

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ประจำปีงบประมาณ 2552

1. **ชื่อโครงการ** การบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในก๊าซชีวภาพโดยถังปฏิกรณ์ตัวกรอง (Biofilter)
ระยะที่ 1: ศึกษาแหล่งของจุลินทรีย์
Biogas cleaning by removing hydrogen sulfide using biofilter
Phase I: Study on start-up seed sources
2. **หน่วยงานที่รับผิดชอบงานวิจัย** สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
วิทยาเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
3. **ผู้วิจัย**
 - 3.1 หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. ภาวิณี ชัยประเสริฐ
สายวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ถนนชายทะเลบางขุนเทียน ท่าข้าม บางขุนเทียน
กรุงเทพฯ 10150
โทรศัพท์ 02-4707525
โทรสาร 02-4523455
 - 3.2 ผู้ร่วมวิจัย นายวาริน รักร่วม
ตำแหน่ง วิศวกร
สถานที่ทำงาน สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ถนนชายทะเลบางขุนเทียน ท่าข้าม บางขุนเทียน
กรุงเทพฯ 10150
โทรศัพท์ 02-4707523
โทรสาร 02-4523455

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี
งบประมาณ 2551 ตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือน กันยายน พ.ศ. 2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาคัดเลือกแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เพื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในระบบ *biofilter* ด้วยการวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์และจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Eubacteria* domain และ *Thiobacillus* sp. โดยใช้เทคนิค quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) เพื่อวัดปริมาณยีน 16S rRNA ส่วนการวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ใช้สารอาหาร thiosulfate และวัดความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้ thiosulfate ในการทดลองนี้ได้ใช้เชื้อที่เก็บได้จาก 3 แหล่ง ได้แก่ เชื้อจากฟาร์มหมู โรงงานแปรงมันสำปะหลัง และโรงงานปาล์มน้ำมัน ผลการทดลองพบว่าแหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูมีกิจกรรมและจำนวนของจุลินทรีย์สูง จึงใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในถังปฏิกรณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ *biofilter* เป็นถังปฏิกรณ์ที่มีขนาดบรรจุของเหลว 12 ลิตร และใช้เชื้อจากฟาร์มหมูเป็นเชื้อเริ่มต้นในระบบ โดยมีการควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 7 จากนั้นทำการป้อนก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่ความเข้มข้น 3000 ppmv เข้าสู่ระบบทางด้านล่างและขึ้นสู่ด้านบน ที่ภาระซัลไฟด์ $2.06 - 8.25 \text{ g } H_2S \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ และระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 120, 60, 40 และ 30 นาที ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์อยู่ที่ร้อยละ 77 - 99 โดยความสามารถกำจัดซัลไฟด์อยู่ที่ 2.06, 4.12, 6.18 และ $6.40 \text{ g } H_2S \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ตามลำดับ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับภาระซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ นอกจากนี้พบว่าผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นในระบบคือ ธาตุซัลเฟอร์ร้อยละ 57-82 โดยพบซัลเฟตและซัลไฟด์ประมาณร้อยละ 10 - 43 และ 0 - 20 ตามลำดับ โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองคือ ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 40 นาที โดยความสามารถกำจัดซัลไฟด์อยู่ที่ $6.18 \text{ g } H_2S \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$

คำสำคัญ: ถังปฏิกรณ์/ การกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์/ Metabolic Products/ กิจกรรมของจุลินทรีย์/ Real-Time Polymerase Chain Reaction

Abstract

The selection of initial seeding sludge for start-up bioreactor in cleaning H_2S is one important step prior to operate the biogas clean up system. The developments of the effective methods as microbial activity and quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) for qualify and quantify microbes were used to select the effective microbial source. The number of sulfur oxidizing bacteria (SOB) was determined by qPCR with specific primers to amplify 16S rRNA gene of *Thiobacillus* sp. and *Eubacteria domain*. The microbial activity test using thiosulfate as a substrate then the utilization of thiosulfate was determined. In this experiment, three sources of seed sludge as swine farm, cassava starch plant and palm oil mill plant were used to select the initial seeding sludge. The sludge from swine farm, having the highly SOB activity and the number of *Thiobacillus* sp. than other sources, was chosen to use as an inoculums seed in biofilter.

This study used biofilter inoculated with seed sludge from swine farm. The operation was carried out in 12 litres working volume of biofilter under controlled dissolved oxygen (DO) $< 1.0 \text{ mg l}^{-1}$ and pH at 7. The 3,000 ppmv synthetic hydrogen sulfide gas was fed in up-flow direction at various H_2S loading rate (SLR). The SLR in this study was $2.06 - 8.25 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at 120, 60, 40 and 30 min of gas retention time (GRT), respectively. The performance of the biofilter showed a good suitability for the hydrogen sulfide (H_2S) removal by providing 77 - 99% of removal efficiency. In addition, the elimination capacity of biofilter that depended on SLR showed 2.06, 4.12, 6.18 and $6.40 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ at GRT 120, 60, 40 and 30 min, respectively. Moreover, the study of metabolic products in biofilter at each GRT showed the major product was sulfur element in range of 57 - 82%. Sulfate and sulfide also found in the system at 10 - 43% and 0 - 20%, respectively. Moreover, the suitable GRT and SLR can be applied in the biofilter was 40 min and $6.18 \text{ g H}_2\text{S m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectively.

Keywords: Biofilter/ Hydrogen Sulfide Removal/ Metabolic Products/ Microbial Activity/ Real-time Polymerase Chain Reaction

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
สารบัญเรื่อง	5
สารบัญตาราง	7
สารบัญรูป	8
1. บทนำ	9
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	9
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
1.3 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	11
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานหรือกรอบแนวความคิดของงานวิจัย	11
1.5 วัตถุประสงค์ของโครงการ	17
1.6 ขอบเขตของการวิจัย	17
1.7 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ	18
2. วิธีดำเนินงานวิจัย	18
2.1 การคัดเลือกแหล่งจุลินทรีย์ที่เหมาะสม	18
2.1.1 แหล่งจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใช้ในการศึกษา	18
2.1.2 การหากิจกรรมของจุลินทรีย์ในการกำจัดซัลไฟด์	18
2.1.3 การหาจำนวนของจุลินทรีย์ <i>Thiobacillus</i> sp. โดยวิธี Real-time polymerase chain reaction (qPCR)	18
2.2 การศึกษาการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในถังปฏิกรณ์ biofilter ด้วยจุลินทรีย์ที่คัดเลือก	19
2.2.1 ถังปฏิกรณ์	19
2.2.2 การเริ่มต้นและดำเนินระบบถังปฏิกรณ์	20
2.2.3 การวิเคราะห์	21
2.2.4 การคำนวณ	21
3. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์	22
3.1 คุณลักษณะของตะกอนเชื้อจุลินทรีย์	22
3.1.1 กิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ sulfur oxidizing bacteria	22
3.1.2 ปริมาณของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในแหล่งเชื้อต่างๆ โดยใช้เทคนิค real-time polymerase chain reaction (qPCR)	23
3.2 ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ของถังปฏิกรณ์	23
3.2.1 ประสิทธิภาพในการกำจัดและความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์	24
3.2.2 สภาวะแวดล้อมภายในถังปฏิกรณ์ในระหว่างการดำเนินระบบ (Operating condition)	25
3.2.3 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (Metabolic products)	27

3.2.4 ผลของสภาวะในการดำเนินระบบต่อประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น	28
4. สรุป	29
5. เอกสารอ้างอิง	30

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ	11
2 เงื่อนไขการทำความสะอาดก๊าซ แยกตามประเภทการนำการไปใช้ประโยชน์	13
3 ปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H ₂ S) ที่ยอมให้มีอยู่ในก๊าซชีวภาพในแต่ละแนวทางการใช้ ประโยชน์	13
4 Specific Microorganisms for Biofiltration of H ₂ S	16
5 Thiosulfate mineral salt medium	19
6 สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ของ <i>Thiobacillus</i> sp. และ <i>Eubacteria</i> domain ด้วยเทคนิค real-time PCR โดย SYBR [®] Green	19
7 อัตราการป้อนซัลไฟด์เข้าสู่ระบบในแต่ละ operating condition	21
8 อัตราการใช้ไฮโอซัลเฟตจากแหล่งเชื้อทั้ง 3 แหล่งในแต่ละวัน	22
9 กิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่ม SOB และจำนวนของแบคทีเรียในกลุ่มของ <i>Thiobacillus</i> sp. และ <i>Eubacteria</i> domain โดยใช้ยีน 16S rRNA จากแหล่งเชื้อทั้ง 3 แหล่ง	23
10 ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (RE) และความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (EC) แต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT)	24
11 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ ความสามารถในการกำจัด และประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในการศึกษานี้กับเอกสารอื่น	25
12 ผลประสิทธิภาพของระบบและ metabolic products	29

รายการรูป

รูป		หน้า
1	การกักกร่อนในท่อ โดย Sulfur-Oxidizing Bacteria	12
2	องค์ประกอบของถังปฏิกรณ์ biofilter ที่ใช้ในการทดลอง	20
3	วัสดุตัวกลางที่ใช้ในการทดลองโดยทำจาก polyethylene	20
4	ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์แต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ	24
5	ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในระหว่างที่มีการมีการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์	26
6	ค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างที่มีการดำเนินระบบในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์	27
7	ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการทดลอง	28

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 (มรกด ตันติเจริญ, 2537; ปิยธิดา สนิทไชย, 2544) และได้เริ่มมีการนำก๊าซชีวภาพจากหลุมฝังกลบมูลฝอยมาใช้ด้วย การนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่จะนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อผลิตพลังงานความร้อน เช่น ใช้สำหรับหุงต้มในระดับครัวเรือน จนถึงระดับอุตสาหกรรมคือใช้กับหัวเผา (Burner) หม้อไอน้ำ (Boiler) หรือนำก๊าซชีวภาพไปใช้ผลิตไฟฟ้าโดยใช้เป็นเชื้อเพลิงในเครื่องยนต์ ซึ่งนิยมใช้กันมากในฟาร์มเลี้ยงสุกรขนาดใหญ่ แต่พลังงานที่ผลิตได้จากก๊าซชีวภาพส่วนใหญ่ถูกใช้ภายในโรงงานอุตสาหกรรม หรือในฟาร์มเท่านั้น มีบางแห่งซึ่งสามารถผลิตพลังงานทดแทนดังกล่าวนี้ได้มากกว่าความต้องการใช้ (สรบ., 2543) จึงเกิดปัญหาพลังงานเหลือทิ้งซึ่งภาครัฐได้แก้ไขปัญหานี้โดยได้วางนโยบายสนับสนุนการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานทดแทนเพื่อขายในกับการไฟฟ้า ในรูปแบบการรับซื้อไฟฟ้าจากผู้ผลิตไฟฟ้าพลังงานหมุนเวียนขนาดเล็กมาก และก๊าซชีวภาพก็เป็นหนึ่งในพลังงานทดแทนที่สามารถขายได้ (การไฟฟ้านครหลวง, 2545) ถึงแม้ว่าจะมีการผลิตและใช้ก๊าซชีวภาพเพื่อเป็นพลังงานทดแทนกันอย่างแพร่หลาย ประกอบกับการเข้ามาช่วยเหลือทั้งในเรื่องเงินทุนและนโยบายของภาครัฐ แต่การนำก๊าซชีวภาพมาใช้ยังมีประสิทธิภาพ หรือนำมาใช้แล้วยังยั้งในทางปฏิบัติยังคงมีปัญหา โดยเฉพาะปัญหาการกัดกร่อนของเครื่องยนต์ ท่อนำก๊าซ หรืออุปกรณ์ใช้ก๊าซ ซึ่งเกิดจากก๊าซบางตัวที่เป็นองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเปลี่ยนอุปกรณ์ และบำบัดสารปนเปื้อนนั่น 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) บางวิธีที่ไม่สามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้ เช่น ถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon) และประเด็นที่สำคัญคือการบำบัดทางเคมีจะมีค่าใช้จ่ายสูงมากทั้งราคาสารเคมีและสารเร่งปฏิกิริยา เช่น ถ้าใช้ Iron Oxides ของ บริษัท Sulfa Treat[®] Company of St. Louis ที่ประสิทธิภาพการบำบัด 0.55-0.72 kg H₂S/Kg iron oxide ราคาขายอยู่ที่ \$0.88/Kg (ประมาณ 40 บาท) หรือถ้าขนาดระบบก๊าซชีวภาพ 1,000 ลบ.ม. ความเข้มข้นของ H₂S ~4,000 ppm จะเสียค่าใช้จ่ายประมาณ 7,000 บาท/วัน และถ้าใช้ Activated Carbon-KOH ราคาขายอยู่ที่ \$5/Kg (ประมาณ 227 บาท) หรือถ้าขนาดระบบก๊าซชีวภาพ 1,000 ลบ.ม. ความเข้มข้นของ H₂S ~4,000 ppm จะเสียค่าใช้จ่ายประมาณ 2,800 บาท/วัน (Zicari, 2003) ส่วนในประเทศไทยพบว่าระบบบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ของระบบก๊าซชีวภาพที่โรงงานแห่งหนึ่งมีค่าก่อสร้างประมาณ 1-2 แสนบาท ค่าเดินระบบประมาณ 0.5 บาท/ม³ ก๊าซชีวภาพ นอกจากนี้ในก๊าซชีวภาพมีปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ในระดับไม่สูงมากเท่าในอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ซึ่งนิยมใช้กระบวนการทางเคมีบำบัด การนำเอาวิธีที่มีคุณภาพสูงและราคาแพงอาจไม่เหมาะสม ดังนั้นวิธีการบำบัดทางชีวภาพจึงน่าจะเป็นแนวทางที่เหมาะสมกว่า

วิธีการทางชีวภาพเป็นการใช้เชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนก๊าซให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษต่ำ โดยเป็นจุลินทรีย์ประเภท Sulfur Oxidizing Bacteria ซึ่งสามารถออกซิไดส์สารประกอบซัลไฟด์เป็นธาตุซัลเฟอร์ได้ โดยใช้สารประกอบซัลไฟด์เป็น Electron Donor และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ แบ่งกลุ่มจุลินทรีย์พวกนี้เป็น 2 ประเภทใหญ่ คือ Phototrophic Bacteria และ Chemolithophic Bacteria (Garbriel, 1994) แต่จากงานวิจัยต่างๆ พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการนำมาใช้บำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) จะเป็นแบคทีเรียพวก Chemolithophic Bacteria ซึ่งเติบโตในสภาวะมีอากาศ ได้แก่ กลุ่ม *Thiobacillus* ใช้ออกซิเจนเป็น Electron Acceptor ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถออกซิไดส์สารประกอบซัลไฟด์เป็นธาตุซัลเฟอร์ได้ภายใต้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัด และปลดปล่อยธาตุซัลเฟอร์ออกนอกเซลล์ (Christon et al., 1997; Oliver et al., 1996) มีเทคนิคการบำบัดหลายแบบ เช่น Biofilter, Fixed-film bioscrubber และ Suspended-growth bioscrubber (Zicari, 2003) และเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวนี้เจริญบน Media โดยมีหลายชนิดๆ สามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสถานที่นั้นๆ 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 H₂S ในถังปฏิกรณ์โดยใช้น้ำเสียที่ผ่านการเติมอากาศ แล้ว feed จากบนลงล่างผ่าน Bubber-tray ที่มีเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *Thiobacillus* ส่วนก๊าซชีวภาพจะผ่านจากทางด้านล่างขึ้นบน ส่วนทางกับน้ำเสียที่ผ่านการเติมอากาศ ก๊าซชีวภาพมี CH₄ ร้อยละ 80 CO₂ ร้อยละ 20 และมี H₂S ประมาณ 2,000 ppm) พบว่าสามารถบำบัด H₂S ได้ร้อยละ 99.5 (น้อยกว่า 20 ppm) อัตราการไหลของก๊าซชีวภาพ 40 m³/hr

Koe และ Yang (2000) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำจากระบบบำบัดมาหมักเวียนผ่าน Bioscrubber แบบ fixed film โดยมีแบคทีเรียกลุ่ม *Thiobacillus* ซึ่งแยกเชื้อดังกล่าวจากสลัดส์น้ำเสียชุมชน ใช้ Media พลาสติก และบ่มอากาศที่มี H₂S ที่ความเข้มข้น 5 ppm อัตราการไหลของอากาศ 2 ลิตร/นาที่ พบว่าประสิทธิภาพการบำบัด H₂S ร้อยละ 40-90 โดย H₂S Loading ~90 g H₂S /m³ /hr และGRTs (Gas retention times) ต้องมากกว่า 5 วินาที และเมื่อตรวจสอบเชื้อโดยใช้ SEM 3500 เท่า พบว่ามีแบคทีเรียชนิด *Thiobacillus thiooxidans* มีลักษณะเป็น Filament ยึดบนผิวของ Media เป็นจำนวนมาก

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้เริ่มศึกษาเทคโนโลยีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) เบื้องต้น โดยเริ่มศึกษาจากระดับห้องปฏิบัติการ เรื่องเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นสำหรับพัฒนาไปในระดับใหญ่ขึ้น โดยการศึกษาครั้งนี้นอกจากจะเป็นการเริ่มพัฒนาเทคโนโลยีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

(H₂S) โดยวิธีทางชีวภาพในประเทศแล้ว ยังเป็นการยกระดับองค์ความรู้ เพิ่มความสามารถในการแข่งขันกับต่างประเทศ และนำไปสู่การพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไป

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อหาแหล่งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพโดยใช้เทคนิคที่พัฒนาเพื่อทดสอบเบื้องต้นและนำมาประยุกต์ใช้ในการหาหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับระบบกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัด

1.3 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

โรงงานอุตสาหกรรมที่มีระบบผลิตก๊าซชีวภาพ

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐานหรือกรอบแนวคิดของงานวิจัย

กรอบแนวคิดหลัก: ใช้หลักการจัดการของเสียโดยการบำบัด เพื่ออนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและพลังงาน

ทฤษฎี

1.4.1 องค์ประกอบและคุณสมบัติของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ biogas หรือ marsh gas เป็นผลพลอยได้จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ได้แก่ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มูลสัตว์ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตผลทางการเกษตร เป็นต้น โดยการย่อยของจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งในสภาพไม่มีอากาศ ก๊าซชีวภาพประกอบด้วยก๊าซต่างๆ มากมาย ได้แก่ CH₄, CO₂, H₂S และอื่นๆ โดยก๊าซมีเทน (CH₄) เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งค่าความร้อนของก๊าซชีวภาพขึ้นกับปริมาณของก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพนั้น ส่วนประกอบของก๊าซที่ได้จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของ Substrates, Organic loading, อุณหภูมิ และเวลาในการย่อยสลาย แต่โดยทั่วไปจะมีส่วนประกอบของก๊าซชีวภาพ (Pipatmanomai, 2009) ดังตารางที่ 1

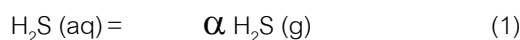
ตารางที่ 1 องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ	องค์ประกอบ (% โดยปริมาตร)
methane (CH ₄)	40-80
carbon dioxide (CO ₂)	30-60
hydrogen (H ₂)	0-1
hydrogen sulfide (H ₂ S)	0-3

ส่วนประกอบสำคัญของก๊าซชีวภาพ คือ ก๊าซมีเทน เนื่องจากเป็นก๊าซที่มีค่าความร้อนสูงที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้โดยปฏิกิริยาเคมีที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน จะมีค่าความร้อนประมาณ 34,000 kJ/m³ สำหรับก๊าซชีวภาพที่มี CH₄ เป็นองค์ประกอบโดยเฉลี่ยประมาณ 40-80% จะให้ค่าความร้อนประมาณ 13,720-27,440 kJ/m³ นอกจากค่าความร้อนดังกล่าวจะเป็นเงื่อนไขสำคัญต่อการพิจารณาสำหรับเลือกเทคโนโลยีที่จะนำเอาก๊าซชีวภาพไปใช้เป็นพลังงานทดแทนแล้ว คุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างเชื้อเพลิงต่ออากาศ Flame velocity และอุณหภูมิของเปลวไฟที่ได้จากการเผาไหม้ก็เป็นปัจจัยสำคัญต่อการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ทดแทนเชื้อเพลิงอื่นด้วย ได้แก่ การใช้แทนน้ำมันดีเซลในการเดินเครื่องยนต์ การผลิตไฟฟ้า เป็นต้น

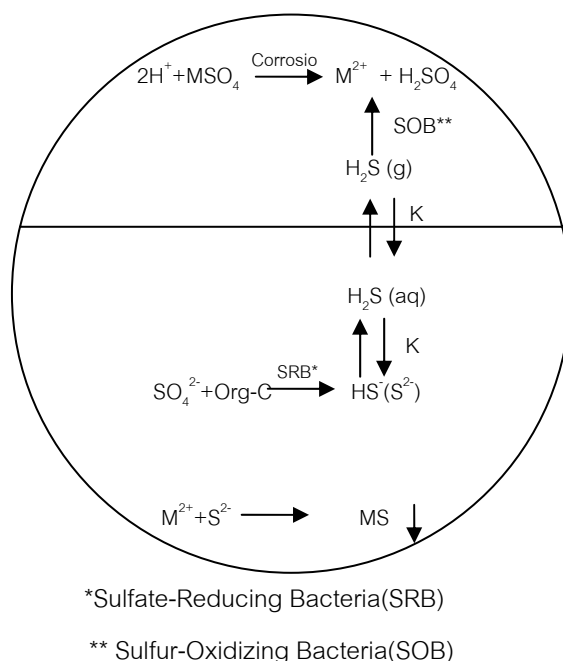
1.4.2 คุณสมบัติของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และผลกระทบที่มีต่อการนำก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์

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)



โดยที่ α คือ Absorption Coefficient of H_2S มีค่าเท่ากับ 1.99 ที่ $30^\circ C$

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



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 ₂ S 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 (H₂S) ก่อน โดยตารางที่ 3 แสดงปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ที่ยอมให้มีอยู่ในก๊าซชีวภาพในแต่ละแนวทางการใช้ประโยชน์

ตารางที่ 3 ปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ที่ยอมให้มีอยู่ในก๊าซชีวภาพในแต่ละแนวทางการใช้ ประโยชน์ (Wellinger and Linberg, 2002)

Biogas end-use	Recommended H ₂ S Requirements
Cooking	<10 ppm
Boiler/Burner/Stirling 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 (H₂S) ในก๊าซชีวภาพ จะใช้หลักการออกซิไดซ์สารประกอบซัลไฟด์ให้เป็นธาตุซัลเฟอร์ เพราะธาตุซัลเฟอร์มีคุณสมบัติเป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำทำให้สามารถดึงออกจากระบบได้ วิธีการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) มีดังนี้

1.4.3.1 การบำบัดด้วยวิธีทางเคมี

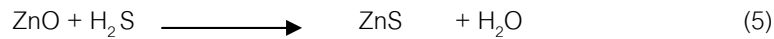
สารเคมีที่ใช้ในการบำบัดเป็นพวกที่มีคุณสมบัติเป็น Oxidizing Agent ซึ่ง Product ที่ได้จากกระบวนการทางเคมี เป็นได้ทั้งธาตุซัลเฟอร์และซัลเฟต ขึ้นอยู่กับปริมาณของ Oxidizing Agent กับ pH ในระบบ ซึ่งสาร Oxidizing Agent ที่นิยมใช้ในการกำจัดสารประกอบซัลไฟด์มีดังนี้

- Ferric oxide/ Ferric Salts/ Ferous ในการออกซิไดซ์โดยสารที่ใช้ได้แก่ Fe₂O₃, FeSO₄ และ FeCl (SO₄) ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยาแล้วได้ตะกอนของ Ferous/Ferric Sulfides ดังแสดงในสมการที่ 2 ถึง 4 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)

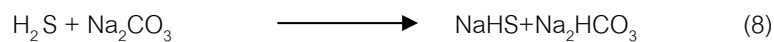




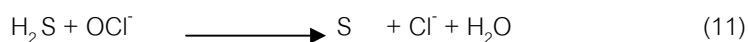
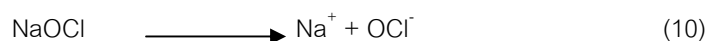
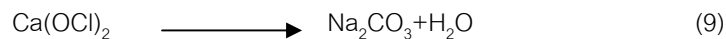
- Zinc Oxides (ZnO) จะนิยมบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่อุณหภูมิก๊าซสูงๆ ประมาณ 200°C - 400°C Maximun sulfur loading ประมาณ 30-40 kg sulfur/100 kg sorbent ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะทำปฏิกิริยากับ Zinc Oxides ได้ insoluble zinc sulfide ดังสมการที่ 5 (Mamta and Tamama, 1994; Zicari, 2003)



- 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)



- ใช้ NaOCl หรือ $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 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)



1.4.3.2 การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ

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

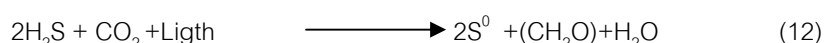
ก) เติบโตในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศ

- จุลินทรีย์ประเภท Green Sulfur Bacteria ได้แก่ *Chlorobium* sp.
- จุลินทรีย์ประเภท Purple Sulfur Bacteria ได้แก่ *Chromatium* sp. และ *Thiocapsa* sp.

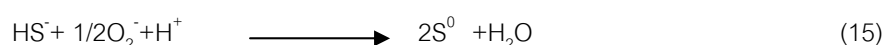
ข) เติบโตในสภาวะที่ใช้อากาศ

- 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 ผลิตธาตุซัลเฟอร์แล้วเก็บไว้ในเซลล์ แต่จุลินทรีย์พวก Green Sulfur Bacteria ผลิตธาตุซัลเฟอร์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ ดังสมการที่ 12 และ 13 แต่จากการที่จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มนี้ ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานทำให้เกิดปัญหาการส่องผ่านของแสงผ่านถึงปฏิกรณ์ เกิดปัญหาการบังแสงของตะกอนจุลินทรีย์เมื่อความหนาแน่นของเซลล์ในระบบมากขึ้น จึงไม่เหมาะที่จะใช้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ในการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และจากงานวิจัยต่างๆพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการนำมาใช้บำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จะเป็นแบคทีเรียพวก Chemolithophic Bacteria ซึ่งเติบโตในสภาวะมีอากาศมากกว่า



จุลินทรีย์พวกที่เติบโตในสภาวะที่ใช้อากาศ หรือ พวก Colorless Sulfur Bacteria และ Filamentous Sulfur Bacteria พวก Filamentous Sulfur Bacteria ที่ ได้แก่ *Beggiatoa* spp. และ *Thiothrix* sp. สามารถเปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ให้เป็นธาตุซัลเฟอร์ แล้วเก็บไว้ในเซลล์โดยเก็บไว้ใน Filamentous ซึ่งทำให้แยกธาตุซัลเฟอร์ออกจากเซลล์ได้ง่าย ส่วนพวก Colorless Sulfur Bacteria ซึ่ง ได้แก่ *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



ตารางที่ 4 Specific Microorganisms for Biofiltration of H₂S

Microorganism	Reference
<i>Thiobacillus species</i>	Degorce-Dumas, et al. (1997), Nishimura and Yoda (1997), Koe and Yang (2000)
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Cho, et al. (2000)
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Sublette, et al. (1994)
<i>Thiobacillus thioparus</i>	Cho, et al. (1992), Cadenhead and Sublette (1990)
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Jensen and Webb (1995)
<i>Thiobacillus novellas</i>	Chung, et al. (1998)
<i>Thiobacillus versutus</i>	Cadenhead and Sublette (1990)
<i>Thiobacillus neopolitanus</i>	Cadenhead and Sublette (1990)
<i>Pseudomonas putida</i>	Chung, et al. (1996, 2001)
<i>Hyphomicrobium</i>	Zhang, et al. (1991)
<i>Xanthomonas species DY44</i>	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 โดยการทำงานของมันเป็นคือ จะเก็บสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของแต่ละรอบการทำปฏิกิริยา และจะมีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณที่ได้ไปเป็นตัวเลข (Dorak, 2006) ข้อดีของเทคนิคนี้คือ มีประสิทธิภาพและสามารถที่จะดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ยังไม่ต้องทำการรันเจลเพื่อดูผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เกิดขึ้นอีกด้วยหลังจากเสร็จสิ้นปฏิกิริยา เมื่อสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงขึ้นมันจะมีการตรวจสอบระดับจากนั้นจึงทำการกราฟการเพิ่มปริมาณเพื่อแสดงให้เห็น (Applied Biosystems) ซึ่งในกราฟจะมีข้อมูลสำหรับการวัดจำนวนดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ นอกจากนี้ยังมีเส้น Threshold ซึ่งคือ ระดับของการตรวจเช็คหรือจุดที่ปฏิกิริยาได้ถึงจุดที่สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่กำหนดไว้ 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) โดยวิธีนี้จะเข้าไปแทรกบริเวณดีเอ็นเอสายคู่เท่านั้น ดังนั้นเมื่อจำนวนดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นในปฏิกิริยาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก็จะสูงขึ้นด้วย แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ อาจมีความจำเพาะเจาะจงขาดหายไปบ้าง

ในส่วนของวิธีที่ 2 คือใช้ probe โดยที่นิยมใช้คือ Taqman-type probe (Dorak, 2006) โดยจะมีการติดสัญญาณด้วยตัวรายงานสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ปลายแต่ละด้านคือ one end และ quencher molecule ดังนั้นในสถานะที่ปกติสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จะต่ำ อย่างไรก็ตามในระหว่างที่มีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโพรบจะเข้าไปจับกับยีนที่สนใจและมารวมกันด้วยเอนไซม์ Taq polymerase ดังนั้นตัวรายงานและตัว quencher ก็จะแยกออกจากกันแล้วทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการใช้โพรบที่เรียกว่า molecular beacon (Mhlanga and Malmberg, 2001) ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เข้าคู่กับยีนที่สนใจแล้วติดฉลากด้วยตัวรายงานฟลูออเรสเซนซ์และมีโมเลกุล quencher molecule ที่ด้านตรงข้าม ซึ่งในการออกแบบโพรบนี้จะให้โค้งหรือม้วนตัวเข้าหากันเพื่อให้ตัว reporter และ quencher ใกล้กันให้มากที่สุด เมื่อ

โพรบจับกันยีนที่สนใจแล้วจะทำให้กลายเป็นเส้นตรงจากนั้น reporter และ quencher ก็จะแยกออกจากกันซึ่งผลก็คือการเพิ่มขึ้นของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

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

1.5 วัตถุประสงค์ของโครงการ

โดยรวมของวัตถุประสงค์หลัก เพื่อศึกษาตัวแปรทางกายภาพที่สำคัญในการออกแบบและขยายขนาดถึงปฏิกรณ์ในการบำบัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (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 โรงงานผลิตแอมโมเนียปัสเล้ง 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 ป้อนด้วยก๊าซสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ 3,000 ppm และทำการศึกษาหาภาระสูงสุดในการรับไฮโดรเจนซัลไฟด์ (sulfide loading rate; SLR) และ ระยะเวลาในการกักเก็บก๊าซ (gas retention time; GRTs) ที่เหมาะสม

1.7 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ

แผนงาน	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. หาแหล่งและเก็บตัวอย่างของแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ	←		→									
2. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจากแหล่งต่างๆ			←			→						
3. ศึกษาในถังปฏิกรณ์และควบคุมสภาวะแวดล้อมเพื่อศึกษา SLR และ GRT ของ biofilter							←			→		
4. วิเคราะห์และสรุปผล											←	→

2. วิธีดำเนินงานวิจัย

2.1 การคัดเลือกแหล่งจุลินทรีย์ที่เหมาะสม

2.1.1 แหล่งจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใช้ในการศึกษา

แหล่งหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาจากบ่อเปิดไม่ใช้อากาศ (anaerobic open lagoon) ของโรงงานผลิตแอมโมเนีย ปะหัง ฟาร์มสุกร และโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม

ดังนั้นในการศึกษานี้ได้พัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบเบื้องต้นถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการกำจัดซัลไฟด์และจำนวนของจุลินทรีย์ *Thiobacillus* sp. ของหัวเชื้อจากแหล่งต่างๆ ที่เป็นพวก sulfate oxidizing bacteria (SOB) เพื่อคัดเลือกแหล่งหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์สำหรับถังปฏิกรณ์ biofilter

2.1.2 การหากิจกรรมของจุลินทรีย์ในการกำจัดซัลไฟด์

การวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB ได้ทำใน flask ด้วยการใส่ตะกอนจุลินทรีย์ประมาณ 0.2 gVSS โดยใช้อาหารชื่อว่า thiosulfate mineral salt medium (ตารางที่ 5) และมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร โดยทำการทดลอง 3 ข้างใน flask ทดลองนั้นจะมี 2 flask คือ flask อาหารที่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโอซัลเฟตและไม่มีการใส่ตะกอนจุลินทรีย์ ส่วนอีก flask ใส่ตะกอนเชื้อและใส่อาหารที่ไม่มีส่วนผสมของโซเดียมไฮโอซัลเฟต จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยในแต่ละวันจะมีการเก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เพื่อที่จะนำไปหาปริมาณของไฮโอซัลเฟตที่ถูกใช้ไปและหา กิจกรรมของจุลินทรีย์ SOB โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Tantunvate (2003)

2.1.3 การหาจำนวนของจุลินทรีย์ *Thiobacillus* sp. โดยวิธี Real-time polymerase chain reaction (qPCR)

Real time polymerase chain reaction (qPCR) โดยใช้วิธีของ SYBR[®] Green ได้ถูกนำมาใช้เพื่อที่จะทำการดูจำนวนของ 16S rDNA หรือยีน 16S rRNA ของ *Thiobacillus* sp. and *Eubacteria* domain

2.2.3.1 *Eubacteria* domain

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในกลุ่มนี้จะใช้ไพรเมอร์ 338GC-F และ 518R โดยใช้ดีเอ็นเอที่สกัดได้เป็นต้นแบบด้วย KAPA SYBR[®] Fast qPCR Kit (KAPA, Brazil) แล้วนำไปทำปฏิกิริยาที่เครื่อง fluorescence-detecting thermocycler (Stratagene Mx3005P) (Amann, et al., 1996) สำหรับ *Eubacteria* domain plasmid DNA จะมียีนที่ใส่เข้าไปใน *E.coli* DH5 α เพื่อที่จะนำมาใช้ในการสร้าง standard curve ความเข้มข้นของพลาสมิดดีเอ็นเอที่ได้จะนำมาวัดด้วยเครื่อง NanoDrop[®] ND-1000 spectrophotometer จากนั้นทำการเจือจางให้อยู่ในช่วง $10^3 - 10^9$ copies rDNA μl^{-1} สภาวะที่ใช้ใน

การทำปฏิกิริยาแสดงในตารางที่ 6 โดยปริมาณ copy ของพลาสมิดดีเอ็นเอจะคำนวณโดยใช้สมการที่ (1) (Whelan et al., 2003)

2.2.3.2 *Thiobacillus* sp.

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในกลุ่มนี้จะใช้ไพรเมอร์ BONE663cF และ Thio840R โดยในการสร้าง Standard curve ของ *Thiobacillus* sp. จะใช้พลาสมิดดีเอ็นเอจาก *Thiobacillus thioautotrophicus* ในช่วง $10^3 - 10^9$ copies rDNA μl^{-1} สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ของ *Thiobacillus* sp. แสดงในตารางที่ 6 โดยปริมาณ copy ของพลาสมิดดีเอ็นเอจะคำนวณโดยใช้สมการที่ (1)

$$\text{DNA copy} = \frac{(6.02 \times 10^{23} \text{ copy/mole}) \times \text{DNA amount (g)}}{\text{DNA length (bp)} \times 660 \text{ (g/mol/bp)}} \quad (1)$$

ตารางที่ 5 Thiosulfate mineral salt medium (Rattanapan et al., 2010)

Constituent	Concentration (g/l)	Trace element*	Concentration (g/l)
KNO ₃	2.0	Na ₂ -EDTA	50.0
NH ₄ Cl	1	CaCl ₂ .2H ₂ O	7.3
KH ₂ PO ₄	2	FeSO ₄ .7H ₂ O	5.0
NaHCO ₃	2	MnCl ₂ .4H ₂ O	2.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.8	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2.2
Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O	5	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.5
Trace element*	1.0 ml	CaSO ₄ .5H ₂ O	0.2
pH adjusted to 6 with 1N KOH		NaOH	11.0

ตารางที่ 6 สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ของ *Thiobacillus* sp. และ *Eubacteria* domain ด้วยเทคนิค real-time PCR โดย SYBR® Green (Kawakami, et al., 2005)

Cycle	PCR reaction steps	Temperature (°C)	Time	Repeat
1	Initial denaturing	95	10 min	1
2	1 Denaturing	95	30 sec	40
	2 Annealing	55 (58) ³	30 sec	
	3 Extension ¹	72	30 (50) ³ sec	
3	Final denaturing ²	95	1 min	1
		55	30 sec	
		95	30 sec	

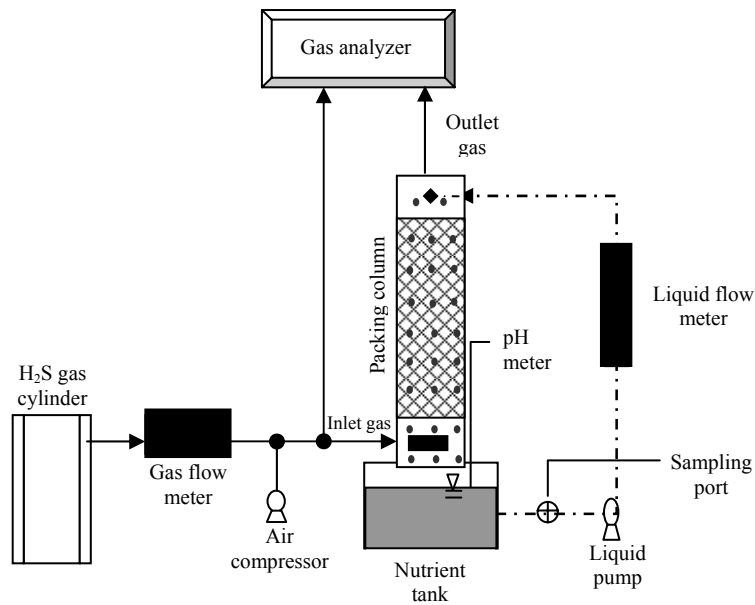
¹Real time – ข้อมูลแต่ละขั้นจะถูกเก็บไว้; ²Melt curve – ข้อมูลในขั้นที่ทำ melting curve จะถูกเก็บ; ³สำหรับการเพิ่มปริมาณของ *E.coli*

2.2 การศึกษาการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในถังปฏิกรณ์ biofilter ด้วยจุลินทรีย์ที่คัดเลือก

2.2.1 ถังปฏิกรณ์

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองเป็นถังทรงกระบอกทำด้วยอะคริลิกใส ขนาดบรรจุ 18 ลิตร มีปริมาตรของเหลว 12 ลิตร ภายในบรรจุด้วยวัสดุตัวกลาง ดังรูปที่ 2 วัสดุตัวกลางที่ใช้ในการทดลองผลิตจาก polyethylene (PE) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 40 มิลลิเมตร และพื้นที่ผิว 240 ตารางเมตรต่อลูกบาศก์เมตร (รูปที่ 3) ถังปฏิกรณ์นั้นกำหนดให้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เข้าจากทางด้านล่างของถังผ่าน Packing Zone ขึ้นสู่ด้านบน (Upflow) ในระหว่างที่ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

ไหลขึ้น ของเหลวที่ใช้เป็นสารอาหาร ซึ่งบรรจุใน Nutrient Tank จะถูกปั๊มไปตามท่อ แล้วพ่นจากด้านบนถึงผ่าน Packing Zone ลงสู่ด้านล่าง ซึ่งจะสวนทางกับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ไหลขึ้น



รูปที่ 2 องค์ประกอบของถังปฏิกรณ์ biofilter ที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ 3 วัสดุตัวกลางที่ใช้ในการทดลองโดยทำจาก polyethylene

2.2.2 การเริ่มต้นและดำเนินระบบถังปฏิกรณ์

นำแหล่งหัวเชื้อที่ได้จากการคัดเลือกในหัวข้อ 2.1 เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในถังปฏิกรณ์ ปรับตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ให้คุ้นเคยกับอาหาร thiosulfate mineral salt medium (Thiosulfate MSM) ประมาณ 1 อาทิตย์ก่อนที่จะนำไปใส่ในถังปฏิกรณ์ โดยใส่ตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ 20 gVSS ต่อ 1 ลิตรถังปฏิกรณ์ ในการตรึงเชื้อจุลินทรีย์นั้นทำโดยการหมวนเวียนตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ประมาณ 2 อาทิตย์ หลังจากนั้นจึงเริ่มป้อนก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นคงที่ 3,000 ppm เข้าไปในถังปฏิกรณ์ในทิศทาง upflow และออกแบบการทดลองโดยมีอัตราการไหล ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ และอัตราการรับภาระของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในแต่ละสภาวะ ดังแสดงในตารางที่ 7 สภาวะแวดล้อมภายในถังปฏิกรณ์ระหว่างการทดลองได้มีการควบคุมให้ค่า pH และ DO อยู่ที่ 7 และ $<1.0 \text{ mg l}^{-1}$ ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง โดยเชื้อตะกอนจุลินทรีย์ได้ถูกหมวนเวียนอย่างต่อเนื่องและมีการดำเนินระบบจนกระทั่งเข้าสู่ steady state ในแต่ละ operating condition จากนั้น ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ความสามารถในการกำจัด อีกทั้งในส่วนของ nutrient solution ได้ถูกเก็บเพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น คือ ซัลไฟด์ ซัลเฟต และซัลเฟอร์ ในระบบ

ตารางที่ 7 อัตราการป้อนซัลไฟด์เข้าสู่ระบบในแต่ละ operating condition

operating condition	Gas Retention Time; GRT (min)	Sulfide Loading Rate; SLR (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)
1	120	2.06
2	60	4.13
3	40	6.19
4	30	8.25

2.2.3 การวิเคราะห์

2.2.3.1 ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าและออกจากถังปฏิกรณ์จะวัดด้วย BIOGAS Geo-Tech gas analyzer (GeoTech, UK)

2.2.3.2 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และค่าการละลายของออกซิเจน (DO)

ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) วัดโดย pH meter ของ Denver Instrument UB-5 Ultrabasic และค่าการละลายของออกซิเจน (dissolved oxygen; DO) วัดโดยเครื่องมือ DO meter รุ่น HACH LDO HQ10 ซึ่ง pH meter และ DO probe ต้องมีการ calibrate ก่อนที่ใช้งาน

2.2.3.3 ปริมาณชีวมวล (biomass)

ปริมาณชีวมวลวิเคราะห์ในรูปของแข็งที่ระเหยได้ (volatile suspended solid; VSS) คือปริมาณของน้ำหนักของตัวอย่างที่หายไปเมื่อนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 °C ซึ่งปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดได้ใช้เป็นตัวชี้วัดถึงปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่าง โดยวิธีที่ใช้ในการหา VSS นั้น ใช้วิธีของ Wisconsin State Laboratory of Hygiene (1993)

2.2.3.4 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (Metabolic products analysis) สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในระบบนั้นจะใช้การวัดในรูปของซัลไฟด์ ซัลเฟต และซัลเฟอร์ โดยที่วิเคราะห์ซัลไฟด์จะใช้วิธีไอโอโดเมตริก (APHA, 2005) วิเคราะห์ปริมาณของซัลเฟตจะใช้วิธี turbidimetric ตามวิธีของ Standard Method (APHA, 2005) และวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ (Sulfur element) ในระบบนั้นจะใช้วิธี Eschka method (Adeleke, 2006)

2.2.4 การคำนวณ

2.2.4.1 ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Removal efficiency; RE)

ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ได้คำนวณจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าและผ่านการกำจัดที่ออกจากระบบในแต่ละรอบของการดำเนินระบบ โดยคำนวณได้จากสมการด้านล่าง:

$$RE (\%) = [(C_i - C_e) / C_i] \times 100$$

C_i = ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ (g m⁻³)

C_e = ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ออกจากระบบ (g m⁻³)

2.2.4.2 ความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Elimination capacity; EC)

ความสามารถในการกำจัดคือ ปริมาณของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ถูกกำจัดต่อปริมาตรของวัสดุตัวกลางต่อเวลา เพื่อที่จะให้ทราบถึงความสามารถของถังปฏิกรณ์ในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ภายใต้ปริมาตรบรรจุของเหลวที่มีวัสดุตัวกลางของถังปฏิกรณ์ และเวลา โดยสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$EC = Q \times (C_i - C_e) / V$$

Q = อัตราการไหล (m³ h⁻¹)

C_i = ความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ (g m^{-3})

C_e = ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ออกจากระบบ (g m^{-3})

V = ปริมาตรของตัวกลางในถังปฏิกรณ์ (m^3)

3. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

3.1 คุณลักษณะของตะกอนเชื้อจุลินทรีย์

ในการศึกษานี้ แหล่งตะกอนเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มหมู โรงงานแป่งมันสำปะหลัง และโรงงานน้ำมันปาล์มเพื่อนำมาหาแหล่งเชื้อที่เหมาะสมในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยการนำมาวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ sulfur oxidizing bacteria (SOB) และเทคนิค real-time polymerase chain reaction (qPCR) เพื่อดูคุณภาพและปริมาณของคุณสมบัติของแบคทีเรียโดยเฉพาะให้กลุ่มของ *Thiobacillus* sp. and *Eubacteria* domain ตามลำดับ

3.1.1 กิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ sulfur oxidizing bacteria

การวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB นั้นเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการคัดเลือกแหล่งของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยมีไฮโอซัลเฟตเป็นแหล่งของซัลเฟอร์ที่จะใช้ในการหากิจกรรมของจุลินทรีย์ของแหล่งเชื้อทั้ง 3 แหล่งและมีตัวควบคุมโดยไม่ใส่ตะกอนเชื้อ ซึ่งพบว่าแหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูสามารถใช้ไฮโอซัลเฟตได้เร็วกว่าแหล่งเชื้ออื่นๆ ใน 2-3 วันแรก ของการทดลอง โดยวันที่ 3 มีอัตราการใช้ $1.34 \text{ gNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (ตารางที่ 8) ในขณะที่แหล่งเชื้ออื่นๆมีอัตราการใช้สูงสุดในวันที่ 4 ของการทดลองในอัตรา 0.95 และ $0.86 \text{ gNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ จากโรงงานแป่งมันสำปะหลังและโรงงานน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ เมื่อคำนวณกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB จากทั้ง 3 แหล่งในการใช้ไฮโอซัลเฟต พบว่ากิจกรรมของจุลินทรีย์จากแหล่งเชื้อของฟาร์มหมู โรงงานแป่งมันสำปะหลัง และโรงงานน้ำมันปาล์ม มีค่า 6.70, 4.76 และ 4.30 $\text{gNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ g}^{-1} \text{ VSS d}^{-1}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 9) และจากผลของการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Duncan analysis ซึ่งสามารถอ้างได้ว่าแหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูนั้นแสดงผลกิจกรรมที่สูงที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับแหล่งเชื้ออื่น โดยสามารถที่จะย่อยซัลเฟตได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งเชื้ออื่นๆ

ตารางที่ 8 อัตราการใช้ไฮโอซัลเฟตจากแหล่งเชื้อทั้ง 3 แหล่งในแต่ละวัน

เวลาการทดลอง (วัน)	อัตราการใช้ไฮโอซัลเฟต ($\text{gNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ l}^{-1} \text{ d}^{-1}$)		
	ฟาร์มหมู	โรงงานแป่งมันสำปะหลัง	โรงงานน้ำมันปาล์ม
0	0	0	0
1	1.02	0.81	0.66
2	1.31	0.58	0.82
3	1.34	0.57	0.75
4	1.01	0.95	0.86
5	0.82	0.78	0.77
6	0.68	0.67	0.65

ตารางที่ 9 กิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่ม SOB และจำนวนของแบคทีเรียในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. และ *Eubacteria* domain โดยใช้ยีน 16S rRNA จากแหล่งเชื้อทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งจุลินทรีย์เริ่มต้น	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (gVSS l ⁻¹)	กิจกรรม SOB (gNa ₂ S ₂ O ₃ g ⁻¹ VSS d ⁻¹)	จำนวน <i>Thiobacillus</i> sp. (copies rDNA g ⁻¹ VSS)	จำนวน <i>Eubacteria</i> domain (copies rDNA g ⁻¹ VSS)
โรงงานน้ำมันปาล์ม	38.90	4.30 ^a	9.6 × 10 ⁷	1.71 × 10 ⁸
โรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง	24.33	4.76 ^c	9.2 × 10 ⁸	1.42 × 10 ¹⁰
ฟาร์มหมู	39.00	6.70 ^e	8.5 × 10 ⁷	2.23 × 10 ⁸

3.1.2 ปริมาณของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในแหล่งเชื้อต่างๆ โดยใช้เทคนิค real-time polymerase chain reaction (qPCR)

Real-time PCR ได้ถูกนำมาใช้ในการหาปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. และ *Eubacteria* domain จากแหล่งเชื้อต่างๆ โดยเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ของ *Thiobacillus* sp. และ *Eubacteria* domain (รวมทั้ง *Thiobacillus* sp.) เพื่อที่จะนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน ในการสร้างกราฟมาตรฐานนั้นใช้ *Thiobacillus thioautotrophicus* ที่เจือจางพลาสมิติดีเอ็นเออยู่ที่ 10²-10⁸ copies rDNA กราฟมาตรฐานที่ได้แสดงค่า R² ที่ 0.995, amplification efficiency ที่ 91.5% และ slope ที่ -3.544 โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นทำการเปรียบเทียบค่า C_t ที่ได้ของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน โดยค่า C_t คือค่าที่ตัวอย่างนั้นมีสัญญาณ fluorescence ผ่านค่าที่ได้ตั้งไว้ที่เรียกว่า threshold จากผลการทดลองปรากฏว่าจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า จำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. จากฟาร์มหมู โรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง และโรงงานน้ำมันปาล์ม อยู่ที่ 8.5 × 10⁷, 9.2 × 10⁸ และ 9.6 × 10⁷ copies rDNA g⁻¹VSS ตามลำดับ ในส่วนของกราฟมาตรฐานของแบคทีเรียในกลุ่มของ *Eubacteria* domain นั้นได้ใช้พลาสมิทที่ได้จาก *E. coli* DH5α ซึ่งทำการเจือจางให้อยู่ในช่วง 10³-10⁹ copies rDNA ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้นั้นมีค่า R² ที่ 0.987, amplification efficiency ที่ 105.5% และ slope ที่ -3.196 จำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Eubacteria* domain มีค่า 2.23 × 10⁸, 1.42 × 10¹⁰ และ 1.71 × 10⁸ copies rDNA g⁻¹VSS ตามลำดับ โดยผลที่ได้จำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Eubacteria* domain มีค่าสูงกว่าในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. ในขณะที่จำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. จากโรงงานแปรงไม้สำหรับล้างมีค่ามากกว่าแหล่งอื่นๆ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. ระหว่างแหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูกับโรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง จะพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. และ *Eubacteria* domain มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงคุณภาพของจุลินทรีย์หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB ร่วมกับปริมาณของจุลินทรีย์ หรือ จำนวนจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB ดังที่แสดงในตารางที่ 9 นั้นพบว่า แหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการเริ่มระบบการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เนื่องจากมีกิจกรรมและจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ SOB ที่มีค่าสูง

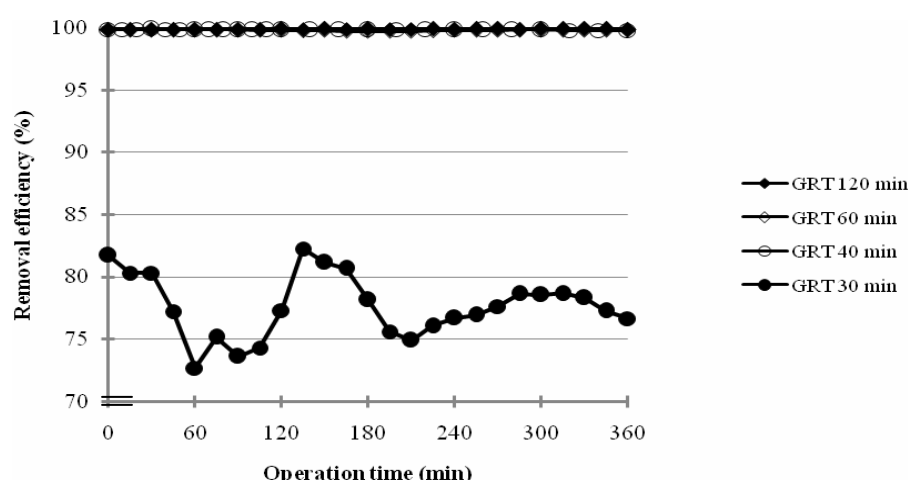
3.2 ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ของถังปฏิกรณ์

การทดลองได้ใช้ตะกอนเชื้อจุลินทรีย์จากฟาร์มหมูเป็นเชื้อเริ่มต้นในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยในถังปฏิกรณ์นั้นได้ใส่ตะกอนเชื้อลงไปแล้วทำการ recirculated เป็นระยะเวลา 15 วันโดยให้ผ่านวัสดุตัวกลางเพื่อเป็นการตรึงเชื้อจุลินทรีย์ ในการศึกษาประสิทธิภาพของถังปฏิกรณ์นั้น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ถูกป้อนเข้าสู่ระบบด้วยความเข้มข้นคงที่ที่ 3,000 ppmv โดยค่อยๆ เพิ่มอัตราการไหล ให้มีระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) ที่ 120, 60, 40 และ 30 นาที ที่อัตราการป้อนก๊าซซัลเฟอร์ (SLR) ที่ 2.06, 4.12, 6.19 and 8.25 g m⁻³ h⁻¹ ตามลำดับ ในขณะที่มีการดำเนินระบบ ประสิทธิภาพการ

กำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (RE), ความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (EC), ค่าความเป็นกรดต่าง (pH), ค่าของออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) และ metabolic products (ซัลไฟด์, ซัลเฟต และซัลเฟอร์) ได้มีการติดตามและวิเคราะห์

3.2.1 ประสิทธิภาพในการกำจัดและความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ดูจากร้อยละของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ถูกกำจัดไปด้วยถึงปฏิกิริยา (removal efficiency; RE) โดยค่าประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ของแต่ละการทดลองที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่ 120, 60, 40 และ 30 นาทีได้แสดงไว้รูปที่ 4 จะพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่ 120, 60 และ 40 นาทีมีค่ามากกว่าร้อยละ 99.8 ในขณะที่ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่ 30 นาทีนั้น พบว่ามีค่าน้อยกว่าร้อยละ 80 ที่สภาวะการเดินระบบต่อเนื่องที่ 360 นาที และที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาที พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดลดลงเนื่องมาจากระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่สั้น ส่งผลให้จุลินทรีย์มีเวลาในการที่จะสัมผัส (contact time) น้อย และทำให้จุลินทรีย์มีเวลาไม่เพียงพอในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้เต็มประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการกักเก็บก๊าซอื่นๆ ยิ่งไปกว่านั้นประสิทธิภาพของการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่คำนึงถึงปริมาณของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ถูกกำจัดต่อระยะเวลาต่อปริมาตรในส่วนของวัสดุตัวกลาง โดยความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (elimination capacity; EC) ในการศึกษาขึ้นอยู่กับ 2.06, 4.12, 6.18 และ 6.40 g H₂S m⁻³ h⁻¹ ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 120, 60, 40 และ 30 นาที ตามลำดับ เพื่อที่จะทราบถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซต่อประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ จึงใช้วิธีการทางสถิติของ Duncan วิเคราะห์ ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 10



รูปที่ 4 ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์แต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (RE) และความสามารถในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (EC) แต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT)

GRT (min)	SLR (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	RE (%)	EC (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)
120	2.06	99.88 ^a	2.06 ^a
60	4.13	99.82 ^a	4.12 ^b
40	6.19	99.81 ^a	6.18 ^c
30	8.25	77.37 ^b	6.40 ^d

จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Duncan analysis สามารถที่จะสรุปได้ว่าระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่สั้นที่สุดที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้อย่างสมบูรณ์ อยู่ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 40 นาที และผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 120, 60 และ 40 นาทีนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาที ประสิทธิภาพในการกำจัดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาที ประสิทธิภาพในการกำจัดมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 80 และมีความยากในการควบคุมสภาวะในการดำเนินระบบ เนื่องจากปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำจะถูกจำกัดด้วยปริมาณของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ สำหรับความสามารถในการกำจัดที่แสดงในตารางที่ 10 จะพบว่าเมื่อภาระซัลไฟด์ (SLR) สูงขึ้น ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) จะสั้นลง โดยที่ภาระซัลไฟด์สูงทำให้ถึงปฏิกรณ์มีความสามารถในการกำจัดได้สูงขึ้น ซึ่งที่ภาระซัลไฟด์ต่ำหรือระยะเวลาการกักเก็บก๊าซนาน ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบมีเวลานานในการสัมผัสกับไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดมีค่าสูง ในขณะที่ภาระซัลไฟด์สูงหรือระยะเวลาการกักเก็บก๊าซต่ำ ทำให้จุลินทรีย์มีเวลาในการที่จะสัมผัสกับไฮโดรเจนซัลไฟด์น้อย จึงไม่สามารถที่จะกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้อย่างสมบูรณ์จะเห็นได้จากค่าประสิทธิภาพในการกำจัดจะต่ำ เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ ความสามารถในการกำจัดและประสิทธิภาพในการกำจัดในการวิจัยนี้กับการวิจัยของคนอื่น สามารถสรุปได้ในตารางที่ 11 แม้ว่าความสามารถในการกำจัดกำจัดในการทดลองนี้จะมีต่ำกว่าแต่ในการศึกษานี้ระบบสามารถรับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีความเข้มข้นสูงกว่าการศึกษาอื่น

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบ ความสามารถในการกำจัดและประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในการศึกษานี้กับเอกสารอื่น

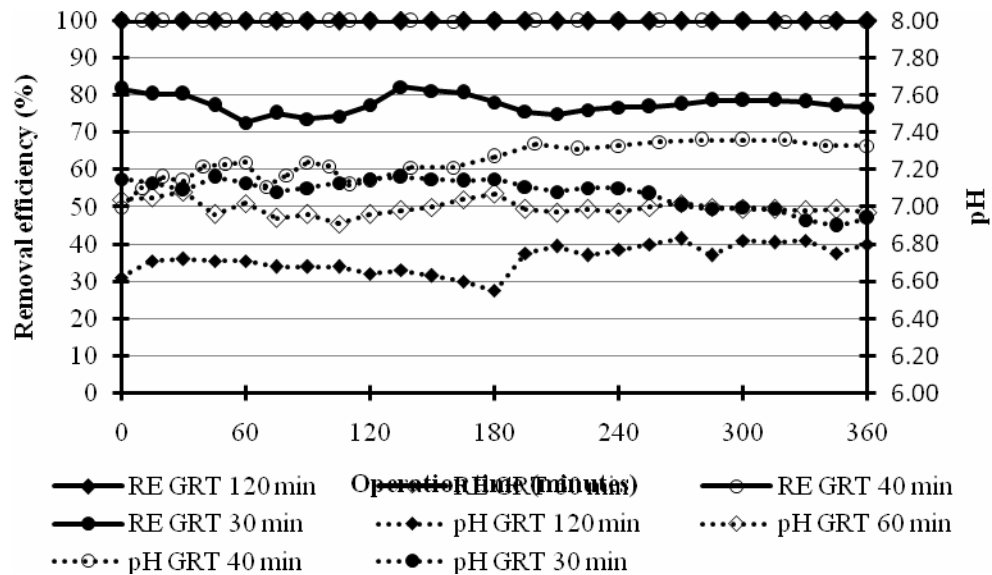
References of research study	[H ₂ S] (ppmv)	EC (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	RE (%)
Chung, et al. (1996)	1 - 60	25	70
Cox and Deshusses (2002)	50 - 170	20	70 - 80
Oyarzun, et al. (2003)	355	55	100
Malhautier, et al. (2003)	46 - 184	28	100
Jones, et al. (2004)	20 - 100	14	85
Chung, et al (2005)	27 - 220	6.6	100
Kim, et al. (2008)	10 - 130	8	99
Jiang, et al. (2009)	20 - 400	36	99
Ramirez, et al. (2009)	-	14.9	99.8
Farjah, et al. (2010)	10 - 80	31	90
This study	1500	6.18	99.8

3.2.2 สภาวะแวดล้อมภายในถังปฏิกรณ์ในระหว่างการดำเนินระบบ (Operating condition)

3.2.2.1 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

ในระหว่างการดำเนินระบบ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และค่าการละลายของออกซิเจน (DO) ในถังปฏิกรณ์ ได้มีการวัดและติดตามค่าอย่างต่อเนื่อง ในการทดลองนี้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างได้รักษาไว้ที่ประมาณ 7 เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตธาตุซัลเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์หลักสุดท้ายของจุลินทรีย์ในกลุ่ม SOB (Bosch, 2008) มี SOB หลายสายพันธุ์ เช่น *T. thioparus*, *T. dinitrificans*, *T. novellus* จะเจริญได้ดีในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ที่ 6-8 (Syed, et al., 2006) โดยในการที่ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างเหมาะสมในสภาวะการเจริญของ SOB เพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพให้กับถังปฏิกรณ์ในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างระหว่างที่มีการทดลองนั้นได้แสดงในรูปที่ 5 ซึ่งจะเห็นได้

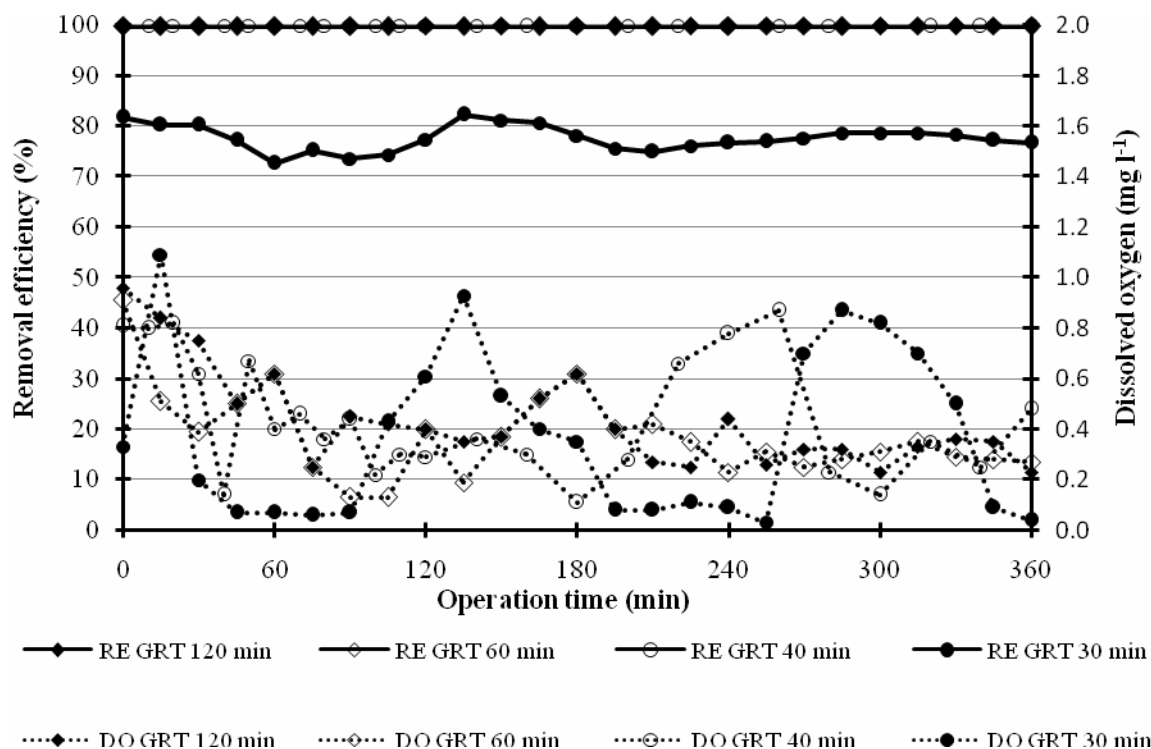
ว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเป็นด่างนั้นอยู่ในช่วง 6.6-7.6 ไม่ได้ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (RE) แม้ว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างจะมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งส่วนใหญ่มีค่าอยู่ที่ 7.0 ± 0.5 โดยจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงนี้แสดงว่าในระบบนั้นมีบัฟเฟอร์สูง (high buffering capacity) (Dumont, et al., 2008; Filho, et al., 2010) ความสามารถในการที่จะรักษาค่าความเป็นกรดเป็นด่างนั้นเป็นคุณสมบัติที่มีประโยชน์ในการที่จะรักษาและเพิ่มประสิทธิภาพให้กับถังปฏิกิริยาโดยทำให้มีความเหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกาะอยู่กับวัสดุตัวกลาง



รูปที่ 5 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ในระหว่างที่มีการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

3.2.2.2 ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen)

ค่าออกซิเจนละลายน้ำเป็นพารามิเตอร์ตัวหนึ่งที่ต้องพิจารณา โดยได้มีการวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำในส่วนของเหลวหรือในจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบ เนื่องจากว่าออกซิเจนเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการควบคุมการออกซิเดชัน (Potivichayanon et al, 2005) ซึ่งการออกซิเดชันของซัลไฟด์หลายชนิดไปเป็นซัลเฟอร์หรือซัลเฟตอันนั้นขึ้นอยู่กับระดับของออกซิเจน (Gonzalez, 2005) ในสภาวะที่ออกซิเจนจำกัด ไฮโดรเจนซัลไฟด์จะเปลี่ยนไปเป็นซัลเฟอร์ให้เป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่ซัลเฟตจะเกิดขึ้นเมื่อมีออกซิเจนที่มากเกินไปและเมื่อซัลไฟด์ถูกจำกัด (Syed, et al., 2006) เมื่ออัตราส่วนของออกซิเจนต่อซัลไฟด์มีค่าสูง ซัลเฟตจะถูกผลิตขึ้นเนื่องจากว่าจุลินทรีย์ต้องการพลังงานไปใช้ในการเจริญมากกว่าที่จะผลิตซัลเฟอร์ (Janssen, 1995) หากต้องการให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ต้องการเป็นซัลเฟอร์ ควรกำหนดให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำไม่เกิน 1.0 mg l^{-1} โดยในรูปที่ 6 แสดงค่าออกซิเจนละลายน้ำในระหว่างที่มีการดำเนินระบบ



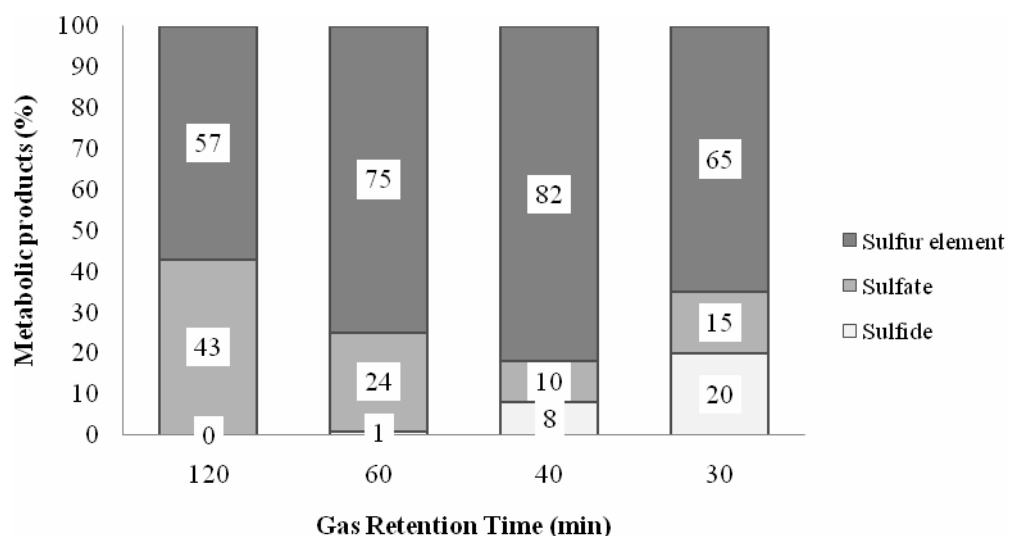
รูปที่ 6 ค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่างที่มีการดำเนินระบบในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์

จากรูปที่ 6 จะเห็นได้ว่าระดับของออกซิเจนที่ละลายน้ำจะลดลงจาก 1.1 ถึง 0.04 mg l^{-1} ซึ่งการลดลงของออกซิเจนที่ละลายน้ำนั้นอาจเนื่องมาจากการนำออกซิเจนไปใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยแบคทีเรียที่อยู่ในถังปฏิกรณ์หรือที่เกาะอยู่เป็นฟิล์มชีวภาพที่หนาขึ้นบริเวณผิวของวัสดุตัวกลาง (Devinny, et al., 1999; Potivichayanon, 2005) การควบคุมระดับของออกซิเจนที่ละลายน้ำให้คงที่ตามที่กำหนดด้วยอุปกรณ์ที่มีอยู่นั้นทำได้ยาก การเปลี่ยนแปลงของออกซิเจนที่ละลายน้ำนั้น ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60 และ 40 นาทีนั้นค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำนั้นจะอยู่ในช่วง 0.1 - 1.0 mg l^{-1} ในขณะที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาทีจะอยู่ที่ 0.03 ถึง 1.09 mg l^{-1} เมื่อออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าสูงกว่า 1 mg l^{-1} นั้นจะมีการป้อนก๊าซไนโตรเจนเข้าไปสู่ระบบเพื่อที่จะลดปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำ แต่เมื่อออกซิเจนที่ละลายน้ำในระบบต่ำที่สุดหรือเข้าใกล้ 0 mg l^{-1} ก็จะมีการป้อนก๊าซออกซิเจนเข้าสู่ระบบ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาที ค่าออกซิเจนละลายน้ำจะต่ำและสูงกว่าเมื่อเทียบกับระยะเวลาการกักเก็บก๊าซอื่นๆ เนื่องจากว่าที่อัตราการไหลที่สูงสุดที่ป้อนเข้าสู่ระบบ เมื่อออกซิเจนที่ละลายน้ำเข้าใกล้ 0 mg l^{-1} จะมีการป้อนก๊าซออกซิเจนเข้าสู่ระบบในระยะเวลาสั้นๆ โดยประสิทธิภาพการกำจัดที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ 30 นาทีก็มีความผันผวนเนื่องมาจากค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ ซึ่งเห็นได้ว่าเมื่อมีการป้อนออกซิเจนเข้าไปในระบบจะมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยทั่วไปแล้วเมื่อป้อนออกซิเจนเข้าสู่ระบบ ออกซิเจนจะเข้าไปเจือจางไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เข้าสู่ระบบจึงทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์สูงขึ้น โดยประสิทธิภาพในการกำจัดจะสูงขึ้นเมื่อปริมาณของออกซิเจนที่ป้อนเข้าสู่ระบบอยู่ในช่วงที่เหมาะสม จากผลการทดลองสามารถบอกได้ว่าเมื่อภาระซัลไฟด์สูงขึ้น ออกซิเจนละลายน้ำจึงถูกจุลินทรีย์ดึงไปใช้ในกระบวนการออกซิเดชันมากขึ้นซึ่งเป็นไปตามการศึกษาของ Burgess, et al. (2001) โดยได้รายงานว่ายอัตราส่วนของความเข้มข้นของออกซิเจนต่อไฮโดรเจนซัลไฟด์ควรอยู่ที่ $100:1 \text{ v/v}$

3.2.3 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (Metabolic products)

ในระหว่างที่มีการดำเนินระบบ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างและค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำในถังปฏิกรณ์จะมีการควบคุมอยู่ที่ 7.0 ± 0.5 และ $< 1.0 \text{ mg l}^{-1}$ ตามลำดับ โดยในการย่อยสลายไฮโดรเจนซัลไฟด์จะเกิดผลิตภัณฑ์เช่น ซัลไฟด์ ซัลเฟต

และซัลเฟอร์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะและจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบด้วย (Dumont, et al., 2008) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในระบบได้แสดงในรูปที่ 7 ในการศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในรูปของซัลเฟอร์ ซัลไฟด์ และซัลเฟต จากรูปที่ 7 ผลิตภัณฑ์ซัลไฟด์มีปริมาณน้อยที่สุดคือมีค่า 0, 1.29, 33.62 and 95.16 mg l⁻¹ หรือร้อยละ 0, 1, 8 and 19 ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาที ตามลำดับ ทั้งนี้ที่พบซัลไฟด์ในปริมาณต่ำ เนื่องจากเป็นรูปแบบที่ไม่คงตัวจึงสามารถที่จะถูกออกซิไดส์ได้ง่าย (Vannini, et al., 2008) ส่วนซัลเฟตที่เกิดขึ้นมีค่า 56.89, 61.32, 37.65 และ 67.59 mg l⁻¹ หรือร้อยละ 43, 24, 10 และ 13 ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาที ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้นซัลเฟอร์ที่พบในระบบมีค่าสูงที่สุด คือร้อยละ 57, 75, 82 และ 68 หรือ 75.17, 191.49, 330 และ 302.54 mg l⁻¹ ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาทีตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jansen, et al., (1995) ที่พบซัลเฟอร์ร้อยละ 60 – 80 เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ปริมาณของออกซิเจนที่จำกัดนั้นจะส่งผลให้การย่อยสลายซัลไฟด์กลายเป็นซัลเฟอร์มากกว่าที่จะเป็นซัลเฟต ในทางตรงกันข้ามจากการศึกษาของ Ramírez, et al. (2009) และ Chaiprapat, et al. (2010) นั้นได้ใช้ *Thiobacillus thioparus* ATCC 23645 และ *Alcaligenes faecalis* T307 ในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์และพบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่แล้วคือ ซัลเฟต ซึ่งจะเห็นได้ว่าซัลเฟอร์จะเกิดขึ้นมากที่สุดเมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม โดยค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำจะถูกควบคุมในระดับ 0.5 mg l⁻¹ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าที่อัตราการไหลสูงกว่าหรือระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่สั้น ไฮโดรเจนซัลไฟด์จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์อยู่ในส่วนของจุลินทรีย์แวนดอลย ยกตัวอย่างเช่น ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ GRT 40 นาที ผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นคือ ซัลเฟอร์ (ร้อยละ 82) ในขณะที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 30 นาที ผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นคือ ซัลเฟอร์ (ร้อยละ 65) และพบซัลไฟด์ในปริมาณมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 30 นาทีที่มีค่าผันผวนทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถที่จะย่อยสลายไฮโดรเจนซัลไฟด์ไปเป็นรูปแบบอื่นเนื่องจากระยะเวลาในการสัมผัสที่สั้นกว่า



รูปที่ 7 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการทดลอง

3.2.4 ผลของสภาวะในการดำเนินระบบต่อประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

ในตารางที่ 12 ได้แสดงให้เห็นถึงข้อมูลเกี่ยวกับถึงปฏิกรณ์ในแต่ละระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่ต่างๆ โดยจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60 และ 40 นาทีมีค่ามากกว่าร้อยละ 99.8 ในขณะที่ประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะน้อยกว่าร้อยละ 80 ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 30 นาที ส่วนสภาวะแวดล้อมในถังปฏิกรณ์ไม่ว่าค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ควบคุมการทำงานของจุลินทรีย์ SOB ในการย่อยสลายก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้เป็น metabolic products ตามที่ต้องการ คือ ซัลเฟอร์ (S⁰) จึงเป็นสิ่ง

สำคัญ ในส่วนการศึกษานี้การควบคุมค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) นั้นสามารถควบคุมให้อยู่ในช่วง 0.35-0.50 mg l⁻¹ และ 6.70-7.30 ตามลำดับ ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างที่มีการดำเนินระบบนั้นประกอบด้วย ซัลไฟด์ ซัลเฟต และซัลเฟอร์ โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 0-19, 10-43 และ 57-82 ตามลำดับ นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาทีคือ ซัลเฟอร์ร้อยละ 57, 75, 82 และ 65 ตามลำดับ ในส่วนของซัลเฟต จะพบอยู่ที่ร้อยละ 43, 24, 10 และ 15 นอกจากนี้ยังพบซัลไฟด์ร้อยละ 0, 1, 8 และ 20 ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาทีตามลำดับ จะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) ต่ำ ซัลไฟด์จะพบในระบบอยู่ในปริมาณสูง เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะละลายในส่วนของจุลินทรีย์แขวนลอยและเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ได้ง่ายกว่ารูปแบบอื่นๆ ดังนั้นที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซต่ำคือระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีเวลาสัมผัสกับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และการกำจัดก็จะน้อยไปด้วย โดยจะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) ที่ 40 นาทีในการศึกษานี้จะเป็นระยะเวลาการกักเก็บก๊าซที่เหมาะสมสำหรับการดำเนินระบบในถังปฏิกรณ์ เนื่องจากประสิทธิภาพการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (RE) ได้ร้อยละ 99.82 และความสามารถในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (EC) ได้ 6.18 g H₂S m⁻³ h⁻¹ นอกจากนี้ ในระบบนี้ยังไม่ต้องการป้อนออกซิเจนเข้าสู่ระบบสำหรับจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ ยิ่งไปกว่านั้นผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้น คือ ซัลเฟอร์ร้อยละ 82 ในขณะที่ซัลเฟตและซัลไฟด์เกิดขึ้นร้อยละ 10 และ 8 ตามลำดับ

ความสามารถหรือประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์รวมถึง metabolic products ที่เกิดขึ้น นอกจากขึ้นกับการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็น sulfate reducing bacteria (SOB) ทั้งในเรื่องจำนวนและกิจกรรมการทำงานของจุลินทรีย์แล้ว ยังต้องคำนึงระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) ภาวะการป้อนซัลไฟด์ (SLR) และการควบคุมสภาวะแวดล้อมภายในถังปฏิกรณ์ทั้งค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำและค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วย

ตารางที่ 12 ผลประสิทธิภาพของระบบและ metabolic products

GRT (min)	RE (%)	EC (g H ₂ S m ⁻³ h ⁻¹)	DO (mg l ⁻¹)	pH	HS ⁻ (%)	SO ₄ ²⁻ (%)	S ⁰ (%)
120	99.88	2.06	0.43	6.72	0	43	57
60	99.81	4.12	0.37	6.99	1	24	75
40	99.82	6.18	0.45	7.23	8	10	82
30	77.37	6.40	0.37	7.08	20	15	65

4. สรุป

ในการศึกษานี้ การวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์และเทคนิค real-time polymerase chain reaction (qPCR) ได้ถูกนำมาใช้ในการคัดเลือกแหล่งของจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในด้านของคุณภาพและปริมาณ โดยแหล่งเชื้อจากฟาร์มหมูได้แสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมของจุลินทรีย์และจำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Thiobacillus* sp. สูงกว่าแหล่งเชื้ออื่นๆ จึงใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นระบบในถังปฏิกรณ์ และมีการตรึงเชื้อจุลินทรีย์บนโพลีเอทิลีนซึ่งเป็นวัสดุตัวกลาง อีกทั้งยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของระบบ และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยสภาวะในการทดลองที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ มีภาวะซัลไฟด์ที่เข้าระบบ (SLR) ที่ 2.06, 4.13, 6.19 และ 8.25 g H₂S m⁻³ h⁻¹ ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60, 40 และ 30 นาทีตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการควบคุมค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) อยู่ที่ 7 และ < 1.0 mg l⁻¹ ซึ่งประสิทธิภาพของระบบในถังปฏิกรณ์ที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 120, 60 และ 40 นาที พบว่ามีประสิทธิภาพที่ดีในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มากกว่าร้อยละ 99 ในขณะที่ระยะเวลาการ

กักเก็บก๊าซ (GRT) 30 นาที ประสิทธิภาพในการกำจัดน้อยกว่าร้อยละ 80 ยิ่งไปกว่านั้นในระบบนี้มีความสามารถในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (EC) ซึ่งขึ้นอยู่กับภาระซัลไฟด์มีค่า 2.06, 4.12, 6.18 และ 6.40 g H₂S m⁻³ h⁻¹ ตามลำดับ นอกจากนี้ในระบบมีการควบคุม pH และ DO ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในเป็นหลักคือ ซัลเฟอร์ประมาณร้อยละ 57 – 82 ในส่วนของซัลเฟตประมาณร้อยละ 10 – 43 และซัลไฟด์ประมาณร้อยละ 0 – 19 จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บก๊าซ (GRT) 40 นาที เหมาะสมในการดำเนินระบบในถึงปฏิกรณ์เนื่องจากสามารถกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ถึงร้อยละ 99.82 และมีความสามารถในการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ถึง 6.18 g H₂S m⁻³ h⁻¹

5. เอกสารอ้างอิง

การไฟฟ้านครหลวง : การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2545 ,ระเบียบการรับซื้อไฟฟ้าจากผู้ผลิตไฟฟ้าพลังงานหมุนเวียนขนาดเล็กมาก.

โครงการที่ปรึกษาเพื่อประเมินผลโครงการส่งเสริมก๊าซชีวภาพจากมูลสัตว์เป็นพลังงานทดแทนและปรับปรุงสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

มรกด. ตันติเจริญ, 2537, เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง การบำบัดของเสียโดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศในประเทศไทย, 62 หน้า.

ปิยธิดา สนิทไชย, 2544, การประเมินผลกระทบของการปรับปรุงระบบบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตแป้งข้าว, วิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, การจัดการทรัพยากรชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ (สรบ.) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2543, รายงานฉบับสมบูรณ์

AD-Nett Project Farir-CT96-2083 (DG12-SSMI), 2000, Anaerobic Digestion of Agro-Industrial Waste: Information Networks, pp. 7-13.

Amann, R. I., Binder, B., Chisholm, S. W., Olsen, R., Devereux, R., and Stahl, D. A. 1996. Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Applied and Environmental Microbiology, Vol.56, pp. 1919-1925.

Burgess, J. E., Parsons, A. S. and Stuetz, R. M. 2001. Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology: a review. Biotechnology Advances, Vol.19, pp. 35-63.

Chaiyaprat, S., Mardthing, R., Kantachote, D. and Karnchanawong, S. 2010. Removal of hydrogen sulfide by complete aerobic oxidation in acidic biofiltration. Process Biochemistry, pp. 1-9.

Christon, JH., Guy, R.K., Micael, J.M., Lind, D.S. and Michael, V.W., 1997, Manual of Environmental Microbiology, pp.329.

Colls, J., 1997, Air pollution: an Introduction, London:E&FN Spon.

Constant, M., Naveau, H., Ferrero, G.-L., and Nyns, E.-J., 1981, Biogas End-Use in The European Community, pp. 18, 26-32.

Devinny, S. J., Deshusses, M.A. and Webster, T.S. 1999, Biofiltration for Air Pollution Control, CRC Press LLC, Boca Roton, p. 93.

- Dorak, M. T. 2006. Real-time PCR. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, pp. 1-37.
- Dumont, E., Andres, Y., Cloirec, P. and Gaudin, F. 2008. Evaluation of a New Packing Material for H₂S Removed by Biofiltration. *Biochemical Engineering*, pp. 120-127.
- Filho, J., Sader, L. T. M. Damianovic, H. Foresti, E. Silva. E. 2010. Performance Evaluation of Packing Materials in the Removal of Hydrogen Sulphide in Gas-Phase Biofilters: Polyurethane Foam, Sugarcane Bagasse, and Coconut Fiber. *Journal of Chemical Engineering*, Vol. 158, pp. 441–450.
- Gabriel, J.H., 1994, *Wastewater Microbiology*, Wiley Liss, Inc., pp 68.
- Gonzalez, S. A., Alcantara, S., Razoflores, E., Revah, S. 2005. Oxygen transfer and consumption in a thiosulfate oxidizing bioreactor with sulfur production. *Letter Application Microbiology*, Vol. 41, pp. 141-146.
- Janssen, A. J. H., Sleyster, R., Ka, C.V.D., Jochemsen, A., Bontsema, J., Lettinga, G. 1995. Biological sulfide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnology Bioengineering*, Vol. 47 No.3, pp. 327–333.
- Kawakami, S., Araki, N., Yamaguchi, T., Sumino, H., Takahashi, M., Yamazaki, S., Imachi, H., Ohashi, A. and Harada, H. 2005. Simultaneous Quantification of Sulfur-Oxidizing Bacteria and Sulfate-Reducing Bacteria by Multiplex Real-Time PCR. *Environmental Engineering Research*, Vol. 42, pp. 561-569.
- Klein, D. 2002. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. *TRENDS in Molecular Medicine*, Vol.8, No.6, pp. 257-260.
- Koe, L. C. C. and Yang, F., 2000, A Bioscrubber for Hydrogen Sulphide Removal, *Water Science and Technology*, Vol. 36, pp. 263-271.
- Kohl, A. and Neilsen, R., 1997, *Gas Purification*, Golf Publishing Company, Houston, Texas, 1395 p.
- Mamta, T. and Tamama, H.A., 1994, "Evaluation of Chemical to Control the Generation of Malodorous Hydrogen Sulfide in Wastewater," *Water Resource*, Vol. 29, No.12, pp. 2545-2552.
- Mhlanga, M. and Malmberg, L. 2001. Using Molecular Beacons to Detect Single-Nucleotide Polymorphisms with Real-Time PCR. *Elsevier Science. Method*, Vol. 25, pp. 463-471.
- Nishimura, S. and Yoda, M., 1997, Removal of Hydrogen Sulfide From An Anaerobic Biogas Using A Bio-Scrubber, *Water Science and Technology*, Vol. 41(6) , pp. 141-145.
- OSHA, 2003, Occupational Safety and Health Administration Hazardous Pollutants List. U.S. Department of Labor, Washington, D.C. www.OSHA.gov.
- Oliver, J.H., Jin, M.C., Li, H. and Robert, L.B., 1996, "Sulfate Reducing Bacteria", *Critical Review in Environmental Science and Technology*, Vol. 26, No.1, pp. 155-187.
- Pipatmanomai, S., Kaewluan, S. and Vitidsant, T. 2009. Economic assessment of biogas-to-electricity generation system with H₂S removal by activated carbon in small pig farm. *Applied Energy*, Vol. 86, pp. 669–674.
- Pfaffl, M. W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Oxford University Press. Nucleic Acid Research*, Vol. 29, No. 9, pp. 2001-2007.

- Potivichayanon, S., Pokethitiyook, P. and Kruatrachue, M. 2006. "Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system". Process Biochemistry, Vol. 41, pp. 708-715.
- Ramírez, M., Gómez, J. M., Aroca, G. and Cantero, D. 2009. Removal of hydrogen sulfide by immobilized *Thiobacillus thioparus* in a biotrickling filter packed with polyurethane foam. Bioresource Technology, Vol. 100, pp. 4989–4995.
- Rattanapan, C., Kantachote, D., Yan, R. and Boonsawang, P. 2010. Hydrogen sulfide removal using granular activated carbon biofiltration inoculated with *Alcaligenes faecalis* T307 isolated from concentrated latex wastewater. International Biodeterioration and Biodegradation, Vol. 64, pp. 383-387.
- Smet, E., Lens, P. and Van, H.L., 1998, "Treatment of waste Gases Contaminated with Odors Sulfur Compound," Critical Review in Environmental Science and Technology, Vol. 28, No.1, pp. 89-117.
- Tantunvate, M. 2003. A Handbook of analysis of water quality. Chulalongkorn University Press.
- Walsh, J.L., Ross, C.C., Smith, M.S. and Harper, S.R., 1989, Utilization of Biogas, Biomass, Vol. 20, pp. 277-290.
- Syed, M., Soreanu, G. and Beland, M. 2006. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes- A review. Canadian Biosystem Engineering. Vol.48. pp. 1-13.
- Vannini, C., Munz, G., Mori, G., Lubello, C., Verni, F. and Petroni, G. 2008. Sulphide oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor: performance and characterization of the selected microbial sulphur-oxidizing community. System Applied Microbiology, Vol. 31, pp. 461–473.
- Wellinger, A. and A. Linberg, 2002, Biogas Upgrading and Utilization-IEA Bioenergy Task 24. International Energy Association, Paris, France : 20 p.
- Whelan, J. A., Russell, N. B. and Whelan, M. A. 2003. Method for absolute quantification of cDNA using real-time PCR. Journal of Immunological Methods, Vol. 278, pp 261-269.
- Zicari, S., 2003, Removal of Hydrogen Sulfide from Biogas using Cow-Manure Compost, M.S. Thesis Presented to the Faculty of the graduate school. Cornell University, 120 p.

6. การผลิตนักศึกษา

นักศึกษานิเทศศาสตร์ 1 คน

7. สิ่งตีพิมพ์

Laokor, M., Techkarnjanaruk, S., and CHAIPRASERT, P. (2010), "Effective Screening of Seeding Sludge Sources for H₂S Removal in Biogas," International Conference Anaerobic Digestion Asia 2010, 11-12 November, Century Park Hotel, Bangkok, Thailand.

ลงชื่อ _____

(หัวหน้าโครงการ)

วันที่ _____