัมต่อลิตรจะเป็นผลดี ช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่เมื่อใดที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงกว่า 1,500 มิลิกรัมต่อลิตรก็จะเริ่มส่งผลเสีย ในทางเดียวกันโลหะหนักบางประเภท (เช่น ทองแดง นิเกิล โครเมียม สังกะสี ตะกั่ว และอื่นๆ) ในปริมาณที่น้อยๆ ช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่เมื่อความเข้มข้นสูงก็จะเป็นพิษ

อัลคาลินิตี้ (Alkalinity) ค่าอัลคาลินิตี้ หมายถึง ความสามารถในการรักษาระดับความเป็นด่าง ค่าอัลคาลินิตี้ที่เหมาะสมต่อการหมักมีค่าประมาณ 1,000 ถึง 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปของแคลเซียมคาร์บอร์เนต ($CaCO_3$) ชนิดและแบบของบ่อแก๊สชีวภาพ (Biogas Plant) บ่อแก๊สชีวภาพ แบ่งตามลักษณะการทำงาน ลักษณะของของเสียที่เป็นวัตถุดิบ และประสิทธิภาพการทำงานได้เป็น 2 ชนิดดังนี้ บ่อหมักช้าหรือบ่อหมักของแข็ง บ่อหมักช้าที่มีการสร้างใช้ประโยชน์และเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป มี 3 แบบหลักคือ แบบยอดโดม (fined dome digester) แบบฝาครอบลอย (floating drum digester) หรือแบบอินเดีย (Indian digester) และ แบบพลาสติกคลุมราง (plastic covered ditch) หรือแบบปลั๊กโฟลว์ (plug flow digester)

บ่อหมักเร็วหรือบ่อบำบัดน้ำเสีย แบ่งได้เป็น 2 แบบหลัก คือ แบบบรรจุตัวกลางในสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic Filter) หรืออาจเรียกตามชื่อย่อว่า แบบเอเอฟ (AF) ตัวกลางที่ใช้ทำได้จากวัสดุหลายชนิด เช่น ก้อนหิน กรวด พลาสติก เส้นใยสังเคราะห์ ไม้ไผ่ตัดเป็นท่อน เป็นต้น ในลักษณะของบ่อหมักเร็วแบบนี้ จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนบนตัวกลางที่ถูกตรึงอยู่ แบบยูเอเอสบี (UASB หรือ Up-flow Anaerobic Sludge Blanker) บ่อ หมักเร็วแบบนี้ใช้ตะกอนของสารอินทรีย์ (sludge) ที่เคลื่อนไหวภายในบ่อหมักเป็นตัวกลางให้จุลินทรีย์เกาะ ลักษณะการทำงานของบ่อหมักเกิดขึ้น โดยการควบคุมความเร็วของน้ำเสียให้ไหลเข้าบ่อหมักจากด้านล่างขึ้นสู่ ด้านบนตะกอนส่วนที่เบาจะลอยตัวไปพร้อมกับน้ำเสียที่ไหลล้นออกนอกบ่อตะกอนส่วนที่หนักจะจมลงก้นบ่อ

2.2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ การผลิตมีเทนนั้นเกิดขึ้นในขั้นตอนที่ 4 เป็นการเปลี่ยนกรดอินทรีย์โมเลกุลเล็กที่เกิดจากขั้นตอนการสร้างกรดไปเป็นก๊าซมีเทนร้อยละ 70 โดย Methane forming bacteria (Polprasert,1996) และอีกส่วนหนึ่งเกิดจากการรีดิวซ์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนให้กลายเป็นมีเทนโดย Hydrogen-utilizing methane bacteria แบคทีเรียที่สร้างมีเทนมีการเจริญเติบโตได้ช้าและสภาพแวดล้อมมีผลต่อกรเจริญเติบโตค่อนข้างมาก และปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมีเทนประกอบด้วย 1)ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมได้แก่ พีเอช (Masse and Droste, 2000) อุณหภูมิ ความเป็นด่าง สารพิษ สารยับยั้งปฏิกิริยา และลักษณะของของเสีย 2) ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเดินระบบ ได้แก่ การกวนผสม (Molnar and Bartha, 1989) อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และระยะเวลากักเก็บ (Lettinga1995 ; Lo and Liao, 1985) การผลิตมีเทนจากแบคทีเรียสามารถใช้ผลผลิตทางการเกษตรหรือของเสียจากอุตสาหกรรมเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ ตัวอย่างเช่น น้ำเสียจากโรงเลี้ยงสัตว์ (Largus *et al.*, 2002) น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม (Chen *et al.*, 2003) ขยะมูลฝอยเทศบาล (Liu *et al.*, 2008) เป็นต้น และเนื่องจากมีเทนสามารถผลิตได้จากสารตั้งต้นหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารตั้งต้นจำพวกกรดไขมันระเหยง่าย

Ueno *et al.* (2007) ศึกษาการผลิตไฮโดรเจนและมีเทนโดยใช้ขยะอินทรีย์สังเคราะห์เป็นสับสเตรท โดยพบว่าน้ำหมักที่ได้จากกระบวนการผลิตไฮโดรเจนมีค่า COD สูงเมื่อเทียบกับค่า COD เริ่มต้นในสับสเตรทที่ใช้ในการหมักและ ค่า COD ลดลงน้อยมาก (ร้อยละ 4 ถึง 7) และเมื่อนำน้ำหมักที่เหลือจากการผลิตไฮโดรเจนไปใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตมีเทน พบว่า เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก น้ำหมักที่ได้จากการผลิตมีเทนมีค่า COD ลดลงถึงร้อยละ 82 เปรียบเทียบกับค่า COD เริ่มในสับสเตรท โดยในระบบการผลิตนี้ได้ผลผลิตมีเทน 442 มิลลิโมลมีเทนต่อลิตรต่อวันและ 199 มิลลิโมลไฮโดรเจนต่อลิตรต่อวัน จากงานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าน้ำหมักจากการผลิตไฮโดรเจนมีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นสับสเตรทในการผลิตมีเทนได้

เพ็ญศิริ (2008) ศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารเสริมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพของกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม น้ำเสียจากกากตะกอนปาล์มมีค่าศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทน หรือค่าบีเอ็มพี 190 หรือ 160 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมซีโอดีทั้งหมด ที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิกและอุณหภูมิมีโซฟิลิกซึ่งพบว่าถังปฏิกิริยาเทอร์โมฟิลิกมีปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพเท่ากับ 0.499 และ 0.507 ลิตรต่อกรัมซีโอดี สำหรับถังปฏิกิริยาเทอร์โมฟิลิกที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าถังปฏิกิริยามีโซฟิลิกที่มีปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพ 0.459 ลิตรต่อกรัมซีโอดี

ปิยชน (2545) ศึกษาการบำบัดและผลิตก๊าซชีวภาพจากขยะอาหารด้วยระบบไร้ออกซิเจนแบบท่อไหล โดยศึกษาผลของการลดระยะเวลากำจัด (HRT)ในการศึกษาการบำบัดขยะเศษอาหารพบว่า ถังหมักแบบท่อไหลมีเสถียรภาพการทำงานดีกว่าถังหมักแบบขั้นตอนเดียวและ

แบบสองขั้นตอน และจากการวิเคราะห์ทางด้านการเงินเปรียบเทียบระหว่างราคาเชื้อเพลิงอื่นและราคาก๊าซชีวภาพจากระบบที่ทำการศึกษา คำนวณราคาก๊าซชีวภาพได้ 1.48 บาทต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งมีราคาต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเพลิงแหล่งอื่น ได้แก่น้ำมันเตาเกรดซี ก๊าซหุงต้ม น้ำมันดีเซล ดังนั้นระบบนี้จึงมีความน่าลงทุนเนื่องจากมีต้นทุนในการกำจัดขยะต่ำกว่าต้นทุนในการกำจัดแบบฝังกลบ และยังได้ก๊าซชีวภาพซึ่งสามารถนำมาใช้ทดแทนพลังงานเชื้อเพลิงชนิดอื่นได้อีกด้วย

Singhal *et al.* (2002) ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและหญ้าที่ใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งอุตสาหกรรม พบว่าหลังจากการบ่มเป็นเวลา 21 วัน ปริมาณก๊าซชีวภาพที่ได้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นการเพิ่มขึ้นของก๊าซชีวภาพจากหญ้าจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมากกว่าผักตบชวา เนื่องจากผักตบชวามีปริมาณน้ำในผักตบชวาสูงถึง 15.4 ถึง 23.65 ลิตรต่อกิโลกรัมทำให้ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาลดลง

Fezzani และ Bencheikh (2008) ศึกษาการย่อยสลายร่วมกันระหว่างน้ำเสียร่วมกับวัสดุเศษเหลือซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนจากกระบวนการสกัดน้ำมันมะกอกโดยทำการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการป้อนน้ำเสียจากโรงงานผลิตน้ำมันมะกอกเป็นสารตั้งต้นหลัก และของเสียที่เป็นของแข็งจากโรงงานเป็นสับเสตรทร่วม ที่ปริมาณแตกต่างกันคือ 28 56 112 และ 150 กรัมของแข็งทั้งหมดต่อลิตรน้ำเสีย ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า อัตราที่เหมาะสมของของเสียที่เป็นของแข็งที่ถูกใช้เป็นสับเสรทร่วม คือ 56 กรัมของแข็งทั้งหมดต่อลิตรน้ำเสีย สามารถเพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพ จาก 11.17 ± 2.5 ลิตรต่อลิตรน้ำเสีย เป็น 30.5 ± 2.5 ลิตรต่อลิตรน้ำเสีย และประสิทธิภาพการกำจัด COD จากร้อยละ 44.5 ± 3 เป็น 83.4 ± 2 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการลดเวลาเริ่มต้นในการผลิตก๊าซชีวภาพในสภาวะคงที่จาก 65 ± 25 วัน เป็น 28 ± 15 วัน

2.2.5 ผักตบชวาและการใช้ประโยชน์

ผักตบชวาเป็นพืชน้ำที่สามารถขยายพันธุ์และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในแม่น้ำลำคลอง บึงต่างๆ ผักตบชวามีประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใช้จักรสานหัตกรรม และยังเป็นสมุนไพรช่วยขับลม แก้พิษในร่างกาย ทาภายนอกแก้แผลอักเสบ (สุรชัย, 2538)

การใช้เป็นอาหารสัตว์ สามารถใช้ได้หลายรูปแบบ และเลี้ยงสัตว์ได้หลายชนิด ได้แก่ การใช้ในรูปพืชสด โดยการนำมาหั่นเป็นท่อนสั้นๆผสมรำ ปลายข้าว หรือต้มรวมกับเศษอาหารจากครัวเรือน การในรูปของผักตบชวาแห้ง มีกรรมวิธีการใช้และชนิดของสัตว์ที่นำไปเลี้ยงแตกต่างกันไป เช่น ผสมผักตบชวาแห้งในอาหารผสมปริมาณร้อยละ 5 สำหรับเลี้ยงไก่กระทง จะทำให้ไก่มีอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการกินอาหาร อัตราการแลกเนื้อ และคุณภาพซากที่ดี นอกจากนี้ยังมีการใช้ในรูปของพืชหมัก โดยการหั่นให้เป็นท่อนสั้นๆแล้วตากให้เหี่ยวลงเล็กน้อย

ให้เหลือความชื้นประมาณร้อยละ 70 จากนั้นจึงเติมกากน้ำตาลร้อยละ 10 เพื่อให้มีน้ำตาลมากพอสำหรับ Lactic acid bacteria จะใช้สร้างกรด และเติมฟอร์มิคร้อยละ 0.3 เพื่อให้เกิดสภาวะความเป็นกรดเร็วขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในกระเพาะของสัตว์จะเป็นกลุ่มที่ดำรงชีวิตแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งทำหน้าที่หลักในการย่อยอาหารที่สัตว์กินเข้าไป (วารุณีและพูลศรี, 2540)

การใช้ทำเป็นปุ๋ยหมัก เป็นวิธีการควบคุมปริมาณผักตบชวาวิธีการหนึ่ง อีกทั้งยังได้ใช้ประโยชน์ในการเกษตร ซึ่งสอดคล้องกับการประกอบอาชีพเกษตรกรรมของประชากร เพื่อลดต้นทุนการผลิตที่ต้องใช้ปุ๋ยเคมีและผลกระทบจากสารเคมีการเกษตร ทั้งนี้เพราะว่าผักตบชวามีระบบรากฝอยเป็นจำนวนมาก สามารถดูดซับเอาอาหารพืชที่ปะปนอยู่กับตะกอนในน้ำและปนปะในน้ำมาไว้ในส่วนต่างๆของลำต้นและใบ ฉะนั้นการสลายตัวเป็นปุ๋ยหมักก็จะให้ปริมาณธาตุอาหารพืชสูงไปด้วย ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสำหรับใช้ปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมี ชีวภาพ และกายภาพของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชในพื้นที่ดินเสื่อมโทรมขาดอินทรียวัตถุและต้นทุนการเก็บต่ำอีกด้วย (สุทธี, 2552)

2.2.6 เศษอาหารและการใช้ประโยชน์

ปัจจุบันปริมาณขยะมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นไม่ว่าจะเป็น เศษอาหาร เศษผัก เศษผลไม้ โดยขยะเหล่านี้เป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายง่าย ส่งกลิ่นเหม็นและยังเป็นแหล่งเพาะเชื้อโรค ขยะสดเหล่านี้มีความชื้นสูงจึงไม่เหมาะต่อการนำไปกำจัดโดยการเผา และไม่สามารถนำมาผ่านขบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ดังนั้นจึงมีการนำขยะเศษอาหารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในการทำปุ๋ยหมัก ซึ่งเป็นการนำของเสียมาใช้ประโยชน์ ลดค่าใช้จ่ายในการซื้อปุ๋ยเคมี และลดการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (ธันวดี, 2547)

ปุ๋ยหมัก จัดเป็นปุ๋ยธรรมชาติชนิดหนึ่ง ซึ่งได้จากเศษพืชต่างๆ เศษขยะมูลฝอย และอาจมีซากสัตว์หรือมูลสัตว์ปนอยู่ด้วย เมื่อนำมาผสมรวมกัน โดยอาศัยกรรมวิธีการหมักอย่างง่าย และใช้เวลาในระยะหนึ่ง เศษพืช เศษขยะเหล่านั้นก็จะเปลี่ยนไปจากรูปเดิม อันเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีโดยจุลินทรีย์ หลังจากนั้นก็สามารถนำเอาปุ๋ยหมักที่ได้ไปใช้ในการปรับปรุงบำรุงดินได้ (ชื่นจิต, 2543) และเมื่อมีการวิเคราะห์ธาตุอาหารของพืชในปุ๋ยหมักจากเศษอาหาร พบว่า มีธาตุไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 2.5 ฟอสเฟตทั้งหมดร้อยละ 2.1 คาร์บอนร้อยละ 40.3 อัตราส่วนธาตุคาร์บอนต่อไนโตรเจน 16 ต่อ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยคอก พบว่าปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟต และคาร์บอนในปุ๋ยหมักจากเศษอาหารมีปริมาณสูงกว่า (ธันวดี, 2547) การผลิตก๊าซมีเทนจากขยะเศษอาหาร ซึ่งสามารถผลิตก๊าซมีเทนสะสมสูงสุด 29 มิลลิลิตร ที่ระยะเวลาการศึกษา 65 วัน และผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สะสมสูงสุดประมาณ 18 มิลลิลิตร ขณะที่กลูโคสสามารถผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุด 20 มิลลิลิตร (วุฒิภัณฑ์, 2544)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของผักตบชวาและเศษอาหาร

เก็บตัวอย่างผักตบชวาจากแหล่งน้ำต่างๆและของเสียเศษอาหารจากโรงอาหารชั่งน้ำหนักอบแห้ง บดละเอียด วิเคราะห์องค์ประกอบค่าของแข็งทั้งหมด (TS), ของแข็งระเหยได้ (VS) ตามวิธีการวิเคราะห์ของอรทัย (2545), ค่าซีโอดี (COD), ค่าไนโตรเจนทั้งหมด (TKN), ค่าความเป็นด่างตามวิธีการวิเคราะห์ของกรมประมง (2551),ไขมัน, Ethanol ตามวิธีการวิเคราะห์ของอุดมนันท์ (2549) ค่าลิกนิน, เซลลูโลสและ เฮมิเซลลูโลส ตามวิธีการวิเคราะห์ของมั่นสิน (2543)

3.2 การเตรียมกล้าเชื้อ

กล้าเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นเชื้อที่ได้มูลสัตว์ และระบบผลิตก๊าซชีวภาพจากเศษอาหารเทศบาลทุ่งสง ซึ่งเป็นระบบไร้อากาศ เชื้อจะถูกนำมาปรับสภาพโดยการเติมผักตบชวาหมักร่วมกับของเสียเศษอาหารที่บดละเอียดแล้วในอัตราส่วน 9:1 เพื่อให้เชื้อเกิดความคุ้นเคยและสามารถใช้ผักตบชวาหมักร่วมกับของเสียเศษอาหารเป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโตได้ จนกว่าปริมาตรของก๊าซคงตัวก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลอง

3.3 ศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาและเศษอาหาร

ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาตามวิธีการของ Angelidaki *et al.* (2009) โดยใส่ตัวอย่างลงในขวดปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีปริมาตรกล้าเชื้อ (Inoculum) 80 มิลลิลิตร เตรียมกล้าเชื้อให้มีค่าของแข็งแขวนลอยระเหยได้เท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร เติมผักตบชวา 2 4 6 8 และ 10 (กรัมของแข็งระเหยได้) มีควบคุมทางลบใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ชุดควบคุมทางบวกใช้เซลลูโลสแทนตัวอย่าง และชุดควบคุมวัตถุดิบใช้น้ำกลั่นแทนกล้าเชื้อ ส่วนเศษอาหารเติมผักตบชวา 2 4 6 8 และ 10 (กรัมของแข็งระเหยได้) และใช้ชุดควบคุมเหมือนผักตบชวา ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลองแบบ 3 ซ้ำ วัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นที่ช่วงเวลาต่างๆ ซึ่งการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจะวัดจนระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว หรือไม่มีการผลิตก๊าซเกิดเพิ่มขึ้น การทดลองนี้ทำการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นโดยวิธีการแทนที่น้ำ วัดองค์ประกอบ ของก๊าซชีวภาพทั้งหมดด้วยเครื่อง Gas chromatography – TCD (Shinadzu GC-8A, Japan) โดยใช้ปริมาตรตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร Inches 120 Oven 40 ความดัน 5 bar (Hniman *et. al.*, 2011) นำค่าปริมาตรก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นไปใช้หาค่าศักยภาพในการผลิตและผลได้ (yield) ในการผลิตก๊าซมีเทนจากผักตบชวา

3.4 ศึกษาการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหาร

ศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารโดยใส่ตัวอย่างลงในขวดปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีปริมาตรกล้าเชื้อ (Inoculum) 80 มิลลิลิตร เตรียมกล้าเชื้อให้มีค่าของแข็งแขวนลอยระเหยได้เท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร เติมผักตบชวาและของเสียเศษอาหารผสมในอัตราส่วน 10:0 9:1 8:2 7:3 6:4 และ 5:5 ชุดควบคุมทางบวกใช้เซลลูโลส (avicell) แทนตัวอย่าง และชุดควบคุมวัตถุดิบใช้น้ำกลั่นแทนกล้าเชื้อ (ตารางที่ 1) ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลองแบบ 3 ซ้ำ วัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นที่ช่วงเวลาต่างๆ ซึ่งการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจะวัดจนระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว หรือไม่มีการผลิตก๊าซเกิดเพิ่มขึ้น การทดลองนี้ทำการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นโดยวิธีการแทนที่น้ำ วัดองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพทั้งหมดด้วยเครื่อง Gas chromatography – TCD (Shinadzu GC-8A, Japan) โดยใช้ปริมาตรตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร Inches 120 Oven 40 ความดัน 5 bar (Hniman *et al.*, 2011) นำค่าปริมาตรก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นไปใช้หาค่าศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนโดยการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหาร

ตารางที่ 1 ปริมาตรตัวอย่างและกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมักที่ใช้ผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร

ร้อยละของผักตบชวา	อัตราส่วน WH: FW	กล้าเชื้อ (มิลลิลิตร)	ผักตบชวา (WH) (กรัม)	เศษอาหาร (FW) (กรัม)	น้ำ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)
100	10: 0	80	40	0	0	120
90	9 :1	80	36	4	0	120
80	8 :2	80	32	8	0	120
70	7 :3	80	28	12	0	120
60	6 :4	80	24	16	0	120
50	5 :5	80	20	20	0	120
Blank	0	80	0	0	40	120
Control	0	80	2% cellulose		38	120

3.5 วิธีศึกษาผลของการเตรียมผักตบชวาต่อการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพ

โดยการเตรียมผักตบชวาด้วย ร้อยละ 6 โดยปริมาตรของ CaO ร้อยละ 2 โดยปริมาตรของ H_2SO_4 ร้อยละ 7.5 โดยปริมาตรของลูกแป้ง Microwave 500 วันต์ 5 นาที และ หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว โดยใส่

ตัวอย่างที่เตรียมแล้วลงในขวดปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีปริมาตรกล้าเชื้อ (Inoculum) 80 มิลลิลิตร เตรียมกล้าเชื้อให้มีค่าของแข็งแขวนลอยระเหยได้เท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร โดยใช้ผักตบชวาที่เตรียมแล้วผสมกับเศษอาหารตามอัตราส่วนที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองที่ 4 และใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองที่ 4 เป็นชุดควบคุมแต่เติมผักตบชวาที่ไม่เตรียมลงไปแทน ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการทดลองแบบ 3 ซ้ำ วัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นที่ช่วงเวลาต่างๆ ซึ่งการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจะวัดจนระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว หรือไม่มีการผลิตก๊าซเกิดเพิ่มขึ้น การทดลองนี้ทำการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นโดยวิธีการแทนที่น้ำ วัดองค์ประกอบ ของก๊าซชีวภาพทั้งหมดด้วยเครื่อง Gas chromatography – TCD (Shinadzu GC-8A, Japan) โดยใช้ปริมาตรตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร Inches 120 Oven 40 ความดัน 5 bar (Hniman *et al.*, 2011) นำค่าปริมาตรก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นไปใช้หาค่าศักยภาพแนวทางการเพิ่มผลผลิตก๊าซมีเทนจากผักตบชวา

3.6 ศึกษาผลของภาระบรรทุกสารอินทรีย์และระยะเวลาเก็บกักวัสดุหมักเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพด้วยระบบ CSTR

ทำการทดลองโดยใช้ถังหมักขนาด 1 ลิตร (ปริมาตรใช้งาน 0.5 ลิตร) เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ (steady state) ทำการทดลองแบบ full factorial โดยแปรค่าปริมาณกาก VS ของของเสียอินทรีย์ผสม จากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 5 เป็น 2-10 g VS/l/d ที่ระยะเวลาเก็บกัก 15, 8 และ 4 วัน โดยในระหว่างการหมักมีการกวนผสมวัสดุหมักเพื่อให้วัสดุหมักมีการผสมได้ดี เก็บตัวอย่างของเหลวเพื่อวิเคราะห์ค่าพีเอชทุกวัน และวิเคราะห์หาค่าซีโอดี และกรดไขมันระเหยง่าย ทุกสัปดาห์ และวัดปริมาณก๊าซที่ผลิตขึ้นทุกวันในถังเก็บก๊าซโดยดูปริมาณการแทนที่น้ำและเก็บตัวอย่างก๊าซทุกสัปดาห์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี เมื่อเข้าสู่สภาวะคงที่วิเคราะห์ค่าได้แก่ พีเอช บีโอดี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย กรดไขมันระเหยง่ายและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (AOAC, 1990; APHA, AWWA and WEF, 1998) คำนวณผลผลิตก๊าซมีเทน และประสิทธิภาพการบำบัดสารอินทรีย์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำกากของแข็งที่เหลือไปทดสอบคุณสมบัติด้านปุ๋ยโดยนำไปวิเคราะห์ค่าไนโตรเจนฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม ติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE เพื่อนำความรู้ไปแก้ไขปัญหาความไม่เสถียรของระบบในการดำเนินระยะยาว

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของผักตบชวาจากแหล่งต่างๆและของเสียเศษอาหาร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของผักตบชวาและของเสียเศษอาหารผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2 พบว่าผักตบชวาและของเสียเศษอาหารที่ใช้ในการทดลองมีค่าซีโอดีทั้งหมดเท่ากับ 11.4 และ 50.4 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ผักตบชวามีสารอินทรีย์น้อยการหมักร่วมกับของเสียเศษอาหารที่มีสารอินทรีย์สูงจะช่วยเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้ ผักตบชวามีสารอินทรีย์ประมาณร้อยละ 31 สารอินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลสประมาณร้อยละ43 มีพีเอชเป็นกลาง ของเสียเศษอาหารมีสารอินทรีย์ร้อยละ 56 ส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตและมีพีเอชต่ำ (pH=4)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของผักตบชวาและของเสียเศษอาหาร

องค์ประกอบ	วัตถุดิบ	
	ผักตบชวา	ของเสียเศษอาหาร
Total solids (TS) (%w/w)	48.2	68.2
Volatile solids (VS) (%w/w)	31.3	56.3
COD (g/kg)	11.4	50.4
Total nitrogen (%w/w)	2.1	4.3
Oil (%w/w)	1.1	6.6
Alkalinity (mg $CaCO_3$/g)	3.3	0.5
pH	7.0	4
Cellulose (%w/w)	43.0	ND
Hemicellulose (%w/w)	26.7	ND
Lignin (%w/w)	30.4	ND

4.2 ผลการทดลองศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาแหล่งต่างๆ

ศักยภาพในการการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาแหล่งต่างๆโดยวิธีแบบกะ (Batch) พบว่าผักตบชวาแต่ละแหล่งที่นำมาผลิตมีเทนถูกย่อยสลายทางชีวภาพแบบไม่ใช้อากาศได้ร้อยละ 50 จากปริมาณก๊าซมีเทนสะสมต่อวัน แสดงดังรูปที่ 1 พบว่าผักตบชวาจากแม่น้ำ ฟาร์ม ระบบบำบัดน้ำเสีย ทะเลสาบ และบ่อน้ำ ให้ก๊าซมีเทนสะสมเท่ากับ 453 509 465 462 และ 475 มิลลิลิตร ให้ผลได้

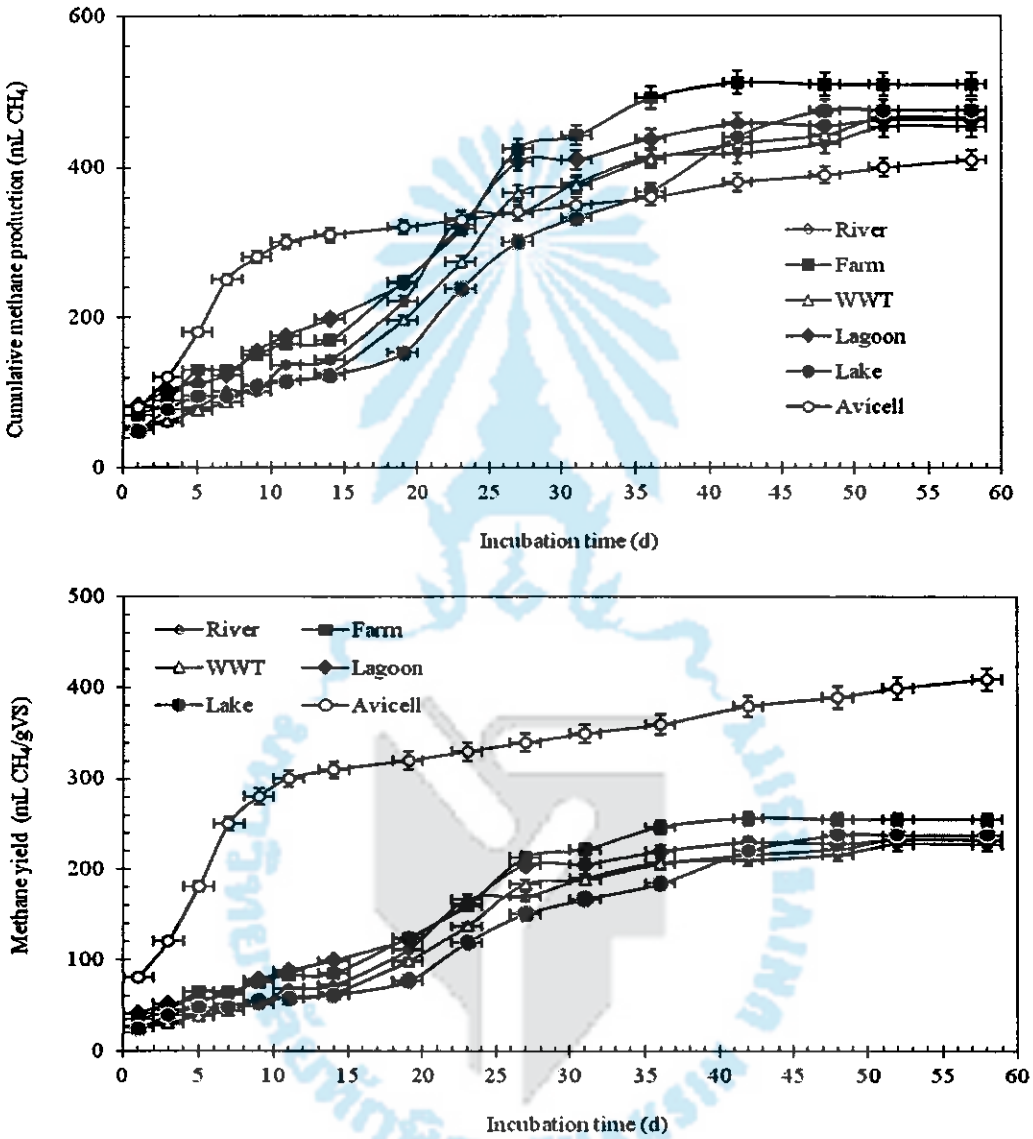
มีเทน เท่ากับ 226 254 232 231 และ 237 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ แสดงว่าผักตบชวาทุกแหล่งมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพและก๊าซมีเทนได้ใกล้เคียงกัน จากการศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาแหล่งต่างๆ ที่เกิดจากการหมักก๊าซชีวภาพโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพและก๊าซมีเทนมีปริมาณค่อนข้างต่ำและไม่แตกต่างกันในแต่ละแหล่ง ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้คล้ายกับงานวิจัยของ เพชร กตัญญูกุล และ สายทิพย์ ปฐมรัตน์ (1979) ที่ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากเศษพืชต่างๆ จากการทดลอง พบว่า ผักตบชวา หญ้านวลน้อย ใบสนปตินัทธ์ และหญ้าขน สามารถนำมาหมักทำก๊าซชีวภาพได้น้อย (150-250 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้) แต่ได้ปุ๋ยอินทรีย์เป็นผลพลอยได้

4.3 ผลการทดลองศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร

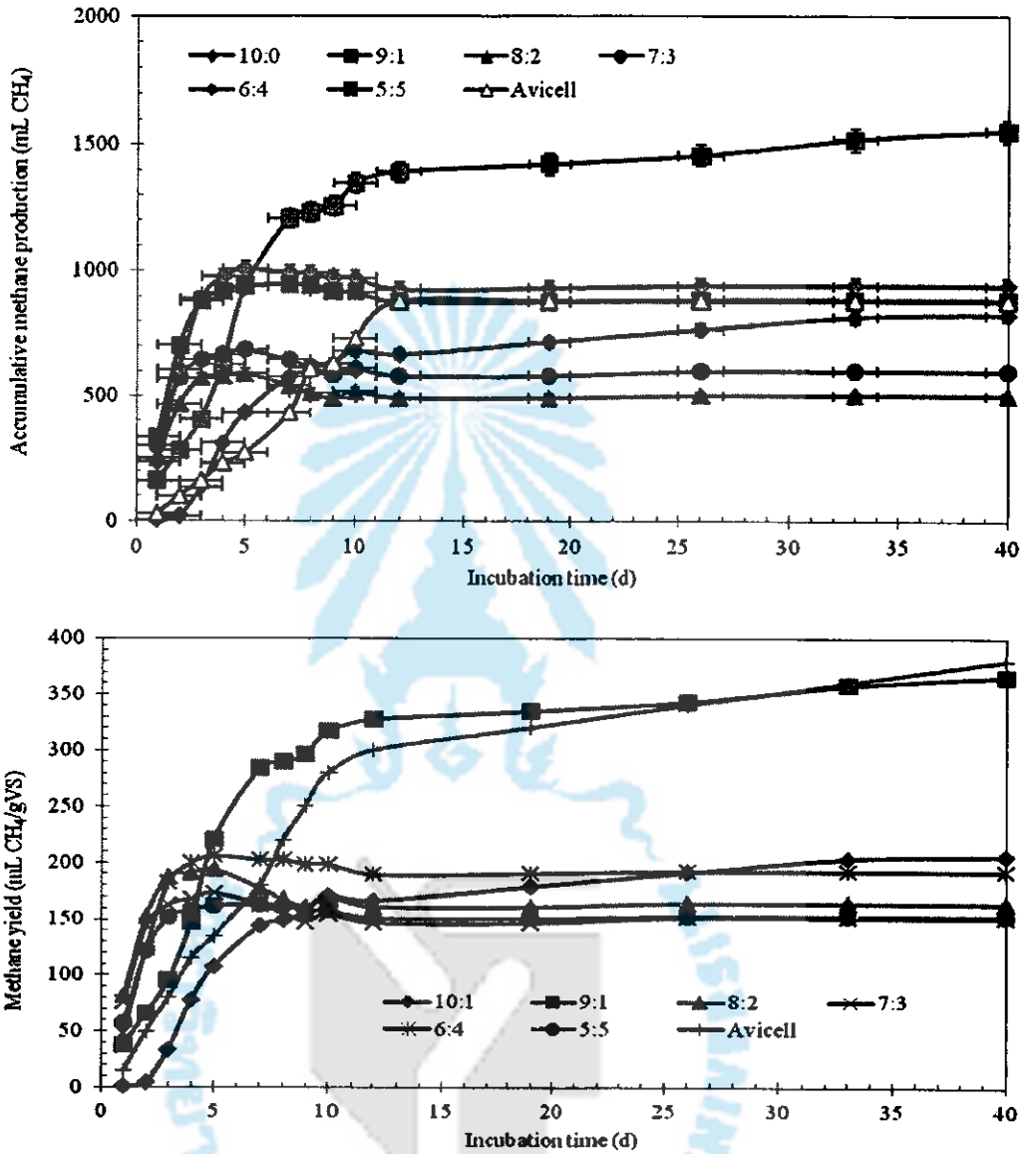
ผักตบชวาแต่ละแหล่งมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพไม่มีความแตกต่างกัน ศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการหมักร่วมผักชวากับของเสียเศษอาหารโดยใช้อัตราส่วนผักตบชวาต่อของเสียเศษอาหาร 10:0 9:1 8:2 7:3 6:4 และ 5:5 มีค่าศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ 220 475.53 43.15 38.499 46.05 และ 49.06. มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ อัตราส่วนผักตบชวาต่อของเสียเศษอาหาร 9:1 มีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงที่สุด เนื่องจากที่อัตราส่วน 9:1 จะมีส่วนผสมของของเสียเศษอาหาร 1 ส่วน ต่อ ผักตบชวา 9 ส่วน ซึ่งในของเสียเศษอาหารจะมีสารอาหารจำพวก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็นแหล่งอาหารอย่างดีให้กับจุลินทรีย์ แต่หากมีการใช้อัตราส่วนของของเสียเศษอาหารมากเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์ในกลุ่มสร้างกรดทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็นกรดระเหยง่ายมากขึ้น เมื่อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนไม่สามารถย่อยสลายกรดระเหยง่ายได้ทันจะทำให้เกิดการสะสมของกรดระเหยง่ายมากขึ้น ส่งผลให้ค่า pH ในระบบลดลง หาก pH ต่ำกว่า 6.2 จะทำให้เกิดไฮโดรเจนอิออนมากซึ่งมีพิษรุนแรงต่อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน

จากรูปที่ 2 แสดงถึงปริมาตรการผลิตก๊าซชีวภาพโดยการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหาร พบว่า อัตราส่วนผักตบชวาต่อของเสียเศษอาหาร 9:1 มีปริมาตรการผลิตก๊าซชีวภาพสูงสุด คือ 1552 มิลลิลิตร จากการศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร ที่เกิดจากการหมักก๊าซชีวภาพโดยการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพมีความแตกต่างกัน พบว่า อัตราส่วนของผักตบชวาต่อของเสียเศษอาหารที่ทำให้เกิดก๊าซชีวภาพและก๊าซมีเทนสูงสุด คือ อัตราส่วน 9:1 รองลงมา คือ 10:0 6:4 8:2 5:5 และ 7:3 ตามลำดับ ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้คล้ายกับงานวิจัยของ Chanakya *et al.* (1993) ที่ศึกษาการนำขยะตลาดสดมาผลิตก๊าซมีเทน ซึ่งสามารถผลิตก๊าซมีเทนได้มากกว่า 0.5 ลิตรต่อวัน หรือประมาณ 250 ถึง 300 ลิตรต่อกิโลกรัม และยังสอดคล้องกับ Ranade *et al.* (1987) ที่ศึกษาการนำเศษผักและผลไม้จากตลาดสด มาทำการหมักในสภาวะไร้อากาศในถังหมักขนาด 25 ลิตร พบว่า ให้ก๊าซชีวภาพ

สูงสุด 17.5 ลิตร ที่ระยะเวลาการเก็บกัก 20 วันและที่อัตราการป้อนวัตถุดิบที่สูงกว่านี้ ระบบเริ่มเกิดการสะสมของกรดอินทรีย์ซึ่งมีผลให้อัตราการเกิดก๊าซชีวภาพลดลง



รูปที่ 1 ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยผักตบชวาแหล่งต่างๆ(ก.) ผลได้มีเทนจากผักตบชวาแหล่งต่างๆ (ข.)

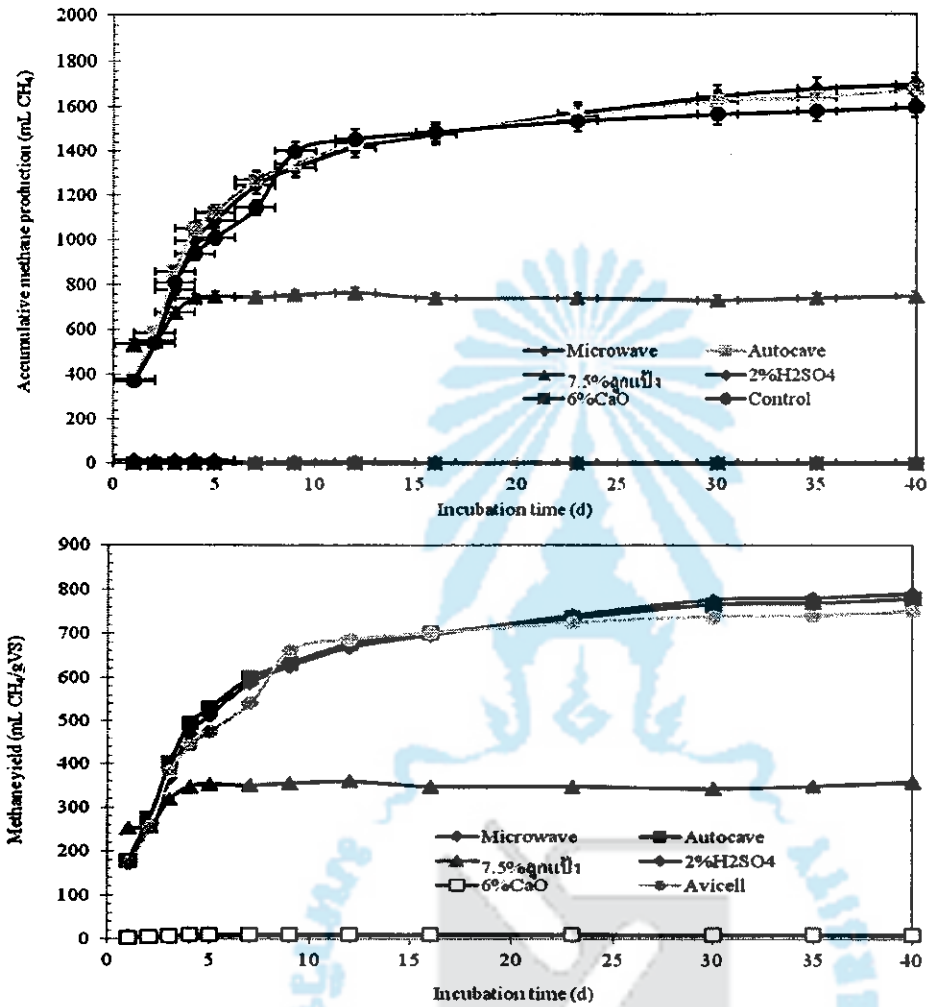


รูปที่ 2 ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วนต่างๆ(ก.) ผลได้มีเทนการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วนต่าง (ข.)

4.4 ผลการทดลองแนวทางในการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพจากผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร

การเตรียมผักตบชวาด้วยร้อยละ 6 CaO ร้อยละ 2 H_2SO_4 ร้อยละ 7.5 ลูกแป้ง ใช้ Microwave 500 W 5 นาทีและ การระเบิดด้วยไอน้ำ 220 องศาเซลเซียส 3 นาที ย่อยร่วมที่อัตราส่วน 9:1 มีค่าศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ 65.15 3.32 10.26 437.204 และ 435.77 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ การเตรียมผักตบชวาด้วย Microwave ร้อยละ 2 ของ

กรดซัลฟิวริก และ หม้อนึ่งความดันไอ ให้ศักยภาพในการเพิ่มผลิตก๊าซชีวภาพ แตกต่างกับการเตรียมผักตบชวาด้วยร้อยละ 6 CaO และร้อยละ 7.5 ลูกแป้งอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) จากภาพที่ 3 พบว่าแนวทางการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพโดยการเตรียมผักตบชวาด้วยการย่อยผักตบชวาด้วย Microwave 500 วัตต์ 5 นาทีร้อยละ 2 H_2SO_4 และ หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที สามารถผลิตก๊าซชีวภาพสะสมสูงสุด เท่ากับ 1565 – 1645 มิลลิลิตร Balat, et al. (2008) พบว่าการปรับสภาพตัวอย่างด้วยแรงดันไอน้ำ เป็นการใช้ อุณหภูมิสูง และ ใช้ความดันเป็นการทำลายโครงสร้างภายในของเส้นใยของชีวมวล ซึ่งประกอบไปด้วย เฮมิเซลลูโลส เพื่อเป็นการย่อยสลายเพื่อให้ได้มาซึ่ง น้ำตาลกลูโคส และ น้ำตาล ไซโลส ที่เป็นสารตั้งต้นที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อผลิตมีเทน การย่อยผักตบชวาด้วย ร้อยละ 6 CaO และ ร้อยละ 7.5 ลูกแป้ง ส่งผลให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทน มีค่า pH ที่สูงหรือต่ำเกินไป ส่งผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ ในส่วนของการปรับสภาพด้วย ร้อยละ 7.5 โดยปริมาตรของลูกแป้ง และร้อยละ 6 CaO พบว่าให้ผลได้มีเทนในปริมาณที่ต่ำ เนื่องจากมีส่วนประกอบของกรดไขมันระเหยได้อยู่มาก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4,484.5 และ 443.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh, et al. (2013) ที่กล่าวว่าการปรับสภาพตัวอย่างด้วยด่าง มีข้อเสียหลายอย่าง เนื่องจากการย่อยของด่างทำให้ผลิต เพนโตส เฮกโซส และ สารประกอบที่เป็นพิษ เช่น ฟอฟู่รัล กรดอะซิกติก ไฮดรอกซีเมททิลฟอฟู่รัล กรดฟอร์มิก ซึ่งเป็นตัวยับยั้งในกระบวนการผลิตมีเทน ทำให้ได้อัตราผลได้มีเทนอยู่ในระดับต่ำ ส่งผลความเป็นกรดเบสภายในระบบหมัก ซึ่งเมื่อ พีเอช ลดลงต่ำกว่า 6 ซึ่งต่ำกว่าช่วงpH ที่เหมาะสม คือ 6.5-8 ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของการย่อยสลายแบบไร้อากาศ เนื่องจากไม่สามารถความคุมบัฟเฟอร์และธาตุอาหารให้เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายแบบไร้อากาศ (Yao, et al. 2014) จากผลการศึกษาพบว่า วิธีการปรับสภาพตัวอย่างด้วย Microwave 500 วัตต์ 5 นาที และ หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว มีค่าผลได้มีเทนที่ไม่แตกต่างกัน จากการวิจัยในครั้งนี้เลือกวิธีการปรับสภาพตัวอย่างด้วยวิธีการ Microwave เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกันในหน่วย ต้นทุนที่ใช้ในการปรับภาพด้วยวิธีการ Autoclave ใช้ต้นทุนด้านพลังงานในการปรับสภาพที่มากกว่า ในส่วนของความสะดวกและความรวดเร็วในการทำการปรับสภาพ วิธีการปรับสภาพด้วย ร้อยละ 2 H_2SO_4 และ Autoclave ใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพที่นานกว่าวิธี Microwave งานวิจัยในครั้งนี้ วิธีการปรับสภาพตัวอย่างด้วย Microwave เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด



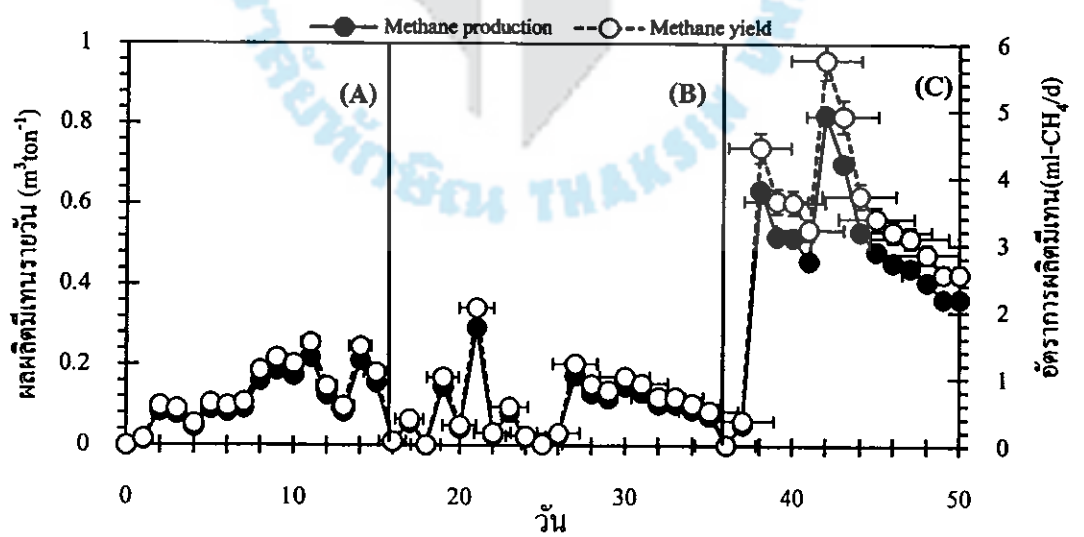
รูปที่ 3 ปริมาตรการผลิตมีเทนสะสมจากการย่อยร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วน 9:1 และเตรียมผักตบชวาด้วยวิธีการต่างๆ(ก.) ผลได้มีเทนการย่อยร่วมผักตบชวาเตรียมด้วยกระบวนการทางเคมีกายภาพกับของเสียเศษอาหารที่อัตราส่วน9:1 (ข.)

4.5 ศึกษาศักยภาพการผลิตแก๊สชีวภาพจากการย่อยสลายร่วมไร้อากาศในระบบกึ่งต่อเนื่อง

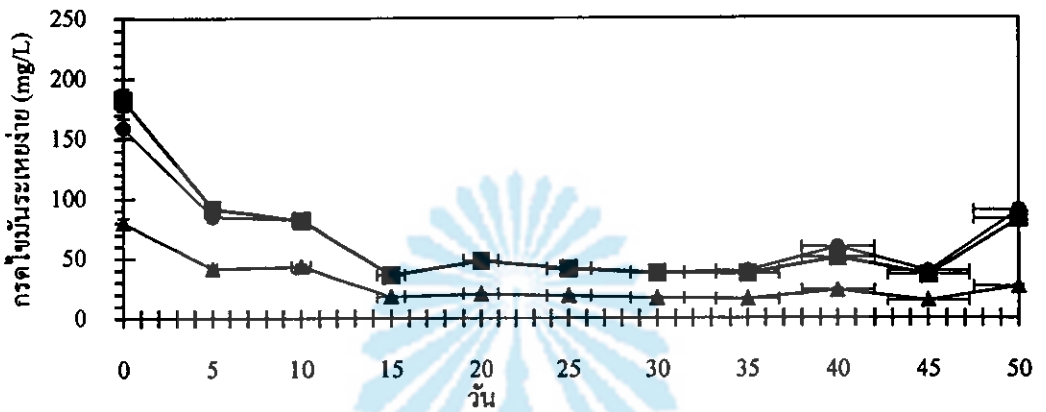
ทำการทดลองการผลิตแก๊สชีวภาพในถังหมักขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีปริมาตรใช้งาน 0.5 ลิตร ระยะเวลาในกักเก็บการหมักทั้งหมด 45 วัน ซึ่งทำการหมุนเวียนวัสดุหมักทุกๆ 15 วัน โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตมีเทน โดยใช้วัตถุดิบในการหมักผักตบชวาที่ไม่รปรับสภาพ (A, B) และ ผักตบชวาที่ปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟ (C) ดังภาพที่ 4 จากการศึกษาพบว่าปริมาณแก๊สชีวภาพสะสมมีค่าเท่ากับ 78,960 มิลลิลิตรแก๊สชีวภาพ ผลได้มีเทน (Yield) รายวัน และ ผลผลิต

มีเทน (Production) รายวัน เปรียบเทียบ ระหว่างผักตบที่ปรับสภาพ (A, B) และไม่ปรับสภาพ (C) ดังภาพที่ 4 ให้ผลได้มีเทน เท่ากับ 612.82, 319.94 และ 300.14 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับค่า pH ตลอดระยะเวลาทำการศึกษาอยู่ในช่วง 7.17–7.66 ปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ในช่วง 7.42-10.66% ปริมาณของแข็งระเหยได้ อยู่ในช่วง 5.56-7.42%

การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย โดยทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายที่เกิดขึ้นตลอดการหมัก พบว่า มีการสะสมของกรดไขมันระเหยง่ายตลอดระยะเวลาในการหมัก 2,055.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการติดตามการการเกิดกรดไขมันระเหยง่าย โดยเก็บตัวอย่างแต่ละสัปดาห์ พบว่า ในการทำการทดลองแบบต่อเนื่อง พบกรดไขมันระเหยง่ายทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพพิโอนิค และกรดบิวทีริก ดังภาพที่ 5 ในส่วนของการศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา พบว่า มีปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายสะสม มีค่าเท่ากับ 2.5 กรัมต่อลิตร มีค่าอยู่ในปริมาณที่ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในการผลิตมีเทน โดยสังเกตจากค่าพีเอช ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 7-8 ซึ่งงานวิจัยของForgacs (2012) ทำการศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพ จากการหมักร่วมระหว่าง ส้มที่เสียและ ขนไก่ โดยการปรับสภาพด้วยแรงดันไอน้ำ ในระบบต่อเนื่องที่ปริมาตร 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียล พบว่า มีผลได้มีเทน 0.5555±0.016 m^3/kgVS และงานวิจัยของ Yue, et al. (2013) ทำการศึกษาผลของการหมักร่วม ระหว่าง ซังข้าวโพดและ มูลวัว ด้วยกระบวนการย่อยสลายไร้อากาศ ด้วยระบบ CSTR แบบต่อเนื่อง ที่ระยะเวลากักเก็บ 40 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียล พบว่าสามารถผลิตแก๊สชีวภาพได้สูงสุด 497 ml/gTS และยังสอดคล้องกับงานวิจัย Cavinato et al. (2010) ศึกษาการย่อยสลายร่วมไร้อากาศ มูลวัวและ ของเสียทางการเกษตรให้ผลได้แก๊สชีวภาพเท่ากับ 0.45-0.62 m^3/kgVS และมีผลได้มีเทน 52.3%



รูปที่ 4 ปริมาณผลผลิตมีเทนรายวัน และปริมาณผลได้มีเทน (Yield) รายวัน การหมักผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (A, B) และ ผักตบชวาที่ปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟ (C)



รูปที่ 5 ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายของการหมักร่วมแบบไร้อากาศในระบบถังกวนแบบต่อเนื่อง

ตารางที่ 3 ผลได้มีเทน (Yield) ผลผลิตมีเทน (Production)สูงสุดรายวันจากการผลิตมีเทนด้วยระบบกึ่งต่อเนื่อง การหมักผักตบชวาที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (A, B) และ ผักตบชวาที่ปรับสภาพด้วย ไมโครเวฟ (C)

ช่วงการหมัก	ปริมาณมีเทนสะสม (mL CH_4)	ผลได้มีเทน (mL-CH_4/gVS)	อัตราการผลิตมีเทน (m^3/d)
(A)	6523.98	300.15	1.80
(B)	6091.65	319.95	1.68
(C)	24395.42	620.75	6.77

ในส่วนของการศึกษาการติดตามโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ ด้วยเทคนิค DGGE โดยทำการเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ที่พบ ภายในระบบการผลิตมีเทนในระบบกึ่งต่อเนื่อง ทั้งหมด 10 จีนัส โดยแบ่งเป็น วันแรกของการหมักวันที่ 15 ของการทำการหมัก วันที่ 35 ของการทำการหมัก และ วันที่ 50 ของการทำการหมักจากการศึกษาพบว่า ช่วงวันแรก พบทั้งหมดแบคทีเรียทั้งหมด 2 จีนัส ประกอบด้วย *Bifidobacterium* sp., *Clostridium* sp. วันที่ 15 พบแบคทีเรียทั้งหมด 3 จีนัส ประกอบด้วย *Rhodothermus* sp., *Ruminococcus* sp., *Clostridium* sp., *Desulfonatronovibrio* sp. วันที่ 35 ของการทำการหมักพบแบคทีเรียทั้งหมด 3 จีนัส ซึ่งประกอบด้วย *Flavobacterium* sp. ,*Anabaena* sp. *Moheibacter* sp. และวันสุดท้ายของการทำ

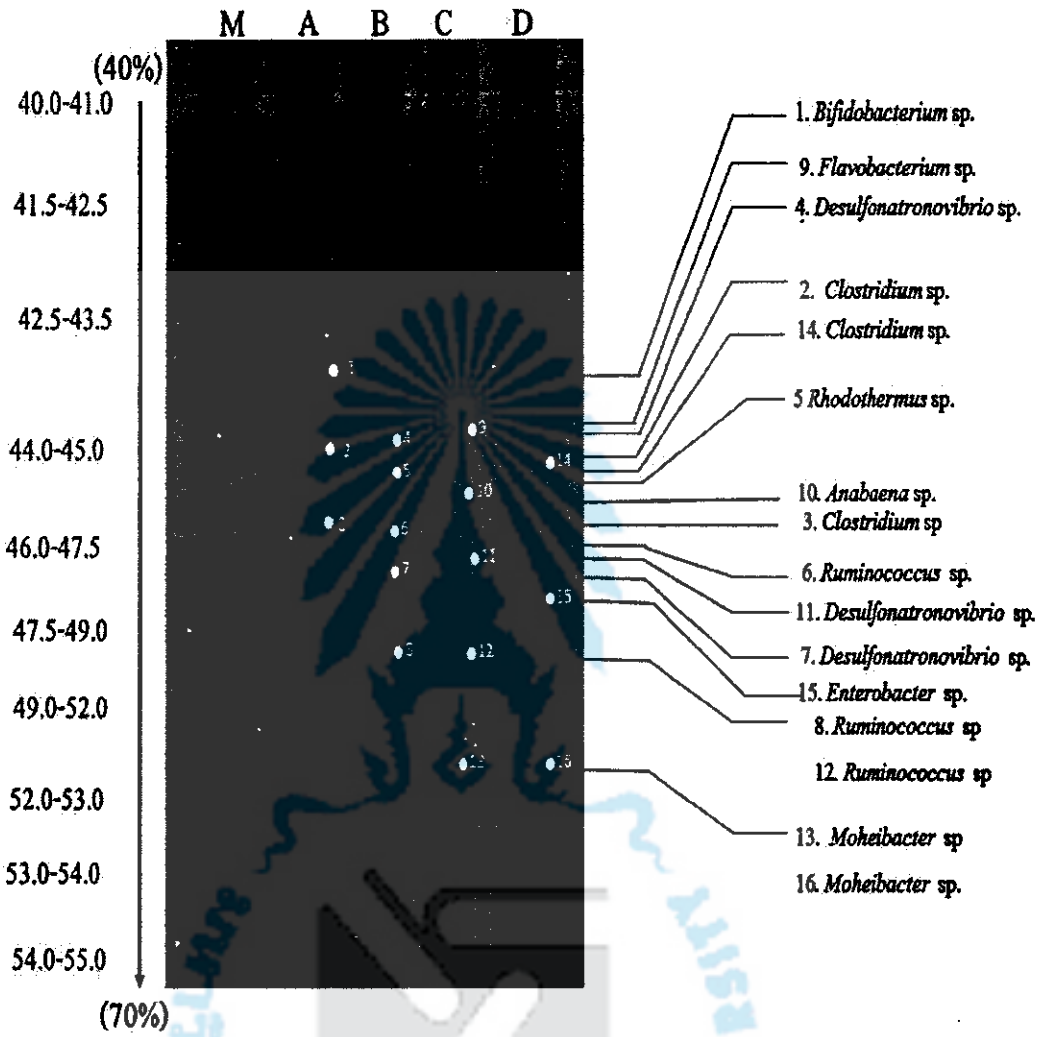
การหมัก พบแบคทีเรียทั้งหมด 1 จีนัส ประกอบด้วย *Enterobacter* sp. ดังภาพที่ 7 และ 8 จากการศึกษาพบประชากรอาเคียร์ ทั้งหมด 4 จีนัส ซึ่งประกอบด้วย *Methanoculleus* sp. *Methanothrix* sp., *Methanosarcina* sp., *Methanosaeta* sp.

จากการศึกษาติดตามโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ พบว่า จุลินทรีย์กลุ่มเด่นคือ *Clostridium* sp.,*Ruminococcus* sp. ,*Moheibacter* sp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ กลุ่ม ไฮโดรไลติก โดยแบคทีเรียจะสามารถสร้าง เอนไซม์เซลลูเลส ออกมาย่อยเซลลูโลส ให้กลายเป็นน้ำตาล และกรดอินทรีย์ ซึ่งสามารถจัดจำแนกแบคทีเรียที่พบในการทดลองออกเป็นกลุ่มในขั้นตอนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ โดยจากการศึกษาสามารถจำแนกออก 2 กลุ่มคือ กลุ่มไฮโลไลติก (Hydrolytic) โดยจะพบในขั้นตอน ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ประกอบด้วย *Bifidobacterium* sp. และ *Rhodothermas* sp. *Clostridium* sp.,*Ruminococcus* sp. ,*Moheibacter* sp. โดยมีหน้าที่ในการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลเล็กลง แบคทีเรียกลุ่ม อะซิโตจีนิก (Acetogenic) พบในขั้นตอน ที่พบในขั้นตอน อะซิโตเจนีซิส (Acetogenesis) ประกอบด้วย *Flavobacterium* sp., *Desulfonatronovibrio* sp. , *Anabaena* sp. , *Enterobacter* sp., *Clostridium* sp., *Ruminococcus* sp., *Moheibacter* sp โดยมีหน้าที่ผลิตกรด โดยจะเป็นจากกรดอินทรีย์ ในขั้นตอนไฮโดรไลซิส กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน ในช่วงวันแรกของการทำการศึกษาพบกลุ่มตัวอย่างแบคทีเรียในปริมาณน้อย หลังจากผ่านไป 15 วัน และ 30 วัน พบความหลากหลายของจำนวนประชากรแบคทีเรียเพิ่มขึ้น แต่เมื่อครบ 50 วัน จะเห็นได้ว่า ความหลากหลายของจำนวนประชาก่อนแบคทีเรียลดน้อยลง เป็นผลมาจากวิธีการปรับสภาพตัวอย่างผักตบชวา เป็นการปลดปล่อย สารประกอบที่เป็นสารยับยั้งการเพิ่มจำนวนของประชากรแบคทีเรียในระบบหมัก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ยาน และคณะ (Yan, et al. 2015 :268) ที่ได้ทำการศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์จากการผลิตมีเทน จากซังข้าวโพดด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็ง ซึ่งพบว่า แบคทีเรียกลุ่ม *Clostridium* sp. เป็นกลุ่มเด่นในช่วง การย่อยสลาย 1-7 วัน ซึ่งหลังจาก เจ็ดวันของการย่อยสลายแบคทีเรียกลุ่ม *Clostridium* sp เริ่มมีประชากรลดลง แต่ในทางตรงกันข้าม แบคทีเรียกลุ่ม *Gammaproteobacteria* sp. เริ่มมีประชากรเพิ่มขึ้น

ในส่วนของความหลากหลายของประชากรอาร์เคีย จากการศึกษาพบ *Methanoculleus* sp. และ *Methanosarcina* sp.เป็นกลุ่มเด่น โดยทั่วไปแล้ว ในขั้นตอนการผลิตมีเทน อาศัยความสามารถในการเปลี่ยนจากผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนการสร้างกรด ให้เปลี่ยนเป็นมีเทน ซึ่ง *Methanosarcina* sp.เป็นอาร์เคียในกลุ่ม (Acetoclastic Methanogens) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้กรดเป็นสารตั้งต้นในการผลิตมีเทน *Methanoculleus* sp. เป็นอาร์เคียกลุ่ม (Hydrogenotrophic Methanogens) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้ ไฮโดรเจน และ คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นสารตั้งต้นในการผลิตมีเทน

จากการศึกษาพบว่า *Methanoculleus* sp. และ *Methanosarcina* sp.จะพบอยู่ทุกช่วงเวลาตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาเนื่องจากเป็นอาร์เคียที่มีความสามรถทนต่อสภาวะความเป็นกรดได้สูง แต่ในส่วนของ *Methonothrix* sp. และ *Methanoseata* sp. จะพบอยู่ในช่วงหลังของการหมักเนื่องจากเป็นอาร์เคียที่สามารถทนความเป็นกรดได้ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับ Yang et al. (2008) ศึกษาการผลิตมีเทนจากของเสียกลีเซอรอล ในถังปฏิกรณ์ แบบกึ่งต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิปานกลาง พบว่า พบอาร์เคีย 2 กลุ่มหลักคือ *Methanobacterium* sp. และ *Methanosarcina* sp. และพบแบคทีเรีย *Bacillus sp., Clostridium* sp., *Desulfomaculum* sp. และ *Ruminococcus* sp และงานวิจัยของ Li et al. (2015) ทำการศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ จากกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็ง ที่ อุณหภูมิ ปานกลางและอุณหภูมิสูง พบว่าซึ่ง ที่กระบวนการย่อยสลายไร้อากาศสถานะของแข็ง ที่อุณหภูมิสูงพบอาร์เคีย กลุ่ม *Methanothermobacter* sp.เป็นกลุ่มหลัก ที่กระบวนการย่อยสลายไร้อากาศสถานะของแข็ง ที่อุณหภูมิปานกลางพบ กลุ่ม *Methanoculleus* sp. เป็นกลุ่มหลัก ซึ่งงานวิจัยของ ซัน และคณะ (Sun, et al. 2014) ทำการศึกษาโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ จากการผลิตแก๊สชีวภาพจากตะกอนจุลินทรีย์ที่ปรับสภาพด้วยด่าง พบ ประชากรอาร์เคียกลุ่มหลัก *Methanoseata* sp. และ *Methanosarcina* sp.

การศึกษาการทดสอบคุณสมบัติความเป็นปุ๋ยของตัวอย่างหลังจากการหมัก โดยทำการศึกษาปริมาณ ไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณ โพแทสเซียม จากตัวอย่างที่ได้หลังจากการหมัก โดยทำการเปรียบเทียบกันระหว่างวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ และ วัตถุดิบที่ผ่านการปรับสภาพ จากศึกษาพบว่า ตัวอย่างหลังหมักที่มีการปรับสภาพตัวอย่างก่อนทำการหมัก มีปริมาณฟอสฟอรัสสูงสุด 23.7 กรัมต่อลิตร ปริมาณโพแทสเซียม สูงสุดที่ 3.98 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 3 จากการศึกษาการวัดคุณสมบัติ ศักยภาพความเป็นปุ๋ยหมักทำการวัดปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม จากวัสดุหลังจากกระบวนการหมัก 50 วัน โดยทำการเปรียบเทียบวัสดุหลังจากการหมักที่ ไม่ปรับสภาพก่อนการกระบวนการหมัก เปรียบเทียบกับวัสดุหมักที่มีดการปรับสภาพก่อนการหมัก ตามลำดับ พบว่า มีปริมาณไนโตรเจน 1.62 1.23 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ปริมาณฟอสฟอรัส 13.75 23.7 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และปริมาณโพแทสเซียม 3.58 3.98 กรัมต่อลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Das, et al. (2011) ทำการศึกษาการผลิตปุ๋ยหมักจากตะกอนจากกระบวนการผลิตน้ำมันสบู่ดำ (Deoiled cake) หมักร่วมกับฟางข้าว และมูลสัตว์ชนิดต่างๆ โดยทำการหมักเป็นเวลา 25 วัน พบว่า ปุ๋ยหมักที่ได้มีปริมาณไนโตรเจน อยู่ในช่วง 0.013 %-0.095% ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดอยู่ในช่วง 7,128-24,632 ppm และปริมาณโพสแทสเซียมทั้งหมดอยู่ในช่วง 7,237-14,790 ppm



รูปที่ 6 โครงสร้างประชากรแบคทีเรียจากระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็งแบบกึ่งต่อเนื่อง

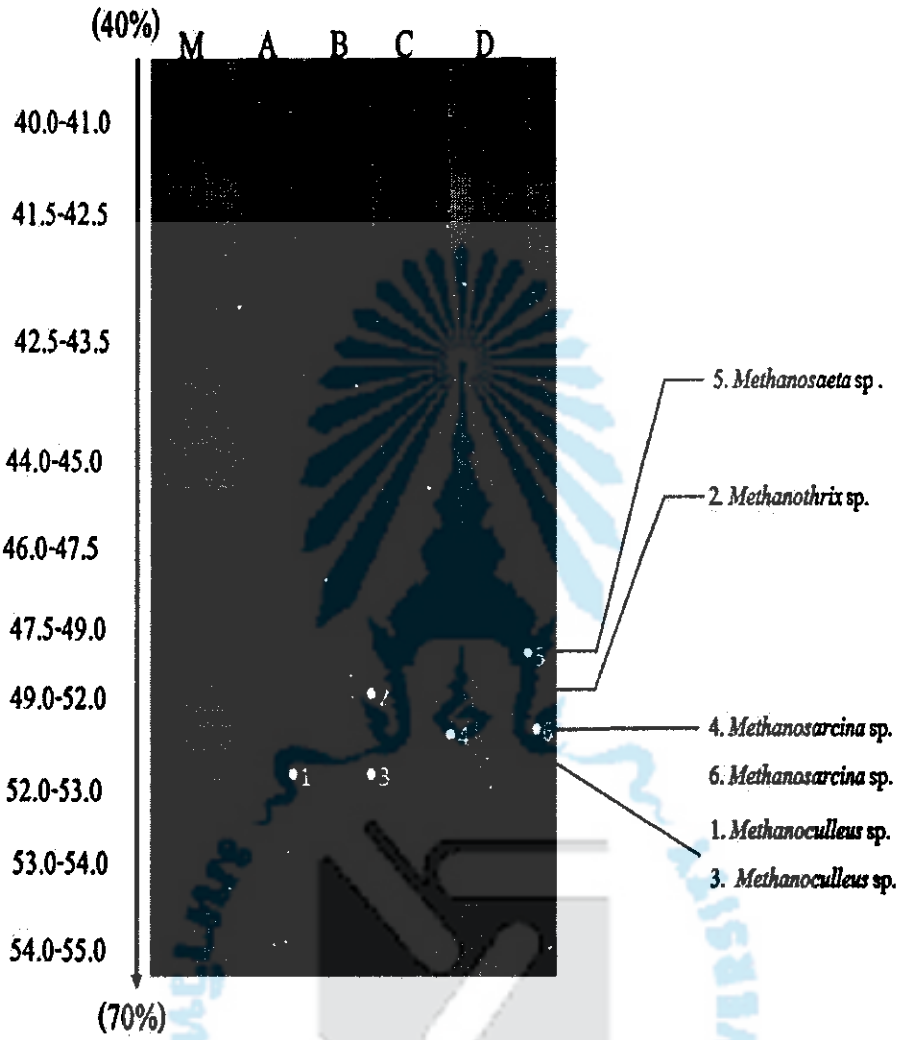
หมายเหตุ M) Maker

A) ตัวอย่างวันแรกของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

B) ตัวอย่างวันที่ 15 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

C) ตัวอย่างวันที่ 35 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

D) ตัวอย่างวันที่ 50 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง



รูปที่ 7 โครงสร้างประชากรแบคทีเรียจากระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศสถานะของแข็งแบบกึ่งต่อเนื่อง

หมายเหตุ M) Maker

A) ตัวอย่างวันแรกของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

B) ตัวอย่างวันที่ 15 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

C) ตัวอย่างวันที่ 35 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

D) ตัวอย่างวันที่ 50 ของการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบกึ่งต่อเนื่อง

ตารางที่ 4 ปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพสแทสเซียมจากตัวอย่างหลังจากการย่อยสลายในระบบต่อเนื่อง

พารามิเตอร์	ตัวอย่างระบบต่อเนื่องไม่ปรับสภาพ (A, B)	ตัวอย่างระบบต่อเนื่องปรับสภาพ (C)
ไนโตรเจน (N) กรัมต่อลิตร	1.62	1.23
ฟอสฟอรัส (P) กรัมต่อลิตร	13.75	23.7
โพแทสเซียม (K) กรัมต่อลิตร	3.58	3.98

มหาวิทยาลัยทักษิณ THAKSIN UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล

ผักตบชวามีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส ร้อยละ 28.7 เฮมิเซลลูโลส ร้อยละ 30.6 และลิกนิน ร้อยละ 25.5 ผักตบชวามีองค์ประกอบที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบที่สามารถผลิตแก๊สชีวภาพ การผลิตแก๊สชีวภาพจากผักตบชวาจากระบบบำบัดน้ำเสียเป็นแนวทางที่ดีที่จะลดมลพิษในแหล่งน้ำและนำผักตบชวามาผลิตพลังงานทดแทนในรูปของแก๊สชีวภาพ ผักตบชวาหมักร่วมของเสียเศษอาหาร ผักตบชวาจากแหล่งต่างๆ คือ แม่น้ำ ฟาร์ม ระบบบำบัดน้ำเสีย ทะเลสาบ และบ่อน้ำ มีศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน 226 254 232 231 และ 237 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ตามลำดับ ผักตบชวาแต่ละแหล่งมีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนไม่แตกต่างกัน ศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนโดยการหมักร่วมผักชวากับของเสียเศษอาหารโดยใช้อัตราส่วนร้อยละ 100 90 80 70 60 และ 50 ให้ค่าศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 220 475 43 38 46 และ 49 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ตามลำดับ อัตราส่วนผักตบชวาร้อยละ 90 ต่อของเสียเศษอาหารร้อยละ10 (9:1) มีศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงที่สุด และให้ค่าพีเอชอยู่ในช่วงที่เหมาะสม (7.5-8.3) การเตรียมผักตบชวาด้วยร้อยละ 6 CaO ร้อยละ 2 H_2SO_4 ร้อยละ 7.5 ลูกแป้ง ใช้เคลื่อนไมโครเวฟ 500 W 5 นาที และ หม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที นำไปย่อยร่วมกับเศษอาหารที่อัตราส่วน 9:1 ให้ค่าศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพ 65 610 300 637 และ 635 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ตามลำดับ การเตรียมผักตบชวาด้วยเคลื่อนไมโครเวฟ ร้อยละ 2 H_2SO_4 และหม้อนึ่งความดันไอ ให้ค่าศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพสูง (610-637 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผักตบชวาสด (475 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้) และให้ผลผลิตสูงแตกต่างกับการเตรียมผักตบชวาด้วย CaO และลูกแป้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมผักตบชวากับของเสียเศษอาหารในระบบกึ่งต่อเนื่องให้อัตราการผลิตมีเทน 1.8 และ 6.7 ลิตรต่อลิตรต่อวันสอดคล้องกับผลได้มีเทน 319 และ 620 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยได้ พบแบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบหมักคือ *Clostridium* sp. *Ruminococcus* sp. *Moheibacter* sp และ ประชากรอาร์เคียกลุ่มเด่นคือ *Methanoculleus* sp. วัสดุหลังจากการหมักมีปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 1.23 23.7 และ 3.98 กรัมต่อลิตร

บรรณานุกรม

การเกตุ วัฒนสิทธิ์. (2556). การเพิ่มผลผลิตก๊าซมีเทนโดยการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของน้ำทิ้งและวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ

จุฑามาศ ถิระสาโรช และ ผจญ อยู่ยืน (2543). การศึกษาการทำไวน์จากผักตบชวา. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

ทิพย์วัลย์ คำเหมี่ง. (2533). "องค์ประกอบของผักตบชวา," วารสารวิทยาศาสตร์ มข. ปีที่ 5(4), 217-223.

ธันวดี ศรีธาวิรัตน์. (2547). การศึกษากระบวนการทำปุ๋ยหมักจากเศษอาหารร่วมกับเศษวัสดุเศษเหลือทิ้งทางการเกษตร. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

นคร ทิพยาวงศ์. (2553). เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. กรุงเทพฯ : สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย–ญี่ปุ่น).

นพวรรณ สงวนสัตย์ และเพลินจิต ทมทิดชงค์. (2533). "คุณภาพทางกายภาพและเคมีภายหลังการปรับปรุงบึงมักกะสัน," ใน สัมมนาวิชาการระดับชาติครั้งที่ 2 เทคโนโลยีน้ำและน้ำเสีย. (หน้า 266-275). 15-16 มีนาคม 2533, สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมไทย. คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปิยชน สังข์กลิ่นหอม. (2545). การบำบัดและผลิตก๊าซชีวภาพจากขยะเศษอาหาร ด้วยระบบไร้ออกซิเจนแบบท่อไหล. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พัฒนา อนุรักษ์พงศธร และนันทพร วิเศษสมบัติ. (2548). "การใช้กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย RBC เป็นวัสดุร่วมในการทำปุ๋ยหมัก," ใน ประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43.(หน้า 160-167). สาขาสัตวแพทยศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เพ็ญศิริ ประชากิตติกุล. (2551). ผลของอุณหภูมิและสารอาหารเสริมต่อการผลิตแก๊สชีวภาพของกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม วิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ภานุวัตฒน์ ปะรา (2556). การผลิตไฮโดรเจนและมีเทนจากชานอ้อยโดยกระบวนการหมักสองขั้นตอนที่สภาวะเทอร์โมฟิลิก. วิทยานิพนธ์สาขาชีววิทยา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. (2543). คู่มือการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. กรุงเทพฯ : บริษัท แซน อี.68 แลบ.

วุฒิภัณฑ์ คุมมินทร์. (2544). การผลิตแก๊สมีเทนจากขยะเศษอาหารที่ความเข้มข้นสูง โดยการหมักแบบชั้นกรองไร้อากาศ 2 ขั้นตอนร่วมกับวิธีการวนน้ำหมัก. วิทยานิพนธ์สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. (หน้า 114). กรุงเทพฯ : มหาวิทยาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ศุภยางค์ วรวุฒคุณชัย. (2547). การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย กรัมบวกและกรัมลบ. กรุงเทพฯ : บริษัทแอคทีฟ พริ้นท์ จำกัด พิมครั้งที่ 1(20-21)

สมพงศ์ โอทอง และอลิสรา เรืองแสง. (2552). การพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพจากลำต้นปาล์มอย่างมีประสิทธิภาพ. พัทลุง : มหาวิทยาลัยทักษิณ

สุรชัย จอมสมุทรชัย. (2538). การศึกษาการดูดซับแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ด้วยสารดูดซับที่มีเคมีสมบัติแตกต่างกันในระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหล. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

เสริมพล รัตนสุข และไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์. (2524) “การกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและชุมชน,” (หน้า 317). สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

อรทัย ชวาลภาฤทธิ์. (2545). “คู่มือวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย,” กรุงเทพฯ : บริษัทจุดทอง.

อวัสดา ฉลานุวัฒน์. (2545). อิทธิพลของระยะเวลาเก็บกักและอัตราการป้อนอินทรีย์สารต่อการผลิตแก๊สชีวภาพจากเศษอาหาร. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อารียา วิรัชวรกุล. (2546). การผลิตก๊าซชีวภาพจากเศษอาหารโดยกระบวนการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน. ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(จุลชีววิทยา) สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา. : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุดมนันท์ อุดม (2549). ผลของคาโรทีนอยด์สังเคราะห์และสไปรูไลนาต่อการเจริญเติบโต การสะสมคาโรทีนอยด์และภูมิคุ้มกันในปลานิลแดงแปลงเพศ. วิทยานิพนธ์สาขาวาริชศาสตร์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.สงขลา, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Abraham, M and Kurup, G.M. (1996). “ Bioconversion of Tapioca (Manihot esculenta) waste and water hyacinth (Eichhornia crassipes) – Influence of various physico-chemical factors. J. Ferment,” Bioeng. 82, 259–263.

Akano, T. Y., Miura, K., Fukatsu, H., Miyasaka, Y., Ikuta, H., Matsumoto, A., Hamasaki, N., Shioji, T., Mizoguchi, K., Yagi. and I. Maeda. (1996) “Hydrogen production by photosynthetic microorganisms,” Applied Biochemistry and Biotechnology. 57-58(1), 677-688.

Angelidaki, I.M., Alves,D., Bolzonella, L., Borzacconi, JL., Campos, AJ., Guwy, S., Kalyuzhnyi, P., Jenicek. and JP, van Lier (2009). "Defining the biomethane potential BMP of solid organic wastes and energy crop: a proposed protocol for batch assay," Water Science Technology. 59, 927-934.

APHA, AWWA, WEF. (1998). "Standard Methods for the Examination of Water an Wastewater," 20th ed. American Public Health Association : Maryland

Balat, M ., Balat, H., Öz, C. (2008). "Progress in bioethanol processing," Progress in Energy and Combustion Science, 34 (5), 551-573.

Brown, D. and Li, Y. (2013). "Solid state anaerobic co-digestion of yard waste and food waste for biogas production," Bioresource Technology. 127, 275-280.

Cavinato, C., Fatone, F. , Bolzonella, D and Pavan, P. (2010) "Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: Comparison of pilot and full scale experiences", Bioresource Technology . 101(2) : 545-550.

Chanakya, H.N.S., Borgankar, G., Meena. and K.S. Jagadish. (1993). "Solid-phase biogas production with garbage and water hyacinth," Bioresource Technology.40,43-48.

Chen, J.Li,. Xiumin, Li,. Yongdan. and Qin Yongning (2003). "Production of hydrogen and nanocarbon from direct decomposition of undiluted methane on high-nickeled Ni-Cu-alumina catalysts," Chemistry Letters. 32, 424-425.

Cheng, J., Xie, B., Zhou, J., Song, W., and Cen, K. (2010). "Cogeneration of H2 and CH4 from water hyacinth by two-step anaerobic fermentation," International Journal of Hydrogen Energy. 35(7), 0360-3199.

Chongrak, P. and Nawaraj,K. (1996) "An intergerted kinetic model for water hyacinth ponds used for waste water treatment," , Water Research. 32(1), 221-225.

Cornwell D.A., Zoltec, J. and Patrinely, C.D. (1977). "Nutrient Removal by Water Hyacinth,". Joumal of Water Pollution Control Federation. 49(1),57-64.

Das, M., Uppal, H.S., Singh, R., Beri, S., Mohan, K.S., Gupta, V. C., Adholeya, A. (2011). " Co-composting of physic nut (Jatropha curcas) deoiled cake with rice straw and different animal dung," Bioresource Technology. 102(11), 6541-6546.

Fezzani, B. and BenCheikh, R. (2007). "Anaerobic co-digestion of olive mill wastewater

with olive mill solid waste in a tubular digester at mesophilic temperature," Bioresource Technology. 98. 769 – 774.

Forgács Gergely . (2012) Biogas Production from Citrus Wastes and Chicken Feather: Pretreatment and Co-digestion. Thesis For The Degree of Doctor of Philosophy.Sweden : The University of Sweden.

Kiattisak Panpong, Galaya Srisuwan, Sompong O-Thong and Prawit Kongjan. (2014) "Anaerobic Co-digestion of Canned Seafood Wastewater with Glycerol Waste for Enhanced Biogas Production," Energy Procedia. 52, 328-336.

Kiattisak Panpong, Galaya Srisuwan, Sompong O-Thong and Prawit Kongjan. (2014). " Enhanced Biogas Production from Canned Seafood Wastewater by Co-digestion with Glycerol Waste and Wolffia Arrhiza," Energy Procedia , 337-351.

Largus, T.A., Khursheed, K., Muthanna, H.A., Brain, A. and Wrennand, R.D. (2004). "Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater," Trends in Biotechnology. 22, 477-485.

Lay, C.H., Chang,F Y., Chu,C.Y., Chen, C.C., Chi ,Y. C., Hsieh, T. T. (2011). "Enhancement of anaerobic biohydrogen/methane production from cellulose using heat-treated activated sludge," Water Science & Technology. 63(9), :1849-54.

Lee, J. (1997). "Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol," Journal of Biotechnology, 56(1), 1-24.

Lettinga G. (1995). "Anaerobic digestion and wastewater treatment systems," Antonie van Leeuwenhoek. 67, 3-28.

Li, Y., Zhang, R., Chen, C., Liu, G., He, Y. and Liu, X. (2013). "Biogas production from co- digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet, hemi-solid, and solid state conditions," Bioresource Technology . 149, 406–412.

Li, Y.F., Nelson, M.C., Chen, P.-H., Graf, J., Li, Y., Yu, Z. (2015). " Comparison of the microbial communities in solid-state anaerobic digestion (SS-AD) reactors operated at mesophilic and thermophilic temperatures," Appl. Microbiol. Biotechnol. 99, 969–980.

Li,Y., Park,S.Y., Zhu,J. (2011) "Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste," Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15(1), 821-826.

Lin, R., Cheng, J., Song, W., Ding, L., Xie, B., Zhou, J., and Cen, K. (2015) "Characterisation of water hyacinth with microwave-heated alkali pretreatment for enhanced enzymatic digestibility and hydrogen/methane fermentation," Bioresource Technology. 182, 1-7.

Liu, C., Holst, J., Bruggemann, N., Butterbach-Bahl, K., Yao, Z., Han, S. and Zheng, X. (2008). "Effects of irrigation on nitrous oxide, methane and carbon dioxide fluxes in an Inner Mongolian steppe,". Adv Atmos Sci. 25(5), 748-756.

Mass, D.I. and Droste, R.L. (2000). "Comprehensive model of anaerobic digestion of swine manure slurry in a sequencing batch reactor,". Water Res. 34, 3087-3106.

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Guiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M., and Astals, S. (2014). "A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013," Renewable and Sustainable Energy Reviews. 36, 412–427.

Mishima, D., Tateda, M., Ike, M. and Fujita, M. (2006). "Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes," Bioresource Technology. 97(16), 2166-2172.

Molnar, L. and I. Bartha. (1989). "Factors influencing solid-state anaerobic digestion,". Biology Wastes. 28, 15-24.

Mood, S.H., Golfeshan, A.H., Tabatabaei, M., Jouzani, G.S., Najafi, G.H., Gholami, M. and Ardjmand, M. (2013). "Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment," RenewableandSustainableEnergyReviews. 27, 77–93.

Nigam, J.N.. (2002). "Bioconversion of water-hyacinth (Eichhornia crassipes) hemicellulose acid hydrolysate to motor fuel ethanol by xylose–fermenting yeast,"Biotechnology. 97, 107-116

O-Thong, S. Boe, K. and Angelidaki, I. (2012). "Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production," Applied Energy. 93, 648-654

Patil, J.H., Raj, A.M., Shankar, B.B., Shetty,M.K and Kumar, B.P. (2014). "Anaerobic Co-digestion of Water Hyacinth and Primary Waste," Energy Procedia. 52, 572-578.

Ranade, D.R., Teole, T.Y. and Godbole, S.H. (1987). "Production of biogas from market waste," Biomass. 13, 147-153.

Rezania, S., Ponraj, M., Din, M.F., Songip, A.R., Sairan, F.M. and Chelliapan, S. (2015). "The diverse applications of water hyacinth with main focus on sustainable energy and production for new era: An overview," Renewable and Sustainable Energy Reviews. 41:943-954.

Sarkar, N., Ghosh, K. S., Bannerjee, S and Aikat, K (2012). "Bioethanol production from agricultural wastes: An overview" Renewable Energy. (37), 19-27

Shah, F.A., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Raja, I.A and Shah, M.M Co-digestion. (2015). " pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis," Renewable and Sustainable Energy Reviews.42 : 627-642.

Singhal, V. and Rai, J.P.N. (2003). "Biogas production from water hyacinth and channel grass used for phytoremediation of industrial effluents," Bioresource Technology. 86(3), 179 –185.

Sumathi, S., Chai, S.P. and Mohamed, A.R. (2007). "UtiliZation of oil plam as a source of renewable energy in Malaysia," Renewable and Sustainable Energy Reviews. 12(9), 2404-2421.

Sun, R., Xing, D., Jia, J., Zhou, A., Zhang, L. and Ren, N. (2014). " Methane production and microbial community structure for alkaline pretreated waste activated sludge", Bioresource Technology. 169:496-501.

Sun, Y ., Cheng, J . (2002). "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review," Bioresource Technology. 83(1), 1-11.

Tchobanoglous, G., Theisen, H. and Vilal, S. (1993). Integrated solid waste management engineering principle and management issues. California : University of California.

Ueno, Y., Fukui, H. and Goto, M. (2007). "Operation of a Two-Stage Fermentation Process Producing Hydrogen and Methane from Organic Waste," Environmental and Bioengineering Group Kajima Technical Research Institute, 41(4), 1413–1419.

William, K. C., Johannes, H.C., Kathryn , Amatangelo, Ellen, D., Valerie , T.E., Oscar, G., Sarah, E.H., Bart ,H., Hiroko, K., Natalia, P., Helen, M. Q., Louis, S.S., David, A.W., Ian ,J.W., Rien , Aerts., Steven, D.A., Peter, V.B., Victor, B., Alex, C., Terry, V.C., Sandra, D., Eric, G., Diego, E.G., Elena, K., Julia, A.K., Jenny, R., Peter, B.R.,Nadejda, A.S., Victoria, V.M. and Mark, W. (1997). " Plant species triats are the predominant control on litter decompostition rates within biomes worldwide," Eology letter. 11(10), 1065-1071.

Wu, L.J., Higashimori, A., Qin, Y ., Hojo, T., Kubota, K and Li, Y.Y (2016). " Upgrading of mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge by thermophilic pre-fermentation and recycle: Process performance and microbial community analysis," Fuel. 169, 7-14.

Yan, Z., Song, Z., Li, D., Yuan, Y., Liu, X. and Zheng, T. (2015). "The effects of initial substrate concentration, C/N ratio, and temperature on solid-state anaerobic digestion from composting rice straw," Bioresource Technology. 177, 266-273.

Yang, Y., Tsukahara, K. and Sawayama, s. (2008) " Biodegradation and methane production from glycerol-containing synthetic wastes with fixed-bed bioreactor under mesophilic and thermophilic anaerobic conditions", Process Biochemistry. 43(4), : 362-367.

Yao, y., Luo, Y., Yang, Y., Sheng, H., Li, X., Li, T., Song, Y., Zhang, Hua., Chen, S., He, W., He, M., Ren, Y., i Gao, J., Wei, Y., An, L. (2014). "Water free anaerobic co-digestion of vegetable processing waste with cattle slurry for methane production at high total solid content," Energy, 74(1), 309-313.

Yue, Z., Chen, R., Yang, F., MacLellan, J., Marsh, T., Liu, Y and Liao W. (2013) " Effects of dairy manure and corn stover co-digestion on anaerobic

microbes and corresponding digestion performance," Bioresource Technology. 128 : 65-71.

Zhu, J., Yang, L. and Li, Y. (2015). "Comparison of premixing methods for solid-state anaerobic digestion of corn stover," Bioresource Technology. 175, 430-435

Zhu, J., Zheng, Y., Xu, F. and Li, Y. (2014). "Solid-state anaerobic co-digestion of hay and soybean processing waste for biogas production," Bioresource Technology. 154, 240- 247.