รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ศักยภาพการหมักร่วมระหว่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับสาหร่าย และการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย

Potential of Co-digestion of Agricultural Waste with Algae and Study of Biogas Purification by Algae

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัยในงวดที่ผ่านมา ประจำปี 2558

จำนวน 350,000 บาท

หัวหน้าโครงการ กมลดารา เหรียญสุวรรณ

ผู้ร่วมโครงการ อัจฉรา แกล้วกล้า

เอกวิทย์ ตรีเนตร

จุฑามาศ มณีวงศ์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

31 สิงหาคม 2559

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
กิตติกรรมประกาศ	3
บทนำ	4
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	7
การตรวจเอกสาร	8
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	36
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย	46
สรุปผลการวิจัย	64
เอกสารอ้างอิง	65
ภาคผนวก	71

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ 10
ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบค่าความร้อนของก๊าซชีวภาพ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อเชื้อเพลิงในรูปแบบต่างๆ 11
ตารางที่ 3 เกณฑ์ในการปรับปรุงก๊าซชีวภาพตามลักษณะการใช้งาน 14
ตารางที่ 4 การคำนวณองค์ประกอบของก๊าซมีเทน และปริมาณก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* 32
ตารางที่ 5 การศึกษาการทดสอบการหมักก๊าซชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ 39
ตารางที่ 6 การศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 42
ตารางที่ 7 การประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย*Chlorella* sp. 44
ตารางที่ 8 ลักษณะของเชื้อที่แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ 47
ตารางที่ 9 การผลิตก๊าซชีวภาพ เมื่อทำการหมักร่วมกันระหว่าง เศษหญ้า สาหร่าย ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนต่างๆ ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มล. เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน 52
ภาคผนวก 1 สูตรอาหาร Jaworski's Medium (JM) 71
ภาคผนวก 2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน 72
ภาคผนวก 3 องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 73
ภาคผนวก 4 องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 74
ภาคผนวก 5 องค์ประกอบของก๊าซมีเทนหลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 75
ภาคผนวก 6 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ 76

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายเพื่อผลิตเชื้อเพลิงทางชีวภาพ 4
ภาพที่ 2 การติดตั้งระบบกำจัด H_2S โดยใช้สาหร่าย 5
ภาพที่ 3 กรอบแนวคิดของโครงการ 8
ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพในสภาวะไร้อากาศ 10
ภาพที่ 5 เทคโนโลยีการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ 15
ภาพที่ 6 กระบวนการที่ใช้น้ำในการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 16
ภาพที่ 7 กระบวนการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการเปลี่ยนความดัน 16
ภาพที่ 8 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยสารละลายเอมีน 17
ภาพที่ 9 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วย 18
ภาพที่ 10 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการแยกก๊าซใน อุณหภูมิต่ำ 19
ภาพที่ 11 กระบวนการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยเยื่อแผ่นบาง 20
ภาพที่ 12 ลักษณะเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella protothecoides* กำลังขยาย 10^5 เท่า 21
ภาพที่ 13 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในสภาวะ Autotrophic 22
ภาพที่ 14 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในสภาวะ Heterotrophic 22
ภาพที่ 15 โครงสร้างโมเลกุลของ D กลูโคส 25
ภาพที่ 16 แสดงตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในแต่ละกระบวนการของการผลิตก๊าซชีวภาพ 33
ภาพที่ 17 แสดงเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพ 33
ภาพที่ 18 ขั้นตอนการดำเนินงานของโครงการ 37
ภาพที่ 19 ชุดทดสอบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 43
ภาพที่ 20 การประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย*Chlorella* sp. 44
ภาพที่ 21 ลักษณะของเชื้อที่แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้จากการคัดแยกบนอาหาร nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (กำลังขยาย 1,000 เท่า) 48
ภาพที่ 22 องค์ประกอบทางเคมีของเศษหญ้า (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน) ที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0.5 1.0 2.0 4.0 และ 8.0 โดยทำการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 49

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของเศษหญ้า (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน) ที่ผ่านการย่อยด้วย กรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0.5 1.0 2.0 4.0 และ 8.0 ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 49

ภาพที่ 24 การผลิตก๊าซชีวภาพโดยใช้ หญ้าที่ผ่านการย่อยและไม่ผ่านการย่อยมาหมักกับเชื้อที่คัดแยกได้ โดยใช้หญ้า 30 กรัม และหัวเชื้อที่แยกได้จากการทดลอง 300 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงในขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ800 มิลลิลิตร 50

ภาพที่ 25 การผลิตก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เมื่อทำการหมักร่วมกันระหว่าง สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน 53

ภาพที่ 26 การผลิตก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยทำการหมักหญ้า ปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่ สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ทำการเลี้ยงในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน 54

ภาพที่ 27 การเจริญของเชื้อ เมื่อทำการหมักหญ้า ปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่ สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ทำการเลี้ยงในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน 55

ภาพที่ 28 การเตรียมอาหาร Jaworski's Medium สำหรับการขยายหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp. 56

ภาพที่ 29 การเตรียมหัวเชื้อ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย 56

ภาพที่ 30 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะต่างๆ 57

ภาพที่ 31 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน 58

ภาพที่ 32 แสดงการกรองสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อนับจำนวนเซลล์ที่เจริญเติบโต 58

ภาพที่ 33 การทดสอบประเมินระบบการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย *Chlorella* sp. 59

ภาพที่ 34 องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 60

ภาพที่ 35 องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 61

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 36 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ 62
ภาพที่ 37 องค์ประกอบของก๊าซมีเทนหลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย 63

ศักยภาพการหมักร่วมระหว่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับสาหร่ายและการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย

Potential **of Co-digestion of Agricultural Waste with Algae and Study of Biogas Purification by Algae**

กมลดารา เหรียญสุวรรณ[1] จุฑามาศ มณีวงศ์[2] อัจฉรา แกล้วกล้า[2] และเอกวิทย์ตรีเนตร[2]

Kamoldara Reansiwan[1] ChutamasManeewong[2] Achara Kleawkla[2] and Ekawit Threenet[2]

[1]วิทยาลัยพลังงานทดแทน มหาวิทยาลัยแม่โจ้จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[2]วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการพัฒนาการหมักร่วมระหว่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับสาหร่ายและการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย จากการศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมหญ้าและสาหร่าย ในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ สูงสุดคือ 4.2 ลิตร/ลิตรสารตั้งต้น, 3.7 ลิตร/ลิตรสารตั้งต้น, 1.5 ลิตร/ลิตรสารตั้งต้นและ1.9 ลิตร/ลิตรสารตั้งต้นตามลำดับ ผลการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะ Mixotrophic จะมีการเจริญของเซลล์สาหร่ายสูงกว่าที่เลี้ยงภายใต้สภาวะ Autotrophic และ Heterotrophic คือ 7.77 $\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร, 6.67×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 7.18×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะ Mixotrophic และ Heterotrophic เข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 12 ส่วนการเลี้ยงในสภาวะ Autotrophicเข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 15 ของการเลี้ยง ผลการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. พบว่าสามารถลดองค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 22.0-38.4 และลดองค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ ได้ร้อยละ 100 และสามารถเพิ่มองค์ประกอบของก๊าซมีเทนสูงสุดร้อยละ13.6

คำหลัก: สาหร่ายคลอเรลล่า การหมักร่วม การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

Abstract

This study was conducted to show the co-digastion from agricultural waste with algae and the biogas purification using algae. The co-digastion from agricultural waste with algae was studied in a 20 L bioreactor at temperature of 35±2 ^{o}C. The results of the study operated at 30 day showed that the highest values of CH_4, H_2, CO_2 and H_2S were 4.2 L(CH_4)/Lmedium, 3.7 L(H_2)/Lmedium, 1.5 L(CO_2)/L medium and 1.9 L(H_2S)/L medium respectively. The optimum condition for *Chlorella* sp. cultivated under autotrophic heterotrophic and mixotrophic conditions was studied. It was found that the growth of *Chlorella* sp. under mixotrophic condition was higher than that of autotrophic and heterotrophic conditions. The maximum yield of *Chlorella* sp. were 7.77 $\times 10^6$ cell/ml, 6.67×10^6 cell/ml and 7.18×10^6 cell/ml in mixotrophic heterotrophic and autotrophic conditions respectively. The biogas purification using algae was studied. The reductions of CO_2 and H_2S in the resulting biogas were 22.0-38.4% and 100 % respectively. Moreover, 13.6 % increase in CH_4 of the biogas product was obtained.

Keywords : *Chlorella* sp., Co-digestion, Biogas purification

กิตติกรรมประกาศ

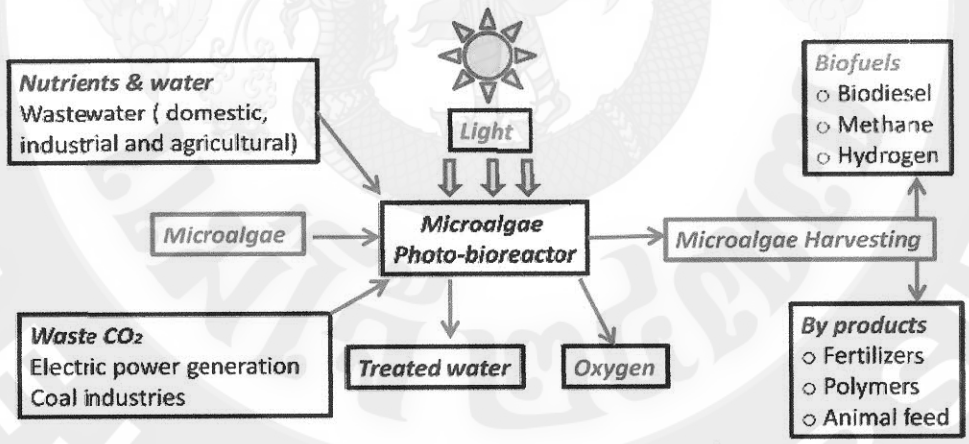
โครงการการพัฒนาการหมักร่วมระหว่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับสาหร่ายและการศึกษาการปรับปรุงคุภาพก๊าซชีวภาพด้านสาหร่าย ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2558 ทั้งนี้ทางคณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณหน่วยงานที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย วิทยาลัยพลังงานทดแทน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์วิจัยพลังงาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ บุคลากร ที่ไม่สามารถกล่าวนามได้ทั้งหมด จนทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมไปถึงหน่วยงาน ที่ให้ความช่วยเหลือในการนำเสนอผลงานวิจัยเพื่อให้คณะผู้วิจัยได้เผยแพร่ผลงาน ได้แก่ การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ เรื่อง The 2 nd Environment and Natural Resource International Conference (ENRIC 2016) : Interdisciplinary Approaches to Save Future Earth Environment.

คณะผู้วิจัย

บทนำ

จากสถานการณ์พลังงานของประเทศที่มีอุปสงค์สูงและเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่มีอุปทานที่ต้องพึ่งพาน้ำมันดิบและก๊าซธรรมชาตินำเข้าจากต่างประเทศที่มีราคาสูง ส่งผลให้เกิดวิกฤตด้านพลังงานของประเทศรัฐบาลจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วน ที่จะต้องพัฒนาแหล่งพลังงานทดแทนอื่นที่สามารถผลิตขึ้นเองได้ในประเทศ แหล่งพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพในประเทศไทยซึ่งก็คือ พลังงานจากชีวมวล เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่มีแหล่งชีวมวลจากภาคเกษตรมากมาย เช่น มันสำปะหลัง แกลบ ชานอ้อย ข้าวโพด จึงมีความได้เปรียบทางวัตถุดิบ แต่มีชีวมวลอีกประเภทหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก นั่นก็คือ สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เนื่องจาก เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กคล้ายแบคทีเรีย สามารถสังเคราะห์แสงเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้ เป็นอาหารของตัวเองได้ มีปริมาณน้ำมันและปริมาณสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอนเหมาะสมที่จะผลิตเป็นพลังงาน โดยสาหร่ายใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และพลังงานจากดวงอาทิตย์ในการสังเคราะห์แสงเพื่อให้ได้สสารทางชีวภาพดังแสดงในภาพที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น เช่น ข้าวโพดหรือหญ้าสวิชกล๊าส (Switchgrass) แล้วนั้น สาหร่ายให้พลังงานมากกว่า 6-12 เท่าซึ่งส่วนของสาหร่ายที่ให้พลังงานมากที่สุดคือส่วนที่สาหร่ายเก็บน้ำไว้ใช้ในการเจริญเติบโตตามหลักการนั้นกล่าวคือสาหร่ายไม่ต้องสร้างเซลลูโลสหรือลิกนินเหมือนกับสารที่ได้จากพืชอื่นทั่วๆไปซึ่งกระบวนการนี้ ก่อให้เกิดความยุ่งยากในการแตกตัวสสารที่แข็งเพื่อผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ



ภาพที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายเพื่อผลิตเชื้อเพลิงทางชีวภาพ

ที่มา: Hussein และคณะ (2012)

โดยส่วนใหญ่งานวิจัยในประเทศไทยและต่างประเทศมุ่งเน้นในการพัฒนาสาหร่ายเพื่อผลิตน้ำมันไบโอดีเซล ซึ่งกระบวนการผลิตมีความซับซ้อน และต้นทุนการผลิตสูง ซึ่งเป็นข้อจำกัด จึงทำให้ต้องมีการหาแนวทางใหม่ในการพัฒนาพลังงานจากสาหร่าย ซึ่งสาหร่ายมีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้ เป็นวัตถุดิบในการผลิตพลังงานชีวภาพโดยการหมักแบบไร้อากาศ เมื่อคำนึงถึงสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย พบว่ามีสภาพเหมาะสมในการทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก หรือสาหร่าย

ท้องถิ่นเซลล์เดียวที่เรียกว่า คลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) มากกว่าสาหร่ายอื่นๆ จากการศึกษาของ Kurunoc และคณะ (1995) ; นงค์นุชและเพ็ญจิตร (2002) พบว่า สาหร่ายคลอเรลล่า มีข้อได้เปรียบ คือให้อัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วเมื่อเทียบกับต้นไม้ ทำให้ขยายพันธุ์ได้ง่าย ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปผลิตในเชิงอุตสาหกรรม มีความสามารถในการเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ในรูปคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน สารอาหารเหล่านี้ถูกใช้ในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ และเปลี่ยนสารอาหารเป็นก๊าซชีวภาพ

สาหร่ายในตัวของมันเองนอกจากจะสามารถเป็นวัตถุดิบทดแทนน้ำเสียจากฟาร์มปศุสัตว์ ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตก๊าซชีวภาพแล้ว ในขั้นตอนการเลี้ยงสาหร่ายจำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้นจึงสามารถใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่ายในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพในการลด CO_2 และ H_2S ได้ ซึ่งได้มีการศึกษาเบื้องต้นจากงานวิจัยของ Mann และคณะ (2009) พบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2ในก๊าซชีวภาพลงได้ 97.07 % (ลดจาก 41 % เหลือ 2.3 %) และลด H_2S ได้ 100 % (ลดจาก 438 ppm เหลือ 0 ppm) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Au และKian (2009) ที่พบว่าความเข้มแสง และปริมาณของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงมีผลต่อการลดปริมาณ CO_2 และ H_2S ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างการติดตั้งระบบกำจัด H_2S โดยใช้สาหร่าย

ภาพที่ 2 การติดตั้งระบบกำจัด H_2S โดยใช้สาหร่าย

ที่มา : Jan (2009)

คณะผู้วิจัยได้มีแนวคิดที่จะศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายโดยศึกษาสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ได้แก่ สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic มีการประเมินศักยภาพของสาหร่ายในการนำมาปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยมุ่งเน้นที่ปริมาณการกำจัดก๊าซ CO_2และ H_2S จากการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่าย สามารถนำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตก๊าซชีวภาพในโครงการได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมสาหร่ายกับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่ได้จากการหมักร่วมสาหร่ายกับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
3. เพื่อศึกษาศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่าย
4. เพื่อศึกษาสภาวะการเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ด้านพลังงาน

- สนับสนุนนโยบายรัฐบาลในการส่งเสริมและสนับสนุนการใช้พลังงานทดแทน
- เพิ่มความมั่นคงด้านพลังงานและลดการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศ
- เป็นแนวทางการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจากสาหร่าย

2. ด้านสังคมและสิ่งแวดล้อม

- เป็นการสร้างแนวทางในการลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นสาเหตุของปัญหาของภาวะโลกร้อน
- เป็นตัวเลือกของพืชที่สามารถพัฒนาต่อไปในอนาคตด้านพลังงานทดแทน ที่มีประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสิ่งแวดล้อม โดยที่ไม่กระทบกับแหล่งอาหารของมนุษย์

3. ด้านเศรษฐกิจ

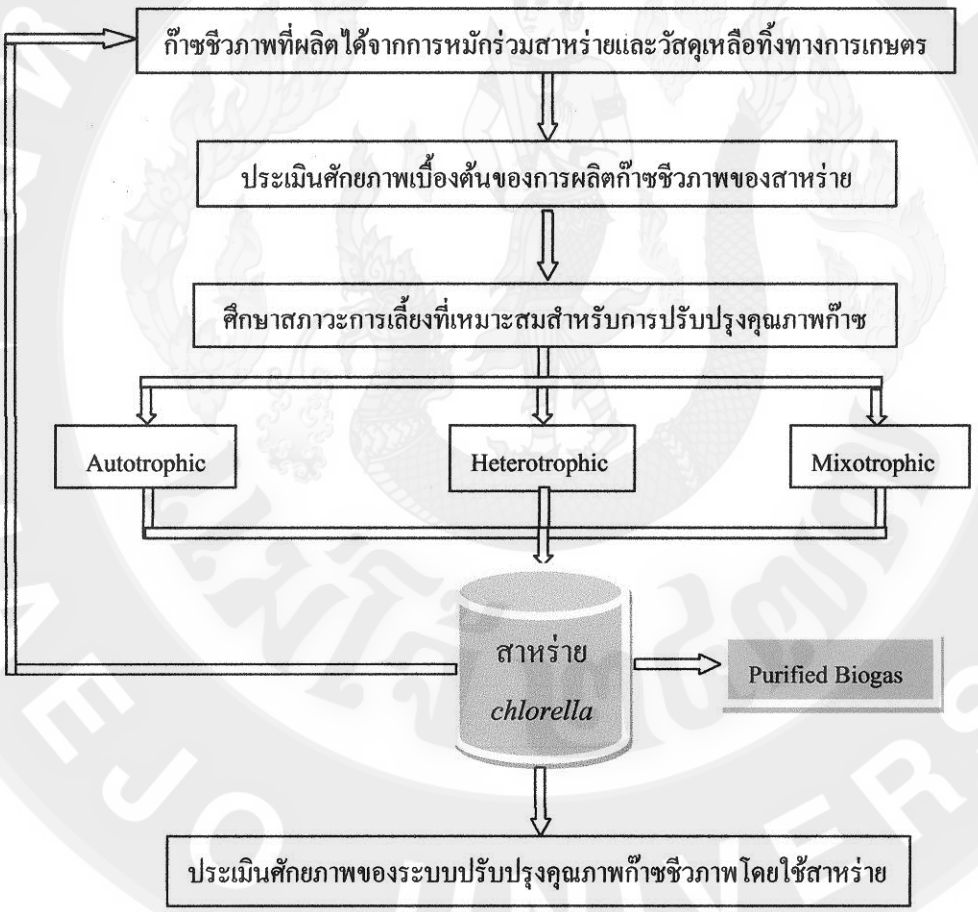
- เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้วิธีทางชีวภาพ ช่วยลดต้นทุนของระบบผลิตก๊าซชีวภาพ
- เพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายกระจายรายได้สู่เกษตรกรและท้องถิ่น เป็นการพึ่งพาตนเองตามแนวพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง ทำให้เศรษฐกิจภายในประเทศมีทิศทางดีขึ้น

4. ด้านวิชาการ

- เป็นงานวิจัยที่ตอบสนองต่อยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัย ยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศ และยุทธศาสตร์การวิจัยแห่งชาติ
- ได้เพิ่มพูนองค์ความรู้การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจากสาหร่าย
- ผลงานวิจัยสามารถใช้เป็นแหล่งเรียนรู้ ศึกษาดูงาน ในระดับมหาวิทยาลัยหรือชุมชนอื่นๆ และสนับสนุนการเรียนการสอนสาขาวิชาพลังงานทดแทน ในการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจากสาหร่าย

การตรวจเอกสาร

ในโครงการวิจัยนี้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดศึกษาก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากการหมักร่วมสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายโดยศึกษาสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ได้แก่ สภาวะAutotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic มีการประเมินศักยภาพของสาหร่ายในการนำมาปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยมุ่งเน้นที่ปริมาณการกำจัดก๊าซ CO_2และ H_2S นอกจากนั้นยังจะมีการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งต่อมาจะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตก๊าซชีวภาพในโครงการด้วย กรอบแนวคิดของโครงการแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กรอบแนวคิดของโครงการ

ทฤษฎีและสมมติฐาน

1.1 การผลิตก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ คือ ก๊าซที่เกิดจากการหมักย่อยของเสียอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic) โดยมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทน (Methanogens) ทำการหมักย่อยสลายสารอินทรีย์ ทำให้เกิดก๊าซชีวภาพ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นก๊าซมีเทน

1.1.1 กระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพในสภาวะไร้อากาศ

ในกระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ สารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายแบบสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic Digestion) จะมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ในระบบร่วมกัน 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ แบคทีเรียสร้างกรด แบคทีเรียสร้างมีเทน และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 3 ขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 4 ประกอบด้วย

ขั้นตอนที่ 1 การย่อยสลายสารอินทรีย์ (Hydrolysis stage)

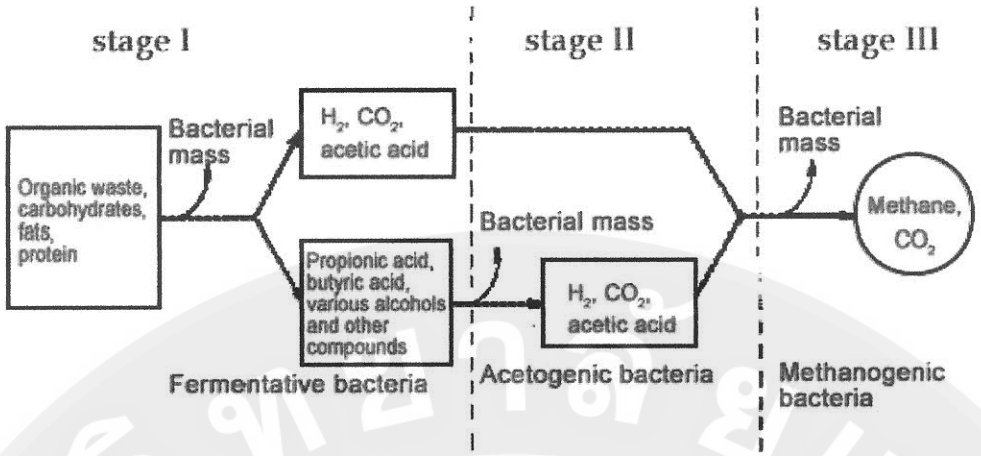
ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน โดย กลุ่มของแบคทีเรียให้เป็นโมเลกุลเล็กละลายน้ำได้ เช่น กลูโคส กรดอะมิโน กลีเซอรอลเป็นต้น ในขณะเดียวกันผลจากปฏิกิริยาการย่อยสลายนี้ก็จะเป็น ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งแอลกอฮอล์ จากนั้นปฏิกิริยานี้จึงทำให้สภาพในบ่อหมักมีความเป็นกรด (ค่า pH ต่ำ)

ขั้นตอนที่ 2 การสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic stage)

การสร้างกรดอะซิติกจากกรดอินทรีย์ต่างๆ โดยแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก โดยนำเอา Simple soluble compound จากขั้นตอน Hydrolysis หรือจากวัตถุดิบโดยตรงมาสลายต่อไปได้ ในขณะเดียวกันผลจากปฏิกิริยานี้ก็จะทำให้เกิดไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปนอยู่ในก๊าซชีวภาพ

ขั้นตอนที่ 3 การสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenic stage)

ปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรียชนิดที่ผลิตก๊าซมีเทน (Methane producing หรือ Methanogenic microorganism) ซึ่งมีหลายชนิดและเป็นแบคทีเรียที่ต้องอยู่ในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน ถ้ามีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยก็จะทำให้แบคทีเรียพวกนี้หยุดการเจริญเติบโต ก๊าซมีเทนอาจเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างกรดอินทรีย์ (ส่วนใหญ่เป็นกรดอะซิติก) กับน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์กับไฮโดรเจน



ภาพที่ 4กระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพในสภาวะไร้อากาศ

1.1.2 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพประกอบด้วยก๊าซหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นก๊าซมีเทน (CH_4) 50-70% มีคุณสมบัติจุดไฟติดได้ดี สามารถนำไปใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 30-50% เป็นส่วนประกอบรอง มีคุณสมบัติเป็นก๊าซเฉื่อย ไม่ติดไฟ ส่วนที่เหลือเป็นก๊าซอื่นๆ เช่น แอมโมเนีย (NH_3) และไอน้ำเป็นต้นดังแสดงในตารางที่ 1 โดยทั่วไปก๊าซชีวภาพ 1 ลูกบาศก์เมตร ที่ประกอบด้วยสัดส่วนของก๊าซมีเทน 60% จะมีค่าความร้อนประมาณ 21 เมกะจูลต่อลูกบาศก์เมตรซึ่งเทียบเท่าน้ำมันดีเซล 0.60 ลิตร หรือน้ำมันเบนซิน 0.67 ลิตร หรือน้ำมันเตา 0.55 ลิตร หรือพลังงานไฟฟ้า 1.2 กิโลวัตต์-ชั่วโมง หรือก๊าซหุงต้ม (LPG) 0.46 กิโลกรัม หรือไม้ฟืน 1.5 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 2

สารอินทรีย์ + จุลินทรีย์ ⟶ เซลล์ + Carbondioxide + Methane + Ammonia + Hydrogen Sulfide

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยปริมาตรแห้ง
มีเทน	50-70
คาร์บอนไดออกไซด์	30-50
ไนโตรเจน	2-5
ออกซิเจน	2-5
ซัลไฟด์, ไดซัลไฟด์, เมอร์แคปเทน และอื่นๆ	0-1.0
แอมโมเนีย	0.1-1.0
ไฮโดรเจน	0-0.2
คาร์บอนมอนออกไซด์	0-0.2
ก๊าซอื่นๆ	0.01-0.6

ที่มา : กรมควบคุมมลพิษ, 2544

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบค่าความร้อนของก๊าซชีวภาพ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อเชื้อเพลิงในรูปแบบต่างๆ

เทียบเท่า		หน่วย
ก๊าซหุงต้ม (LPG)	0.4	กิโลกรัม
น้ำมันเบนซิน	0.67	ลิตร
น้ำมันดีเซล	0.60	ลิตร
ฟืนไม้	1.5	กิโลกรัม
ไฟฟ้า	1.20	กิโลวัตต์ - ชั่วโมง

1.1.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ

1.1.3.1 อุณหภูมิในการเดินระบบ (Operating temperature)

เมทาโนเจน ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่ต่ำมากหรือสูงมากได้ ถ้าหากอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 10°C แบคทีเรียจะหยุดทำงาน อุณหภูมิในการเดินระบบแบ่งเป็นสองระดับตามสปีชีส์ของเมทาโนเจน ได้แก่ เมโซฟิลิก (mesophilic) และเทอร์โมฟิลิก (thermophilic)

- อุณหภูมิที่เหมาะที่เมโซฟิลิก ทำงานได้ดีคือประมาณ 20°C – 45°C แต่ที่เหมาะสมที่สุดคือ ช่วง 37°C – 41°C โดยในช่วงอุณหภูมิระดับนี้แบคทีเรียส่วนใหญ่ในถังหมักจะเป็นเมโซฟิลิก

- เทอร์โมฟิลิก ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือประมาณ 50°C – 52°C แต่ก็สามารถทำงานในอุณหภูมิที่สูงขึ้นไปถึง 70°C

แบคทีเรียเมโซฟิลิกนั้นมีจำนวนสปีชีส์มากกว่าเทอร์โมฟิลิก นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าเทอร์โมฟิลิกอีกด้วย ทำให้ระบบหมักก๊าซชีวภาพที่ใช้เมโซฟิลิกเสถียรกว่า แต่ขณะเดียวกันอุณหภูมิซึ่งสูงกว่าในระบบที่ใช้เทอร์โมฟิลิกก็เป็นการช่วยเร่งปฏิกิริยาส่งผลให้อัตราการผลิตก๊าซสูงกว่า ข้อเสียอีกข้อของระบบเทอร์โมฟิลิก คือการที่ต้องใช้พลังงานจากภายนอกมาเพิ่มความร้อนให้ระบบ ทำให้อาจได้พลังงานสุทธิที่ต่ำกว่า

1.1.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH value)

ค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตก๊าซชีวภาพคือระหว่าง 7.0 – 7.2 ค่า pH ในถังหมักขึ้นอยู่กับช่วงของการหมักด้วย เพราะในช่วงแรกแบคทีเรียที่สร้างกรดจะสร้างกรดเป็นจำนวนมากและทำให้ค่าpHลดลง ซึ่งถ้าหาก pH ลดลงต่ำกว่า 5 ก็จะหยุดกระบวนการย่อยและหมักทั้งหมดหรืออีกนัยหนึ่งก็คือแบคทีเรียตายเมทาโนเจนนั้นอ่อนไหวต่อความเป็นกรดด่างมาก และจะไม่เจริญเติบโตหาก pH ต่ำกว่า 6.5 ในช่วงท้ายของกระบวนการ ความเข้มข้นของ NH_4 จะมากขึ้นตามการย่อยสลายไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้ค่า pH เพิ่มโดยอาจเกิน 8 จนกระทั่งระบบผลิตเริ่มมีความเสถียร pH จะอยู่ระหว่าง 6.8 – 8

1.1.3.3 อัลคาลินิตี้ (Alkalinity)

ค่าอัลคาลินิตี้หมายถึงความสามารถในการรักษาระดับความเป็นกรด-ด่างถ้าค่าอัลคาลินิตี้ต่ำจะมีแนวโน้มเป็นกรดได้ง่ายค่าอัลคาลินิตี้ที่เหมาะสมต่อระบบหมักมีค่าประมาณ 1,000-5,000 มิลลิกรัม/ลิตร ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)

1.1.3.4 กรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile Acid)

กรดอินทรีย์ระเหยง่ายจะถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียพวกสร้างก๊าซมีเทนแต่ถ้าใช้ไม่ทันจะเกิดการสะสมของกรดส่งผลให้ค่า pH ลดลงทำให้เกิดอันตรายต่อแบคทีเรียโดยทั่วไปปริมาณกรดอินทรีย์ระเหยง่ายในถังหมักไม่ควรเกิน 2,000 มิลลิกรัม/ลิตร แต่อาจทนได้ถึง 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร

1.1.3.5 สารอาหาร (Nutrient)

สารอาหารที่แบคทีเรียต้องการเพื่อการเจริญเติบโต นอกเหนือไปจากคาร์บอนและไฮโดรเจนแล้วยังมีไนโตรเจน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม นอกจากนี้ก็มีธาตุที่จำเป็นในปริมาณน้อยมากๆ เช่น เหล็ก แมงกานีส ลิบดินัม สังกะสี โคบอลต์ ซิลิเนียม ทังเสตน และนิเกิล เป็นต้น แต่ขยะอินทรีย์โดยทั่วไปจะมีธาตุอาหารเหล่านี้ในระดับที่สมดุลพอเพียง เพราะฉะนั้น ในการหมักจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใดๆ ลงไป

1.1.3.6 สารยับยั้งและสารพิษ (Inhibiting and Toxic Materials)

การสะสมของสารบางชนิด เช่น กรดไขมันระเหยได้ ไฮโดรเจน หรือแอมโมเนีย รวมถึงธาตุไอออนสารพิษโลหะหนักสารทำความสะอาดต่างๆ และยาปฏิชีวนะ สามารถส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตก๊าซของแบคทีเรียได้ ธาตุไอออนในปริมาณน้อย เช่น โซเดียมโปแตสเซียมแคลเซียมแมกนีเซียมซัลเฟอร์แอมโมเนียมสามารถช่วยกระตุ้นการเติบโตของแบคทีเรียเช่นกัน แต่ถ้าหากปริมาณนั้นมากก็จะส่งผลเป็นพิษได้ ยกตัวอย่างเช่น แอมโมเนียในปริมาณ 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเป็นผลดี ช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่เมื่อใดที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงกว่า 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็จะเริ่มส่งผลเสีย ในทางเดียวกัน โลหะหนักบางประเภท เช่น ทองแดงนิเกิลโครเมียมสังกะสีตะกั่ว และอื่นๆ ในปริมาณที่น้อยๆ ช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่เมื่อความเข้มข้นสูงก็จะเป็นพิษ

1.1.3.7 การคลุกเคล้า (Mixing)

การคลุกเคล้าตะกอน น้ำ และสารอินทรีย์ เป็นส่วนที่สำคัญอีกส่วนเพราะจะทำให้แบคทีเรียสัมผัสกับสารอินทรีย์ได้อย่างทั่วถึง ทำให้แบคทีเรียทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่งผลให้การเกิดก๊าซเร็วขึ้นและมากขึ้น นอกจากนี้ยังป้องกันการตกตะกอนและตะกอนลอย (scum) ซึ่งตะกอนอาจจะไปอุดช่องทางสำหรับระบายของเหลวจากถัง

1.1.3.8 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio)

อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของขยะอินทรีย์ที่สามารถใช้ผลิตก๊าซชีวภาพคือตั้งแต่ 8–30 แต่อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพคือประมาณ 23 ถ้าอัตราส่วนคาร์บอนต่อ

ไนโตรเจน สูงมาก ไนโตรเจนจะถูกเมทาโนเจนนำไปใช้เพื่อเสริมโปรตีนให้ตัวเองและจะหมดอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ได้ก๊าซน้อย แต่ถ้าหาก C/N Ratio ต่ำมากๆ ก็จะทำให้ไนโตรเจนมีมากและไปเกาะกันเป็นแอมโมเนีย แอมโมเนียจะไปเพิ่มค่า pH ซึ่งถ้าหากค่า pH สูงถึง 8.5 ก็จะเริ่มเป็นพิษกับแบคทีเรียทำให้จำนวน เมทาโนเจนลดลง นอกจากนี้หาก C/N ratio อยู่นอกเหนือจากช่วง 8-30 จะทำให้มีสัดส่วนปริมาณก๊าซที่ได้เป็นก๊าซอื่นๆ เช่นคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้น

มูลสัตว์โดยเฉพาะวัวควายมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด รองลงมาก็ได้แก่ พวกดอกจอกผักตบและเศษอาหาร ขณะที่ฟางมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ค่อนข้างจะสูง อย่างไรก็ตามสามารถนำวัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงมาผสมกับวัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำได้ เพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต้องการ

1.1.3.9 ปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบ (Loading)

ปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบคือ ปริมาณสารอินทรีย์ที่เราเติมใส่ถังหมักในแต่ละวัน ซึ่งถ้าหากว่าปริมาณที่เราเติมนั้นมากเกินไป ก็จะส่งผลให้ค่า pH ลดลงมากเกินไปเนื่องจากในช่วงแรกของกระบวนการคือ acidogenesis กรดจะถูกผลิตขึ้นมาจนทำให้ระบบล้มเหลวเนื่องจาก เมทาโนเจนตายหมด ซึ่งหากสิ่งนี้เกิดขึ้นจริงก็จะต้องเริ่มต้นระบบใหม่หมด แต่ถ้าหากปริมาณสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบน้อยก๊าซที่ผลิตได้ก็จะน้อยตามไปด้วย เท่ากับว่าไม่ได้เดินระบบเต็มตามกำลังการผลิต ทำให้ถังหมักมีขนาดใหญ่เกินไปโดยไม่จำเป็น

1.1.3.10 ระยะเวลาการกักเก็บสารอินทรีย์ในถังหมัก (Retention time)

ระยะเวลาในการกักเก็บสารอินทรีย์ในถังหมักขึ้นอยู่กับปริมาณ และประเภทของสารอินทรีย์ที่เติมเข้าไปซึ่งมีลักษณะและคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป รวมถึงรูปแบบของระบบถังหมัก หากระยะเวลาในการกักเก็บสั้นไปก็จะไม่พอสำหรับแบคทีเรียที่จะผลิตก๊าซชีวภาพ นอกจากนี้แบคทีเรียยังจะถูกถ่ายออกจากระบบเร็วเกินไปส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียลดลงไป ทำให้แบคทีเรียที่เหลืออยู่ทำการย่อยไม่ทันและอาจทำให้ค่า pH ในถังหมักลดลงขึ้น ขณะเดียวกัน การที่ระยะเวลากักเก็บนานเกินไปจะทำให้เกิดตะกอนของสารอินทรีย์ที่แบคทีเรียย่อยสลายแล้วสะสมอยู่ทำให้ถังหมักมีขนาดใหญ่โดยไม่จำเป็น ระยะเวลาในการกักเก็บส่วนใหญ่จะประมาณ 14- 60 วัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ คือ ค่า TS อุณหภูมิขนาดและประเภทของ digester และปริมาณสารอินทรีย์ที่เติม ระยะเวลาในการกักเก็บนั้นเป็นตัวบ่งชี้ว่าแบคทีเรียจะมีชีวิตได้นานเท่าไหร่โดยไม่มีการเติมอาหาร เนื่องจากระยะเวลาการกักเก็บนั้นหมายถึงระยะเวลาที่แบคทีเรียต้องการเพื่อย่อยอาหารให้หมด ดังนั้นเมื่อไหร่ก็ตามที่แบคทีเรียยังย่อยอาหารไม่หมดก็หมายความว่าแบคทีเรียจะยังไม่ตายจากการขาดอาหาร

1.1.3.11 ปริมาณของแข็ง (Total solid, TS)

Solid content ของสารอินทรีย์ในการผลิตก๊าซชีวภาพแบ่งเป็นสองระดับคือ

-High-solid (ปริมาณของแข็งสูง) TS สูงกว่า ~ 20%

-Low-solid (ปริมาณของแข็งต่ำ) TS ต่ำกว่า ~ 15%

ถังหมักที่ออกแบบสำหรับเติมสารอินทรีย์ high solid จะต้องใช้พลังงานมากกว่าในการสูบน้ำตะกอน (slurry) แต่เนื่องจากในระบบ high solid ความเข้มข้นของน้ำในถังหมักสูงกว่า พื้นที่ที่ใช้ก็จะน้อยกว่า ในทางกลับกัน ถังหมัก Low solid สามารถใช้เครื่องสูบน้ำทั่วไปที่ใช้พลังงานน้อยกว่าสูบน้ำตะกอน แต่ก็ต้องใช้พื้นที่มากกว่าเนื่องจากปริมาตรต่อสารอินทรีย์ที่เติมเข้าไปสูงขึ้น ซึ่งการที่น้ำตะกอนมีความใสกว่าก็ทำให้การหมุนเวียนและกระจายตัวของของแบคทีเรียและสารอินทรีย์ดีขึ้นและการที่แบคทีเรียสามารถสัมผัสสารอินทรีย์อย่างทั่วถึงก็ช่วยให้การย่อยและการผลิตก๊าซเร็วขึ้น

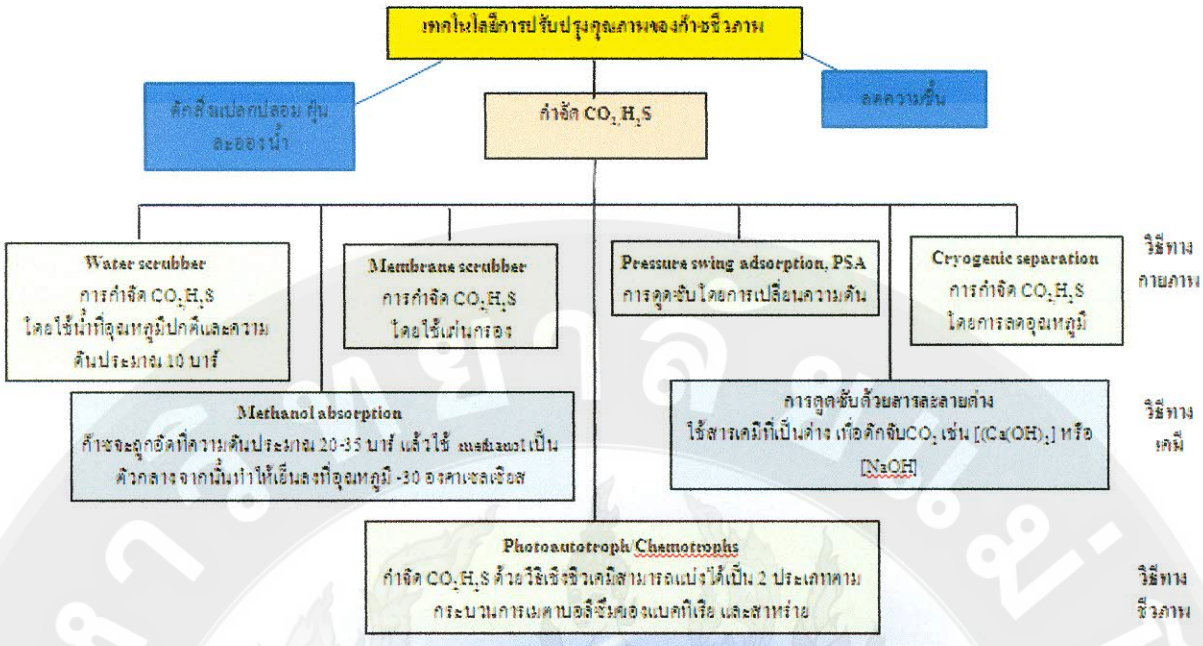
1.1.3 เทคโนโลยีการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

การปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ คือ การนำเอาก๊าซชีวภาพมาผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้ก๊าซสะอาด มีคุณภาพสม่ำเสมอ โดยการลดปริมาณก๊าซ CO_2 H_2S และความชื้นออกจนมีปริมาณก๊าซมีเทน (CH_4) เพิ่มขึ้นการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพช่วยลดการปลดปล่อยมลพิษจากไอเสียสู่บรรยากาศตามมาตรฐานของกระทรวงอุตสาหกรรม ซึ่งได้แก่ SO_2< 60 ppm, NOx< 200 ppm, Dust < 120 mg/m^3โดยการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพนั้นจะขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้งานโดยไม่จำเป็นต้องปรับปรุงทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 5

ตารางที่ 3 เกณฑ์ในการปรับปรุงก๊าซชีวภาพตามลักษณะการใช้งาน

การใช้งานก๊าซชีวภาพ	H_2S	CO_2	ความชื้น
เป็นเชื้อเพลิงหม้อไปน้ำ	<1000 ppmv	ไม่จำเป็น	จำเป็น
เป็นเชื้อเพลิงเตาหุงต้ม	จำเป็น	ไม่จำเป็น	ไม่จำเป็น
เป็นเชื้อเพลิงสำหรับเครื่องยนต์	<500 ppmv	ไม่จำเป็น	จำเป็น
เป็นเชื้อเพลิงรถยนต์ (CNG, CBG)	<23 ppmv	จำเป็น	จำเป็น
ป้อนสู่ท่อก๊าซรวม (Gas Grid)	<1 ppmv	จำเป็น	จำเป็น

ที่มา:สวพ. นครพิงค์มช., 2553

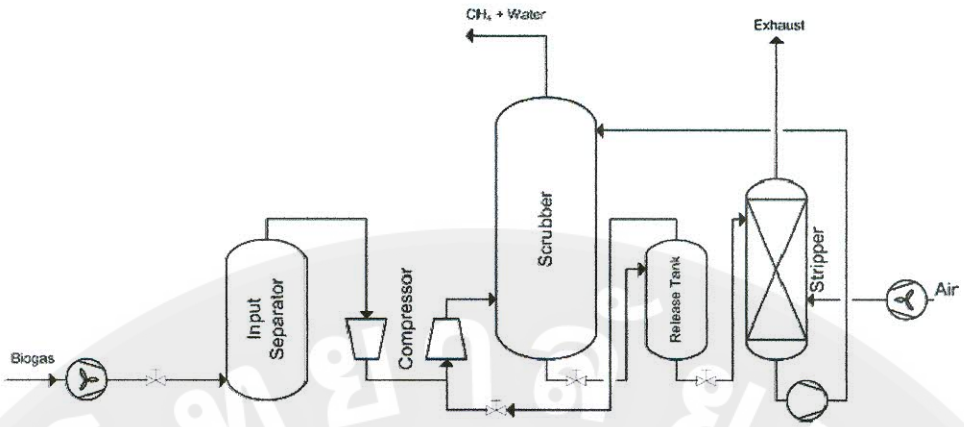


ภาพที่ 5 เทคโนโลยีการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

1.1.3.1 ระบบการดักจับด้วยไอน้ำ (Water Scrubbing)

กระบวนการที่ใช้น้ำในการดักจับคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซชีวภาพแสดงดังภาพที่ 6 โดยจะทำให้ความดันขาเข้าของก๊าซเพิ่มขึ้นในการอัดก๊าซ ดังนั้นการนำก๊าซเข้าด้านล่างของคอลัมน์แนวดิ่ง ก๊าซชีวภาพจะไหลเข้าในบริเวณด้านล่างของคอลัมน์และไหลขึ้นสู่ด้านบนคอลัมน์ และมีการปล่อยน้ำเข้าบริเวณด้านบนคอลัมน์ไหลลงสู่ด้านล่างของคอลัมน์ ในคอลัมน์น้ำกับก๊าซจะสัมผัสกันโดยตรงในการดักจับบ่อยครั้งที่น้ำจะไหลไปรวมกันเป็นแอ่งอยู่บริเวณด้านล่างของคอลัมน์ทำให้ก๊าซที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ในตอนแรกเกิดเป็นฟองขึ้น คาร์บอนไดออกไซด์จะรวมตัวกับน้ำอย่างต่อเนื่องจนอิ่มตัวแล้วไหลลงสู่ด้านล่างของคอลัมน์ และก๊าซที่เหลือจากการดักจับแล้วจะถูกปล่อยออกบริเวณด้านบนของคอลัมน์

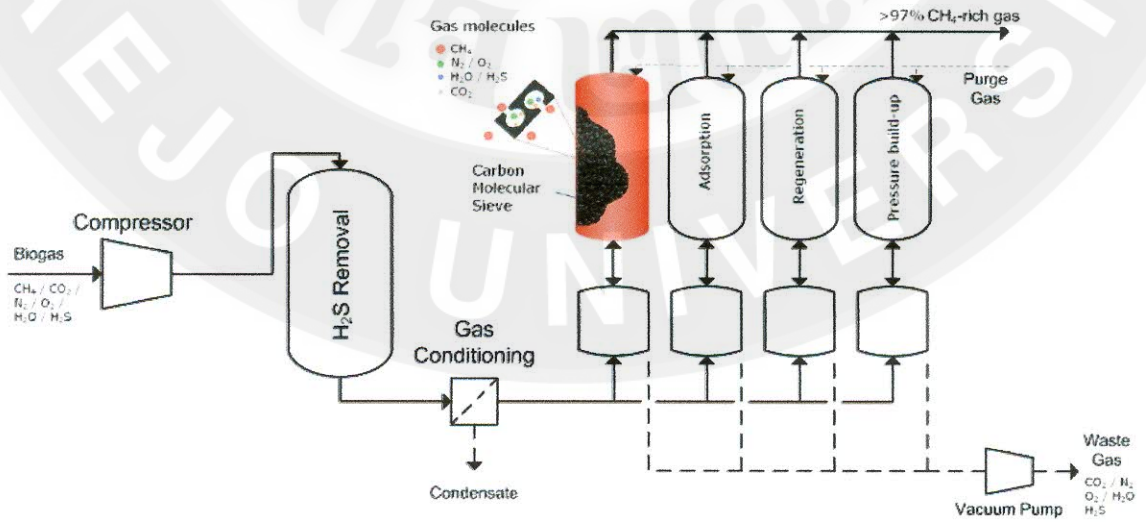
ก๊าซที่ปล่อยออกมาจากคอลัมน์จะมีก๊าซมีเทนอยู่ร้อยละ 95 โดยประมาณ จากการวัดโดยการใช้คอลัมน์เดียว และน้ำที่ใช้ในการดักจับคาร์บอนไดออกไซด์แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ เช่น การปล่อยให้สัมผัสกับอากาศโดยตรงที่ความดันบรรยากาศ หรือการนำกลับไปผ่านคอลัมน์อีกครั้งให้สัมผัสกับอากาศ โดยคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกปล่อยออกมาและปะปนไปกับอากาศทั่วไป



ภาพที่ 6 กระบวนการที่ใช้น้ำในการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ชมพูนุช, 2551)

1.1.3.2 ระบบการดูดซับโดยการเปลี่ยนความดัน (Pressure Swing Adsorption, PSA)

กระบวนการนี้เป็นกระบวนการแยกคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซมีเทนในการดูดซับด้วย Zeolites หรือ Activated Carbon ที่ความแตกต่างของความดันในคอลัมน์ซึ่งจะดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้เป็นพิเศษ ส่วนมีเทนก็จะไหลผ่านไป กระบวนการนี้กระทำภายใต้ความดันพอประมาณ ในการทำมักทำหลายๆ ชั้น เพื่อลดพลังงานในการอัดก๊าซและความดันของก๊าซที่ปล่อยออกมาจะถูกนำไปใช้ในส่วนอื่นๆ ต่อ นิยมทำกระบวนการนี้ที่ 4 คอลัมน์ ดังแสดงในภาพที่ 7 คอลัมน์แรกจะมีความดันประมาณ 90 psi จะสามารถดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์และได้มีเทนร้อยละ 96 หรือมากกว่า ในคอลัมน์ที่สองความดันจาก 90 psi จะลดลงเหลือประมาณ 45 psi และความดันจะลดลงไปเรื่อยๆ ทั้ง 4 คอลัมน์ ก่อนที่จะเกิดการเป็นสุญญากาศที่คอลัมน์สุดท้าย ความดันในคอลัมน์ที่สองจะลดลงจนถึงความดันบรรยากาศและปล่อยก๊าซไหลย้อนกลับลงไปได้ คอลัมน์ที่สามก๊าซจะออกมาที่ความดันประมาณ 1-15 psi โดยการดูดซับจะขึ้นอยู่กับอิทธิพลของคาร์บอนไดออกไซด์และรูที่ปล่อยก๊าซออกในการเก็บมีเทน การลดการสูญหายของมีเทนทำได้โดยมีการออกแบบระบบให้สามารถหมุนวนก๊าซที่ไหลย้อนลงมากลับวนซ้ำ



ภาพที่ 7 กระบวนการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการเปลี่ยนความดัน

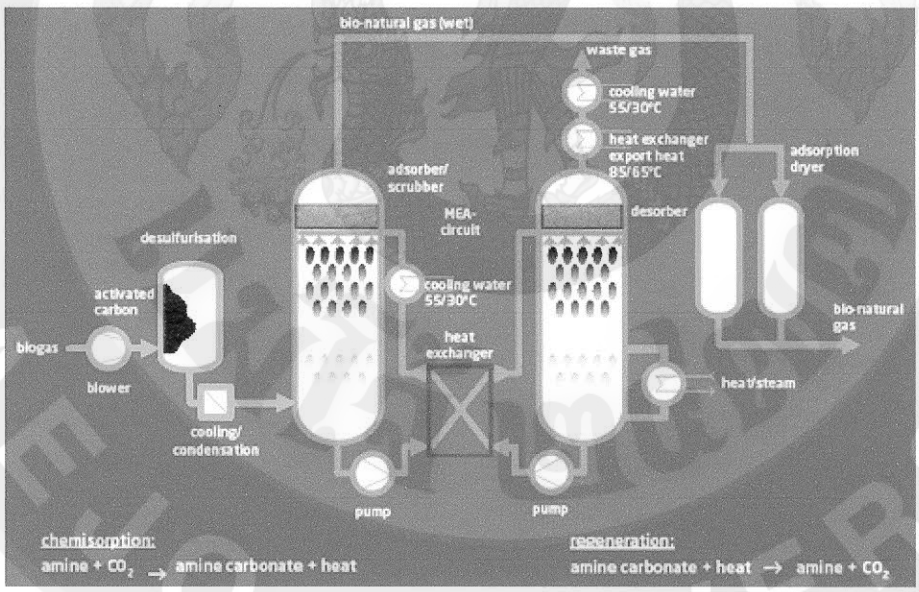
1.1.3.3 ระบบการดักจับด้วยสารเคมีโดยใช้สารละลายเอมีน

การดักจับคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสารละลายเอมีนถูกใช้อย่างกว้างขวางในภาคอุตสาหกรรม และถูกนำมาขยายขนาดเพื่อใช้ในระบบการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซธรรมชาติ กระบวนการนี้ใช้สารละลายเอมีน คือ Monoethanolamine (MEA), Diethanolamine (DMA) และ Diglycolamine (DGA) โดยสารละลายเอมีนสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยการนำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80-100 องศาเซลเซียส และลดความดันเพื่อนำคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากสารละลายและนำกลับไปใช้ใหม่ได้ การดักจับคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสารละลายเอมีนแสดงดังสมการที่ (1) และ (2) (ปกรณ์, 2552)

$$CO_2 \text{ sorption} : RNH_2 + H_20 + CO_2 \longrightarrow RNH_3^+ HCO_3^- \quad (1)$$

$$CO_2 \text{ desorption} : RNH_3^+ HCO_3^- \longrightarrow RNH_2 + H_20 + CO_2 \quad (2)$$

ประโยชน์อีกอย่างหนึ่งของสารละลายเอมีน คือ จะเลือกจับเฉพาะคาร์บอนไดอออกไซด์ได้เป็นอย่างดี เมื่อเทียบกับการดักจับด้วยน้ำ และถ้ามีการปล่อยความร้อนเหลือทิ้งสามารถนำมาให้ความร้อนแก่สารละลายเอมีนที่ใช้แล้วได้ ทำให้สาสารถนำสารละลายกลับมาใช้ใหม่ได้อีก กระบวนการนี้สามารถนำไปใช้ในระบบการแยกก๊าซขนาดใหญ่ได้เป็นอย่างดี ตัวอย่างเทคโนโลยีกระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยสารละลายเอมีนของประเทศสเปน แสดงดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยสารละลายเอมีน
ที่มา : บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)

นอกจากนี้ยังมีกระบวนการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้สารละลายดูดซับอื่นๆ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปฏิกิริยาเคมีแสดงดังสมการที่ (3) (Brettschneider และคณะ, 2004)

$$NaOH + CO_2 \longleftrightarrow NaHCO_3 \quad (3)$$

น้ำปูนขาว (CaOH) ปฏิกิริยาเคมีแสดงดังสมการที่ (4) (Yang และคณะ, 2008)

$$Ca(OH)_2 + CO_2 \longleftrightarrow CaHCO_3 \quad (4)$$

สารละลาย Monoethanolamine (MEA) ปฏิกิริยาเคมีแสดงดังสมการที่ (5) ถึง สมการที่ (8) (Maceiras และคณะ, 2008)

$$CO_2 + RNH_2 \longleftrightarrow RNH_2^+COO^- \quad (5)$$

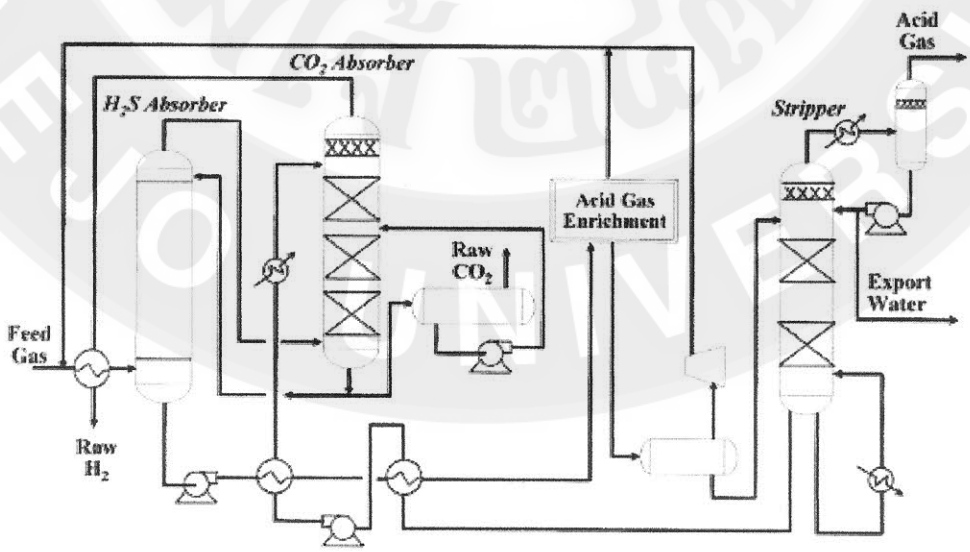
$$RNH_2^+COO^- + RNH_2 \longleftrightarrow RNH_3^+ + RNHCOO^- \quad (6)$$

$$RNH_2^+COO^- + H_2O \longleftrightarrow H_3O^+ + RNHCOO^- \quad (7)$$

$$RNH_2^+COO^- + OH^- \longleftrightarrow H_2O + RNHCOO^- \quad (8)$$

1.1.3.4 ระบบการดักจับด้วย Selexol (Selexol Scrubbing or Polyethylene Glycol Scrubbing)

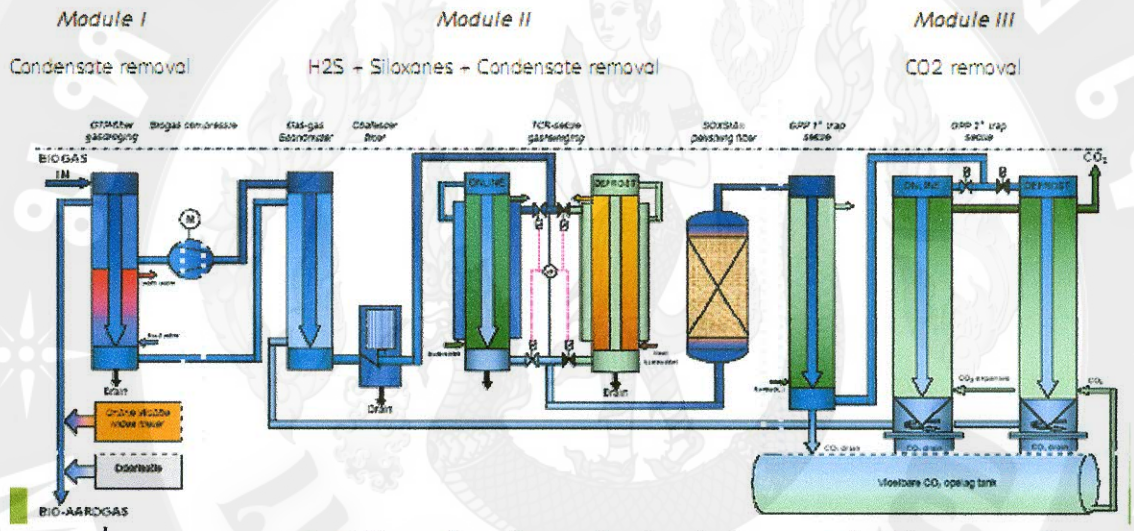
กระบวนการดักจับนี้จะคล้ายกับการดักจับโดยใช้น้ำ เป็นกระบวนการดักจับเชิงกายภาพและมีการใช้สารละลายในการดักจับ นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการแยกก๊าซธรรมชาติและอื่นๆ คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์จะสามารถถูกดักจับได้เป็นอย่างดีมากกว่าการใช้น้ำ ผลในการใช้สารละลายความเข้มข้นต่ำและการลดการปั๊มและเก็บสารละลาย Selexol ไว้ใต้ความดันเป็นการปรับปรุงคุณภาพในการดักจับสิ่งเจือปนออก สิ่งที่เพิ่มเข้ามา คือ น้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะถูกดักจับออกจากก๊าซชีวภาพ กระบวนการดักจับโดย Selexol ถูกออกแบบให้สามารถวนกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยสารละลาย Selexol จะถูกแยกด้วยไอน้ำและสามารถแยกได้เมื่อสัมผัสกับอากาศแต่ไม่ปนน้ำเนื่องจากมีการปล่อยไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกสู่บรรยากาศ กระบวนการนี้นิยมใช้กันมากในประเทศสหรัฐอเมริกา ตัวอย่างเทคโนโลยีกระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วย Selexol ของประเทศสหรัฐอเมริกา แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วย Selexol (Curtis, 2003)

1.3.3.5 ระบบการแยกก๊าซในอุณหภูมิต่ำ (Cryogenics Separation)

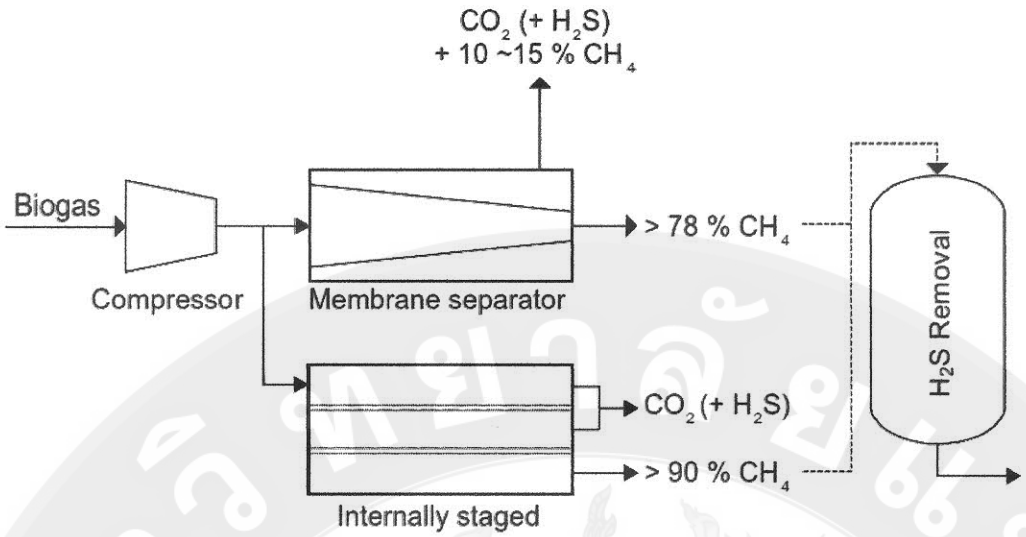
เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสิ่งเจือปน ถูกทำให้เป็นของเหลวที่อุณหภูมิและความดันแตกต่างกันซึ่งเป็นไปได้ที่จะแยกก๊าซโดยการทำให้เย็นและอัดให้เป็นของเหลว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะแยกตัวออกมาได้ง่ายกว่าก๊าซชนิดอื่นที่มีอยู่ การแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกสามารถใช้สารละลายช่วยในการเอาสิ่งเจือปนออกจากก๊าซได้ในด้านเศรษฐศาสตร์กระบวนการนี้ยังคงต้องได้รับการประเมินความคุ้มค่าในการใช้งานและต้องมีการพัฒนาระบบให้ดีมากยิ่งขึ้น โดยปัญหาของกระบวนการนี้ คือ มีราคาค่าใช้จ่ายในการสร้างระบบแยกก๊าซสูง ยิ่งมีขนาดใหญ่ก็ยิ่งมีราคาสูง และขนาดเล็กก็ไม่คุ้มค่าในการลงทุน ตัวอย่างเทคโนโลยีกระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการแยกก๊าซในอุณหภูมิต่ำของประเทศสวีเดน แสดงดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 กระบวนการดักจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการแยกก๊าซในอุณหภูมิต่ำ
ที่มา : บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)

1.3.3.6 ระบบการแยกด้วยเยื่อแผ่นบาง (Membrane Separation)

กระบวนการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยเยื่อแผ่นบางแสดงดังรูปที่ 8 ก๊าซชีวภาพจะไหลผ่านเยื่อแผ่นบางโดยตรง โดยอัตราการแพร่ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ไหลผ่านเยื่อแผ่นบางมีความสำคัญมากกับการแพร่ของก๊าซมีเทน ผลของการแยกมีเทนจะถูกแยกและกักเก็บไว้ด้านหนึ่งของเยื่อแผ่นบางและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะผ่านไปอยู่อีกด้านหนึ่งของเยื่อแผ่นบาง โดยปกติจะต่อเยื่อแผ่นบางแบบอนุกรมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกก๊าซมีเทน แต่อย่างไรก็ตามมีข้อเสีย คือ เกิดการสูญเสียมีเทนไประหว่างกระบวนการ แต่สามารถปรับปรุงได้โดยการต่อเมมเบรนอนุกรมกัน



ภาพที่ 11 กระบวนการแยกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วยเยื่อแผ่นบาง

1.3.3.7 การปรับปรุงก๊าซชีวภาพที่แหล่งกำเนิด (In-situ methane enrichment)

อาศัยหลักการที่ว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นก๊าซส่วนหนึ่งจะละลายอยู่ในของเหลวที่อยู่ในถังหมักย่อยแบบไร้อากาศ ซึ่งก๊าซส่วนนี้สามารถแยกออกมาได้ โดยการหมุนเวียนกากตะกอนจากถังมายังถังคายก๊าซ ซึ่งมีการเป่าอากาศเพื่อช่วยดึงเอาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากกากตะกอนอย่างต่อเนื่อง ทำให้ความเข้มข้นของก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้น (Lindberg และ kemiteknik, 2003)

1.3.3.8 การปรับปรุงก๊าซชีวภาพแบบใช้เอนไซม์ (Ecologicallung)

กระบวนการนี้ใช้เอนไซม์ชนิด carboanhydrase ซึ่งมีอยู่ในเลือดของคนเรา ทำหน้าที่ในการเร่งให้เกิดการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการเผาผลาญของเซลล์ในร่างกาย (metabolism) โดยจะช่วยเร่งปฏิกิริยา

1.2 สาหร่ายคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.)

สาหร่ายคลอเรลล่าถูกค้นพบโดยนักชีววิทยาชาวดัชท์ชื่อ M.W. Bijernic ซึ่งได้ทำการศึกษาสาหร่ายจากบ่อน้ำขนาดเล็กโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ จนนำไปสู่การค้นพบ *Chlorella* sp. ซึ่งกลายเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์ต่อมา โดยที่ *Chlorella* sp. มาจากภาษากรีกว่า คลอโรส (Chlorose) แปลว่า เขียว กับคำในภาษาลาตินต่อท้ายว่า เอลล่า (Ella) แปลว่า เล็ก

1.2.1 ลักษณะทางชีววิทยาของสาหร่ายคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.)

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว มีขนาดเล็กประมาณ 2-12 ไมโครเมตร มีรูปร่างกลมหรือรี และผนังเซลล์ค่อนข้างบาง คลอโรพลาสต์เป็นแบบแถบข้างเซลล์ และมีไพรีนอยด์ 1 อัน อยู่บนคลอโร พลาสต์ มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอย่างเดียว โดยการสร้างออโตสปอร์ (Autospores) มีจำนวน 4, 8 หรือ 16 เซลล์ ถูกล้อมรอบด้วยผนังเซลลูโลสบางๆ และพบสปอโรพอสลีนิน(Sporopose lignin) ในผนังเซลล์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถพบได้ที่ผนังของอับละอองเรณูในพืชชั้นสูง มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย อาจมีหรือไม่มีไพรีนอยด์ ไม่มีแฟลกเจลลา มีสติกมา และคอนแทรกไทส์แวคิวโอล พบนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส 2 ชั้น พบไมโตคอนเดรียกอนจิบอดี้และแวคิวโอล เล็กน้อยในไซโตพลาสซึม (Bold และ Wynne, 1978)

Chlorella protothecoides

ภาพที่ 12 ลักษณะเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella protothecoides* กำลังขยาย 10^5 เท่า

ที่มา : DasSarma (2006)

สาร่ายขนาดเล็กมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงเหมือนกับพืช สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อยสามารถเจริญเติบโตได้ดี ทั้งในน้ำกร่อยและน้ำเค็ม และมีวงจรชีวิตสั้น (Scragg และคณะ, 2002: Hammond และ Glatz, 1988) นอกจากนี้ข้อดีของสาหร่ายขนาดเล็กในด้านของพลังงาน คือ ปริมาณน้ำมันที่ได้ต่อพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมากกว่าพวกพืชน้ำมัน (oilseed crops) และชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก 1 กิโลกรัม สามารถใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 1.8 กิโลกรัม (Rodolfi และคณะ 2009) สาหร่ายขนาดเล็กให้ออกซิเจนออกมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงเหมือนพืช นั่นคือสามารถใช้พลังงานจากแสงเป็นแหล่งพลังงาน ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน และนอกจากนั้นสารอินทรีย์ต่างๆ สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยสาหร่ายขนาดเล็กหลายสายพันธุ์ (Yang และคณะ, 2000)

1.2.2 การเลี้ยงตามสภาวะต่างๆ

ในหัวข้อนี้จะอธิบายถึงการเลี้ยงสาหร่ายคอลเรลล่า(*Chlorella* sp.) ในสภาวะต่างๆ โดยมี 3 สภาวะด้วยกันคือ Autotrophic Heterotrophic และ Mixotrophic ซึ่งต่างกันที่ธาตุอาหาร โดยมีรายละเอียด ดังนี้

1.2.2.1 Autotrophic

เป็นกระบวนการในสภาวะที่มีการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างธาตุอาหารและสังเคราะห์แสงโดยจะสามารถสร้างอาหารเองได้ โดยไม่จำเป็นต้องใส่อาหารลงไป เหมือนกับสภาวะ Heterotrophic ซึ่งได้แก่ พืชสีเขียว และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน การสังเคราะห์แสงของจุลสาหร่ายทั้งสองชนิด ได้แก่ สาหร่ายโฟโตออโตโทรฟิคและสาหร่ายโฟโตเฮเทอโรโทรฟิคโดยสาหร่ายทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันหลายประการในแง่ของการผลิตก๊าซไฮโดรเจน เช่น เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตก๊าซไฮโดรเจน ความต้องการพลังงาน ปริมาณก๊าซออกซิเจนที่จะเป็นตัวยับยั้ง สารตั้งต้นที่ใช้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ (วิทวัส, 2553)

$$6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy} \xrightarrow{\text{chorophyll}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ พลังงานแสงอาทิตย์ กลูโคส (น้ำตาล) ออกซิเจน

ภาพที่ 13 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในสภาวะ Autotrophic

ที่มา : วิทวัส (2553)

1.2.2.2 Heterotrophic

เป็นกระบวนการในสภาวะที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นสารประกอบของสารอินทรีย์ เช่น จำพวก กลูโคส ซึ่งสภาวะนี้หากไม่ใส่ อาหารลงไปจะไม่สามารถสร้างเองได้ หากจะให้สร้างอาหารเองจำเป็นที่จะต้องมีการใส่ธาตุอาหารลงไป เช่น สร้างอาหารโดยการย่อยสารอนินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ให้มีโมเลกุลที่เล็กลงแล้วใช้เอนไซม์ในการดูดซึม

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

กลูโคส ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ พลังงาน

ภาพที่ 14 แสดงกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายในสภาวะ Heterotrophic

ที่มา : วิทวัส (2553)

1.2.2.3 Mixotrophic

เป็นการนำทั้ง 2 สภาวะมารวมกัน (Autotrophic กับ Heterotrophic) โดยการที่ใช้ความสำคัญของ Autotrophic ในการเป็นผู้ให้ (สร้างอาหารโดยการใช้ คาร์บอนไดออกไซด์ และการสังเคราะห์แสง) และ Heterotrophic ในการเป็นผู้รับ (กินอาหารโดยทำให้เกิดโปรตีนสะสมในเซลล์)

1.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

1.2.3.1แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอน ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลักษณะโดยทั่วไปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์คือ เป็นก๊าซไม่มีสีไม่ติดไฟ หนักกว่าอากาศประมาณ 1.5 เท่า สามารถอยู่ได้ทั้ง 3 สถานะ คือ ก๊าซของแข็ง และของเหลว (สมรลักษณ์, 2549) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยรูปแบบของคาร์บอนไดออกไซด์ที่พืชใช้นั้นจะอยู่ในรูปของสารละลายโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลาย การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของตัวทำละลาย ความดันย่อยของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ลักษณะทางเคมีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และตัวทำละลายที่คาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ สำหรับสารละลายเจือจางตามกฎของ Henry กล่าวไว้ว่าที่อุณหภูมิคงที่ปริมาตรหรือมวลของก๊าซที่ละลายในของเหลวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความดันในกรณีของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความดันย่อย 34 Pa จะมีความสามารถในการละลายในน้ำเท่ากับ 0.888 m^3CO_2/m^3 หมายถึง ในน้ำปริมาตร 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถละลายได้ 0.29 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำมากกว่า 99% จัดอยู่ในรูปของสารละลายและเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะอยู่ในรูปของกรดคาร์บอนิกและสามารถแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนตอิออน ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ ดังสมการที่1 และจะเกิดในช่วงพีเอชระหว่าง 4 - 12

$$CO_2 + H_2O \Leftrightarrow H_2CO_3 \Leftrightarrow H^+ + HCO_3 \quad (1)$$

dissolve solution solution

เมื่อพิจารณาสมการที่ 1 สามารถจะเขียนแยกทีละปฏิกิริยาได้ดังนี้

$$CO_2\,(g) \rightarrow CO_2\,(aq) \quad (2)$$

$$CO_2\,(aq) + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \quad (3)$$

$$H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^- \quad (4)$$

$$HCO_3^- \rightarrow CO_3^{2-} + H^+ \quad (5)$$

ในสารละลายที่มีค่าพีเอชในช่วง 4-6 นั้น อนินทรีย์คาร์บอนจะอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ซึ่งเมื่อค่าพีเอชเท่ากับ 4 จะพบเพียงคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ และเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นก็จะพบระดับของไบคาร์บอร์เนตที่สูงขึ้น ในช่วงค่าพีเอช 6-8 จะพบว่ามีไบคาร์บอเนตมากที่สุด รองลงมาคือคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำและคาร์บอร์เนต (CO_3^{2-}) และ

ในช่วงค่าพีเอช 8-10 จะพบว่ามีคาร์บอเนตมากที่สุด รองลงมาคือ ไบคาร์บอเนต และคาร์บอนไดออกไซด์ (สมรลักษณ์, 2549)

โดยปฏิกิริยาในสมการที่ 3 จะเกิดช้ามาก ซึ่งแตกต่างจากปฏิกิริยาในสมการที่ 2 และ 4 ที่ใช้เวลาเพียง 10^{-3} และ 10^{-5} วินาที ตามลำดับปฏิกิริยาในสมการที่ 3นี้สามารถเกิดขึ้นได้โดยอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (Carbonic anhydrase: CA) ที่พบในสาหร่ายหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด และในน้ำเค็ม ได้แก่ Cyanophyta Rhodophyta Cryptophyta Chromophyta Euglenophyta และ Chlorophyta (Samuel และ Bose, 1993) โดยทั่วไปคาร์บอนิกแอนไฮเดรสมักพบอยู่ที่คลอโรพลาสต์ แต่ในบางชนิดจะพบที่ผิวเซลล์ของสาหร่าย ในสภาวะที่ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำมักจะพบคาร์บอนิกแอนไฮเดรสอยู่ที่ผิวเซลล์ ส่วนในสภาวะที่มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงจะพบคาร์บอนิกแอนไฮเดรสอยู่ที่คลอโรพลาสต์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช การเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในน้ำ ไม่เพียงแต่จะทำให้ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น แต่ยังทำให้ค่าพีเอชลดลง ความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น และอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอีกด้วย (สมรลักษณ์, 2549)

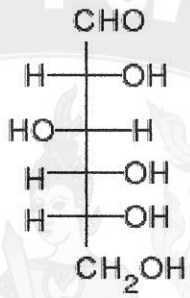
สาหร่ายสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้หลายชนิดเช่น *C. vulgaris* สายพันธุ์ 11 h และ *C. miniata* จะใช้อนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ แต่สาหร่ายบางชนิดใช้ไบคาร์บอเนตอิออน เช่น *C. vulgaris* สายพันธุ์ C-3, *C. ellipsoida* และ *Chlorella* sp. สายพันธุ์ K ซึ่งสาหร่ายบางชนิดสามารถใช้ได้ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ และไบคาร์บอเนตอิออน คือ *C. pyrenoidosa* โดยจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลาย เมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายสูง และใช้ไบคาร์บอเนตเมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้อย สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจจะใช้ได้ทั้งสองอย่าง (Findeneff, 1980)

นอกจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นที่มากเกินไปจะมีผลต่อการเติบโตและต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายคลอเรลล่าแล้ว ยังมีผลต่อกรดไขมันของสาหร่ายอีกด้วย โดยพบว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของ *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้อากาศธรรมดามีค่าสูงกว่าใน *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2%และเมื่อย้ายเซลล์มาเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ (อากาศธรรมดา) พบว่าจำนวนกรดไขมันยังคงเท่าเดิม มีเพียง Palmitic Oleic และ Linoleic acids เท่านั้นที่เพิ่มขึ้น (Kuruno และคณะ, 1995)

1.2.3.2 กลูโคส

เป็นน้ำตาลประเภทโมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) มีความสำคัญที่สุดในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตด้วยกัน เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน และสารเผาผลาญขั้นกลาง (Metabolic intermediate) กลูโคสเป็นหนึ่งในผลผลิตหลักของการสังเคราะห์แสง (ต่อระดับกรดไขมันของสาหร่ายอีกด้วย โดยพบว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของ *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้

อากาศธรรมดามีค่าสูงกว่าใน *C. vulgaris* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2%และเมื่อย้ายเซลล์มาเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ (อากาศธรรมดา) พบว่าจำนวนกรดไขมันยังคงเท่าเดิม มีเพียง Palmitic Oleic และ Linoleic acids เท่านั้นที่เพิ่มขึ้น (Kuruno และคณะ, 1995) Photosynthesis และเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการหายใจของเซลล์ (Cellular respiration) โครงสร้างโมเลกุลตามธรรมชาติ (D - glucose) จะอยู่ในรูปที่เรียกว่า เดกซ์โตรส (Dextrose) ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว หลอมละลายที่ 146°C น้ำหนักโมเลกุล 180.16 $g.mol^{-1}$ ความหนาแน่นเท่ากับ 1.54 $g.cm^{-3}$



ภาพที่ 15 โครงสร้างโมเลกุลของ D กลูโคส
ที่มา : สารานุกรมเสรี (2551)

1.2.3.3 แสงและช่วงของคลื่นแสง

แสงสว่างเป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งในการเจริญของสาหร่าย และพืชสีเขียวทุกชนิด เนื่องจากอิทธิพลของความเข้มของแสงสว่าง ช่วงความยาวคลื่นแสง และระยะเวลาในการรับแสงสว่างของสาหร่าย มีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงอย่างมาก โดยที่อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะเกิดขึ้นสูงสุดในระดับความเข้มของแสงที่เหมาะสมซึ่งการสังเคราะห์แสง คือ กระบวนการที่พืชสังเคราะห์สารอินทรีย์จากสารประกอบอนินทรีย์โดยมีแสงร่วมด้วย สำหรับความเข้มของแสงที่สูงจะไปยังยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง และที่ระดับของแสงที่ความเข้มต่ำ จะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นในอัตราที่จำกัด

แสงเป็นอนุภาคที่เรียกว่าโฟตอน (Photon) ในอนุภาคโฟตอนมีพลังงานที่เรียกว่า พลังงาน Quantum สาหร่ายสามารถใช้ในการสังเคราะห์แสงได้เป็นการดูดพลังงานจากอนุภาคโฟตอน (Photon) ที่โมเลกุลของรงควัตถุ (Pigment) เช่น คลอโรฟิลล์ เอ บี และอื่นๆ โดยช่วงคลื่นที่พืชสามารถดูดพลังงานได้นั้น อยู่ในช่วงคลื่น 400-700 nm ซึ่งอนุภาคที่อยู่สูงกว่าช่วงคลื่น 700 nm จะมีพลังงานที่ไม่เพียงพอที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง ส่วนอนุภาคที่อยู่ต่ำกว่า 400 nm จะมีพลังงานที่สูงเกินไป ทำให้เกิดการสลายของรงควัตถุในสาหร่าย (ศักดา, 2551) จากการศึกษาพบว่าคลอโรฟิลล์ เอ จัดว่าเป็น Primary pigment ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงโดยตรง เนื่องจากในคลอโรฟิลล์มีแมกนีเซียม และไนโตรเจนเป็นธาตุอาหาร ดังนั้นหากมีการขาดธาตุทั้งสองจะทำให้การสังเคราะห์แสงลดลง

ความเข้มแสง (Light intensity-brightness) คือ จำนวนโฟตอน หรือ ปริมาณพลังงานที่ถูกดูดซับต่อหน่วยเวลา แต่ละโฟตอนจะมีปริมาณพลังงานกำหนดตามการสั่นสะเทือนของโฟตอนระยะทางการสั่นสะเทือนที่สมบูรณ์ของโฟตอนเรียกว่าคลื่นแสง (Wavelength) โดยแสงที่เป็นประโยชน์ต่อการสังเคราะห์แสงอยู่ในช่วงคลื่นที่เรียกว่า Photosynthetically active radiation (PAR) หมายถึง แสงที่คลอโรฟิลล์ดูดซับไว้ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 nm โดย Fat soluble pigments จะพบใน พืช สาหร่าย (Algae) และแบคทีเรีย ดูดแสงที่ความยาวคลื่น 400-500 nm (ม่วง-น้ำเงิน) และ 600-700 nm (ส้ม – แดง) (นพมณี, 2550).

รังสีดวงอาทิตย์ เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ประกอบด้วยรังสีที่มีความยาวคลื่นๆ ตั้งแต่ 0.2-2,000 nm แต่เพื่อความสะดวกมักจะแบ่งช่วงความยาวคลื่นออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1) กลุ่มที่มีความยาวคลื่นน้อยกว่า 380 nm ได้แก่ Ultra violet, X rays, Gamma rays, Cosmic rays

2) กลุ่มรังสีแสง (ที่มีความยาวคลื่น 380 - 800 nm)

3) กลุ่มที่มีความยาวคลื่นมากกว่า 800 nm ได้แก่ Infrared, Radiowave, Microwaves การที่รังสีดวงอาทิตย์มีลักษณะเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า จึงทำให้อนุภาคโฟตอน (Photon) ที่มีอยู่สามารถเดินทางได้ด้วยความเร็วแสง คือ ประมาณ 3 x 10^8 cm/sec และแต่ละคลื่นมีความถี่ต่างกัน และมีความยาวคลื่นต่างกัน ทั้งสามค่ามีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 6

ความถี่ = ความเร็วแสง / ความยาวคลื่น (6)

PAR คือ รังสีดวงอาทิตย์ที่พืชสามารถนำเอาพลังงาน หรืออนุภาคโฟตอนจากคลื่นเหล่านี้ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ รังสีดวงอาทิตย์มีความยาวคลื่นระหว่าง 400-700 nm ต่างจากแสงตรงที่คำว่าแสงหมายถึงรังสีที่ตามนุษย์สามารถมองเห็นได้ ซึ่งบังเอิญอยู่ในช่วงคลื่นใกล้เคียงกันคือระหว่าง 380-800 nm

Photosynthetically Photon flux density เป็นหน่วยพื้นฐานของรังสีดวงอาทิตย์ที่ถูกนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของคลอโรพลาสต์ในเซลลพืช หมายถึงจำนวนอนุภาคประจุที่เรียกว่า Photons ที่มีอยู่ในรังสี PAR ต่อหน่วยพื้นผิวต่อเวลา มักจะแสดงเป็นหน่วยดังนี้ $\mu Mol/m^2 \cdot s^{-1}$ หรือ $\mu Eistein/m^2$/ light reaction ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

$$2H_2O + ADP + NADP^+ ATP \longrightarrow + NADPH + O_2 + 4H^+ + 4e^- \quad (7)$$

Light reaction เป็นการเปลี่ยนพลังงานจากอนุภาคโฟตอนในรังสี PAR เป็นพลังงานชีวเคมีในพืช (ATP) และเกิด ประจุอิเลคตรอน (NADPH) จากโมเลกุลน้ำ สำหรับการรีดิวซ์ (Reduce) คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นน้ำตาลและในส่วนของDark reaction ที่เกิดในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงสามารถอธิบายได้ตามสมการที่ 8 ดังนี้

$$CO_2 + ATP + NADH \longrightarrow C_6H_{12}O_6 \quad (8)$$

สาหร่ายแต่ละชนิดต้องการแสงสว่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไป โดยที่ความเข้มแสงมีผลกระทบต่อการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่อันเนื่องมาจากการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยที่การตรึงกาซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมดจะลดลง ในสภาวะความเข้มแสงน้อย เปอร์เซ็นต์คาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกตรึงไปใช้ในการรวมตัวเป็นโปรตีนเพิ่มขึ้นและเปอร์เซ็นต์ของการถูกนำไปรวมตัวเป็นคาร์โบไฮเดรตลดลง สำหรับในสภาวะความเข้มแสงในระดับที่สูงกว่า การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะมีมากกว่าอัตราการสังเคราะห์โปรตีน ดังนั้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีมากเกินไปนี้จะนำไปเก็บสะสมไว้ในรูปของคาร์โบไฮเดรต

ในขบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงแสงจะถูกดูดกลืนโดยรงควัตถุ และถูกเปลี่ยนไปเป็นพลังงานเคมีในรูปของ ATP และ NADPH ซึ่งจะถูกนำไปใช้เพื่อสร้างสารประกอบอินทรีย์ขึ้นมาจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ขบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะดำเนินขึ้นได้ โดยการใช้ความยาวคลื่นแสงช่วง 400-700 nm ซึ่งรงควัตถุทั่วๆ ไป ที่พบในสาหร่ายทุกชนิด คือ คลอโรฟิลล์ เอ แต่การดูดกลืนแสงของคลอโรฟิลล์ เอ มักจะมีรงควัตถุชนิดอื่นเข้ามาเสริมด้วยรงควัตถุที่เข้าร่วมเหล่านี้สามารถดูดกลืนความยาวคลื่นแสงในช่วงที่แตกต่างกันไป และมีการถ่ายเทพลังงานแสงไปยังคลอโรฟิลล์ เอ โมเลกุลของรงควัตถุจะถูกฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มของหน่วยที่ร่วมกันทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงโดยที่ศูนย์กลางปฏิกิริยาของหน่วยที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงนี้พลังงานแสงจะถูกนำไปใช้ในการเปลี่ยน NADP ให้เป็น NADPH และเปลี่ยน ADP ให้เป็น ATP สารประกอบทั้งสองชนิดนี้จะนำพลังงานและศักยภาพที่กำลังเปลี่ยนแปลงนี้ ไปใช้ในการตรึงคาร์บอน โดยที่ขบวนการเบื้องต้นของการสร้างสารประกอบอินทรีย์ จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ได้แก่ วัฏจักรเคลวิน (Calvin cycle) ภายในวัฏจักรนี้ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกนำไปใช้เพื่อสังเคราะห์น้ำตาลเฮกโซส (Hexose) ซึ่งมักจะเป็นโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงถูกนำมารวมกันเป็นโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) สายสั้นๆ เพื่อถ่ายเท หรือ สะสมเปลี่ยนแปลงเป็นโพลีแซคคาไรด์สายยาวต่อไป

1.2.3.4 อุณหภูมิ

สาหร่ายมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมอยู่ตลอดเวลา อุณหภูมิภายในเซลล์ของสาหร่ายเท่ากับอุณหภูมิของน้ำหรือสารละลายอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย นอกจากมีผลรวมต่อปฏิกิริยาแล้ว อุณหภูมิยังมีผลกับกระบวนการเมตาบอลิซึม ความต้องการอาหาร และส่วนประกอบของสาหร่าย โดยเฉพาะส่วนของโปรตีนและไขมัน อุณหภูมินอกจากมีผลโดยตรงกับสาหร่ายแล้ว ยังอาจส่งผลต่อเนื่องไปยังกระบวนการที่ควบคุมเกี่ยวกับเมตาบอลิซึม โดยเฉพาะเกี่ยวเนื่องกับเอ็นไซม์ที่ควบคุมการผ่านสารเข้าออกของเซลล์ และส่วนประกอบของเซลล์ ผลต่อเนื่องนี้อาจเนื่องมาจากผลรวมของอุณหภูมิกับสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ

อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในลักษณะของเอ็กโพเนนท์เชียล (Exponential) จนถึงจุดที่เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimal temperature) ในการเลี้ยงสาหร่ายในระดับใหญ่ เมื่อความหนาแน่นของสาหร่ายเพิ่มขึ้น ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสาหร่ายลดลงทั้งนี้ที่ความหนาแน่นสาหร่ายสูง ปริมาณแสงเป็นเครื่องจำกัดเพราะแสงที่สัมผัสกับเซลล์ลดลงอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้น โดย Hanagata และคณะ (1992) ได้ศึกษาการตอบสนองต่ออุณหภูมิของสาหร่ายสีเขียวและสีน้ำเงินแกมเขียว 34 ชนิด พบว่า สาหร่ายส่วนใหญ่มีช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมกว้าง แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจากช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมเพียง 2 หรือ 3 ℃ อัตราการเจริญเติบโตลดลงอย่างรวดเร็ว

1.2.3.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

สาหร่ายแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ที่ระดับค่าพีเอชแตกต่างกัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางจนถึงสภาพเป็นเบส หรือประมาณ 6.5-7.5 ส่วนสาหร่ายสีเขียวบางกลุ่ม เช่น เดสมิส ชอบสภาพที่เป็นกรดอ่อน ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.5-6.5 สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอเรลล่าจะอยู่ในช่วง 6-8 (Mayo, 1997) ค่าพีเอชของสารละลายอาหารมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมแทบอริซึ่มของสาหร่าย และยังมีบทบาทต่อการละลายของเกลือและสารประกอบเชิงซ้อนชนิดต่างๆ ในสารละลาย ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย ขณะเดียวกันค่าความเป็นกรดด่างยังส่งผลกระทบต่อการละลายของสารประกอบโลหะ โดยการเพิ่มค่าพีเอชจะเป็นสาเหตุให้สารประกอบโลหะที่เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นบางชนิด ตกตะกอน ดังนั้นสาหร่ายจึงขาดธาตุอาหารที่จำเป็นบางตัวได้นอกจากนี้ ค่าพีเอชยังมีผลต่อการละลายของธาตุอาหารจำพวกฟอสฟอรัส คือ ค่าพีเอชที่สูงกว่า 7 ฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นฟอสเฟตไอออน ซึ่งสาหร่ายคลอเรลล่านำไปใช้ไม่ได้ ในขณะที่ค่าพีเอชในช่วง 5.6-6.5 ฟอสเฟตจะอยู่ในรูปไดไฮโดรเจนฟอสเฟต และไฮโดรเจนฟอสเฟตไอออน ซึ่งสาหร่ายคลอเรลล่าสามารถใช้ได้ แต่ในสภาพสารละลายมีความเป็นกรดสูง ฟอสเฟตจะรวมตัวกับเหล็กหรืออะลูมิเนียมและตกตะกอนได้ (Yuan-Liu และคณะ, 2008)

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

1. การผลิตก๊าซชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ธเนศ และคณะ (2553) ทำการศึกษาการปรับสภาพต้นกล้วยด้วยวิธีทางเคมีที่มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยศึกษาที่ความเข้มข้นของโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 2, 3, 4, 5 และ 6% (w/v) และใช้เวลาในการปรับคุณภาพ 3, 6, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นของต้นกล้วยที่ 2, 3, 5, 10, 15, 20 และ 30%TS ผลการทดลองพบว่าการปรับคุณภาพต้นกล้วยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6% (w/v) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ที่ 3%TS เป็นสภาวะที่ปริมาณก๊าซมีเทนสูงสุด เท่ากับ 213.37 $mlCH_4/gCODadded$ หรือ 498.008

ml CH4/gVSadded ซึ่งมีปริมาณก๊าซมีเทนมากกว่า ระบบที่ป้อนที่ต้นกล้วยที่ไม่ผ่านการปรับคุณภาพเกือบ 2 เท่า

สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (2553) ได้วิจัยนำต้นข้าวโพดสดและมันสำปะหลังผลิตเป็นก๊าซชีวภาพ พบว่า ต้นข้าวโพดสดพันธุ์ 271 และพันธุ์ CP ที่ใช้ในการทดลองปริมาณ 1 ตัน จะสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้สูงสุดประมาณ 50 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งใช้ผลิตกระแสไฟฟ้าได้ประมาณ 70 หน่วย หรือทดแทนน้ำมันเตาได้ 28 ลิตร หรือทดแทนก๊าซ LPG ได้ประมาณ 23 กิโลกรัม หากคิดเปรียบเทียบจากพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลัง 1 ไร่ ผลิตมันสำปะหลังได้ 3.6 ตัน ซึ่งสามารถนำไปผลิตก๊าซชีวภาพได้ 1,080 ลบ.ม. และหากใช้พื้นที่ 1 ไร่ ในการปลูกข้าวโพดหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตจะได้ต้นข้าวโพดสด 2 ตัน ซึ่งสามารถนำไปผลิตก๊าซชีวภาพได้ 100 ลบ.ม. ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ

น้ำเพชรและสุภาวัฒน์ (2555) ได้ศึกษาศักยภาพการผลิตไฟฟ้าด้วยก๊าซชีวภาพ ที่ผลิตจากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พบว่าจากการประเมินปริมาณก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากชีวมวลชนิดฟางข้าว เหง้าและต้นมันสำปะหลัง และหญ้าเนเปียร์ยักษ์ ได้ปริมาณก๊าซชีวภาพ 322, 164 และ175 ลิตรต่อกิโลกรัม ตามลำดับ การผลิตไฟฟ้าต้องใช้พื้นที่ 21,417 , 71,993 และ 940 ไร่ ตามลำดับ และราคาต่อหน่วยวัตถุดิบในการผลิตไฟฟ้าคือ 4.44 3.87 และ 1.381 บาท กิโลวัตต์ชั่วโมง ตามลำดับ

ศูนย์วิจัยพลังงาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (2556) พบว่าหญ้าเนเปียร์มีส่วนประกอบของสารอินทรีย์ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเยื่อใยรวม ในอัตราที่สูง คิดเป็นร้อยละ 8.31, 2.04, 0.45 และ8.22 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ จากการคำนวณปริมาณของมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์จากธาตุองค์ประกอบของหญ้าเนเปียร์พบว่าสารอินทรีย์ในหญ้าเนเปียร์ สามารถย่อยสลายและเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนได้ประมาณสูงถึงร้อยละ 54.82 และคิดเป็นปริมาณก๊าซชีวภาพได้ 369.45 ลิตรต่อกิโลกรัม และยังพบว่า หญ้าเนเปียร์มีค่า VS/TS อยู่ในช่วง 0.63 ซึ่งอยู่ในช่วงค่าที่เหมาะสมสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ ดังนั้นหญ้าเนเปียร์ จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นพืชพลังงานสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพได้

Lehtomakiและคณะ (2004) พบว่าการปรับสภาพด้วยด่าง NaOH 2% 72 ช.ม.ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เพิ่มการผลิตก๊าซมีเทน 17% เนื่องจากสารเคมีมีผลต่อโครงสร้างของพืช ทำให้โครงสร้างผนังเซลล์พืชอ่อนตัวลงและสามารถย่อยสลายได้ง่าย (Selim และคณะ, 2004) และการปรับสภาพเบื้องต้นช่วยให้ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) และปริมาณของแข็งระเหยได้ (VS) มีค่าเพิ่มขึ้นปกติในการออกแบบระบบผลิตก๊าซชีวภาพจากของเสียอินทรีย์ จะใช้ค่า TS และ VS สำหรับออกแบบ เมื่อค่า TS และ VS มีค่าสูงก็จะส่งผลให้กระบวนการสร้างก๊าซชีวภาพมากขึ้นตามไปด้วย แต่หากสูงเกินไปมีผลต่อระบบอย่างมาก เนื่องจากในระบบมีความชื้นน้อยเกินไป ซึ่งความชื้นมีผลต่อการกระจายของเชื้อและสารอาหาร (Jewell และ คณะ, 1980) ขนาดของวัตถุดิบก็มีผลต่อการย่อยสลายอย่างมาก ยิ่งวัตถุดิบมีขนาดเล็กมากเท่าใดอัตราการย่อยสลายยิ่งมีมากขึ้น เพราะเป็นการเพิ่มพื้นที่ของผิวสัมผัสระหว่างวัตถุดิบและแบคทีเรียโดย Kaparaju และคณะ (2002) ได้สรุปไว้ว่าขนาดที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย และสามารถเพิ่มอัตราการผลิตมีเทน คือ ขนาด 10 มิลลิเมตร สำหรับพืชในกลุ่มหญ้า และกลุ่มถั่ว

Luc de Baere (2004) ได้ทำการสร้างระบบผลิตก๊าซชีวภาพของกระบวนการหมักแบบแห้งจากวัสดุทางการเกษตรขนาดบรรจุ 12.5 ตันต่อปี โดยประกอบด้วยวัสดุทางการเกษตรในกระบวนการ คือ ข้าวโพด เศษวัสดุจากต้นทานตะวัน หญ้า ของแข็งจากวัสดุจำพวกปุ๋ยทางการเกษตร จากการออกแบบพบว่าได้ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Dry matter เท่ากับ 29% เปอร์เซ็นต์VS เท่ากับ 85% และได้ปริมาณก๊าซชีวภาพเท่ากับ 145 Nm^3/Ton

Jehadและคณะ (2011) พบว่าการผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าหมัก (grass silage) จะช่วยเพิ่มสัดส่วนของก๊าซมีเทนสูงถึงร้อยละ 70-80 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chynoweth และคณะ (1993) ที่ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากหญ้าเนเปียร์สด เปรียบเทียบกับหญ้าเนเปียร์หมัก พบว่าหญ้าหมักสามารถผลิตก๊าซมีเทน 0.264 m^3CH_4/kg VS มีอัตราผลิตสูงกว่าหญ้าสด ซึ่งสามารถผลิตได้ 0.257 m^3CH_4/kg

2. การศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าและรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้เป็นข้อมูลและแนวทางในการทำการวิจัย จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สาหร่ายสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้หลายชนิดเช่น *C. vulgaris* สายพันธุ์ 11 h และ *C. miniata* จะใช้อนินทรีย์คาร์บอนในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำ แต่สาหร่ายบางชนิดใช้ไบคาร์บอเนตอิออน เช่น *C. vulgaris* สายพันธุ์ C-3, *C. ellipsoida* และ *Chlorella* sp.สายพันธุ์ K ซึ่งสาหร่ายบางชนิด สามารถใช้ได้ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ และไบคาร์บอเนตอิออน คือ *C. pyrenoidosa* โดยจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายเมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายสูง และใช้ไบคาร์บอเนตเมื่ออยู่ในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้อย สาหร่ายบางชนิดสามารถใช้รูปแบบของอนินทรีย์คาร์บอนได้เพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจจะใช้ได้ทั้งสองอย่าง (Findeneff, 1980)

ขนิษฐา และคณะ (2547) ได้ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว 4 ชนิด ได้แก่ *Chlorella* sp. *Kirchneriella* sp. *Navicula* sp. และ *Coccomyxa* sp.ในหลอดแก้วก้นแหลมพบว่าสาหร่ายที่ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ *Chlorella* sp.

ฤทัยรัตน์ (2548) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่ายพบว่า ความเข้มแสงยังคงเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp.โดยการเพิ่มความเข้มแสงมีผลทำให้ปริมาณไขมันมีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะเพิ่มขึ้นเมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางชีวเคมีภายในเซลล์สาหร่าย

นพมณี (2550) ได้ทำการศึกษาพบว่าความเข้มแสง (Light intensity-brightness) คือ จำนวนโฟตอนหรือ ปริมาณพลังงานที่ถูก ดูดซับต่อหน่วยเวลา แต่ละโฟตอนจะมีปริมาณพลังงานกำหนดตามการสั่นสะเทือนของโฟตอนระยะทางการสั่นสะเทือนที่สมบูรณ์ของโฟตอนเรียกว่าคลื่นแสง (Wavelength) โดยแสงที่เป็นประโยชน์ต่อการสังเคราะห์แสงอยู่ในช่วงคลื่นที่เรียกว่า Photosynthetically active radiation

(PAR) หมายถึง แสงที่คลอโรฟิลล์ดูดซับไว้ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 nm โดย Fat soluble pigments จะพบใน พืช สาหร่าย (Algae) และแบคทีเรีย ดูดแสงที่ความยาวคลื่น 400-500 nm (ม่วง-น้ำเงิน) และ 600-700 nm (ส้ม - แดง)

รัตนภรณ์ และงามนิจ (2552) ได้ศึกษาการผลิตลิปิดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp.KKU-S2 ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบ heterotrophic เมื่อใช้กลูโคสและน้ำตาลจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนด้วยการหมักแบบกะในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ปริมาตรอาหาร 1 ลิตร ให้ปริมาณเซลล์ 7.5 g/L ปริมาณลิปิด 3.08 g/L หรือ ร้อยละ 41.0 ในขณะที่เมื่อใช้น้ำตาลจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนให้ปริมาณเซลล์ 7.12g/L ปริมาณลิปิด 2.94g/L หรือ ร้อยละ 37.68 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบกะเปรียบเทียบกับแบบกะป้อนพบว่า การเพาะเลี้ยงแบบกะป้อนสาหร่ายให้ปริมาณมวลเซลล์ที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส 50 g/L พบว่ามีมวลเซลล์ 6.32g/L ปริมาณลิปิด 2.74 g/L หรือร้อยละ 43.24 โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่เมื่อเพาะเลี้ยงแบบกะป้อนที่น้ำตาลเริ่มต้น 50 g/L ได้มวลเซลล์ 7.0g/L ปริมาณลิปิด 4.09g/L หรือ ร้อยละ 58.4 โดยน้ำหนักแห้ง

กิตติพล และคณะ (2555) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์ขนาด 1 ลิตร ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนอง ทั้งนี้ปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง (T=25-40 องศาเซลเซียส) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น (pH=6-8) และสัดส่วนโดยปริมาตรก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (1.6-7.7%) โดยการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนองของ Box Behnken เมื่อทำการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์ขนาด 1 ลิตร ที่มีการให้แสงตลอดเวลาพบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ 29.6 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 7.26 และอัตราการไหลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์คือ 16.18 มิลลิลิตรต่อนาที หรือสัดส่วนโดยปริมาตรของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ 2.46% โดยสภาวะดังกล่าวให้ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะคือ 0.389 วัน$^{-1}$

Kuruno และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาพบว่านอกจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นที่มากเกินไปจะมีผลต่อการเติบโตและต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายคลอเรลล่าแล้ว ยังมีผลต่อระดับกรดไขมันของสาหร่ายอีกด้วย โดยพบว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้อากาศธรรมดามีค่าสูงกว่าใน *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในสภาวะที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์ 2%และเมื่อย้ายเซลล์มาเลี้ยงในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ (อากาศธรรมดา) พบว่าจำนวนกรดไขมันยังคงเท่าเดิม มีเพียง Palmitic Oleic และ Linoleic acids เท่านั้นที่เพิ่มขึ้น

Scarsella และคณะ (2010) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง 3 แบบ คือ autotrophic, mixotrophic และ heterotrophic พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบ mixotrophic ให้ผลดีกว่าการเพาะเลี้ยงแบบ autotrophicและ heterotrophic โดยสาหร่ายมีการเจริญที่ดีกว่า และมี lipid content ประมาณ 16.6% สำหรับหารเพาะเลี้ยงแบบ mixotrophic และแบบ heterotrophic และ autotrophicมี lipid content ประมาณ 9%และ 6% ตามลำดับ

Heredia-Arroyo และคณะ (2011) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* เพื่อสะสมไขมันโดยเปรียบเทียบการใช้สารต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน ทำการเพาะเลี้ยงแบบ autotrophic, mixotrophic และ heterotrophic พบว่า ชีวมวลของสาหร่ายดังกล่าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบ mixotrophic จะมีปริมาณมากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบอื่นๆ และพบว่าการใช้อะซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอนจะทำให้สาหร่ายมีการเจริญดีกว่าการใช้กลีเซลรอลเป็นแหล่งคาร์บอน

3. การผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

จิตรลดาและญาณินท์ (2554) ได้ทำการทดลองหมักสาหร่าย *Chlorella* sp. ในขวดหมักทดลองขนาด 500 มิลลิลิตร ที่สภาวะไร้อากาศ แบบครั้งเดียวไม่มีระบบการกวน จากผลการทดลองพบว่าสาหร่ายแบบเติมจุลินทรีย์ที่สภาวะมีแสงให้ปริมาณก๊าซมีเทนมากที่สุด 60.5% ของปริมาณก๊าซที่ได้ทั้งหมด

กระบวนการสร้างมีเทนของจุลินทรีย์ (Methanoginic Bacteria) จะเปลี่ยน Acetate ให้กลายเป็นก๊าซมีเทน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นก๊าซมีเทน ดังนั้นสามารถคำนวณปริมาณของมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์จากธาตุองค์ประกอบของพืช ดังแสดงในสมการที่ 9 (น้ำเพชรและสุภาวัฒน์, 2555: Pavlostathis และ Giraldo-Gomez, 1991) จากสมการสามารถคำนวณหาปริมาณของมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยพบว่าก๊าซผสมของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* มีองค์ประกอบของก๊าซมีเทนสูงถึงร้อยละ 44.92 ซึ่งหมายความว่าสารอินทรีย์ในสาหร่าย สามารถย่อยสลายและเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนได้ประมาณร้อยละ 44.92 และคิดเป็นปริมาณก๊าซชีวภาพได้ 1,061.84 ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ward และคณะ (2008) กล่าวว่า การผลิตก๊าซชีวภาพจากชีวมวลของพืชมีองค์ประกอบของก๊าซมีเทนร้อยละ 48-65 และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 36-41

$$C_aH_bO_cN_d+\left(\frac{4a-b-2c+3d}{4}\right)H_2O \longrightarrow \left(\frac{4a+b-2c-3d}{8}\right)CH_4+\left(\frac{4a-b+c+3d}{8}\right)CO_2+dNH_3 \qquad (9)$$

ที่มา : น้ำเพชรและสุภาวัฒน์ (2555)

ตารางที่ 4 การคำนวณองค์ประกอบของก๊าซมีเทน และปริมาณก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

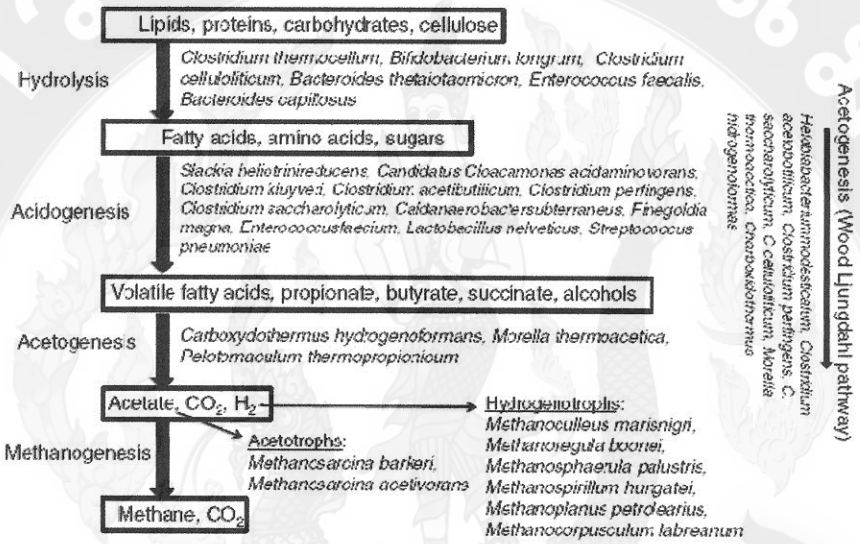
ธาตุ	สาหร่าย *Chlorella vulgaris*				
	ร้อยละ[1]	โมล[2]	CH_4[3]	CO_2	ปริมาณก๊าซชีวภาพ[4] (L/kg น้ำหนักสด)
C	48.5	4.04	44.92 (%)	39.80 (%)	1,061.84
H	7.4	7.4			
O	33.9	2.12			
N	10.2	0.73			

หมายเหตุ : [1] ข้อมูล Ultimate analysis จาก Auwal และคณะ (2010)

[2] โมล=น้ำหนักกรัม/มวลโมเลกุล

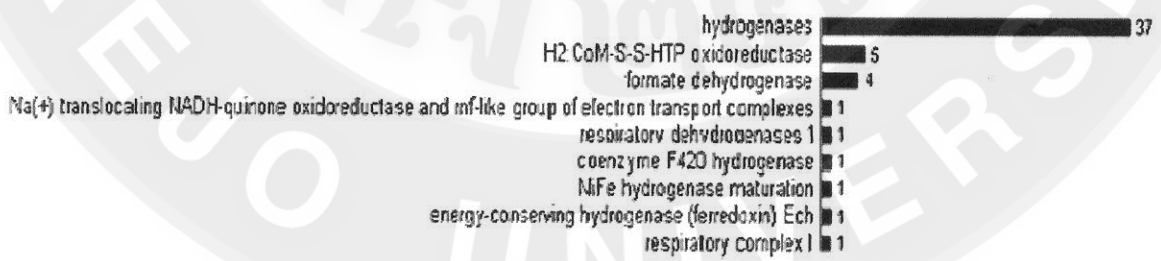
[3] ปริมาณ CH_4และปริมาณ CO_2คำนวณจากสมการที่ 9

Wirth และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มประชากรเชื้อจุลินทรีย์ในระบบผลิตก๊าซชีวภาพด้วยเทคนิคชนิดใหม่ที่เรียกว่า Short-read next generation DNA sequencing แล้วพบว่าเชื้อจุลินทรีย์หลักที่ทำหน้าย่อยสลายสารอินทรีย์ขนาดใหญ่เป็นเชื้อในกลุ่ม Eubacteria, class Clostridia, order Clostridiales, family Clostridiaceae แบคทีเรียกลุ่ม archaea พบว่าเป็นประชากรกลุ่มน้อย ทั้งนี้ในกลุ่ม Archaea ก็พบว่าเชื้อเด่นในกลุ่มนี้คือเชื้อ *Methanoculleus marisnigri* ซึ่งอยู่ใน order Methanomicrobiales



ภาพที่ 16 แสดงตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในแต่ละกระบวนการของการผลิตก๊าซชีวภาพ

ที่มา: Wirth และคณะ (2012)



ภาพที่ 17 แสดงเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตก๊าซชีวภาพ

ที่มา: Wirth และคณะ (2012)

Krustokและคณะ (2013) ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมสาหร่ายขนาดเล็กที่เก็บมาจากทะเลสาบกับเศษอาหารเทศบาล พบว่าสัดส่วนที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสูงสุดคือ สาหร่าย 12% :

เศษอาหารเทศบาล 88%ที่ระยะเวลาการหมัก 36 วัน การทดลองใน flasks ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และกล่าวว่า ที่สัดส่วนสาหร่าย 40% จะยับยั้งปฏิกิริยา methanogenic

Simone และคณะ (2013) ได้ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris*ใน reactors ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 วัน ได้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสะสม 364 mL/g VS มีองค์ประกอบของก๊าซมีเทน 62.6 %v/v

4. การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย

จากการศึกษาและรวบรวมงานวิจัยเบื้องต้น พบว่า การเลี้ยงสาหร่ายจำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้นจึงสามารถใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่ายในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพในการลด CO_2และ H_2S ได้ ดังแสดงในงานวิจัยที่ผ่านมา ดังนี้

มนัสนันท์ และพรรณวดี (2558) ศึกษาการลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก โดยศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580, *Chlorococcum* sp. TISTR 8583 และ *Scenedesmus* sp. TISTR 8479 ในน้ำหมักชีวภาพที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ ในสภาวะทดลองแบบธรรมชาติและที่อัตราความเข้มของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.5% และ 1% ซึ่งผลการทดลองพบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตต่างกันในสภาวะธรรมชาติ สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 เจริญเติบโตได้สูงสุด ในวันที่ 19 ของการเพาะเลี้ยงจำนวนเซลล์สาหร่ายสูงสุด $14.61\pm0.24\times10^6$ และ $10.26\pm0.67\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในน้ำหมักชีวภาพที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อตามลำดับ และที่อัตราความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.5% และ 1% พบว่าในวันที่ 19 ของการเพาะเลี้ยงจำนวนเซลล์สาหร่ายสูงสุด $4.48\pm0.31\times10^6$ และ $2.26\pm0.15\times10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในน้ำหมักชีวภาพที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตามลำดับ

Mann และคณะ (2009) ทำการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซภาพด้วยสาหร่าย *chlorella* sp. พบว่าสามารถลดปริมาณก๊าซ CO_2ในก๊าซชีวภาพลงได้ 97.07 % (ลดจาก 41 % เหลือ 2.3 %) และ ลด H_2S ได้ 100 % (ลดจาก 438 ppm เหลือ 0 ppm)

Au และKian (2009) ทำการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายในถังหมักแบบกะ ซึ่งก๊าซชีวภาพประกอบด้วย ก๊าซมีเทนร้อยละ 60 และก๊าซที่สภาวะ คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 40 ที่สภาวะมีแสง และไม่มีแสง จากการทดลองพบว่า ความเข้มแสง และปริมาณของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงมีผลต่อการลดปริมาณ CO_2และ H_2S โดยที่สภาวะการเลี้ยงที่ใช้แสง 14,000 Lux สามารถลดปริมาณ CO_2 ได้สูงสุด

HuJan (2009) กล่าวว่าสาหร่ายถูกนำมาใช้ในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์จากก๊าซชีวภาพโดยสามารถลดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ได้ 100 %

Ssein และคณะ (2012) กล่าวว่า มีการใช้สาหร่ายในการทำให้ก๊าซชีวภาพบริสุทธิ์ขึ้น โดยได้นำมาใช้ในการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์จากก๊าซชีวภาพในโรงไฟฟ้า (Lackne, 2003) และมีการเลี้ยงสาหร่าย ขนาดเล็ก (Microalgae) หลากหลายสายพันธุ์ในถังปฏิกรณ์ผลิตก๊าซชีวภาพเพื่อกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ ตั้งแต่ 5-15%v/v (Kumar และคณะ, 2010)

จากการศึกษาค้นคว้าและรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณก๊าซชีวภาพ พบว่า สาหร่ายมีศักยภาพในการนำมาใช้ปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ เนื่องจากในการเลี้ยงสาหร่ายจำเป็นต้องใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้นจึงสามารถใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่ายในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพในการลด CO_2และ H_2S ได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *chlorella* sp. โดยศึกษาสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ ได้แก่ สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และMixotrophic มีการประเมินศักยภาพของสาหร่ายในการนำมาปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยมุ่งเน้นที่ปริมาณการกำจัดก๊าซ CO_2และ H_2S

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

หัวเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ในการทดลองได้มาจากน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้และจากบ่อน้ำทิ้งของโรงงานสุราธนภักดี จำกัด จังหวัดเชียงใหม่โดยการเก็บน้ำทิ้งนี้เก็บจากบ่อบำบัดที่ไม่มีการเติมอากาศ แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส

เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

เศษหญ้า ซึ่งเป็น เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยได้จาก เศษหญ้าที่เหลือจากการเก็บเกี่ยว หรือ การเลี้ยงสัตว์ ซึ่งในงานวิจัยได้นำเศษหญ้ามาทำการ บดหยาบ ขนาดยาว 10-15 เซนติเมตร นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทำการย่อยด้วยกรด หรือการย่อยด้วยกรดร่วมกับความร้อนต่อไป

สาหร่าย

ใช้สาหร่าย ขนาดเล็กสายพันธุ์ *chlorella* sp. จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินงานของโครงการแบ่งวิธีการดำเนินงานออกเป็น 6 ส่วน ดังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานในภาพที่ 18

ส่วนที่ 1 รวบรวมข้อมูลและสถานภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ส่วนที่ 2 การทดสอบการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

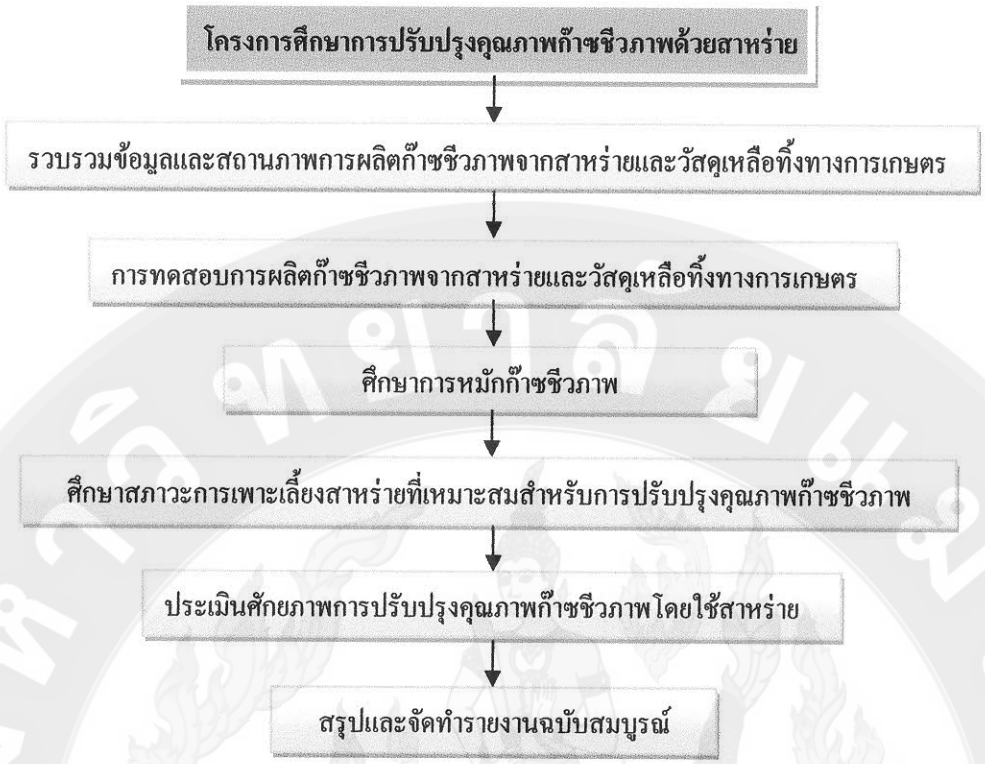
ส่วนที่ 3 ศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพ

ส่วนที่ 4 ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ส่วนที่ 5 ประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ส่วนที่ 6 สรุปและจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์

โดยในแต่ละส่วนมีขั้นตอนดำเนินงานดังนี้



ภาพที่ 18 ขั้นตอนการดำเนินงานของโครงการ

<u>ส่วนที่ 1</u> รวบรวมข้อมูลและสถานภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ศึกษาข้อมูลการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ในขั้นตอนนี้จะทำการศึกษาข้อมูลการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ที่เป็นเอกสารทางวิชาการ จากข้อมูลที่รวบรวมได้สามารถนำมาคัดเลือกวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีศักยภาพเพื่อใช้ทดสอบการผลิตก๊าซชีวภาพร่วมกับสาหร่าย

<u>ส่วนที่ 2</u> การทดสอบการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

โดยมีแนวทางการศึกษาดังนี้

2.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย

2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย

นำตัวอย่างน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ มาใช้สำหรับการเตรียมหัวเชื้อในการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยการดูดตัวอย่างน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ มา 1 มิลลิลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน ในสภาวะไร้อากาศ หลังจากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากฟลาสก์ดังกล่าว ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ต่อไป เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับผลิตก๊าซชีวภาพ

ทำการแยกเชื้อด้วยวิธีการนำน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ไปเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปิเปตตัวอย่างเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อแล้วเททับด้วยอาหาร Nutrient agar และอาหาร MRS agar ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 – 3 วัน ในสภาวะไร้อากาศ คัดแยกเชื้อที่เจริญมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร Nutrient agar และอาหาร MRS agar เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวแล้วเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

นำเชื้อที่คัดแยกได้มาทดสอบคุณสมบัติบางประการ ได้แก่ การติดสีแกรม และการผลิตเอนไซม์แคตาเลส

2.1.2 การเตรียมตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ

การศึกษาครั้งนี้ใช้ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพของโรงงานสุราธนภักดี จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ มาทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35-38 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ

2.2 เตรียมวัตถุดิบที่จะใช้ในการหมักเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ

การเตรียมตัวอย่างเศษหญ้าก่อนหมักโดยวิธีการย่อยด้วยกรด และวิธีการย่อยด้วยกรดและความร้อน หาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเศษหญ้าเพื่อกำจัดลิกนินออกจากเศษหญ้าโดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการย่อยเศษหญ้าด้วยกรด และการย่อยเศษหญ้าด้วยกรดร่วมกับความร้อน

ทำการทดลองการย่อยเศษหญ้าด้วยกรดโดยนำเศษหญ้าแห้งที่ผ่านการอบไปทำการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร โดยทำการแช่ด้วยกรดที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเศษหญ้าที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมาล้างด้วยน้ำจนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำที่ล้างเศษหญ้ามีค่าเป็นกลาง แล้วนำเศษหญ้าที่ผ่านการย่อยไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงแล้วนำมาบดละเอียด ให้มีขนาดเล็กประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

การทดลองการย่อยเศษหญ้าด้วยกรดร่วมกับความร้อน โดยนำเศษหญ้าแห้งที่ผ่านการอบไปทำการย่อยด้วยกรด ไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำเศษหญ้าที่ผ่านการย่อยด้วยกรดมาล้างด้วยน้ำจนค่าความเป็นกรดด่างของน้ำที่ล้างเศษหญ้ามีค่าเป็นกลาง แล้วนำเศษหญ้าที่ผ่านการย่อยด้วยกรดร่วมกับความร้อนไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาบดละเอียด ให้มีขนาดเล็กประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน

2.3 การศึกษาการทดสอบการหมักก๊าซชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

เตรียมเศษหญ้า 30 กรัม เติมสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *chlorella* sp. ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนต่างๆ ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับ

ปริมาตรให้ได้ 800 มิลลิลิตร ทำการทดลองละ 3 ซ้ำ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกันดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนี้

ตารางที่ 5 การศึกษาการทดสอบการหมักก๊าซชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่าง	สัดส่วน		
	สาหร่าย[1]	ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ[2]	หัวเชื้อจากการทดลอง[3]
Trt1	1	-	-
Trt2/1	1	1	-
Trt2/2	2	1	-
Trt2/3	1	2	-
Trt3/1	1	-	1
Trt3/2	2	-	1
Trt3/3	1	-	2
Trt4	1	1	1

หมายเหตุ : 1.สาหร่าย 1 ส่วน เท่ากับ 30 กรัม (น้ำหนักเปียก)

2. ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ 1 ส่วน เท่ากับ 30 กรัม (น้ำหนักเปียก)

3. หัวเชื้อจากการทดลอง 1 ส่วน เท่ากับ 300 มิลลิลิตร

เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นด้วยการแทนที่ก๊าซในน้ำ และวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

2.4 การทดสอบและวิธีวิเคราะห์

2.4.1 การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส(catalase)

ใส่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาการเกิดฟอง โดยการสังเกตฟองที่เกิดขึ้นให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่เกิดฟองให้ผลเป็นลบ

2.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณและองค์ประกอบของก๊าซ

เก็บตัวอย่างก๊าซที่ได้ที่ได้จากการหมักที่สภาวะต่างๆ โดยใช้หลอดสำหรับเก็บก๊าซ แล้วนำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของก๊าซ โดยใช้ Gas chromatography โดยวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

2.4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษหญ้า

➢ การหาปริมาณโฮโลเซลลูโลสโดยวิธี acid chlorite ด้วยวิธี ของ Browing

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 3 กรัมใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 160 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 1.5±0.1 กรัม นำขวดก้นกลมไปตั้งใน water bath ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 70-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเขย่าขวดอย่างสม่ำเสมอ หลังจากครบ 1 ชั่วโมง เติมกรดอะซิติก 0.5 มิลลิลิตร ตามด้วยโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม ลงในสารละลายที่ยังร้อนอยู่แล้วเขย่าขวด หลังจากครบ 2 ชั่วโมงและ 3 ชั่วโมง ให้เติมกรดอะซิติกและโซเดียมคลอไรด์ เมื่อครบชั่วโมงนำขวดก้นกลมมาวางในอ่างน้ำแข็งจนกระทั่งสารละลายในขวดมีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสแล้วนำสารละลายมากรองล้างตะกอนด้วยน้ำเย็นและอะซีโตน หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสแล้วนำมาชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลสต่อไปพร้อมคำนวณหาปริมาณโฮโลเซลลูโลสจากสมการ

$$\% \text{ โฮโลเซลลูโลส} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของโฮโลเซลลูโลสหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

➢ การหาปริมาณเซลลูโลสโดยวิธี TAPPI T203 om-88

ชั่งตัวอย่างจากการวิเคราะห์หาโฮโลเซลลูโลสประมาณ 1.5 ± 0.1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 400มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ลงไปโดยให้อุณหภูมิของ สารละลายอยู่ที่ประมาณ 25 ± 2 องศาเซลเซียสพร้อมคนสารละลายจนกระทั่งเยื่อกระจายอย่างสมบูรณ์ หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยให้ปริมาตรรวมของสารละลายเท่ากับ 100 มิลลิลิตร คนสารละลายต่อเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงในสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วคนสารละลายเป็นเวลา 30 นาที กรอง สารละลายแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นและตามด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 10 นำไปอบที่ 80 องศาเซลเซียสพร้อมคำนวณหาร้อยละเซลลูโลสจากสมการ

$$\% \text{ เซลลูโลส} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของเซลลูโลสหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

ปริมาณเฮมิเซลลูโลสหาได้จากสมการ

$$\text{เฮมิเซลลูโลส} = \% \text{ โฮโลเซลลูโลส} - \% \text{ เซลลูโลส}$$

➢ **การหาปริมาณลิกนินโดยวิธี TAPPI T222om-02**

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหนัก 1.0 ± 0.1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์ลงในอ่างน้ำ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆเติม H_2SO_4 เข้มข้นร้อยละ 72 ที่แช่เย็นอุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส ลงไป 15 มิลลิลิตร พร้อมคนอย่างสม่ำเสมอ ทุกๆ 15 นาที เพื่อให้ผสมกันดีขึ้น ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำออกจากอ่างน้ำแข็งมาตั้งทิ้งไว้ ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 20 ± 1องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง พร้อมคนสารละลายอย่างสม่ำเสมอ เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วเทสารละลายในบีกเกอร์ลงไปในขวดก้นกลม พร้อมทั้งเติมน้ำกลั่นลงไปจนถึงปริมาตร 575 มิลลิลิตร ทำการ Reflux สารละลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเทสารละลายทั้งหมด ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ตั้งบีกเกอร์ทิ้งไว้ 1 คืน นำไปกรองแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน และนำไปอบที่อุณหภูมิ 80องศาเซลเซียส แล้วนำออกมาทำให้เย็นลงใน Desiccator หลังจากนั้นจึงชั่งน้ำหนัก พร้อมคำนวณหาปริมาณลิกนินเป็นร้อยละดังสมการ

$$\% \text{ ลิกนิน} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของตะกอนหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

<u>ส่วนที่ 3</u> ศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพ

โดยมีแนวทางการศึกษาดังนี้

3.1 เตรียมการหมักก๊าซชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการด้วยระบบที่ประกอบด้วยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและสาหร่ายและเลือกใช้หัวเชื้อตามที่ได้คัดเลือกก่อนหน้านี้โดยใส่เศษหญ้า ปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่สาหร่าย ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนที่เหมาะสม ที่ได้จากการทดลองเลี้ยงในขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร มาทำการเลี้ยงในถังขนาด 20 ลิตร โดยปรับปริมาตรของเหลวทั้งหมดในถังเท่ากับ 15 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส

3.2 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทนก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และปริมาณเชื้อ

<u>ส่วนที่ 4</u> ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ในส่วนนี้คณะผู้วิจัยจะดำเนินการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการออกแบบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย ที่สภาวะการเลี้ยงแบบต่างๆ ดังนี้

4.1 สภาวะการเลี้ยงแบบ Autotrophic คือ สภาวะการเลี้ยงที่ให้สารอนินทรีย์เพียงอย่างเดียว เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2% ของปริมาตร (กิตติพล, 2555)

4.2 สภาวะการเลี้ยงแบบ Heterotrophic คือ สภาวะการเลี้ยงสาหร่ายที่ให้สารอินทรีย์เพียงอย่างเดียว เช่น กลูโคส กาแลคโตสและ ซูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร (Heredia-Arroyo และคณะ, 2011)

4.3 สภาวะการเลี้ยงแบบ Mixotrophic คือ สภาวะการเจริญเติบโตในการให้สารอนินทรีย์ เช่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงที่มีแสงสว่างและการให้สารอินทรีย์ เช่น กลูโคสในช่วงมืด ควบคู่กัน

แสดงชุดทดลองการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

การทดลอง	สภาวะการเลี้ยง
Autotrophic	*Chlorellab* sp. + 2% คาร์บอนไดออกไซด์
Heterotrophic	*Chlorellab* sp. +กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร
Mixotrophic	*Chlorellab* sp. +1% คาร์บอนไดออกไซด์+กลูโคส 5 กรัมต่อลิตร

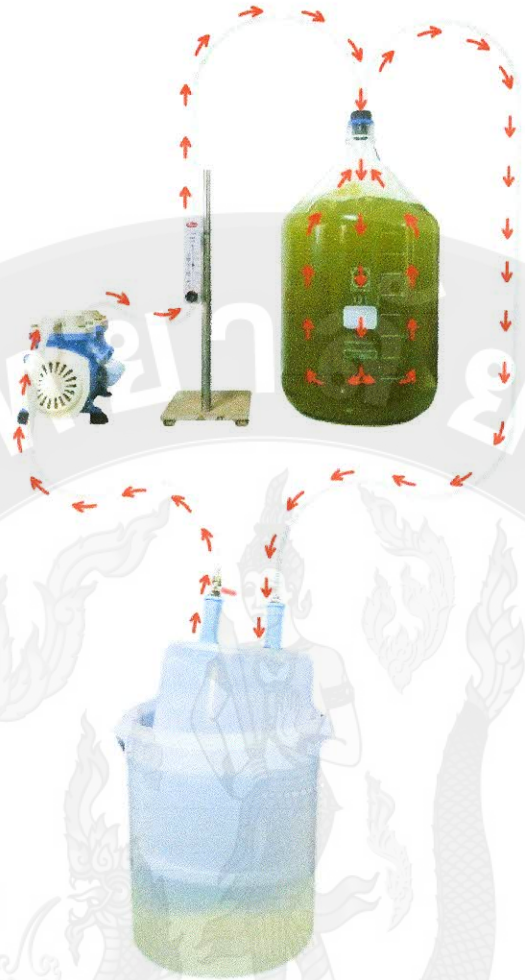
หมายเหตุ: 1. มีการเติมอากาศตลอด 24 ชั่วโมง

2. ใช้หัวเชื้อ *Chlorellab* sp. มีจำนวนเซลล์อยู่ในช่วง 2.0E+06 ถึง 3.0E+06 เซลล์ต่อมิลลิลิตร
3. เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.ในห้องปฏิบัติการ ด้วยสูตรอาหาร Jaworski's Medium (JM)
4. เก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน เพื่อวัดการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย โดยใช้ Hemacytometer

<u>ส่วนที่ 5</u> ประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

5.1 ออกแบบและจัดสร้างระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

ในขั้นตอนนี้คณะผู้วิจัยดำเนินการออกแบบและสร้างระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ข้อมูลจากผลการทดสอบและศึกษาปัจจัยและสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสม ในเทอมของการลดของปริมาณ CO_2และ H_2S แสดงชุดทดสอบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ชุดทดสอบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.ใช้เป็นชุดทดสอบความสามารถในการนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์ (สังเคราะห์แสง) ของสาหร่าย ซึ่งทำการกำหนดรายละเอียดของชุดการทดลองไว้ ดังนี้

ชุดทดสอบการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพระดับห้องปฏิบัติการประกอบด้วย

- เครื่องสูบฉีดก๊าซชีวภาพ (Pump)
- สายยางซิลิโคน
- เครื่องวัดอัตราการไหลของก๊าซ (Flow Rotameter)
- จุกยางเจาะรู
- หลอดแก้วที่มีความยาวเท่ากับความสูงของขวดบรรจุสาหร่าย
- หลอดแก้วสั้น สำหรับดักก๊าซ
- ชุดเก็บกักก๊าซชีวภาพ

5.2 ประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ในขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้ทำการประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพของชุดทดสอบที่สร้างโดยใช้ก๊าซชีวภาพเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย และประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่ายโดยจะศึกษาถึงตัวแปรต่างๆ ดังนี้

(1) ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ที่ลดลง

(2) ระยะเวลาในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพที่เหมาะสม

(3) อัตราการป้อนก๊าซชีวภาพ

การประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. แบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง แสดงดังตารางที่ 7 และภาพที่ 20

ตารางที่ 7 การประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.

ชุดการทดลอง	อัตราการป้อนก๊าซชีวภาพ (ลิตร/ต่อนาที)	ปริมาตรขวด (ลิตร)	ปริมาณสาหร่ายที่ใช้ (ลิตร)	ปริมาณก๊าซที่ใช้ (ลิตร)
1	10	10	9	18
2	10	5	4.5	18
3	15	10	9	18
4	15	5	4.5	18
5	20	10	9	18
6	20	5	4.5	18

ภาพที่ 20 การประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.

<u>ส่วนที่ 6</u> สรุปผลการดำเนินงาน และจัดทำรายงานผลการวิจัย

เมื่อเสร็จสิ้นโครงการจะสรุปผลการศึกษา และประเมินผลตามวัตถุประสงค์ของโครงการ พร้อมทั้งจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์ในลักษณะของรายงานวิจัยที่มีเนื้อหารูปแบบตามมาตรฐานสากล โดยอย่างน้อยต้องครอบคลุมสาระหลักของการศึกษาทั้งหมด

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

การดำเนินโครงการวิจัยการพัฒนาการหมักร่วมระหว่างวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกับสาหร่าย และการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย คณะผู้วิจัยได้ดำเนินงานในส่วนของการทดลอง โดยแบ่งผลการดำเนินงานออกเป็น 5 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ผลการทดสอบการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ส่วนที่ 2 ผลการศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพ

ส่วนที่ 3 ผลการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ส่วนที่ 4 ผลการประเมินศักยภาพการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ในแต่ละส่วนมีรายละเอียดผลการดำเนินงาน ดังนี้

ส่วนที่ 1ผลการทดสอบการผลิตก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

1.1 ผลการศึกษาเชื้อที่คัดแยกได้ และคุณสมบัติบางประการ

เมื่อนำน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ มาทำการแยกเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar โดยทำการเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซลเซียส พบว่า เชื้อที่แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ สามารถแยกได้ 9 ไอโซเลต โดยส่วนใหญ่นั้นจะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โดยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar มี 3 ไอโซเลต ได้แก่ M05 M06 และ M07 เชื้อที่มีการสร้างเอนไซม์แคตาเลส มี 5 ไอโซเลต ได้แก่ M01 M05 M06 M07 และ M08 ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 21

ในน้ำทิ้งประกอบด้วยสารอินทรีย์จำนวนมาก ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ในการผลิตก๊าซมีเทนจะอาศัยการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ในแต่ละขั้นตอน ได้แก่ การเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ให้กลายเป็นอะซิเตต จากนั้นก็จะมีจุลินทรีย์อีกกลุ่มเปลี่ยนจากอะซิเตตเป็นกรดอะซิติก และในขั้นตอนสุดท้ายกรดอะซิติกจะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนโดยจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตก๊าซมีเทน (Li และคณะ, 2011)

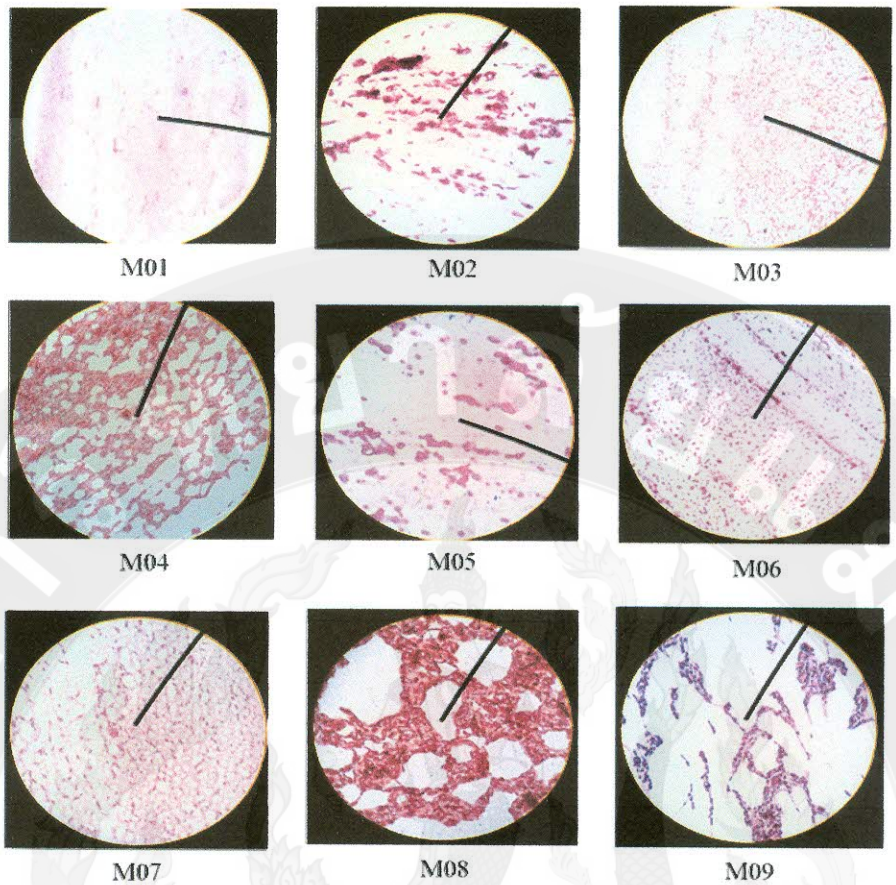
จุลินทรีย์ที่มักพบในบ่อบำบัดน้ำเสียที่ไม่มีการเติมอากาศ ได้แก่พวก methane-producing archaea และ sulfate-reducing bacteria (Du และคณะ, 2015)

ในกระบวนการหมักก๊าซมีเทน โดยใช้ของเสียที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส พบว่า ในช่วงแรกของการหมักจะพบจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ย่อยเซลลูโลส (cellulose-degrading organisms) เช่น Firmicutes จากนั้นเมื่อมีการผลิตก๊าซมีเทนจะพบจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตก๊าซมีเทน (methanogen) (Bareither และคณะ, 2013)

ในการคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทนจากของเสียจากครัวเรือน พบว่ามีจุลินทรีย์ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (37 องศาเซลเซียส) และกลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (55 องศาเซลเซียส) จุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางที่คัดแยกได้ คือ Bacteroidetes และ Chloroflexi ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงที่คัดแยกได้คือ Archaea (Leven และคณะ, 2007)

ตารางที่ 8 ลักษณะของเชื้อที่แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี		ติดสีแกรม	การเจริญในอาหาร MRS	การผลิตเอนไซม์แคตาเลส
	ขนาด (cm)	โคโลนี			
Mju01	0.6	ขาวขุ่น	ลบ	ไม่เจริญ	ผลิต
Mju02	0.2	ขาว	บวก	ไม่เจริญ	ไม่ผลิต
Mju03	0.8	ขาวขุ่น	ลบ	ไม่เจริญ	ไม่ผลิต
Mju04	0.3	เหลืองขุ่น	ลบ	ไม่เจริญ	ไม่ผลิต
Mju05	2.3	ขาวขุ่น	ลบ	เจริญ	ผลิต
Mju06	1.2	ขาวขุ่น	บวก	เจริญ	ผลิต
Mju07	0.3	ขาวขุ่น	ลบ	เจริญ	ผลิต
Mju08	0.7	ขาวขุ่น	ลบ	ไม่เจริญ	ผลิต
Mju09	0.6	ขาว	บวก	ไม่เจริญ	ไม่ผลิต

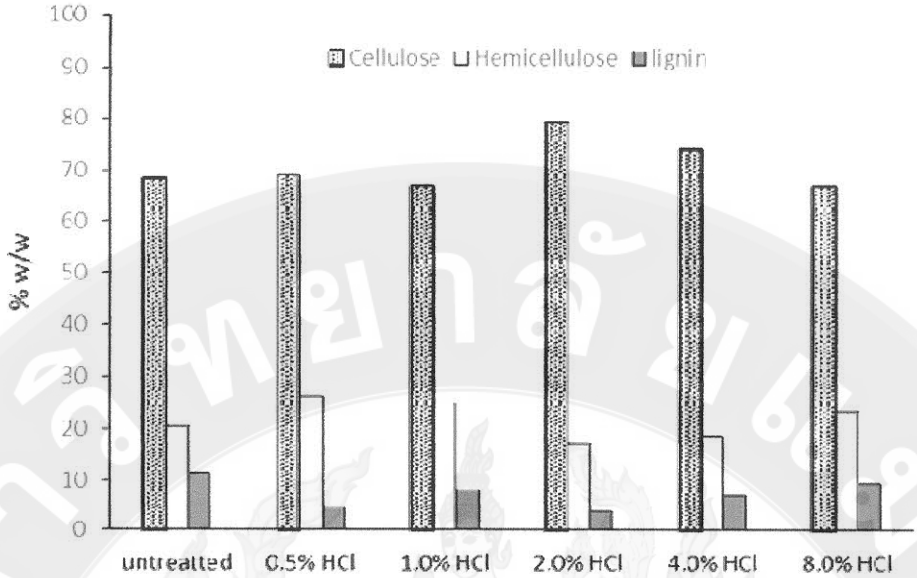


ภาพที่ 21 ลักษณะของเชื้อที่แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้จากการคัดแยกบนอาหาร nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

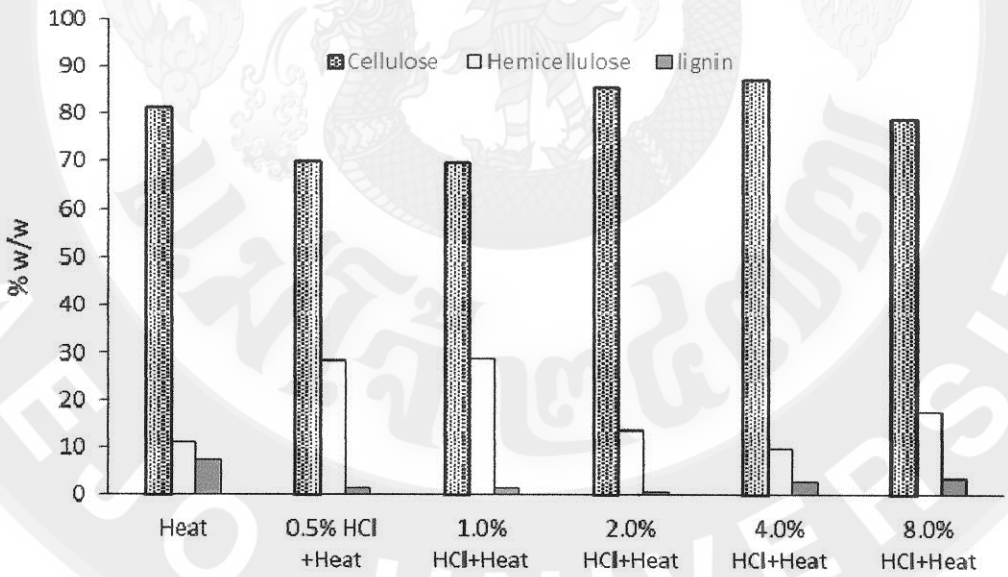
1.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเศษหญ้า

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเศษหญ้า โดยใช้กรด ไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ เข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 2.0 4.0 และ 8.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร และใช้กรดที่ความเข้มข้นเดียวกันร่วมกับความร้อนพบว่า การใช้กรดร่วมกับความร้อนสามารถกำจัดลิกนินออกจากเศษหญ้าได้มากกว่าการใช้กรดเพียงอย่างเดียว การย่อยเศษหญ้าโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก ร้อยละ 2.0 ร่วมกับความร้อน สามารถกำจัดลิกนินออกจากเศษหญ้าได้มากที่สุดโดยมีลิกนินเหลืออยู่ในเศษหญ้าร้อยละ 0.67 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก รองลงมาคือการใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 2.0 เพียงอย่างเดียว โดยมีลิกนินเหลืออยู่ในเศษหญ้าร้อยละ 3.83 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ดังแสดงในภาพที่ 22 และ 23

จากผลการทดลอง พบว่าในเศษหญ้าที่ผ่านการย่อยด้วยกรดและผ่านการย่อยด้วยกรดร่วมกับความร้อนได้ปริมาณเซลลูโลส ร้อยละ 79 และ 85 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ ดังภาพที่ 22 และ 23 จึงทำการเลือกวิธีย่อยเศษหญ้าด้วยกรดความเข้มข้นร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เพียงอย่างเดียว ซึ่งให้ปริมาณเซลลูโลสที่ใกล้เคียงกัน เพื่อเป็นการลดการใช้พลังงานความร้อนที่ใช้ในการย่อย

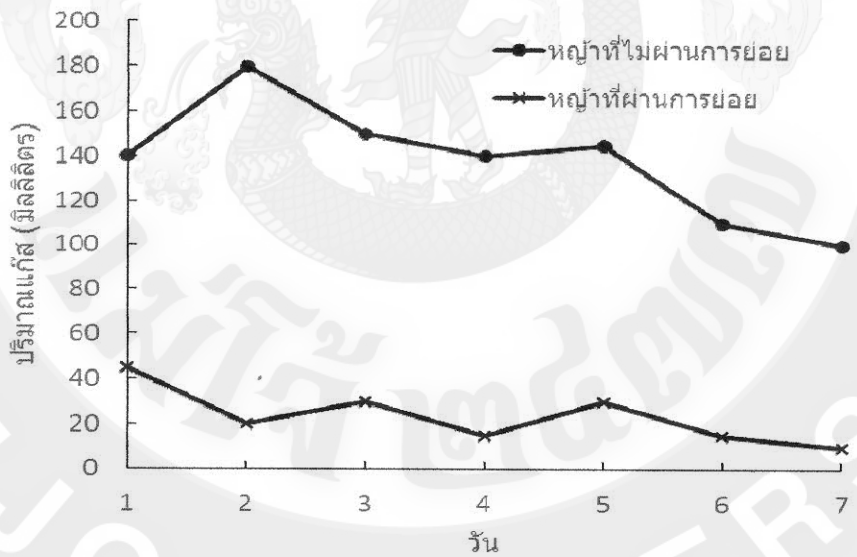


ภาพที่ 22 องค์ประกอบทางเคมีของเศษหญ้า (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน) ที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0.5 1.0 2.0 4.0 และ 8.0 โดยทำการย่อยด้วยกรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของเศษหญ้า (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน) ที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0.5 1.0 2.0 4.0 และ 8.0 ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

จากการทดลองเมื่อนำหญ้าที่ผ่านการย่อยและไม่ผ่านการย่อยมาหมักกับเชื้อที่คัดแยกได้ โดยใช้หญ้า 30 กรัม และหัวเชื้อที่แยกได้จากการทดลอง 300 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงในขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 800 มิลลิลิตร พบว่าหญ้าที่ไม่ผ่านการย่อยให้ปริมาณก๊าซชีวภาพสูงกว่าการใช้หญ้าที่ผ่านการย่อย ดังแสดงในภาพที่ 24 เนื่องจาก ในกระบวนการย่อยเศษหญ้าโดยใช้กรดทำให้เกิดสารที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ส่งผลต่อการผลิตก๊าซลดลง สารดังกล่าวได้แก่ Hydroxy metilfurfural และ furfural พบในกระบวนการย่อยฟางข้าวสาลีและชานอ้อยด้วยกรด ทำให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อในกระบวนการหมักก๊าซมีเทน ทำให้ให้ได้ปริมาณก๊าซมีเทนต่ำ(Bolado-Rodríguez และคณะ, 2016) จากการเปรียบเทียบการย่อยชานอ้อยโดยการใช้กรดไฮโดรคลอริกและการย่อยชานอ้อยโดยใช้ความร้อนเพื่อใช้ในการผลิตก๊าซมีเทนพบว่า ชานอ้อยที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้ปริมาณก๊าซมีเทนต่ำกว่าชานอ้อยที่ผ่านการย่อยด้วยความร้อน (Costa และคณะ, 2014) ผลการทดลองสอดคล้องกับการใช้กรดซัลฟูริกในการย่อยชานอ้อย พบว่ามี furfural เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยชานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริก ซึ่งมีผลไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักก๊าซมีเทน (Badshah และคณะ, 2012) การใช้ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกก่อนนำไปหมักให้ปริมาณก๊าซมีเทนน้อยกว่าฟางข้าวสาลีที่ไม่ผ่านการย่อย (Krishania และคณะ 2013)



ภาพที่ 24 การผลิตก๊าซชีวภาพโดยใช้ หญ้าที่ผ่านการย่อยและไม่ผ่านการย่อยมาหมักกับเชื้อที่คัดแยกได้ โดยใช้หญ้า 30 กรัม และหัวเชื้อที่แยกได้จากการทดลอง 300 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงในขวดขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 800 มิลลิลิตร

1.3 ผลการหมักในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร

จากการทดลองหมักเศษหญ้า 30 กรัม เติมสาหร่าย ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนต่างๆ ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 800 มิลลิลิตร ทำการทดลองละ 3 ซ้ำ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นด้วยการแทนที่ก๊าซในน้ำ และวิเคราะห์ปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อทำการผลิตก๊าซชีวภาพโดยใช้สัดส่วนของ สาหร่าย ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนต่างๆ พบว่าถังหมักที่ประกอบด้วย สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 (Trt2/3) ให้ปริมาณก๊าซชีวภาพสูงที่สุดคือ 700 มิลลิลิตร ในวันที่ 16-18 ของการเลี้ยง รองลงมาคือ สาหร่าย: หัวเชื้อจากการทดลอง สัดส่วน 1:2 (Trt3/3) ให้ปริมาณก๊าซชีวภาพเท่ากับ 500 มิลลิลิตร ในวันที่ 13 ของการเลี้ยง ส่วนการหมักที่สัดส่วนอื่นๆ ให้ปริมาณก๊าซชีวภาพที่ต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 9

เมื่อนำก๊าซจากถังหมักที่ประกอบด้วย สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณก๊าซ พบว่า มีปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ 245 mL (CH_4)/ L(medium), 112 mL (H_2)/ L(medium), 210 mL (CO_2)/ L(medium) และ 185 mL(H_2S)/ L(medium) ตามลำดับ ดังภาพที่ 25

จากผลการทดลองพบว่าในถังหมักที่ประกอบด้วย สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 และ สาหร่าย: หัวเชื้อจากการทดลอง สัดส่วน 1:2 สามารถผลิตก๊าซได้ปริมาณสูงกว่าสัดส่วนอื่นๆ เนื่องจากว่า สาหร่ายเป็นแหล่งไนโตรเจนเหมาะสำหรับส่งเสริมการเจริญของเชื้อที่สามารถผลิตก๊าซชีวภาพ โดยสัดส่วนที่ใช้ที่เหมาะสมคือ การใช้สาหร่าย 1 ส่วน ต่อ หัวเชื้อ 2 ส่วน มีรายงานการใช้สาหร่ายร่วมกับการหมักก๊าซชีวภาพ คือ

Yen และBrune (2007) พบว่าเมื่อทำใช้น้ำเสียจากโรงงานกระดาษหมักร่วมกับสาหร่ายสามารถเพิ่มปริมาณก๊าซมีเทนได้ถึง 1170 มิลลิลิตร

Matsui และ Koike (2010) เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากของเหลือทิ้งจากกโรงงานนมโดยการหมักร่วมกับสาหร่าย

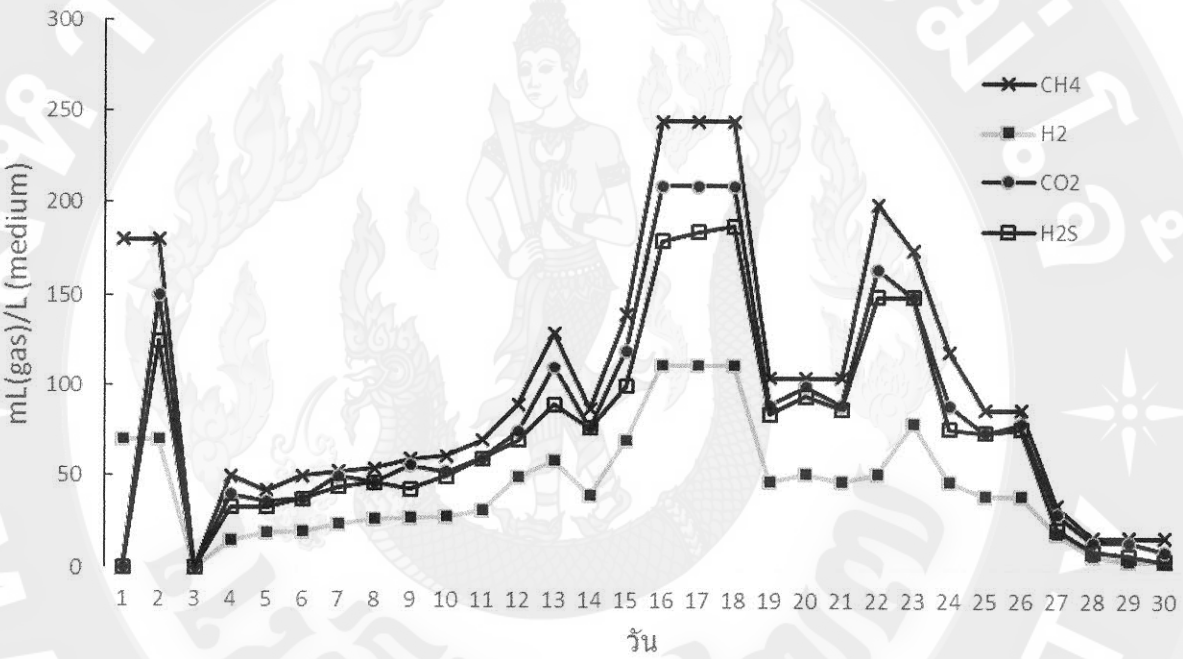
Zhong และคณะ (2012) พบว่าการใช้เปลือกข้าวโพดหมักร่วมกับสาหร่ายสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพได้ โดยสามรถเพิ่มปริมาณการผลิตแก๊สมีเทนได้ถึงร้อยละ 61

หากใช้สาหร่ายในปริมาณมากเกินกว่าสัดส่วนดังกล่าว ทำให้เชื้อไม่สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ (Akunna และ Hierholtzer, 2016) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ในสาหร่ายมีสาร Antibiotic ซึ่งไปยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ผลิตก๊าซชีวภาพ (Hierholtzer และคณะ, 2013)

ตารางที่ 9 การผลิตก๊าซชีวภาพ เมื่อทำการหมักร่วมกันระหว่าง เศษหญ้า สาหร่าย ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ และหัวเชื้อจากการทดลอง ในสัดส่วนต่างๆ ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน

วันที่	ปริมาณก๊าซ (มิลลิลิตร)							
	Trt1	Trt2/1	Trt2/2	Trt2/3	Trt3/1	Trt3/2	Trt3/3	Trt4
1	0	160	350	500	50	280	350	0
2	0	0	30	500	0	0	350	0
3	0	0	30	0	0	0	380	0
4	0	0	50	130	0	0	200	0
5	0	0	140	120	0	0	70	0
6	0	0	90	125	0	0	0	0
7	0	0	0	150	0	0	0	0
8	0	0	0	155	0	0	0	0
9	0	0	0	170	0	0	50	0
10	0	0	0	175	0	0	100	0
11	0	0	0	200	0	0	0	0
12	0	0	0	250	0	0	0	0
13	0	0	0	370	0	0	500	0
14	0	0	0	250	0	0	460	0
15	0	0	0	400	0	0	400	0
16	0	0	0	700	0	0	370	0
17	0	0	0	700	0	0	0	0
18	0	0	0	700	0	0	250	0
19	0	0	0	300	0	0	0	0
20	0	0	0	300	0	0	0	0
21	0	0	0	300	0	0	0	0
22	0	0	0	550	0	0	0	0
23	0	0	0	500	0	0	0	0
24	0	0	0	300	0	0	0	0
25	0	0	0	250	0	0	0	0

วันที่	ปริมาณก๊าซ (มิลลิลิตร)							
	Trt1	Trt2/1	Trt2/2	Trt2/3	Trt3/1	Trt3/2	Trt3/3	Trt4
26	0	0	0	250	0	0	0	0
27	0	0	0	100	0	0	0	0
28	0	0	0	50	0	0	0	0
29	0	0	0	50	0	0	0	0
30	0	0	0	50	0	0	0	0



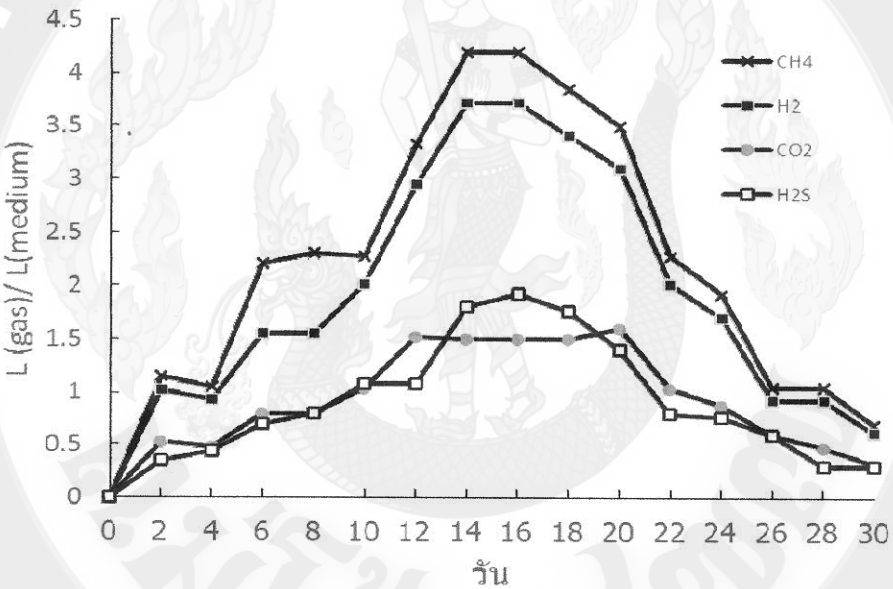
ภาพที่ 25 การผลิตก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เมื่อทำการหมักร่วมกันระหว่าง สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกวันนาน 30 วัน

ส่วนที่ 2 ผลการศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพ

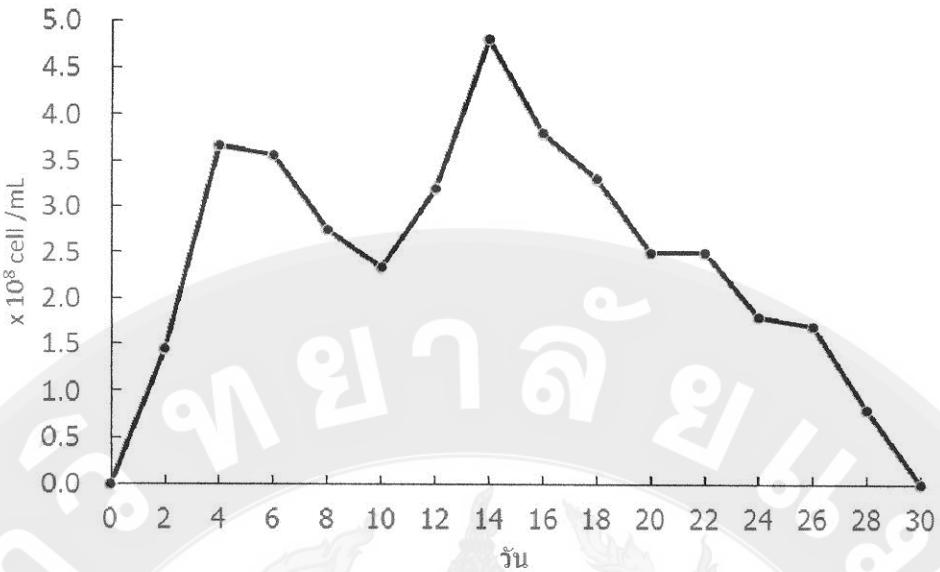
จากการทดลองพบว่าเมื่อทำการการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการหมักก๊าซชีวภาพ โดยใส่หญ้าปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่ สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ทำการเลี้ยงในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่ามีปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ สูงสุด

คือ 4.2 L(CH_4)/L medium, 3.7 L(H_2)/Lmedium, 1.5 L(CO_2)/L medium และ 1.9 L(H_2S)/L medium ในวันที่ 14 และ 16 ของการหมัก ดังแสดงในภาพที่ 26 เมื่อทำการศึกษาการเจริญของเชื้อพบว่า เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นสองช่วงคือ ช่วงแรกของการเลี้ยงคือวันที่ 4 มีการเจริญเท่ากับ 3.67 x 10^8เซลล์ต่อมิลลิลิตร และช่วงที่สองคือ ช่วงวันที่ 14 ของการเลี้ยง มีการเจริญเท่ากับ 4.80 x 10^8เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาพที่ 27 ซึ่งการเจริญช่วงที่สองนี้สัมพันธ์กับการผลิตก๊าซชีวภาพ สำหรับช่วงแรกที่เชื้อมีการเจริญสูงแต่มีปริมาณก๊าซต่ำอาจเนื่องมาจากสาเหตุว่า เชื้อที่เจริญในช่วงเวลาดังกล่าวเป็นเชื้อที่สามารถย่อยวัตถุดิบจากเศษหญ้าไปเป็นสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น น้ำตาล หรือกรดอินทรีย์ เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักก๊าซชีวภาพในช่วงที่สองของการเจริญต่อไป

จากรูปแบบการเจริญของเชื้อพบว่าภายหลังวันที่ 14 ของการเลี้ยง เชื้อลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ในถังหมัก



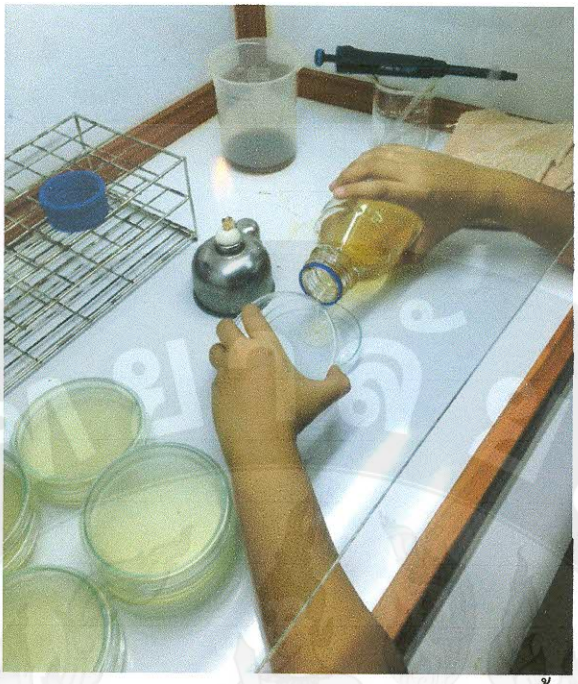
ภาพที่ 26 การผลิตก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยทำการหมักหญ้า ปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่ สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ทำการเลี้ยงในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน



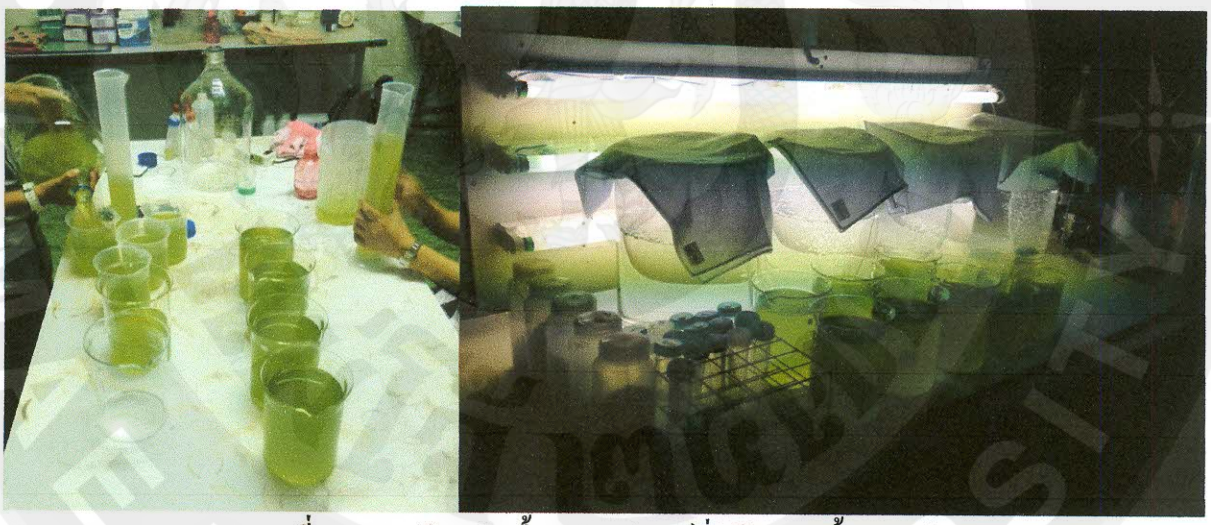
ภาพที่ 27 การเจริญของเชื้อ เมื่อทำการหมักหญ้า ปริมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง ใส่ สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 ทำการเลี้ยงในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน

ส่วนที่ 3ผลการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ในส่วนนี้คณะผู้วิจัยดำเนินการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการออกแบบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในห้องปฏิบัติการ ด้วยสูตรอาหาร Jaworski's Medium (JM) และขยายปริมาณหัวเชื้อสาหร่ายไปเรื่อยๆ ให้ได้ปริมาณมากพอที่จะนำไปใช้ในการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 28 จากนั้นนำสาหร่าย *Chlorella* sp. มาเพาะเลี้ยงในโหลแก้วขนาด 20 ลิตรที่สภาวะการเลี้ยงแบบต่างๆ ได้แก่ สภาวะการเลี้ยงแบบ Autotrophic มีการให้คาร์บอนไดออกไซด์เพียงอย่างเดียว คือ 2% CO_2 , Heterotrophic มีการให้สารอินทรีย์กลูโคสเพียงอย่างเดียว ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร และ Mixotrophic มีการให้ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์และกลูโคสโดยให้คาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงที่มีแสงสว่าง (1% CO_2) และการให้กลูโคสในช่วงมืด (5 กรัมต่อลิตร) มีการให้แสงสว่างในช่วงกลางคืนเป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) ขนาด 40 วัตต์ จำนวน 3 หลอดทำการเติมอากาศตลอดเวลาโดยใช้เครื่องเติมอากาศ (Air pump) เพื่อเติมอากาศและช่วยลดการตกตะกอน ดังแสดงในภาพที่ 29 และ 30



ภาพที่ 28 การเตรียมอาหาร Jaworski's Medium สำหรับการขยายหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp.



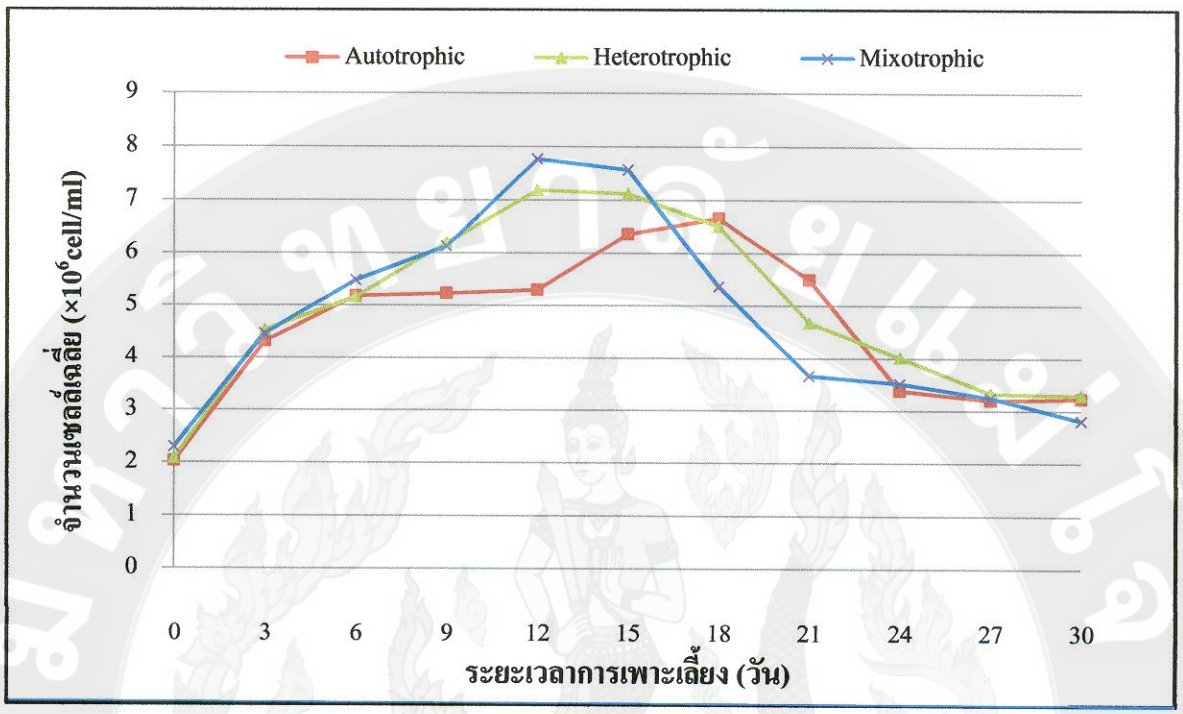
ภาพที่ 29 การเตรียมหัวเชื้อ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย

ภาพที่ 30 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะต่างๆ

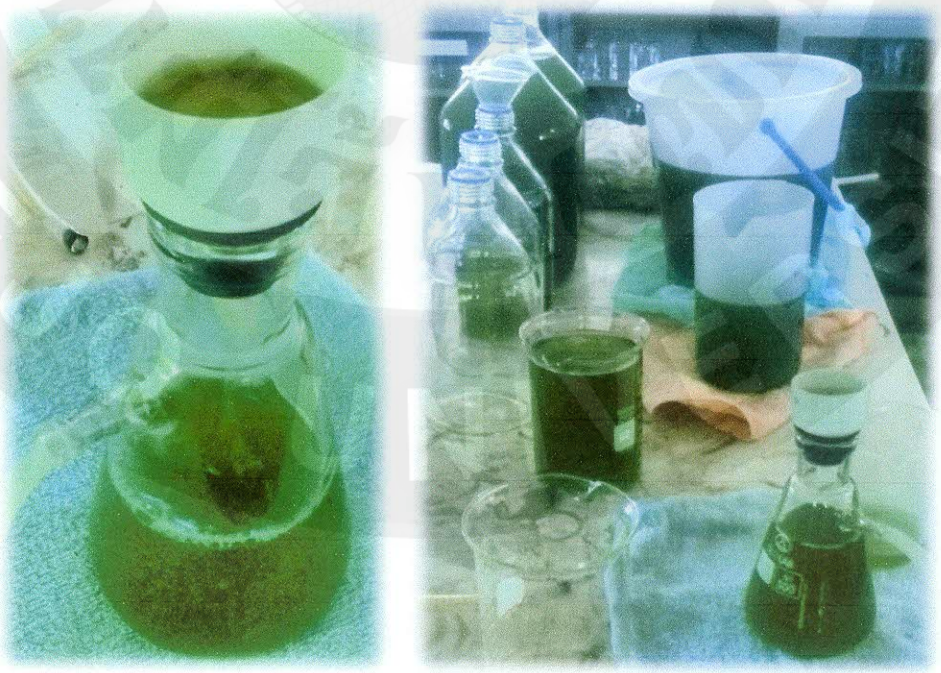
จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สภาวะต่างๆ พบว่า เมื่อนับจำนวนการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายทุก 3 วัน เป็นระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน จะเห็นได้ว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะ Mixotrophic จะมีการเจริญของเซลล์สาหร่ายสูงกว่าที่เลี้ยงภายใต้สภาวะ Autotrophic และ Heterotrophic คือ 7.77 $\times 10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตร, 6.67$\times 10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 7.18$\times 10^6$เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะ Mixotrophic และ Heterotrophic เข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 12 ส่วนการเลี้ยงในสภาวะ Autotrophic เข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 15 ของการเลี้ยง แสดงดังภาพที่ 31 ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ที่สภาวะ Mixotrophic สาหร่ายสามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่เป็น Autotrophic และ Heterotrophic แหล่งพลังงานได้รับจากทั้งแสงและสารอินทรีย์ (กลูโคส) โดยใช้ทั้งคาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ขณะที่การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะ Autotrophic สาหร่ายจะใช้เพียงแสงและคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งพลังงาน และคาร์บอน ตามลำดับ และ Heterotrophic จะใช้เพียงกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว (Chen และคณะ, 2011) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Heredia-Arroyo และคณะ (2011) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris* เพื่อสะสมน้ำมัน โดยพบว่า ชีวมวลของสาหร่ายดังกล่าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบ Mixotrophic จะมีปริมาณมากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบอื่นๆ

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.ที่สภาวะ Mixotrophic เป็นการเพาะเลี้ยงที่ให้สาหร่ายสังเคราะห์แสง เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแบบ Autotrophic แต่มีการเพิ่มแหล่งของคาร์บอนเพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของผลผลิตเพิ่มขึ้น โดยทั่วไปแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบ Mixotrophic และ Heterotrophic คือน้ำตาลกลูโคส แต่จำเป็นต้องใช้ในสัดส่วนที่สูง คือ 10 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบของ *Chlorella vulgaris* (Heredia-Arroyo และคณะ, 2011) และ

น้ำตาลกลูโคสเป็นสารเคมีที่มีราคาแพง ดังนั้นการหาแหล่งคาร์บอนอื่นๆที่มีราคาไม่แพงหรือเป็นของเหลือทิ้งจะสามารถใช้เป็นทางเลือกต่อไป



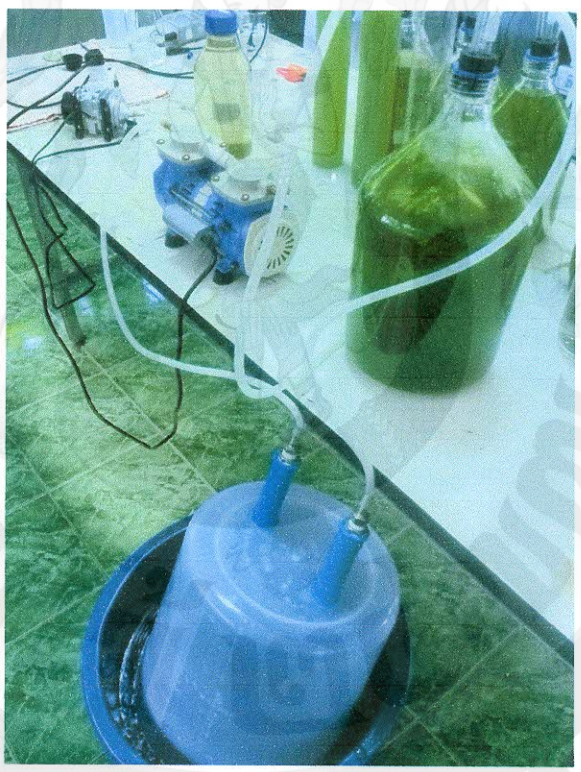
ภาพที่ 31 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน



ภาพที่ 32 แสดงการกรองสาหร่าย *Chlorella sp.* เพื่อนับจำนวนเซลล์ที่เจริญเติบโต

ส่วนที่ 4 ผลการประเมินระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่เหมาะสม พบว่าสาหร่ายจะมีการสังเคราะห์แสงโดยใช้ทั้งคาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสาหร่ายจะสามารถอยู่ได้ในสภาวะที่ใช้แสง (Autotrophic) และไม่ใช้แสง (Heterotrophic) โดยการสังเคราะห์แสงและตรึงคาร์บอนจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ให้อยู่ในรูปของคาร์โบไฮเดรตและพลังงานแบบต่างๆ ทำให้เมื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังช่วยลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสง ดังนั้นจึงสามารถใช้กระบวนการเลี้ยงสาหร่ายในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย คณะผู้วิจัยได้ทำการออกแบบระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพจากสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการดังแสดงในภาพที่ 33 ซึ่งรายละเอียดแสดงในหัวข้ออุปกรณ์และวิธีการวิจัย



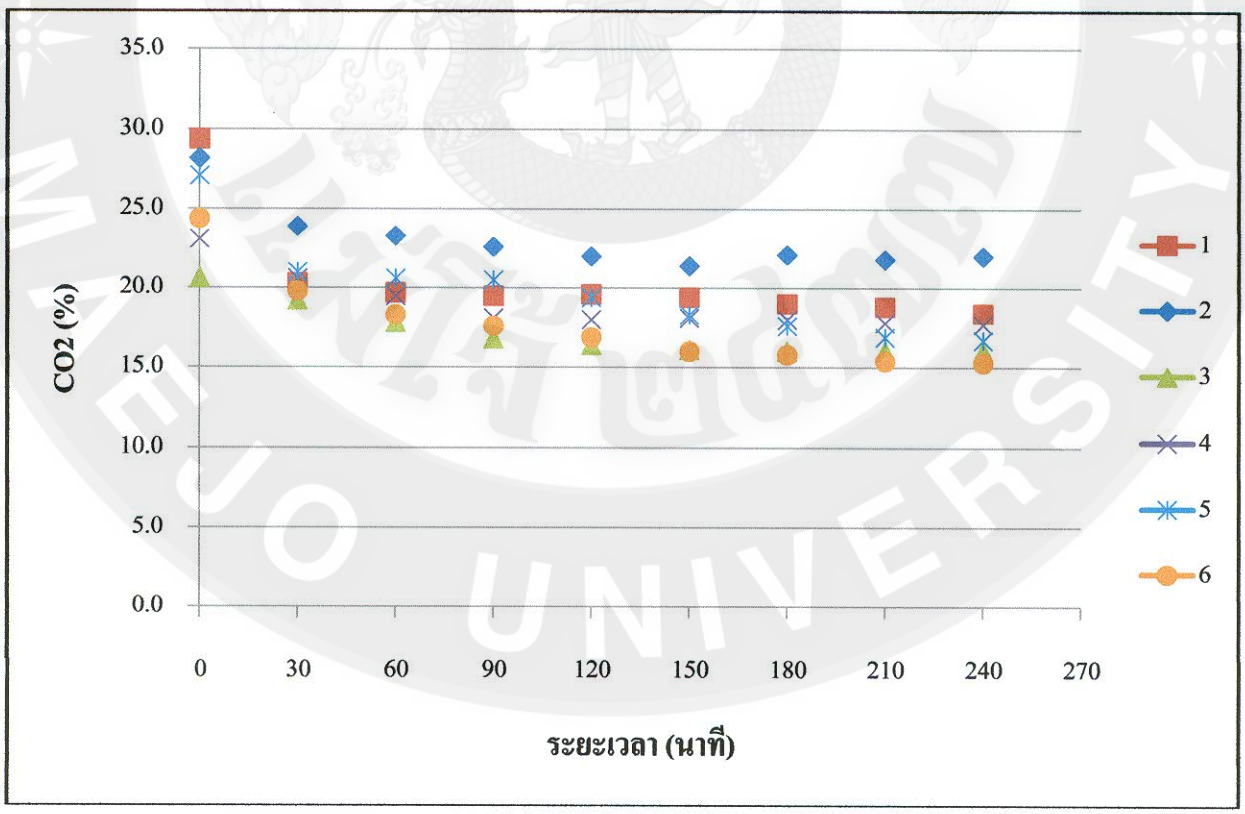
ภาพที่ 33 การทดสอบประเมินระบบการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย *Chlorella sp.*

จากนั้นทำการประเมินระบบปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ โดยทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ที่ลดลง ผลของระยะเวลา เพื่อศึกษาความสามารถในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ และอัตราการไหลของก๊าซชีวภาพโดยใช้

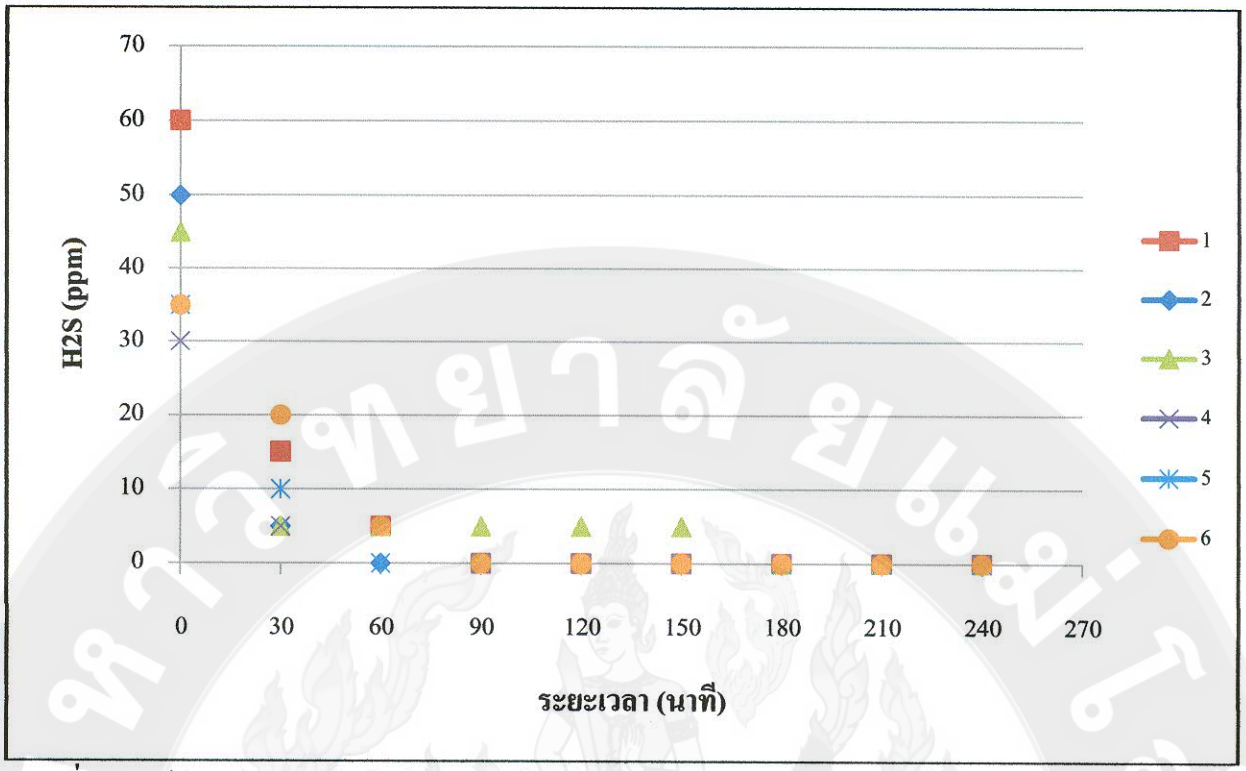
Flow Rotameter เป็นเครื่องมือในการควบคุมอัตราการไหลของก๊าซชีวภาพ แสดงชุดการทดลองดังตารางที่ 7 ในหัวข้ออุปกรณ์และวิธีการวิจัย

4.1 ความสามารถในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์

ผลจากการศึกษาความสามารถในการกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ของชุดทดสอบการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า ในช่วง 30 นาทีแรกของการทดสอบ องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงอย่างรวดเร็วในทุกชุดการทดลองโดยสามารถลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ร้อยละ21.99-38.38 หรือเฉลี่ยร้อยละ 30.13 และจะลดลงอย่างช้าๆอย่างต่อเนื่อง จนถึงช่วงเวลาหนึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีปริมาณคงที่ กล่าวคือ ระบบไม่สามารถกำจัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้อาจเนื่องจากปริมาณสาหร่ายที่ลดลงเมื่อเวลาในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวมวลมากกว่า 150 นาที ส่วนการลดลงของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์นั้นมีลักษณะการลดลงเช่นเดียวกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก จนกระทั่งหมดไปในที่สุดซึ่งสามารถลดปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ ได้ร้อยละ 100 ดังแสดงในภาพที่ 34 และ35 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mann และคณะ (2009) พบว่า สาหร่าย *chlorella* sp. สามารถลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในก๊าซชีวภาพลงได้ร้อยละ 97.07 (ลดจากร้อยละ 41 % เหลือร้อยละ 2.3) และลดปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ได้ร้อยละ 100 (ลดจาก 438 ppm เหลือ 0 ppm)



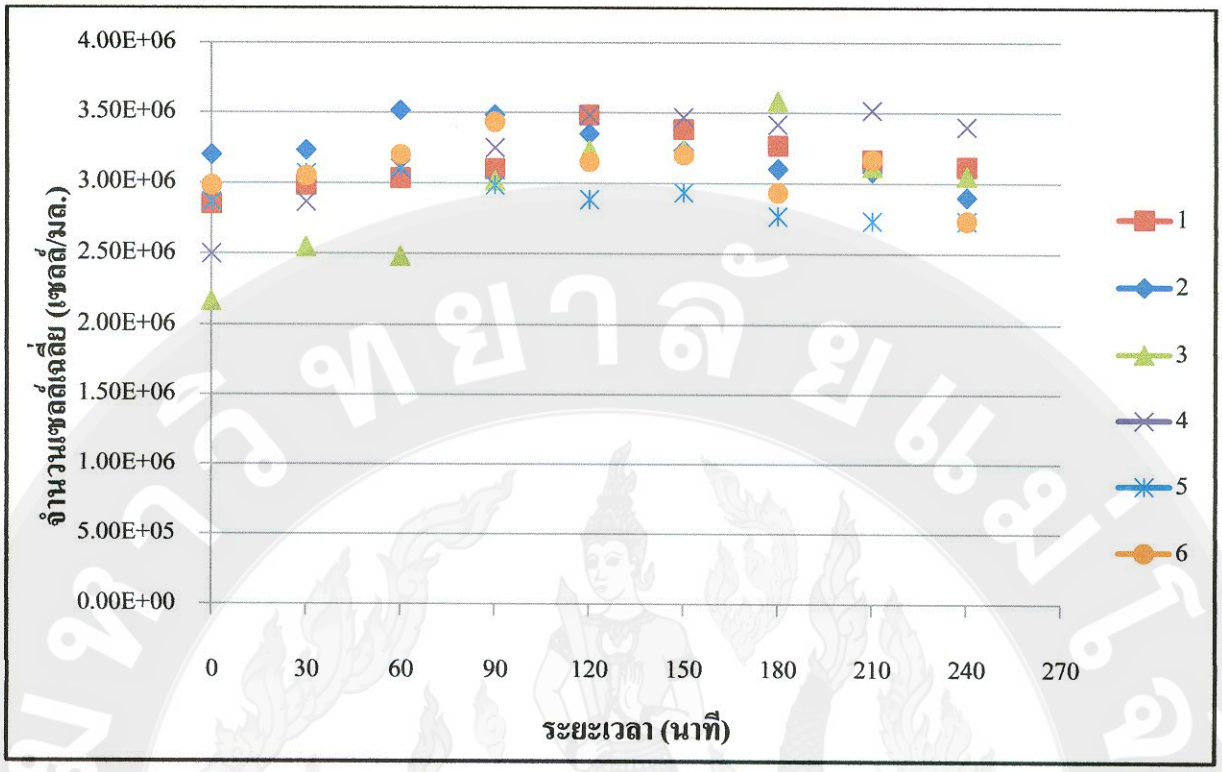
ภาพที่ 34 องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย



ภาพที่ 35 องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

4.2 ระยะเวลาในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพที่เหมาะสม

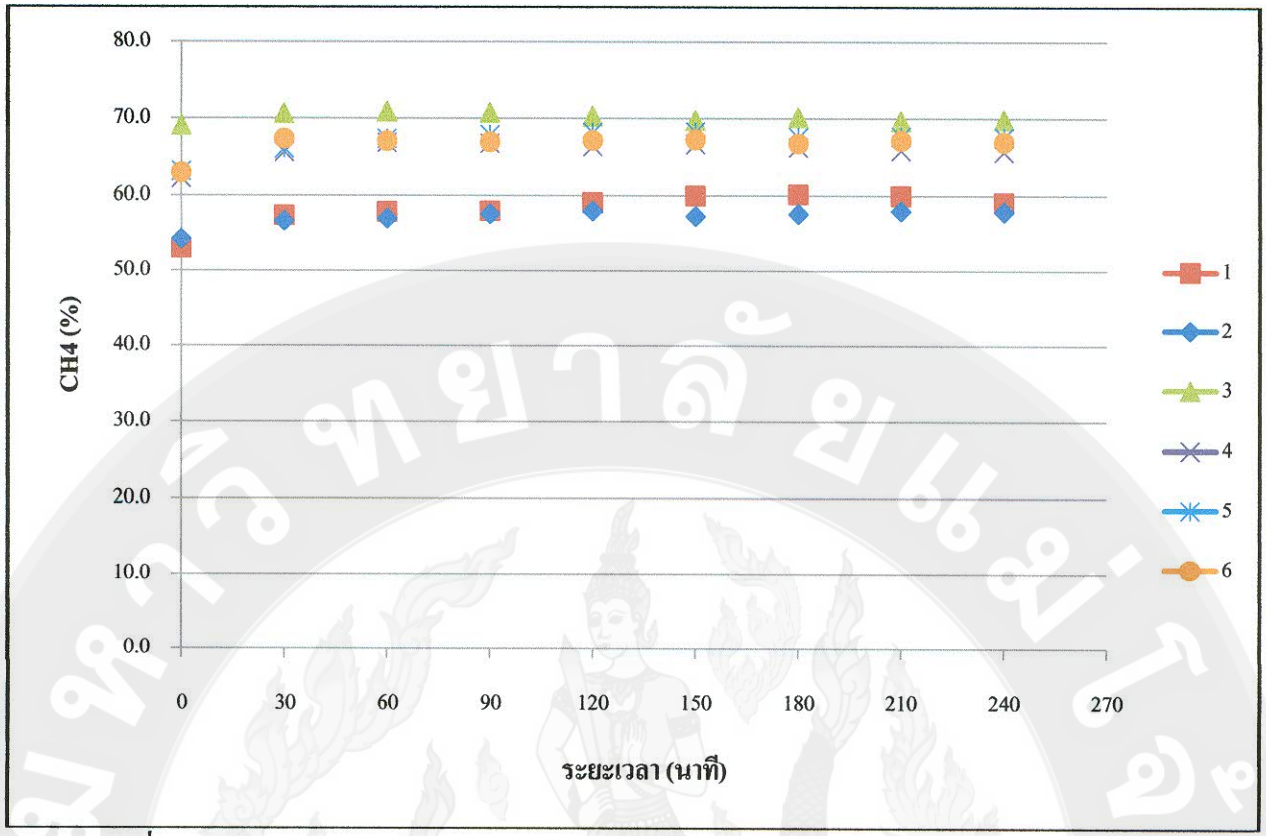
จากการตรวจนับจำนวนเซลล์สาหร่ายที่ใช้ในการประเมินการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย พบว่า จำนวนเซลล์ของสาหร่ายมีค่าเพิ่มขึ้นเฉลี่ยในช่วงเริ่มต้นของการทดลอง จนกระทั่งช่วงเวลาเฉลี่ยที่ 120-150 นาที มีจำนวนคงที่ จากนั้นปริมาณสาหร่ายมีแนวโน้มลดลงเมื่อใช้เวลาในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวมวลมากกว่า 150 นาที ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่าย *Chlorella* sp. อยู่ในช่วง 120-150 นาที ดังแสดงในภาพที่ 36



ภาพที่ 36 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

4.3 อัตราการป้อนก๊าซชีวภาพ

ผลจากการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพด้วยสาหร่ายที่อัตราการป้อนก๊าซชีวภาพที่อัตราการไหลของก๊าซชีวภาพที่ 10 ลิตรต่อนาที, 15 ลิตรต่อนาที และ 20 ลิตรต่อนาที พบว่า เมื่อเปรียบเทียบจากประสิทธิภาพการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบก๊าซมีเทนมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกัน โดยองค์ประกอบของก๊าซมีเทนมีค่าสูงขึ้นในช่วงเวลาเริ่มต้น จากนั้นมีค่าคงที่เมื่อเวลาประมาณ 90-120 นาที และพบว่าที่ชุดการทดลองที่ 1 มีอัตราการเพิ่มขึ้นของก๊าซมีเทนมีค่าสูงที่สุดโดยมีค่าร้อยละ 13.6 จากองค์ประกอบก๊าซมีเทนที่ไม่มีการปรับสภาพ ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่ใช้สาหร่ายมากที่สุด (9 ลิตร) และใช้อัตราการป้อนก๊าซต่ำ (ที่อัตราการไหลของก๊าซชีวภาพ 10 ลิตรต่อนาที) เพื่อให้เวลาในการทำงานของสาหร่ายสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ดังนั้นอัตราไหลของก๊าซชีวภาพที่เหมาะสมเท่ากับ 10 ลิตร/ต่อนาที และอัตราส่วนโดยปริมาตรระหว่างก๊าซชีวภาพกับสาหร่ายเท่ากับ 2:1 ดังแสดงในภาพที่ 37



ภาพที่ 37 องค์ประกอบของก๊าซมีเทนหลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองหมักเศษหญ้า 30 กรัม ร่วมกับสาหร่าย ในถังหมักจำลองขนาด 1,000 มิลลิลิตรพบว่า ถังหมักหญ้าที่ประกอบด้วย สาหร่าย: ตะกอนจากบ่อผลิตก๊าซชีวภาพ สัดส่วน 1:2 (Trt2/3) ให้ปริมาณก๊าซชีวภาพสูงที่สุดคือ 700 มิลลิลิตร รองลงมา คือถังหมักหญ้าที่ประกอบด้วยสาหร่าย: หัวเชื้อจากการทดลอง สัดส่วน 1:2 (Trt3/3) ให้ปริมาณก๊าซชีวภาพเท่ากับ 500 มิลลิลิตร

จากการศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพจากหญ้า ร่วมกับสาหร่ายในถังหมักขนาด 20 ลิตร ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 2 วัน เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีปริมาณก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ สูงสุดคือ 4.2 L(CH_4)/L medium, 3.7 L(H_2)/Lmedium, 1.5 L(CO_2)/L medium และ 1.9 L(H_2S)/L medium ตามลำดับเมื่อทำการศึกษาการเจริญของเชื้อพบว่า เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นสองช่วงคือ ช่วงแรกของการเลี้ยงคือวันที่ 4 มีการเจริญเท่ากับ 3.67 x 10^8เซลล์ต่อมิลลิลิตร และช่วงที่สองคือ ช่วงวันที่ 14 ของการเลี้ยง มีการเจริญเท่ากับ 4.80 x 10^8เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งการเจริญสัมพันธ์กับการผลิตก๊าซชีวภาพ

จากการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* พบว่า การเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่สภาวะ Mixotrophic จะมีการเจริญของเซลล์สาหร่ายสูงกว่าที่เลี้ยงภายใต้สภาวะ Autotrophic และ Heterotrophic คือ7.77 ×10^6เซลล์ต่อมิลลิลิตร, 6.67×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 7.18×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับโดยสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะ Mixotrophic และ Heterotrophic เข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 12 ส่วนการเลี้ยงในสภาวะ Autotrophic เข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 15 ของการเลี้ยง การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ที่สภาวะ Mixotrophic สาหร่ายสามารถใช้ทั้งคาร์บอนอินทรีย์และคาร์บอนอนินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน จึงทำให้สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในสภาวะดังกล่าวมีการเจริญเติบโตและเข้าสู่ระยะคงที่ได้เร็วกว่า การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะ Autotrophic และ Heterotrophic

จากการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella sp.* ผลการทดลอง พบว่าสามารถลดองค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 21.99-38.38 หรือเฉลี่ยร้อยละ 30.13 และลดองค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ ได้ร้อยละ 100 และสามารถเพิ่มองค์ประกอบของก๊าซมีเทนสูงสุดร้อยละ 13.6 จากองค์ประกอบก๊าซมีเทนที่ไม่มีการปรับสภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. กิตติพล กสิภาร์ วัชระ เวียงแก้ว ศิริวรรณ ศรีสรฉัตร์ และชนาธิป สามารถ. 2555. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris*ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวตอบสนอง. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. ปีที่ 40, ฉบับที่ 1, หน้า 188-197.
2. กรมควบคุมมลพิษ. 2544. **องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ**.[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http//www.pcd.go.th. (10 มีนาคม 2557).
3. ขนิษฐา ใช่เจริญ, วิไลลักษณ์ จำรูญและสาธิต โกวิทวที. 2004. **ปริมาณโปรตีนในสาหร่าย 4 ชนิด Chlorella sp., Kirchneriella sp., Navicula sp. และCoccomyxa sp.ที่ระยะเวลาการเลี้ยงต่างๆ**. โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. กรุงเทพฯ.
4. จิตรลดา สีเสน และญาณินท์ ลักขณานุรักษ์. 2554. **การผลิตแก๊สชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กเซลล์เดียว**. วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี. คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
5. ชมพูนุช อุศรัตนิวาส. 2551. **การเตรียมและลักษณะสมบัติของเมมเบรนไคโตซาน/ซีโอไลต์สำหรับการแยกมีเทนในก๊าซชีวภาพ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีเชื้อเพลิง ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 1-64.
6. ปกรณ์ ถนอมพงษ์ชาติ. 2552. **การแยกคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากก๊าซชีวภาพโดยการดูดซับด้วยของเหลวในคอลัมน์อัดตัว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, หน้า 1-60.
7. ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร. 2548. **สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella sp.* โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
8. ธเนศ สุขแก้ว, อัญวุฒิ สิริทรัพย์พูลผล และเมลดา เฟื่องฟู. 2553. **การผลิตก๊าซชีวภาพจากต้นกล้วย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สายวิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
9. น้ำเพชร พันธุ์พิพัฒน์ และสุภวัฒน์วิวรรธ์ภัทรกิจ. 2555. ศึกษาศักยภาพการผลิตไฟฟ้าด้วยไบโอแก๊สที่ผลิตจากเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร. **การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13**, 4-5 เมษายน 2555 จังหวัดเชียงใหม่.
10. นงค์นุช เรืองจิตต์ และเพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. 2002. การจำลองแบบการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์และชีวมวลในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้แสง. **การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13**. ตุลาคม 2546, หน้า 30-31

11. นพมณี โทปุญญานนท์. 2550. **Photosynthesis :การสังเคราะห์ด้วยแสง. เอกสารประกอบการเรียนการสอน.**[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://web.agri.cmu.ac.th/hort/course/359311/PPHY4_photosyn.htm, (14 พฤษภาคม 2555).

12. มนัสนันท์ งามถ้อย และพรรณวดี สุวัฒิกะ. 2558. การลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* TISTR 8580. **การประชุมหาดใหญ่วิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6**. 26 มิถุนายน 2558, หน้า 1630-1639.

13. รัตนภรณ์ ลีสิงห์ และงามนิจ นนทโส. 2552. การผลิตลิปิดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กภายใต้สภาวะเฮเทโรโทรฟิค. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. ปีที่ 37, ฉบับที่ 3, หน้า284-293.

14. วิทวัส แจ้งเอี่ยม. 2553. **กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยจุลสาหร่าย**. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

15. ศักดา จงแก้ววัฒนา. 2551. **พลังงานและการถ่ายทอดพลังงานในระบบเกษตรนิเวศ.**[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา :http://www.mcc.cmu.ac.th/graduate/Agro723/reading_Materials/Energy%201.html, (14 พฤษภาคม 2555).

16. ศูนย์วิจัยพลังงาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 2556. **โครงการศึกษาศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากพืชพลังงานโดยใช้เทคโนโลยีการหมักในสภาพไร้อากาศแบบแห้งที่มีการหมุนเวียนน้ำชะ**, รายงานฉบับสมบูรณ์, สำนักงานนโยบายและแผนพลังงาน กระทรวงพลังงาน

17. สมรลักษณ์แจ่มแจ้ง. 2549 .**สภาวะที่เหมาะสมในการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

18. สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานนครพิงค์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2553. **การผลิตก๊าซชีวภาพจากผลิตผลทางการเกษตร**. *ในรายงานผลการวิจัย*. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

19. สารานุกรมเสรี. 2551. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา :http://th.wikipedia.org/wiki/, (14 พฤษภาคม 2555).

20. Au and L. Kian. 2009. **Biogas purification using algae**. School of Civil and Environmental Engineering, Environmental Engineering Research Centre.

21. Auwal, A., P. H. Adam and L. Jonathan. 2010. **Fast pyrolysis of Microalgae (*Chlorella Vulgaris*) for Bio-oil and Biochar Production**. School of Chemical Engineering and Advanced Materials, Newcastle University.

22. Akunna, J.C., and A. Hierholtzer. 2016. Co-digestion of terrestrial plant biomass with marine macro-algae for biogas production.**Biomass and Bioenergy.**93: 137–143.

23. Bold, H. C., and M. J. Wynne. 1978. **Introduction to the Algae**. Structure and reproduction. Newjersey Prentice – Hall.

24. Badshah, M., D. M. Lam, J. Liu and B. Mattiasson. 2012. Use of an Automatic Methane Potential Test System for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. **Bioresource Technology**. 114: 262-269.

25. Bareither, C. A., G. L. Wolfe, K. D. McMahon and C. H. Benson. 2013. Microbial diversity and dynamics during methane production from municipal solid waste. **Waste Management.** 3(10): 1982-1992.

26. Bolado-Rodríguez, S., C. Toquero, J. Martín-Juárez, R. Travaini and P. A. García-Encina. 2016. Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**. 201: 182-190.

27. Brettschneider, O., R. Thiele, R. Faber, H. Thielert and G. Wonzny. 2004. Experimental Investigation and Simulation of The Chemical Absorption in a Packed Column for The System NH_3-CO_2-H_2S-NaOH-H_20. **Separation and Purification Technology**. Vol. 39 : 139-159.

28. Costa, A. G., G. C. Pinheiro, F. G. C. Pinheiro, A. B. Dos Santos, S. T. Santaella and R. C. Leitao 2014. The use of thermochemical pretreatments to improve the anaerobic biodegradability and biochemical methane potential of the sugarcane bagasse. **Chemical Engineering Journal**. 248: 363-372.

29. Chen, C. Y., K. L.Yeh, R. Aisyah, D.J.LeeandJ. S.Chang. 2011. Cultivationphotobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. **Bioresource Technology**. 102 (1), 71–81.

30. Curtis R. S., 2003. Recent Selexol Operating Experience with Gasification Including CO_2 Capture. *In* **Proceeding of the 20th Annual Pittsburgh Coal Conference**. Pittsburgh, PA, September 15-19.

31. Du, J., Y. Hu, W. Qi, Y. Zhang, Z. Jing, M. Norton and Y.-Y. Li. 2015. Influence of four antimicrobials on methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in anaerobic granular sludge. **Chemosphere**. 140: 184-190.

32. Das Sarma, S. 2006. Extreme halophiles are models for astrobiology. **Microbes**. 1: 120-126.

33. Findeneff, G.R. 1980. **Inorganic carbon transport in microalgae II : Uptake of HCO^-_3 Ions during photosynthesis of five microalgae species**. Plant science letters. 18:289 - 297.

34. Hussein, Z., N. Gita, H. M. Ang and M. O. Tade. 2012. **CO_2Biomitigation and Biofuel Production using microalgae: Photobioreactors developments and future direction**. Advances in Chemical Engineering, Curtin University, Australia.

35. Hanagata, N. T., T. Takeuchi, Y. Fukuju, D. J. Barnes and I. Karube. 1992. Tolerance of microalgae to high Co_2 and high temperature. **Phytochemistry**. 31 (10): 3345-3348.

36. Hierholtzer A., L. Chatellard, M. Kieransand J.C. Akunna, P.J. 2013. Collier The impact and mode of action of phenolic compounds extracted from brown seaweed on mixed anaerobic microbial cultures. **Journal of Applied Microbiology**.114 : 964–973.

37. Heredia-Arroyo, T., W.Wei, R.Ruan, and B.Hu. 2011. Mixotrophic cultivation of Chlorella vulgaris and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. **Biomass Bioenergy**. 35 (5), 2245–2253.

38. Jan Cebula. 2009. **Biogas purification by sorption techniques. Architecture civil engineering environment**. the Silesian University of technology. Poland.

39. Jewell, W. J., O. S. Dell, K. J. Fanfoni, T. D. Hayes, A. P. Leuschner and D. F. Sherman. 1980. **Anaerobic fermentation of agricultural residue : potential for improvement and implementation**. 2 : 340-387. *In* Research report. Ithaca : Cornell University.

40. Jehad, A. D., O. Angela, G. Elaine and R. David. 2011. Batch and continuous biogas production from grass silage liquor. **Bioresource Technology.** Vol.102:10922–10928.

41. Kaparaju, P., S. Luostarinen, E. Kalmari, J. Kalmari and J. Rintala. 2002. Codigestion of energy crops and industrial confectionery by-products with cow manure: Batch scale and farm-scale evaluation. **Water Science Technology**. 45: 275–280.

42. Krustok, l., E. Nehrenheim, M. Odlare, X. Liu and S. Li. 2013. Cultivation of indigenous algae for increased biogas production. *In* **Proceeding of International Conference on Applied Energy ICAE 2013**. Jul 1-4, 2013, Pretoria, South Africa.

43. Kuruno, N., H. Ikemoto, T. Miyashita, H. Hasegawa. and S. Miyachi. 1995. Fixation andutilization of carbon dioxide bymicroalgal photosynthesis. **Energy Conversion and Management.** (6- 9) : 689 – 692.

44. Krishania, M., V. K. Vijay and R. Chandra. 2013. Methane fermentation and kinetics of wheat straw pretreated substrates co-digested with cattle manure in batch assay. **Energy.** 57: 359-367.

45. Leven, L., A. R. Eriksson and A. Schnurer. 2007. Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. **FEMS Microbiology Ecology**. 59 (3): 683-693.

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

47. Lindberg, A., and K. T. h. I. f. kemiteknik. 2003. **Development of In-situ Methane Enrichment as a Method for Upgrading Biogas to Vehicle Fuel Standard: Selective Desorption of Carbon Dioxide from Sewage Sludge.**

48. Lehtomaki, A., T. A. Viinikainen, O. M. Ronkainen, R. Alen and J. A. Rintala. 2004. Effect of pre-treatments on methane production potential of energy crops and crop residues. pp. 1016–1021. *In* **Proceeding of the 10th World IWA Congress on Anaerobic Digestion**. IWA Publishing. London.

49. Luc de Bare. 2004. **Dry continuous anaerobic digestion of energy crops**. OWS nv.

50. Mann, G., M. Schlegel, R. Schumann and A. Sakalauskas. 2009. Biogas-conditioning with microalgae. **Agronomy Research**. 7 (1) : 33-38.

51. Mayo, A.W. 1997. Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga*Chlorellavulgaris* Cultures containing bacteria. **Water Envionment Research**, 69 (1) : 64 -72.

52. Matsui, T. and Y. Koike. 2010. Methane fermentation of a mixture of seaweed and milk at a pilot-scale plant.**Journal of Bioscience and Bioengineering**. 110: 558–563.

53. Maceiras, R., E. Alvarez, and M. A. Cancela. 2008. Effect of Temperature on Carbon Dioxide Absorption in Monoethanaolamine Solutions. **Chemical Engineering Journal**. Vol. 138 : 295-300.

54. Pavlostathis, S. G. and E. Giraldo-Gomez. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Control**. 21(5-6) : 411-490.

55. Scragg, A. H., A. M. Lllman. and S. W.Shales. 2002. Growth of microalgae with increase calorific values in a tubular bioreactor. **Journal of Biomass and Bioenergy**. 23 : 67 - 73.

56. Simone, P., L. R. S. Ricardo, P. M. Melissa, O. N. Estela, L.B. da S.Marcio. 2013. **Biogas production from microalgae biomass**. Simposio Internacional Sobre Geren- ciamento de Residuos Agropecuarios e Agroindustriais – SIGERA.

57. Samuel, K. and S. Bose. 1993. Effects of Sandoz 9789 on growth and content of *Chlorella protothecoides* grown under two different light intensity. **Journal of EnviromentBiology.**14 : 321- 241.

58. Scarsella M., G. Belotti, P. DE. Filippisand M. Bravi. 2010. Study on the optimal growing conditions of Chlorella vulgaris in bubble column photobioreactors. **Chemical Engineering and Technology**. 20: 85-90.

59. Selim, A. S. M., J. Pan, T. Takano, T. Suzuki, S. Koike, Y. Kobayashi and K. Tanaka. 2004. Effect of ammonia treatment on physical strength of rice straw, distribution of straw particles and poetical-associated bacteria in sheep rumen. **Animal Feed Science** and **Technology**. 115 : 117-128.

60. Ward, A. J., P. J. Hobbs, P. J. Holliman and D. L. Jones. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**. 99 : 7928–7940.

61. Wirth, R., E. Kovács, G. Maróti, Z. Bagi, G. Rákhely, and K. L. Kovacs. 2012. Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read next generation DNA sequencing. **Biotechnology for Biofuels**. 5: 41.

62. Yuan-Liu, Z., G. Ce-Wang, and B. Cheng-Zhou. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Journal of Bioresource Technology.** 99: 4717 - 4722.

63. Yen, H. W., and D. E. Brune. 2007. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. **Bioresource Technology**. 98: 130–134.

64. Yang, H., Z. Xu, M. Fan, R. Gupta, R. B. Slimane, A. E. Bland and I. Wright. 2008. Progress in carbon dioxide separation and capture: A review: **Journal of Environmental Sciences**, 20 : 14-27.

65. Zhong, W., Z. Zhongzhi, L. Yijing, Q. Wei, X. Meng and Z. Min. 2012. Biogas productivity by co-digesting Taihu blue algae with corn straw as an external carbon source. **Bioresource Technology**. 114: 281–286.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 สูตรอาหาร Jaworski's Medium (JM)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (4.0 g/200 ml)	1.0 ml
KH_2PO_4 (2.48 g/200 ml)	1.0 ml
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (10.0 g/200 ml)	1.0 ml
$NaHCO_3$ (3.18 g/200 ml)	1.0 ml
EDTAFeNa (0.45 g/200 ml)	1.0 ml
$EDTANa_2$ (0.45 g/200 ml)	1.0 ml
H_3BO_3 (0.496 g/200 ml)	1.0 ml
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (0.278 g/200 ml)	1.0 ml
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (0.20 g/200 ml)	1.0 ml
Cyanocobalamin (0.008 g/200 ml)	1.0 ml
Thiamine HCl (0.008 g/200 ml)	1.0 ml
Biotin (0.008 g/200 ml)	1.0 ml
$NaNO_3$ (16.0 g/200 ml)	1.0 ml
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ (7.2 g/200 ml)	1.0 ml
Deionized water to	1.0 L

ที่มา : Unipath Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hants RG24 0PW, UK

หมายเหตุ : 1. ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติม Bacteriological Agar 15.0 g/L

2. ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก 2 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สภาวะ Autotrophic, Heterotrophic และ Mixotrophic ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 30 วัน

ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	จำนวนเซลล์เฉลี่ย (10^6เซลล์/มล.)		
	Autotrophic	Heterotrophic	Mixotrophic
0	2.03	2.08	2.30
3	4.32	4.53	4.47
6	5.18	5.17	5.48
9	5.23	6.20	6.13
12	5.30	7.18	7.77
15	6.37	7.12	7.57
18	6.67	6.52	5.37
21	5.50	4.68	3.67
24	3.38	4.02	3.52
27	3.20	3.33	3.25
30	3.23	3.30	2.82

ภาคผนวก 3 องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (%)					
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3	การทดลองที่ 4	การทดลองที่ 5	การทดลองที่ 6
0	29.4	28.2	20.6	23.1	27.1	24.4
30	20.3	23.9	19.2	20.6	21.0	19.8
60	19.7	23.3	17.8	19.5	20.6	18.3
90	19.5	22.6	16.8	18.1	20.5	17.6
120	19.6	22.0	16.4	18.0	19.4	16.9
150	19.4	21.4	16.1	18.1	18.3	16.0
180	19.0	22.1	16.0	18.0	17.6	15.8
210	18.8	21.8	16.0	17.8	16.9	15.4
240	18.4	22.0	16.0	17.7	16.7	15.3

MAEJO UNIVERSITY

ภาคผนวก 4 องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์หลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟล์ (ppm)					
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3	การทดลองที่ 4	การทดลองที่ 5	การทดลองที่ 6
0	60.0	50.0	45.0	30.0	35.0	35.0
30	15.0	5.0	5.0	5.0	10.0	20.0
60	5.0	0.0	5.0	0.0	0.0	5.0
90	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
120	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
150	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0
180	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
210	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
240	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ภาคผนวก 5 องค์ประกอบของก๊าซมีเทนหลังผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพโดยใช้สาหร่าย

ระยะเวลา (นาที)	องค์ประกอบของก๊าซมีเทน (%)					
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3	การทดลองที่ 4	การทดลองที่ 5	การทดลองที่ 6
0	53.0	54.3	69.1	62.3	63.2	63.0
30	57.4	56.7	70.7	65.7	66.1	67.4
60	57.9	57.0	70.9	66.9	67.4	67.1
90	58.0	57.6	70.8	66.8	67.9	67.0
120	59.1	58.0	70.3	66.4	68.2	67.2
150	60.0	57.3	69.8	66.7	68.3	67.3
180	60.2	57.6	70.2	66.3	67.6	66.8
210	60.0	58.0	69.7	65.9	67.7	67.2
240	59.1	57.9	69.9	65.7	67.6	67.0

ภาคผนวก 6 จำนวนเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพก๊าซชีวภาพ

ระยะเวลา (นาที)	จำนวนเซลล์เฉลี่ย (10^6เซลล์/มล.)					
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2	การทดลองที่ 3	การทดลองที่ 4	การทดลองที่ 5	การทดลองที่ 6
0	2.85±0.26	3.20±0.31	2.17±0.19	2.50±0.18	2.87±0.10	2.98±0.23
30	2.98±0.38	3.23±0.35	2.55±0.22	2.87±0.83	3.07±0.26	3.05±0.27
60	3.03±0.28	3.52±0.48	2.48±0.15	3.10±0.87	3.12±0.14	3.20±0.13
90	3.10±0.44	3.48±0.43	3.02±0.23	3.25±0.27	2.98±0.56	3.43±0.20
120	3.48±0.10	3.35±0.10	3.23±0.12	3.48±0.25	2.88±0.32	3.15±0.27
150	3.38±0.44	3.23±0.38	3.23±0.15	3.47±0.15	2.93±0.40	3.20±0.87
180	3.27±0.021	3.10±0.35	3.58±0.35	3.42±0.14	2.77±0.16	2.93±0.28
210	3.17±0.21	3.08±0.42	3.12±0.28	3.52±0.13	2.73±0.29	3.17±0.10
240	3.12±0.19	2.90±0.50	3.05±0.23	3.40±0.33	2.73±0.37	2.73±0.37

MAEJO UNIVERSITY