# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การหาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังด้วยสารกรดและสารด่าง และการหาผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกรดไขมันระเหยที่มีต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งการทดลองทั้งสองส่วนนี้ได้ทำการศึกษา ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และมีรายละเอียดดังนี้

## 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

### 3.1.1 กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลัง ได้จากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ห้างหุ้นส่วนธนวัฒน์พืชผล จังหวัดกำแพงเพชร เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ซึ่งมีลักษณะ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.1

**ตารางที่ 3.1** ลักษณะของกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการศึกษา (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

| พารามิเตอร์ | กากมันสำปะหลัง |
|---|---|
| พีเอช | 4.50±0.01 |
| ของแข็งรวมทั้งหมด (%TS) | 15.8±0.3 |
| ของแข็งระเหย (%VS) | 15.6±0.2 |
| ความชื้น (%) | 84.2±0.3 |

หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

**รูปที่ 3.1** ลักษณะกากมันสำปะหลัง

### 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา

สารกรดที่ใช้ในการศึกษา คือ สารละลายกรดซัลฟูริค ซึ่งใช้แบบ Commercial grade ของบริษัท คูสวัสดิ์ เคมิเคิล จำกัด และสารเคมีที่ใช้ในการไฮโดรไลซิสด้วยด่าง คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งใช้แบบ Commercial grade ของบริษัทยูเนี่ยนซายด์

### 3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

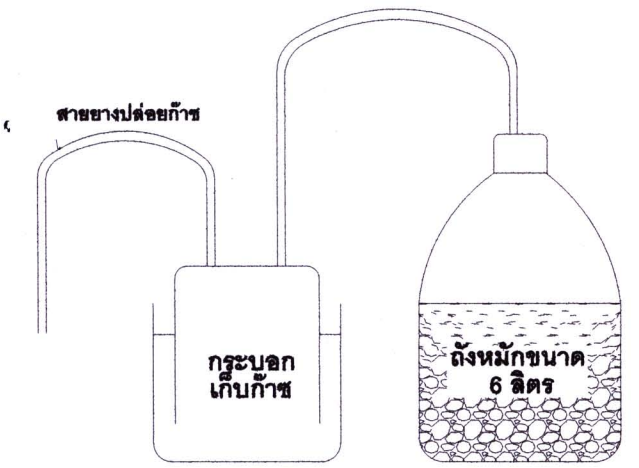
เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักย่อยกากมันสำปะหลังเตรียมโดยใช้ตะกอนจากถังยูเอเอสบีของระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศของฟาร์มสุกรขนาดกลาง ตำบลแม่ออน อำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีลักษณะดังตารางที่ 3.2 วิธีการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทำโดยการนำกากมันสำปะหลัง 2%TS มาหมักกับตะกอนในอัตราส่วน F/M = 0.5 เป็นเวลา 30 วัน โดยมีรายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

**ตารางที่ 3.2** ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา

| พารามิเตอร์ | เชื้อจุลินทรีย์ |
|---|---|
| พีเอช | 7.4 |
| ซีโอดี (มก./ล.) | 63,750 |
| ของแข็งทั้งหมด (มก./ล.) | 86,300 |
| ของแข็งระเหย (มก./ล.) | 57,821 |
| ของแข็งแขวนลอยระเหย (มก./ล.) | 57,090 |
| กรดไขมันระเหย (มก.$CH_3COOH$/ล.) | 155 |
| อัลคาไลนิตี้ (มก.$CaCo_3$/ล.) | 1,400 |

**3.1.4 อุปกรณ์ในการหมักเพื่อผลิตก๊าซ**

อุปกรณ์ในการหมักเพื่อผลิตก๊าซเป็นถังทำมาจากพลาสติกชนิดโพลิเอทิลีน เทอร์ฟะธาเลต (PET) แบบมีฝาปิด ปริมาตรใช้งานของถังเท่ากับ 6 ลิตร และ 1.5 ลิตร เจาะช่องต่อสายยางด้านบนฝาเข้ากับอุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซที่ได้จากการหมัก ในส่วนของอุปกรณ์วัดก๊าซชีวภาพ นั้น อาศัยหลักการแทนที่น้ำ โดยใช้กระบอกเก็บก๊าซเป็นกระบอกพลาสติกชนิดโพลิคาร์บอเนต ขนาด 0.5 ลิตร น้ำในถังเก็บก๊าซจะถูกปรับให้มีค่าพีเอชให้มีสภาพเป็นกรด ค่า pH ประมาณ 4 เพื่อป้องกันก๊าซชีวภาพละลายน้ำ ถังหมักไม่มีการกวนผสม




ก) แบบถังหมักทดลอง

ข) ถังหมักทดลองขนาด 6 ลิตร

ค) ขวดหมักทดลองขนาด 1.5 ลิตร

**รูปที่ 3.2** ภาชนะที่ใช้ในการหมัก

## 3.2 การหาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังด้วยสารกรดและสารด่าง

### 3.2.1 การออกแบบการทดลอง

การหาปัจจัยที่มีผลต่อการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังด้วยสารกรดและสารด่าง ทำโดยใช้การทดลองแบบแฟคทอเรียลสองระดับ(2-Level Factorial Design) ปัจจัยที่เลือกทำในการศึกษานี้ ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอชและเวลาในการทำปฏิกิริยา แสดงได้ดังตารางที่ 3.3 การทดลองได้ทำซ้ำที่จุดกึ่งกลาง (Center Point) จำนวน 3 ครั้งได้แผนการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.4 และตารางที่ 3.5 ซึ่งมีการทดลองทั้งหมด 22 การทดลอง

**ตารางที่ 3.3** ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่เลือกศึกษา

| ปัจจัย | ระดับ | | จุดกึ่งกลาง |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | |
| พีเอช สำหรับไฮโดรไลซิสด้วยสารกรด | 0 | 4 | 2 |
| พีเอช สำหรับไฮโดรไลซิสด้วยสารด่าง | 9 | 13 | 11 |
| อุณหภูมิ (°ซ) | 60 | 100 | 80 |
| เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (นาที) | 30 | 90 | 60 |

**ตารางที่ 3.4** การทดลองปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรด รวมทั้งหมด 11 การทดลอง

| Run number | Run order | pH | เวลาทำปฏิกิริยา (นาที) | อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 6 | 4 | 90 | 60 |
| 2 | 11 | 2 | 60 | 80 |
| 3 | 4 | 0 | 90 | 100 |
| 4 | 2 | 0 | 90 | 60 |
| 5 | 10 | 2 | 60 | 80 |
| 6 | 8 | 4 | 90 | 100 |
| 7 | 3 | 0 | 30 | 100 |
| 8 | 1 | 0 | 30 | 60 |
| 9 | 7 | 4 | 30 | 100 |
| 10 | 9 | 2 | 60 | 80 |
| 11 | 5 | 4 | 30 | 60 |

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

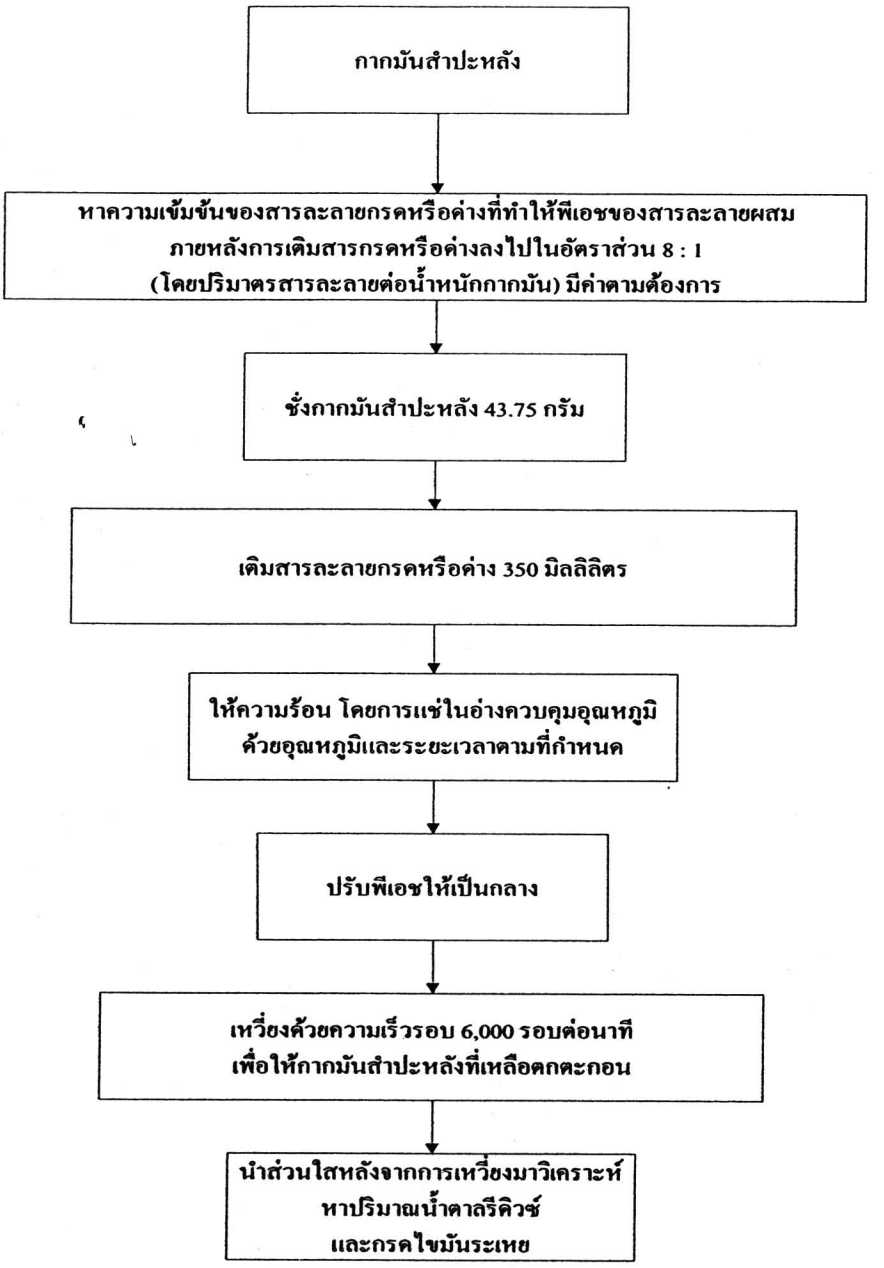
**ตารางที่ 3.5** การทดลองปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยด่าง รวมทั้งหมด 11 การทดลอง

| Run number | Run order | pH | เวลาทำปฏิกิริยา (นาที) | อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 6 | 13 | 90 | 60 |
| 2 | 11 | 11 | 60 | 80 |
| 3 | 4 | 9 | 90 | 100 |
| 4 | 2 | 9 | 90 | 60 |
| 5 | 10 | 11 | 60 | 80 |
| 6 | 8 | 13 | 90 | 100 |
| 7 | 3 | 9 | 30 | 100 |
| 8 | 1 | 9 | 30 | 60 |
| 9 | 7 | 13 | 30 | 100 |
| 10 | 9 | 11 | 60 | 80 |
| 11 | 5 | 13 | 30 | 60 |

**3.2.2 ขั้นตอนการทดลอง**

ขั้นตอนการหาปัจจัยที่มีผลต่อการการไฮโดรไลซิสกากมันสำปะหลังด้วยสารกรดและสารด่าง แสดงดังรูปที่ 3.3 ซึ่งการทดลองแต่ละครั้ง เริ่มต้นจากการหาความเข้มข้นของสารละลายกรดหรือด่างที่ทำให้พีเอชของสารละลายผสมภายหลังการเติมมีค่าตามต้องการ โดยการเติมสารละลายกรดหรือด่างที่ความเข้มข้นหนึ่งเรื่อยๆ จนกว่าจะได้ค่าพีเอชที่ต้องการ จดปริมาตรสารละลายที่เติม จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นที่ต้องการเพื่อให้ได้อัตราส่วนการเติมสารละลายกรดหรือด่างต่อกากมันสำปะหลัง เท่ากับ 8 : 1 โดยปริมาตรสารละลายต่อน้ำหนักกากมันสำปะหลัง จากนั้นเริ่มการทดลองโดยชั่งกากมัน 43.75 กรัม มาผสมกับสารละลายกรดหรือด่าง (ที่มีความเข้มข้นในระดับที่ทำให้พีเอชของสารละลายผสมมีค่าตามต้องการ) 350 มิลลิลิตร ได้สารละลายกากมัน 394 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิเท่ากับที่ต้องการศึกษา เป็นระยะเวลาตามที่กำหนดเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จากนั้นทำการปรับพีเอชให้เป็นกลางเพื่อยุติปฏิกิริยา ในการปรับพีเอชจะต้องเติมสารละลายกรดหรือด่างในปริมาณที่ไม่ทำให้ปริมาตรสารละลายผสมเปลี่ยนแปลง ±10% ของปริมาตรทั้งหมด นำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกตะกอนออก ทำการเก็บตัวอย่างสารละลายใส แล้วนำไปตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอนเอส

(Dinitrosalicylic Colorimetric Method)(Miller, G.L, 1959) แสดงไว้ในภาคผนวก ข และกรดไขมันระเหย ด้วยวิธีมาตรฐานของ APHA, 2005




**รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการทดลองเพื่อหาผลของปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดน้ำตาลรีดิวซ์และกรดไขมันระเหย**

**3.3 การหาผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกรดไขมันระเหยที่มีต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ**

ในการศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และกรดไขมันระเหยที่มีต่อประสิทธิภาพของการผลิตก๊าซชีวภาพ ได้ทำการเลือกสภาวะการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ทำให้เกิดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากน้อยต่างกัน 6 ค่า จากผลการทดลองในหัวข้อ 3.2 เพื่อนำไปทดลองหมักก๊าซ ด้วยการการเดินระบบการหมักแบบทีละเท

**3.3.1 สภาวะการเดินระบบที่เลือกทำการศึกษา**

สภาวะที่เลือกทำการศึกษา 6 สภาวะ แสดงไว้ในตารางที่ 3.6

**ตารางที่ 3.6** สภาวะการไฮโดรไลซิสที่เลือกมาศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ

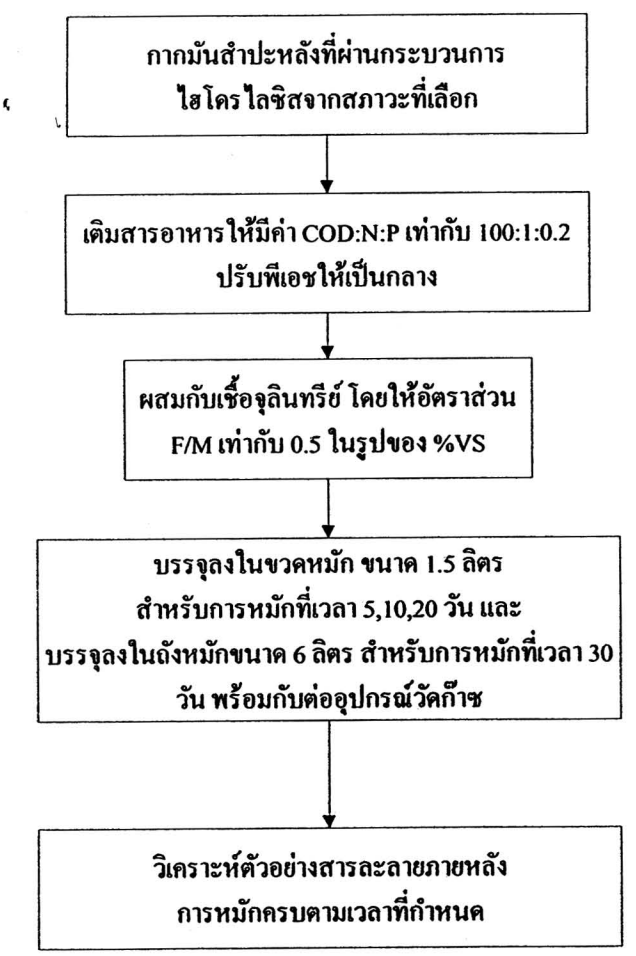
| สภาวะที่ | พีเอช | อุณหภูมิ °ซ | เวลา นาที | น้ำตาลรีดิวซ์ มก.กลูโคส/ก* | กรดไขมันระเหย มก.อะซิติก/ก* |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 100 | 90 | 914 | 64.1 |
| 2 | 2 | 80 | 60 | 18.1 | 25.4 |
| 3 | 4 | 60 | 30 | 12.3 | 12.0 |
| 4 | 9 | 100 | 90 | 18.8 | 12.3 |
| 5 | 11 | 80 | 60 | 11.4 | 21.6 |
| 6 | 13 | 100 | 90 | 14.6 | 62.4 |
| ควบคุม | | | | 6.39 | 4.02 |

* น้ำหนักกากแห้ง

**3.3.2 ขั้นตอนการเดินระบบ**

การดำเนินการที่แต่ละสภาวะมีขั้นตอน ดังรูปที่ 3.4 ซึ่งเริ่มจากการนำสารละลายกากมันที่ผ่านกระบวนการไฮโดรซิสด้วยสารกรดหรือสารด่างตามสภาวะที่เลือกภายหลังครบกำหนดเวลาทำปฏิกิริยาแล้ว ทำการเติมยูเรียและไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เพื่อเป็นสารอาหาร ในปริมาณที่ทำให้อัตราส่วน COD : N : P เท่ากับ 100 : 1.1 : 0.2 แล้วปรับพีเอชให้เป็นกลาง ผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วนของแข็งระเหยเป็น 0.5 ต่อ 1 ทำการบรรจุสารละลายในขวดหมัก ไล่อากาศด้วยก๊าซไนโตรเจนนาน 3 นาทีก่อนปิดขวดให้สนิท ทำการหมักเป็นเวลา 5, 10, 20 และ 30

วัน สำหรับการหมัก 5, 10 และ 20 วันใช้ขวดหมักขนาด 1.5 ลิตร โดยไม่มีการวัดปริมาณก๊าซ ส่วนการหมัก 30 วัน ใช้ขวดขนาด 6 ลิตรที่ต่อเข้ากับอุปกรณ์วัดก๊าซ เพื่อทำการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทุกวัน สำหรับสภาวะควบคุมคือสภาวะการหมักกากมันสำปะหลังที่ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 8:1 โดยไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาใดๆก่อนการหมัก แต่มีการเติมสารอาหารและปรับพีเอชให้เป็นกลาง และเติมเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วนที่เหมือนกับสภาวะอื่นๆ




**รูปที่ 3.4** ขั้นตอนการหมักกากมันสำปะหลัง

เมื่อทำการหมักครบตามเวลาที่กำหนด ได้ทำการเก็บตัวอย่างสารละลาย และนำไปตรวจวัดซีโอดี พีเอช ของแข็งรวม ของแข็งระเหย อัลคาไลนิตี้และกรดไขมันระเหย ตามวิธี

มาตรฐานของ APHA,(2005) โดยมีรายละเอียดของความถี่ในการเก็บตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 3.7

การทดลองทั้งหมดนี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับสภาวะควบคุม ซึ่งใช้กากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส มาปรับพีเอชให้เป็นกลางและเติมสารละลายอาหารแล้วหมักกับเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วนที่เท่ากัน

ในการเก็บตัวอย่างสำหรับการหมัก 5, 10 และ 20 วัน จะระบายก๊าซทิ้งไป สำหรับการหมัก 30 วัน ทำการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทุกวันจนครบ 30 วัน แล้วทำการเก็บตัวอย่างก๊าซเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซ

**ตารางที่ 3.7** ความถี่ในการเก็บตัวอย่างและวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

| พารามิเตอร์ | วิธีวิเคราะห์ | ช่วงเวลาการหมัก (วัน) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 5 | 10 | 20 | 30 |
| น้ำตาลรีดิวซ์ | วิธีดี เอ็น เอส | √ | | | | |
| ของแข็งทั้งหมด | วิธีชั่งน้ำหนัก | √ | √ | √ | √ | √ |
| ของแข็งระเหย | วิธีชั่งน้ำหนัก | √ | √ | √ | √ | √ |
| พีเอช | เครื่องวัดพีเอช | √ | √ | √ | √ | √ |
| กรดไขมันระเหย | วิธีกลั่น | √ | √ | √ | √ | √ |
| อัลคาไลนิตี้ | วิธีไทเทรต | √ | √ | √ | √ | √ |
| ซีโอดี | วิธีออกซิไดซ์ด้วยสารเคมี | √ | √ | √ | √ | √ |
| องค์ประกอบของก๊าซ | วิธีแยกองค์ประกอบของก๊าซ | | | | | √ |