

### 3. วิธีทดลอง

#### ปีที่ 1

1. ศึกษางานวิจัยและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. วิเคราะห์คุณสมบัติของตัวอย่างกากตะกอนของโรงงานกระดาษ  
คุณสมบัติของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเซลลูโลส และปริมาณไนโตรเจน
3. ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* เพื่อใช้ในการย่อยกากตะกอนเยื่อกระดาษเป็นน้ำตาลกลูโคส  
บ่มเชื้อ *Trichoderma reesei* บนสับเสตซึ่งเป็นส่วนผสมระหว่างกากตะกอน ฟางข้าว และขานอ้อยร่วมกับรำข้าว ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สกัดส่วนผสมหลังจากการหมักด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมล พีเอช 7 นำสารสกัดทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกระดาษกรองเบอร์ 1 ในสารละลายซิทริกบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมล พีเอช 4.8 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง วิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซิ่ง และคำนวณกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสที่เชื่อดังกล่าวผลิตได้ (Ghose, 1987)
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซิสกากตะกอนเยื่อเพื่อผลิตน้ำตาลรีดิวซิ่ง โดยเอนไซม์เซลลูเลส โดยพิจารณา
  - a. อุณหภูมิ
  - b. ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง
  - c. การปรับสภาพกากตะกอนด้วยความร้อน
  - d. การปรับสภาพกากตะกอนด้วยสารละลายกรด และสารละลายด่าง
5. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแก๊สไฮโดรเจน  
หมักกากตะกอนเยื่อกระดาษที่ปรับสภาพด้วยความร้อนในสภาวะต่าง และไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (ข้อ 4) ด้วยกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ปรับสภาพด้วยความร้อน ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร โดยปรับค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของตัวอย่างเป็น 20 ด้วย yeast extract และปรับพีเอชให้มีค่าเป็น 5 นำไปปรับเป็นสภาวะไร้ออกซิเจนด้วยแก๊สอาร์กอน 5 นาที บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสแล้วเก็บแก๊ส โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่
  - a. ค่าความเป็นกรด-ด่าง
  - b. ภาระบทรทุกอินทรีย์ (organic loading)
  - c. ระยะเวลาการหมัก
6. ออกแบบและจัดทำถังปฏิกิริยาเพื่อให้ในการศึกษาในระดับ pilot scale

**ปีที่ 2**

7. ศึกษาการผลิตกลูโคสและแก๊สไฮโดรเจนโดยการหมักแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ระดับ laboratory scale โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกลูโคส และการผลิตแก๊สไฮโดรเจน ที่ได้จากการศึกษาในระยะที่ 1 และ 2 ตามลำดับ
8. วิเคราะห์ผลทางเศรษฐศาสตร์ในการนำแก๊สไฮโดรเจนไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม
9. วิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์ในการนำผลพลอยได้จากการผลิตแก๊สไฮโดรเจน เป็นวัตถุดิบ ในการผลิตสินค้าชนิดใหม่
10. วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง