1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ก๊าซชีวภาพ (Biogas) ที่ได้จากกระบวนการบำบัดของเสียแบบไม่ใช้อากาศ สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนได้ ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการนำก๊าซดังกล่าวนี้มาใช้เป็นพลังงานทดแทน (Renewable Energy) ทั้งในภาคเกษตรกรรมและภาคอุตสาหกรรม ในภาคเกษตรกรรมโดยเฉพาะการเลี้ยงสุกร ซึ่งเบื้องต้นรัฐได้มุ่งเน้นเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการพัฒนาสาธารณสุขชุมชนโดยการบำบัดมูลสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งเพาะพันธุ์เชื้อโรคเท่านั้น แต่ต่อมารัฐได้มีนโยบายในเรื่องการผลิตพลังงานทดแทน จึงได้สนับสนุนการผลิตและใช้ก๊าซชีวภาพเรื่อยมา ดังเช่นโครงการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ขนาดกลาง-ใหญ่ของสถานก๊าซชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ของเกษตรกรรายย่อยของกรมส่งเสริมการเกษตรและกรมปศุสัตว์ (สรบ., 2543) ส่วนภาคอุตสาหกรรมมีการผลิตและใช้ก๊าซชีวภาพในโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรประเภทแป้งมันสำปะหลัง สุรา เบียร์ (มรกต ตันติเจริญ, 2537; ปิยธิดา สนิทไชย, 2544) และได้เริ่มมีการนำก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอยมาใช้ด้วย การนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่จะนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อผลิตพลังงานความร้อน เช่น ใช้สำหรับหุงต้มในระดับครัวเรือน จนถึงระดับอุตสาหกรรมคือใช้กับหัวเผา (Burner) หม้อไอน้ำ (Boiler) หรือนำก๊าซชีวภาพไปใช้ผลิตไฟฟ้าโดยใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ ซึ่งนิยมใช้กันมากในฟาร์มเลี้ยงสุกรขนาดใหญ่ แต่พลังงานที่ผลิตได้จากก๊าซชีวภาพส่วนใหญ่ถูกใช้ภายในโรงงานอุตสาหกรรม หรือในฟาร์มเท่านั้น มีบางแห่งซึ่งสามารถผลิตพลังงานทดแทนดังกล่าวนี้ได้มากกว่าความต้องการใช้ (สรบ., 2543) จึงเกิดปัญหาพลังงานเหลือทิ้ง ซึ่งภาครัฐได้แก้ไขปัญหานี้โดยได้วางนโยบายสนับสนุนการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานทดแทนเพื่อขายในกับการไฟฟ้า ในรูปแบบการรับซื้อไฟฟ้าจากผู้ผลิตไฟฟ้าพลังงานหมุนเวียนขนาดเล็กมาก และก๊าซชีวภาพก็เป็นหนึ่งในพลังงานทดแทนที่สามารถขายได้ (การไฟฟ้านครหลวง, 2545) ถึงแม้ว่าจะมีการผลิตและใช้ก๊าซชีวภาพเพื่อเป็นพลังงานทดแทนกันอย่างแพร่หลาย ประกอบกับการเข้ามาช่วยเหลือทั้งในเรื่องเงินทุนและนโยบายของภาครัฐ แต่การนำก๊าซชีวภาพมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือนำมาใช้อย่างยั่งยืนในทางปฏิบัติยังคงมีปัญหา โดยเฉพาะปัญหาการกัดกร่อนของเครื่องยนต์ ท่อนำก๊าซ หรืออุปกรณ์ใช้ก๊าซ ซึ่งเกิดจากก๊าซบางตัวที่เป็นองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเปลี่ยนอุปกรณ์ และบำบัดสารปนเปื้อนนั้น เนื่องจากก๊าซชีวภาพเป็นก๊าซผสม (Mixed gas) ที่ประกอบด้วยมีเทน (CH_4) ร้อยละ 55-60 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ร้อยละ 39-44 และอื่นๆ ประมาณร้อยละ 1 ได้แก่ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และไอน้ำ (Pipatmanomai, 2009) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) นี้เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการผุกร่อนของเครื่องยนต์และอุปกรณ์ที่ใช้ก๊าซ จากข้อมูลการสำรวจจากแหล่งต่างๆ พบว่าในก๊าซชีวภาพมีไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ประกอบอยู่ประมาณ 2,000 ppm จะก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าว (Wellinger and Linberg, 2002) นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของการเกิดฝนกรด โดยเมื่อไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ถูกปล่อยสู่บรรยากาศ จะถูกออกซิไดซ์เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-}) เมื่อรวมตัวกับไอน้ำหรือฝนกลายเป็นฝนกรด (Colls, 1997) และแม้ว่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะมีปริมาณน้อยมากในก๊าซชีวภาพแต่ก็มีอันตรายต่อสุขภาพ และส่งกลิ่นรบกวน โดยมาตรฐานความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในระดับความปลอดภัยต่อสุขภาพที่กำหนดโดย OSHA (Occupational Safety and Health Administration) ค่า TWA (สัมผัสในช่วง 8 ชั่วโมง) ต้องมีค่าไม่เกิน 10 ppm สัมผัสในระยะ 1 ชั่วโมง ต้องมีค่าไม่เกิน 300 ppm และถ้าความเข้มข้น 600 ppm และสัมผัสในเวลา 30 นาที ทำให้ตายได้ (OSHA, 2003) จากปัญหาดังกล่าวจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ก่อนนำไปใช้ประโยชน์

โดยทั่วไปการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) สามารถบำบัดได้ทั้งวิธีทางเคมี และทางชีวภาพ สำหรับวิธีทางเคมีจะอาศัยปฏิกิริยาเคมีในการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปอื่นเพื่อให้ง่ายต่อการบำบัด โดยใช้กลไกในการดูดซับ (Absorption) และการดูดซึม (Adsorption) ซึ่งสารที่ใช้ในการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ได้แก่ Iron Oxides, Zinc Oxides, Alkaline Solid, Molecular Sieves(Zeolites), Activated Carbon, Activated Alumina, Silica gel, Alkaline Salt Solution, Amine Solution เป็นต้น (Kohl and Neilson, 1997; Walsh et al., 1989) แม้ว่าการใช้วิธีบำบัดทางเคมีจะนิยมใช้มากในเชิงพาณิชย์ แต่การบำบัดโดยวิธีดังกล่าว อาจจะทำให้มีสารมลพิษตกค้าง เนื่องจากวิธีนี้ไม่ได้เป็นการบำบัดซัลไฟด์แบบถาวร แต่เป็นการเปลี่ยน

รูปสารเท่านั้น และบางวิธีต้องใช้ที่ระดับความดันและอุณหภูมิสูง (ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม) บางวิธีสารที่ไม่สามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้ เช่น ถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon) และประเด็นที่สำคัญคือการบำบัดทางเคมีจะมีค่าใช้จ่ายสูงมากทั้งราคาสารเคมีและสารเร่งปฏิกิริยา เช่น ถ้าใช้ Iron Oxides ของ บริษัท Sulfa Treat® Company of St. Louis ที่ประสิทธิภาพการบำบัด 0.55-0.72 kg H_2S/Kg iron oxide ราคาขายอยู่ที่ $0.88/Kg (ประมาณ 40 บาท) หรือถ้าขนาดระบบก๊าซชีวภาพ 1,000 ลบ.ม. ความเข้มข้นของ H_2S ~4,000 ppm จะเสียค่าใช้จ่ายประมาณ 7,000 บาท/วัน และถ้าใช้ Activated Carbon-KOH ราคาขายอยู่ที่ $5/Kg (ประมาณ 227 บาท) หรือถ้าขนาดระบบก๊าซชีวภาพ 1,000 ลบ.ม. ความเข้มข้นของ H_2S ~4,000 ppm จะเสียค่าใช้จ่ายประมาณ 2,800 บาท/วัน (Zicari, 2003) ส่วนในประเทศไทยพบว่าระบบบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ของระบบก๊าซชีวภาพที่โรงงานแห่งหนึ่งมีค่าก่อสร้างประมาณ 1-2 แสนบาท ค่าเดินระบบประมาณ 0.5 บาท/m^3 ก๊าซชีวภาพ นอกจากนี้ในก๊าซชีวภาพมีปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)ในระดับไม่สูงมากเท่าในอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ซึ่งนิยมใช้กระบวนการทางเคมีบำบัด การนำเอาวิธีที่มีคุณภาพสูงและราคาแพงอาจไม่เหมาะสม ดังนั้นวิธีการบำบัดทางชีวภาพจึงน่าจะเป็นแนวทางที่เหมาะสมกว่า

วิธีการทางชีวภาพเป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนก๊าซให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษต่ำ โดยเป็นจุลินทรีย์ประเภท Sulfur Oxidizing Bacteria ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์เป็นธาตุซัลเฟอร์ได้ โดยใช้สารประกอบซัลไฟด์เป็น Electron Donor และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ แบ่งกลุ่มจุลินทรีย์พวกนี้เป็น 2 ประเภทใหญ่ คือ Phototrophic Bacteria และ Chemolithophic Bacteria (Garbriel, 1994) แต่จากงานวิจัยต่างๆพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะกับการนำมาใช้บำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะเป็นแบคทีเรียพวก Chemolithophic Bacteria ซึ่งเติบโตในสภาวะมีอากาศ ได้แก่ กลุ่ม *Thiobacillus* ใช้ออกซิเจนเป็น Electron Acceptor ใช้คาร์บอนไดซ์ออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์เป็นธาตุซัลเฟอร์ได้ภายใต้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัด และปลดปล่อยธาตุซัลเฟอร์ออกนอกเซล (Christon et al., 1997; Oliver et al., 1996) มีเทคนิคการบำบัดหลายแบบ เช่น Biofilter, Fixed-film bioscrubber และ Suspended-growth bioscrubber (Zicari, 2003) และเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวนี้เจริญบน Media โดยมีหลายชนิดๆสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสถานที่นั้นๆ หรือเพื่อแก้ไขปัญหาการอุดตันที่ทำให้ความดันก๊าซลดลง ซึ่งได้แก่ พวกที่เป็น Organic Media เช่น ดินPeat ปุ๋ย สลัดจ์ มูลสุกร ขี้เลื่อย เปลือกไม้ และพวกที่เป็น Inorganic Media เช่น หิน Lava, Poly-propylene Rings, Calcium-alginate Beads, Fuyolite-Ceramics เป็นต้น (Nishimura and Yoda, 1997; Koe and Yang, 2000; KoeZicari, 2003)

Nishimura และ Yoda (1997) ศึกษาการบำบัด H_2S ในถังปฏิกรณ์โดยใช้น้ำเสียที่ผ่านการเติมอากาศ แล้ว feed จากบนลงล่างผ่าน Bubber-tray ที่มีเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *Thiobacillus* ส่วนก๊าซชีวภาพจะผ่านจากทางด้านล่างขึ้นบน สวนทางกับน้ำเสียที่ผ่านการเติมอากาศ ก๊าซชีวภาพมี CH_4 ร้อยละ 80 CO_2 ร้อยละ 20 และมี H_2S ประมาณ 2,000 ppm) พบว่าสามารถบำบัด H_2S ได้ร้อยละ 99.5 (น้อยกว่า 20 ppm) อัตราการไหลของก๊าซชีวภาพ 40 m^3/hr

Koe และ Yang (2000) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำจากระบบบำบัดมาหมุนเวียนผ่าน Bioscrubber แบบ fixed film โดยมีแบคทีเรียกลุ่ม *Thiobacillus* ซึ่งแยกเชื้อดังกล่าวจากสลัดส์น้ำเสียชุมชน ใช้ Media พลาสติก และปั๊มอากาศที่มี H_2Sที่ความเข้มข้น 5 ppm อัตราการไหลของอากาศ 2 ลิตร/นาที พบว่าประสิทธิภาพการบำบัด H_2S ร้อยละ 40-90 โดย H_2S Loading ~90 g H_2S /m^3 /hr และGRTs (Gas retention times) ต้องมากกว่า 5 วินาที และเมื่อตรวจสอบเชื้อโดยใช้ SEM 3500 เท่า พบว่ามีแบคทีเรียชนิด *Thiobacillus thiooxidans* มีลักษณะเป็น Filament ยึดบนผิวของ Media เป็นจำนวนมาก

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้เริ่มศึกษาเทคโนโลยีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เบื้องต้น โดยเริ่มศึกษาจากระดับห้องปฏิบัติการ เรื่องเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นสำหรับพัฒนาไปในระดับใหญ่ขึ้น โดยการศึกษาครั้งนี้นอกจากจะเป็นการเริ่มพัฒนาเทคโนโลยีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

(H_2S) โดยวิธีทางชีวภาพในประเทศแล้ว ยังเป็นการยกระดับองค์ความรู้ เพิ่มความสามารถในการแข่งขันกับต่างประเทศ และนำไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไป

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อหาแหล่งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพโดยใช้เทคนิคที่พัฒนาเพื่อทดสอบเบื้องต้นและนำมาประยุกต์ใช้ในการหาหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับระบบกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัด

1.3 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

โรงงานอุตสาหกรรมที่มีระบบผลิตก๊าซชีวภาพ

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานหรือกรอบแนวความคิดของงานวิจัย

กรอบแนวคิดหลัก: ใช้หลักการจัดการของเสียโดยการบำบัด เพื่ออนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและพลังงาน

ทฤษฎี

1.4.1 องค์ประกอบและคุณสมบัติของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ biogas หรือ marsh gas เป็นผลพลอยได้จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มูลสัตว์ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร เป็นต้น โดยการย่อยของจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งในสภาพไม่มีอากาศ ก๊าซชีวภาพประกอบด้วยก๊าซต่างๆ มากมาย ได้แก่ CH_4, CO_2, H_2S และอื่นๆ โดยก๊าซมีเทน (CH_4) เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งค่าความร้อนของก๊าซชีวภาพขึ้นกับปริมาณของก๊าซมีเธนในก๊าซชีวภาพนั้น ส่วนประกอบของก๊าซที่ได้จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของ Substrates, Organic loading, อุณหภูมิ และเวลาในการย่อยสลาย แต่โดยทั่วไปจะมีส่วนประกอบของก๊าซชีวภาพ (Pipatmanomai, 2009) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ	องค์ประกอบ (% โดยปริมาตร)
methane (CH_4)	40-80
carbon dioxide (CO_2)	30-60
hydrogen (H_2)	0-1
hydrogen sulfide (H_2S)	0-3

ส่วนประกอบสำคัญของก๊าซชีวภาพ คือ ก๊าซมีเทน เนื่องจากเป็นก๊าซที่มีค่าความร้อนสูงที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้โดยปกติมีเทนบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน จะมีค่าความร้อนประมาณ 34,000 kJ/m^3 สำหรับก๊าซชีวภาพที่มี CH_4 เป็นองค์ประกอบโดยเฉลี่ยประมาณ 40-80% จะให้ค่าความร้อนประมาณ 13,720-27,440 kJ/m^3 นอกจากค่าความร้อนดังกล่าวจะเป็นเงื่อนไขสำคัญต่อการพิจารณาสำหรับเลือกเทคโนโลยีที่จะนำเอาก๊าซชีวภาพไปใช้เป็นพลังงานทดแทนแล้ว คุณสม บัติอื่นๆ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างเชื้อเพลิงต่ออากาศ Flame velocity และอุณหภูมิของเปลวไฟที่ได้จากการเผาไหม้ก็เป็นปัจจัยสำคัญต่อการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ทดแทนเชื้อเพลิงอื่นด้วย ได้แก่ การใช้แทนน้ำมันดีเซลในการเดินเครื่องยนต์ การผลิตไฟฟ้า เป็นต้น

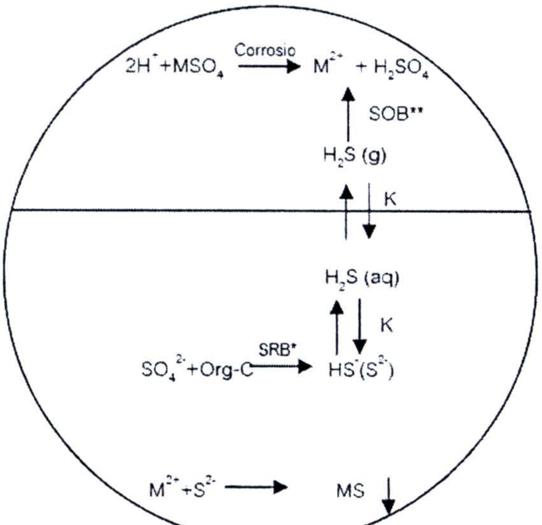
1.4.2 คุณสมบัติของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และผลกระทบที่มีต่อการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เป็นสารประกอบพวก Weak Diprotic Acid และสามารถเปลี่ยนสถานะไปมาระหว่างของเหลวและแก๊ส ความเข้มข้นของ H_2S โดยสมดุลของ H_2S (g) กับ H_2S (aq) สามารถหาได้จาก Henry's Law ตามสมการที่ 1 เห็นว่าปริมาณของ H_2S (g) ที่ปล่อยสู่บรรยากาศต่ำกว่าปริมาณ H_2S (aq) ที่ละลายอยู่ในน้ำ (Garbriel, 1994)

$$H_2S\,(aq) = \alpha\, H_2S\,(g) \qquad (1)$$

โดยที่ α คือ Absorption Coefficient of H_2S มีค่าเท่ากับ 1.99 ที่ 30 ^{0}C

คุณสมบัติดังกล่าวไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่อยู่ในก๊าซชีวภาพจะรวมตัวกับความชื้นหรือไอน้ำในก๊าซชีวภาพเกิดเป็นสารกัดกร่อน ซึ่งจุลินทรีย์พวก Sulfur-Oxidizing Bacteria ได้แก่ *Thiobacillus* sp. สามารถออกซิไดซ์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จนกลายเป็นกรดซัลฟุริกในสภาวะที่มีอากาศ ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อกรดซัลฟุริกทำปฏิกิริยากับคอนกรีตได้ยิปซั่ม ทำให้แคลเซียมในคอนกรีตหายไป และผนังคอนกรีตเกิดการผุกร่อนแล้วพังทลายในเวลาต่อมา ในขณะที่ทำปฏิกิริยากับโลหะได้ MSO_4(Metal Sulfate) ทำให้ Metal Ion หายไป จนเกิดการผุกร่อนของโลหะ (Oliver et al., 1996; Smet et al., 1998)



*Sulfate-Reducing Bacteria(SRB)

** Sulfur-Oxidizing Bacteria(SOB)

รูปที่ 1 การกัดกร่อนในท่อ โดย Sulfur-Oxidizing Bacteria (Oliver et al., 1996)

1.4.3 การบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในก๊าซชีวภาพ

การทำความสะอาดก๊าซชีวภาพที่มี H_2S อยู่ ความจำเป็นในการบำบัดก๊าซปนเปื้อนเหล่านี้ขึ้นกับทางเลือกในการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ซึ่งสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2 ที่แสดงเงื่อนไขการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เทียบกับก๊าซปนเปื้อนอื่นๆที่มีอยู่ในก๊าซชีวภาพ แยกตามประเภทการนำการไปใช้ประโยชน์

ตารางที่ 2 เงื่อนไขการทำความสะอาดก๊าซ แยกตามประเภทการนำการไปใช้ประโยชน์ (Constant et al., 1981; Information networks, 2000)

Biogas end-use	Water vapor removal*	H_2S removal	CO_2 removal
Cooking	No	Yes	No
Boiler/Burner	Yes	No	No
Stationary engine	No	No	No
Vehicle	Yes	Yes	Yes
Delivery as pipe-line gas	Yes	Yes	Yes/No

*ระดับอุณหภูมิที่ความชื้นในก๊าซชีวภาพเกิดการกลั่นตัวเป็นน้ำ

จากตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์ทุกวิธีจะต้องมีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ก่อน โดยตารางที่ 3 แสดงปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่ยอมให้มีอยู่ในก๊าซชีวภาพในแต่ละแนวทางการใช้ประโยชน์

ตารางที่ 3 ปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่ยอมให้มีอยู่ในก๊าซชีวภาพในแต่ละแนวทางการใช้ ประโยชน์ (Wellinger and Linberg, 2002)

Biogas end-use	Recommened H_2S Requirements
Cooking	<10 ppm
Boiler/Burner/Striling Engines	<1000 ppm, 0.8-2.5 kPar pressure condensate
Internal Combustion Engines	<100 ppm, 0.8-2.5 kPar pressure condensate
Natural Gas Upgrade	<4 ppm, >3,000 kPar pressure

การบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในก๊าซชีวภาพ จะใช้หลักการออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์ให้เป็นธาตุซัลเฟอร์ เพราะธาตุซัลเฟอร์มีคุณสมบัติเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำทำให้สามารถดึงออกจากระบบได้ วิธีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) มีดังนี้

1.4.3.1 การบำบัดด้วยวิธีทางเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการบำบัดเป็นพวกที่มีคุณสมบัติเป็น Oxidizing Agent ซึ่ง Product ที่ได้จากกระบวนการทางเคมี เป็นได้ทั้งธาตุซัลเฟอร์และซัลเฟต ขึ้นอยู่กับปริมาณของ Oxidizing Agent กับ pH ในระบบ ซึ่งสาร Oxidizing Agent ที่นิยมใช้ในการกำจัดสารประกอบซัลไฟด์มีดังนี้

- Ferric oxide/ Ferric Salts/ Ferous ในการออกซิไดซ์ โดยสารที่ใช้ได้แก่ Fe_2O_3, $FeSO_4$ และ FeCl (SO_4) ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยาแล้วได้ตะกอนของ Ferous/Ferric Sulfides ดังแสดงในสมการที่ 2 ถึง 4 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)

$$Fe_2O_3 + 3H_2S \longrightarrow Fe_2S_3 + 3H_2O \qquad (2)$$

$$FeO_4 + H_2S \longrightarrow FeS + 2H^+ + SO_4^{2-} \qquad (3)$$

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 17 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 248995
เลขเรียกหนังสือ

$$FeCl(SO_4) + 3H_2S \longrightarrow Fe_2S_3 + 2HCl + 2H_2SO_4 \quad (4)$$

- Zinc Oxides (ZnO) จะนิยมบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่อุณหภูมิก๊าซสูงๆ ประมาณ 200 ^{o}C-400^{o}C Maximun sulfur loading ประมาณ 30-40 kg sulfur/100 kg sorbent ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะทำปฏิกิริยากับ Zinc Oxides ได้ insoluble zinc sulfide ดังสมการที่ 5 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)

$$ZnO + H_2S \longrightarrow ZnS + H_2O \quad (5)$$

- Na_2CO_3 สามารถใช้กำจัด H_2S ในก๊าซชีวภาพได้ ซึ่ง Na_2CO_3 เกิดขึ้นจากการแยก CO_2 ที่อยู่ในก๊าซชีวภาพ โดยใช้ NaOH ดังสมการที่ 6 ถึง 8 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)

$$2NaOH + CO_2 \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O \quad (6)$$

$$Na_2CO_3 + CO_2 \longrightarrow 2Na_2HCO_3 \quad (7)$$

$$H_2S + Na_2CO_3 \longrightarrow NaHS + Na_2HCO_3 \quad (8)$$

- ใช้ NaOCl หรือ $Ca(OCl)_4$ โดยปริมาณที่ต้องการใช้คือ 2.2 g/g Sulfide และ 2.1 g/g Sulfide ตามลำดับ ที่ pH~7.5 ดังสมการที่ 9 ถึง 11 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)

$$Ca(OCl)_2 \longrightarrow Na_2CO_3 + H_2O \quad (9)$$

$$NaOCl \longrightarrow Na^+ + OCl^- \quad (10)$$

$$H_2S + OCl^- \longrightarrow S + Cl^- + H_2O \quad (11)$$

1.4.3.2 การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ

วิธีการทางชีวภาพเป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนก๊าซให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษต่ำ โดยเกิดจากกิจกรรมจุลินทรีย์ประเภท Sulfur Oxidizing Bacteria ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์เป็นธาตุซัลเฟอร์ได้ โดยใช้สารประกอบซัลไฟด์เป็น Electron Donor และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ แบ่งกลุ่มจุลินทรีย์พวกนี้เป็น 2 ประเภทใหญ่ (Garbriel, 1994; Zicari, 2003) คือ

ก) เติบโตในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศ

– จุลินทรีย์ประเภท Green Sulfur Bacteria ได้แก่ *Chlorobium* sp.

– จุลินทรีย์ประเภท Purple Sulfur Bacteria ได้แก่ *Chromatium* sp. และ *Thiocapsa* sp.

ข) เติบโตในสภาวะที่ใช้อากาศ

- จุลินทรีย์ประเภท Colorless Sulfur Bacteria ได้แก่ *Thiobacillus* sp.
- จุลินทรีย์ประเภท Filamentous Sulfur Bacteria ได้แก่ *Beggiatoa* sp. และ *Thiothrix* sp.

จุลินทรีย์พวกที่เติบโตในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศ หรือ พวก Green Sulfur Bacteria และ Purple Sulfur Bacteria จะใช้สารประกอบซัลไฟด์เป็น Electron Donor ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน โดยจุลินทรีย์พวก Purple Sulfur Bacteria ผลิตธาตุซัลเฟอร์แล้วเก็บไว้ในเซล แต่จุลินทรีย์พวก Green Sulfur Bacteria ผลิตธาตุซัลเฟอร์แล้วปล่อยออกนอกเซล ดังสมการที่ 12 และ13 แต่จากการที่จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มนี้ ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานทำให้เกิดปัญหาการส่องผ่านของแสงผ่านถังปฏิกรณ์ เกิดปัญหาการบังแสงของตะกอนจุลินทรีย์เมื่อความหนาแน่นของเซลในระบบมากขึ้น จึงไม่เหมาะที่จะใช้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ในการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และจากงานวิจัยต่างๆพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะกับการนำมาใช้บำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะเป็นแบคทีเรียพวก Chemolithophic Bacteria ซึ่งเติบโตในสภาวะมีอากาศมากกว่า

$$2H_2S + CO_2 + \text{Ligth} \longrightarrow 2S^0 + (CH_2O) + H_2O \qquad (12)$$

$$H_2S + 2CO_2 + H_2O + \text{Ligth} \longrightarrow (CH_2O) + H_2SO_4 \qquad (13)$$

จุลินทรีย์พวกที่เติบโตในสภาวะที่ใช้อากาศ หรือ พวก Colorless Sulfur Bacteria และ Filamentous Sulfur Bacteria พวก Filamentous Sulfur Bacteria ที่ได้แก่ *Beggiatoa spp.* และ *Thiothrix* sp. สามารถเปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ให้เป็นธาตุซัลเฟอร์ แล้วเก็บไว้ในเซลโดยเก็บไว้ใน Filamentous ซึ่งทำให้แยกธาตุซัลเฟอร์ออกจากเซลได้ยาก ส่วนพวก Colorless Sulfur Bacteria ซึ่งได้แก่ *Thiobacillus* sp. มีรูปร่างเป็น Rod ย้อมติดสีแดง (Gram Negative) Non-spore-forming เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้ Polar Flagella จัดอยู่ในจำพวก Chemolithophic Bacteria ตารางที่ 4 เป็นตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาใน Biofilter โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถใช้ Reduced Sulfur Compound เป็น Electron Donor ได้ ดังสมการที่ 14 ถึง 17

$$H_2S + 2O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2H^- \qquad (14)$$

$$HS^- + 1/2O_2^- + H^+ \longrightarrow 2S^0 + H_2O \qquad (15)$$

$$S^0 + H_2O + 1/2O_2^- \longrightarrow SO_4^{2-} + 2H^+ \qquad (16)$$

$$1/2S_2O_3^{2-} + 1/2H_2O + O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + H^- \qquad (17)$$

ตารางที่ 4 Specific Microorganisms for Biofiltration of H_2S

Microorganism	Referance
Thiobacillus species	Degorce-Dumas, et al. (1997), Nishimura and Yoda (1997), Koe and Yang (2000)
Thiobacillus thioxidans	Cho, et al. (2000)
Thiobacillus denitrificans	Sublette, et al. (1994)
Thiobacillus thioparus	Cho, et al. (1992), Cadenhead and Sublette (1990)
Thiobacillus ferrooxidans	Jensen and Webb (1995)
Thiobacillus novellas	Chung, et al. (1998)
Thiobacillus versutus	Cadenhead and Sublette (1990)
Thiobacillus neopolitanus	Cadenhead and Sublette (1990)
Pseudomonas putida	Chung, et al. (1996, 2001)
Hyphomicrobium	Zhang, et al. (1991)
Xanthamonas species DY44	Cho, et al. (1992)

1.4.4 Real-time polymerase chain reaction (qPCR)

Real-time polymerase chain reaction หรือ quantitative polymerase chain reaction เป็นเทคนิคที่อาศัยพื้นฐานมาจากเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณและดูจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมายไปพร้อมๆ กัน โดยสามารถที่จะตรวจหาและดูปริมาณของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่จำเพาะเจาะจง โดยการทำงานของมันคือ จะเก็บสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์ของแต่ละรอบการทำปฏิกิริยา และจะมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ได้ไปเป็นตัวเลข (Dorak, 2006) ข้อดีของเทคนิคนี้คือ มีประสิทธิภาพและสามารถที่จะดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ยังไม่ต้องทำการรันเจลเพื่อดูผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เกิดขึ้นอีกด้วยหลังจากเสร็จสิ้นปฏิกิริยา เมื่อสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์สูงขึ้นมันจะมีการตรวจสอบระดับจากนั้นจึงทำกราฟการเพิ่มปริมาณเพื่อแสดงให้เห็น (Applied Biosystems) ซึ่งในกราฟจะมีข้อมูลสำหรับการวัดจำนวนดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ นอกจากนี้ยังมีเส้น Threshold ซึ่งคือ ระดับของการตรวจเช็คหรือจุดที่ปฏิกิริยาได้ถึงจุดที่สัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์ที่กำหนดไว้ โดยเส้น Threshold นี้จะตั้งไว้ในส่วนของ exponential phase ของการเพิ่มปริมาณสำหรับการอ่านค่าที่มีความแม่นยำ ในส่วนของรอบที่ตัวอย่างจะเข้าสู่ระดับนี้จะเรียกว่า Cycle Threshold (Ct) สำหรับ qPCR นี้มี 2 วิธี ได้แก่ 1 คือ การใช้ fluorescent dyes ที่จะไปแทรกอยู่ระหว่างดีเอ็นเอสายคู่ และ 2 คือ modified DNA oligonucleotide probes สำหรับในส่วนของ fluorescent dyes เช่น SYBR green ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและถูกที่สุดที่ใช้ใน qPCR นี้ (Pfaffl, 2001) โดยสีนี้จะเข้าไปแทรกบริเวณดีเอ็นเอสายคู่เท่านั้น ดังนั้นเมื่อจำนวนดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นในปฏิกิริยาสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์ก็จะสูงขึ้นด้วย แต่วิธีนี้มีข้อเสียคืออาจมีความจำเพาะเจาะจงขาดหายไปบ้าง

ในส่วนของวิธีที่ 2 คือใช้ probe โดยที่นิยมใช้คือ Taqman-type probe (Dorak, 2006) โดยจะมีการติดสัญญาณด้วยตัวรายงานสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์ที่ปลายแต่ละด้านคือ one end และ quencher molecule ดังนั้นในสภาวะที่ปกติสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์จะต่ำ อย่างไรก็ตามในระหว่างที่มีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโพรบจะเข้าไปจับกับยีนที่สนใจและมารวมกันด้วยเอนไซม์ *Taq* polymerase ดังนั้นตัวรายงานและตัว quencher ก็จะแยกออกจากกันแล้วทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการใช้โพรบที่เรียกว่า molecular beacon (Mhlanga and Malmberg, 2001) ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เข้าคู่กับยีนที่สนใจแล้วติดฉลากด้วยตัวรายงานฟลูออเรสเซ้นต์และมีโมเลกุล quencher molecule ที่ด้านตรงข้าม ซึ่งในการออกแบบโพรบนี้จะให้โค้งหรือม้วนตัวเข้าหากันเพื่อให้ตัว reporter และ quencher ใกล้กันให้มากที่สุด เมื่อ

โพรบจับกันยีนที่สนใจแล้วจะทำให้กลายเป็นเส้นตรงจากนั้น reporter และ quencher ก็จะแยกออกจากกันซึ่งผลก็คือการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซ้นต์

สำหรับสัญญาณ Real-Time นั้น มีไว้สำหรับการตรวจจับสัญญาณการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ระหว่างช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยานั้นดังที่แสดงในภาพที่ 2.8 ซึ่งจะมีการวัดปฏิกิริยาในช่วงการเริ่มต้นของการทำ PCR ซึ่งเป็นข้อดีที่สามารถตรวจสอบได้ที่มากกว่า PCR ธรรมดา (Klein, 2002) ซึ่งใน PCR ธรรมดานั้นจะใช้อะกาโรสเจลในการตรวจสอบการเพิ่มปริมาณที่ระยะสุดท้ายหรือที่จุดสิ้นสุดของปฏิกิริยา PCR เทคนิคนี้ได้ถูกนำมาใช้เพื่อที่จะเพิ่มปริมาณและดูจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมาย ซึ่งมีข้อดีมากกว่า PCR ธรรมดา นื่องจากสามารถที่จะเก็บข้อมูลในช่วงของ exponential growth phase ได้ โดยมีการนำเทคนี้ไปใช้ในงานหลายๆด้าน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเทคนิค real-time polymerase chain reaction นั้นมีประโยชน์อย่างยิ่งในงานวิจัย

1.5 วัตถุประสงค์ของโครงการ

โดยรวมของวัตถุประสงค์หลัก เพื่อศึกษาตัวแปรทางกายภาพที่สำคัญในการออกแบบและขยายขนาดถังปฏิกรณ์ในการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ในก๊าซชีวภาพ (biofilter) ได้แก่ อัตราการรับภาระซัลไฟด์สูงสุด ระยะเวลาในการกักเก็บก๊าซ (GRTs)

โดยระยะที่ 1

เพื่อศึกษาหาแหล่งของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในก๊าซชีวภาพ โดยพัฒนาเทคนิคในการทดสอบความสามารถของเชื้อเริ่มต้น (starter seed) เพื่อสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและควบคุมการทำงานของจุลินทรีย์ เพื่อให้ระบบ Biofilter มีประสิทธิภาพการทำงานสูง

1.6 ขอบเขตของการวิจัย

1.6.1 แหล่งของตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นมาจาก 3 แหล่ง ได้แก่ โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง โรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม และฟาร์มสุกร โดยทำการศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ เช่น ปริมาณชีวมวล (Volatile Suspended Solids; VSS) กิจกรรมของจุลินทรีย์ และจำนวนจุลินทรีย์

1.6.2 คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมจากข้อ 1.6.1 และทำการควบคุมสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความเข้มข้นออกซิเจนในของเหลว โดยทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ขนาด 18 ลิตร ป้อนด้วยก๊าซสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ 3,000 ppm และทำการศึกษาหาภาระสูงสุดในการรับไฮโดรเจนซัลไฟด์ (sulfide loading rate; SLR) และ ระยะเวลาในการกักเก็บก๊าซ (gas retention time; GRTs) ที่เหมาะสม