

Prince of Songkla University  
Pattani Campus

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

## วิธีวิเคราะห์

## 1) การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

## ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ปีกเกอร์ขนาด 50 ml
- 2.) เครื่องวัด pH
- 3.) สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7
- 4.) สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.1

## ข. วิธีการวิเคราะห์

การทดลองวัดค่าตัวอย่างต้องมีการ calibrate เครื่องวัด pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 และ 4.1 ตามลำดับ เพื่อความน่าเชื่อถือของค่าที่ได้จากการวัด

ตัวอย่างสารละลาย นำสารละลายตัวอย่างใส่ปีกเกอร์ 25 ml และวัด pH ด้วยเครื่องวัด pH และอ่านค่า หากตัวอย่างเป็นของแข็งให้ชั่งตัวอย่างที่ต้องการ 5 g ลงในปีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป 25 ml คนตัวอย่างจนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ปล่อยให้ตัวอย่างตกตะกอนแล้วจึงนำไปวัดค่า pH ได้

## 2) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณของแข็งระเหยได้ และปริมาณเถ้า

## ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ครุชีเปิล
- 2.) ตู้อบ
- 3.) เดซิเคเตอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เตาเผา
- 6.) ปีเปต
- 7.) ซ้อนตักสาร

## ข. วิธีการวิเคราะห์

นำครุชีเปิลอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105°C เพื่อไล่ความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ตั้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (A) ปีเปตตัวอย่างน้ำเสีย 10 ml ใส่ในครุชีเปิลชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (B) กรณีสตัวอย่างสาหร่ายจะถูกตัดด้วยซ้อนตักสาร ตักตัวอย่างแล้วนำไปชั่งที่ 10 g ทำการไล่ความชื้นออกจากตัวอย่าง โดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนมีน้ำหนักที่คงที่ วางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก (C) จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550±50°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงเพื่อระเหยสารอินทรีย์ออก เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างออกจากเตาเผา วางทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักหลังเผา (D)

การคำนวณ

$$\text{Total Solid (\%)} = \frac{(C - A) \times 100}{B - A}$$

$$\text{Volatile Solid (\%)} = \frac{(B - D) \times 100}{B - A}$$

$$\text{Ash (\%)} = \frac{(D - A) \times 100}{B - A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของครุชชีเบล (g)  
 B = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างก่อนอบ (g)  
 C = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างหลังอบ (g)  
 D = น้ำหนักของครุชชีเบล รวมกับตัวอย่างหลังเผา (g)

### 3) วิธีการวิเคราะห์ซีโอดี (Chemical Oxygen demand: COD)

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณความต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย การย่อยวิธีนี้จะแตกต่างกับการย่อยแบบบีโอดีคือในการวิเคราะห์บีโอดี ตัวที่จะเป็นตัวย่อยของเสียหรือสารอินทรีย์ในน้ำคือ แบคทีเรีย แต่ในการวิเคราะห์ซีโอดีตัวที่จะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์คือ สารเคมี ซึ่งสารอินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ โพลีเอทิลีน ไทโครเมต เป็นสารออกซิไดซ์ซึ่งเอเจนต์ มีอำนาจในการออกซิไดซ์สูง การเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น เพื่อให้สารละลายมีสภาพเป็นกรดและช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ ที่อุณหภูมิสูงภายในภาชนะที่ป้องกันการระเหยออกของไอได้

#### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

##### อุปกรณ์เครื่องแก้ว

- 1.) หลอดทดลองพร้อมฝาเกลียวขนาด 15 mL
- 2.) ตู้อบ
- 3.) ปีกเกอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เต้าเผา
- 6.) บีเปต
- 7.) ซ้อนตักสาร
- 8.) ขวดน้ำกลั่น
- 9.) ขวดปรับปริมาตร
- 10.) ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL
- 11.) บิวเรต

### สารเคมีและการเตรียม

1) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.1 N โดยอบแห้งโพแทสเซียมไดโครเมตที่อุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาวางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งสาร 4.93 g ละลายในน้ำกลั่น และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 mL และ เมอคิวริ์ซัลเฟต 33.33 g ปรับปริมาตร 1L ด้วยน้ำกลั่น

2) กรดซัลฟิวริกเข้มข้น เติมซิลเวอร์ซัลเฟต ลงไป 22 กรัม ต่อกรดซัลฟิวริก 2.65 ลิตร การเติมซิลเวอร์ซัลเฟต เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

3) ละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ ละลาย 1,10- ฟีนานโทรีน-โมโนไฮเดรต 1.485 g และไอร์ออน (II) ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.695 g

4) สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต เตรียมชั่งโดยผลึกแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต 19.6 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 mL คนให้สารละลาย รอให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

สารละลายนี้จะต้องหาค่ามาตรฐานทุกครั้งที่ใช้ดังนี้

นำสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.01 ปริมาตร 5 mL เจือจางด้วยน้ำกลั่นประมาณ 50 mL เติมกรดซัลฟิวริก 15 mL ทิ้งไว้ให้เย็นในที่มืด 5 นาที หยดสารละลายเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวแกมฟ้าไปเป็นสีน้ำตาลแดงเป็นจุดยุติ

คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟตได้ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต (N)} = \frac{(0.1) (5)}{\text{ปริมาณของสารละลายแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟตที่ใช้}}$$

### ข. วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางให้อยู่ในช่วงที่จะวิเคราะห์ COD ลงไป 5 mL ในหลอดทดลองขนาด 15 mL

2. ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 0.1 N ปริมาตร 3 mL

3. ปิเปตตัวอย่างน้ำที่ใส่ลงไป 20 mL (หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจาง) การทำแบลนด์ทำไปพร้อม ๆ กับน้ำตัวอย่าง โดยใช้สารเคมีเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แตกต่างตรงที่ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง

4. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งมีซิลเวอร์ซัลเฟตอยู่ ปิเปตลงไป 7 mL

7. อบที่ความร้อน 150°C ติดต่อกันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วางไว้ให้เย็นเทสารละลายลงในขวดรูปชมพู่

8. หยดเฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ลง 2-3 หยดลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์สซัลเฟต สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเขียวแกมฟ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

การคำนวณ

$$\text{COD ( mg/L)} = \frac{(a-b) (N) (8000)}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

เมื่อ a =mL ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟตที่ใช้กับแบลงค์

b = mL ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่าง

c = ความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียเพอร์ซัลเฟต 0.1 N

#### 4) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และแอมโมเนียไนโตรเจน (วิธี Kjeldahl)

##### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1.) ครุชีเบิล
- 2.) ตู้อบ
- 3.) เดซิเคเตอร์
- 4.) เครื่องชั่ง
- 5.) เต้าเผา
- 3.) ปีเปต
- 4.) ซ้อนตักสาร

##### ข. วิธีการวิเคราะห์

###### ตอนที่ 1 การย่อย

เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนในสารตัวอย่างให้เป็นเกลือไนโตรเจนของแอมโมเนีย โดยนำกากข้าวโพดปริมาณ 0.1 กรัม ลงในขวด Kjeldahl พร้อมกับ boiling chip 2-3 ชิ้น เติม Digestion reagent ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องย่อย ตั้งอุณหภูมิในการย่อยสลาย 375°C ย่อยใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมงย่อยจนได้สารละลายใส จากนั้นย่อยต่อไปอีก 20-30 นาที (ถ้ายังไม่ใสให้เติม Digestion reagent ลงไปอีก 50 มิลลิลิตร) แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

###### ตอนที่ 2 การกลั่น

เมื่อสารตัวอย่างถูกเปลี่ยนสภาพเป็นเกลือไนโตรเจนของแอมโมเนียด้วยการย่อยทั้งหมดแล้ว ตั้งสารละลายทิ้งให้เย็น และทำให้สารละลายเป็นด่าง โดยการเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลาย Phenolphthlein ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์- โซเดียมไทโอซัลเฟต 50 มิลลิลิตร ใน Digestion tube สารละลายถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สแอมโมเนียที่สามารถระเหยได้ เมื่อทำการกลั่นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สแอมโมเนียที่ถูกกลั่นออกมาเป็นไอจะผ่านตัวควบแน่นแล้วถูกจับด้วย 2%  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ที่ผสมด้วย Mixed indicator โดยสารละลายที่ได้เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีเขียวแล้วทำการไทเทรตต่อไป

###### ตอนที่3 การไทเทรต

นำสารที่กลั่นได้จากตอนที่ 2 ไปทำการไทเทรตด้วย  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น 0.01 mol/L จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีชมพู

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (mg/g),(mg/L)} = \frac{(A-B) \times C \times 2800}{\text{mg ตัวอย่าง หรือ mL ตัวอย่าง}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ใช้ในตัวอย่าง (mL)

B = ปริมาตรของ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ที่ใช้ในแบลงค์ (mL)

C = ความเข้มข้นของ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (mol/L) ที่ใช้ในการไทเทรต

ส่วนของแอมโมเนียไนโตรเจนมีวิธีการทดลองและการคำนวณเดียวกันกับการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด แต่ไม่ต้องมีทำกระบวนการย่อย เต็มสารรีเอเจนต์แล้วสามารถสกัดได้เลย

### 5) วิเคราะห์ Oil and grease วิธีการ (Soxhlet method)

ปรับสภาพตัวอย่างที่เป็นของเหลวให้เป็นกรด (pH น้อยกว่า 2-1) เพื่อให้ไขมันและน้ำมันแตกตัวจากน้ำและทำให้แยกจากการกรอง นำมาสกัดด้วยเครื่องมือสกัดซอกซ์เลต โดยใช้เฮกเซนหรือฟริออนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำไประเหยให้เหลือแต่น้ำมันที่ละลายผสมอยู่ ชั่งน้ำหนักที่เหลือ ซึ่งเป็นปริมาณไขมันและน้ำมันในตัวอย่าง

#### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) ชุดสกัดซอกซ์เลต
- 2) เครื่องดูดสุญญากาศ
- 3) กรวยบुकเนอร์
- 4) เครื่องอังน้ำ
- 5) ขวดสกัด
- 6) เครื่องชั่งละเอียด
- 7) ตู้อบ
- 8) กระดาษกรองเบอร์ 40 ขนาด 7 cm
- 9) เอกซ์แทรคชันทิมเบล
- 10) ลูกแก้ว
- 11) กรดซัลฟิวริก หรือไฮดรคลอริก
- 12) เฮกเซน

#### ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 1 L แล้วปรับ pH ด้วยกรดซัลฟิวริก (ใช้ประมาณ 5mL)
- 2) กรองด้วยกระดาษกรองในกรวยบुकเนอร์แล้วเทสารแขวนลอย โดยใช้เครื่องสุญญากาศดูดน้ำออก ล้างกรดออกด้วยน้ำกลั่นประมาณ 1 L ดูดน้ำออกจนแห้ง
- 3) ใช้ครีมีคิบกระดาษกรองนำไปใส่ในทิมเบล ใช้สำลีชุบเฮกเซน เช็ดไขมันที่ติดอยู่ให้หมดแล้วใส่ลงในทิมเบลด้วย

4) นำทิมเบลไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 30 นาที ใส่เม็ดแก้วให้เต็มทิมเบล ชั่งน้ำหนักขวดที่ใช้สกัดซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่

5) นำทิมเบลใส่ชุดชอกเลตส์ แล้วสกัดด้วยเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย 20 รอบต่อชั่วโมง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 85°C

6) กลับเฮกเซนจากขวดสกัดออกจนแห้งในเครื่องอังน้ำที่สามารถนำเฮกเซนกลับไปใช้ได้ใหม่อีก ปล่อยขวดสกัดให้เย็นในโถทำแห้ง 30 นาที แล้วนำชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ไขมันและน้ำมัน (mg/L)} = \frac{(B-A) \times 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

A=ขวดเปล่า

B=ขวดและตัวอย่าง

#### 6) Alkalinity (วิธีโพเทนทีโอเมตริก)

การใช้วิธีโพเทนทีโอเมตริกมีหลักการหาค่าอัลคาไลด์ด้วยวิธีการใช้อินดิเคเตอร์ แต่การใช้วิธีโพเทนทีโอเมตริกด้วยการวัดด้วย pH ในการแสดงผลแทนสีจากจุดยุติ ของจุดสมมูลที่ได้จากการไตเตรตแทน

#### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

1) เครื่องวัด pH

2) เครื่องกวนแม่เหล็ก

3) ปิเปต

4) ปีกเกอร์

5) บิวเรต

6)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.02 N

#### ข. วิธีวิเคราะห์

1) ปิเปตตัวอย่างน้ำเสีย ที่ไม่มีการกรองและเจือจางใด ๆ 50 mL ลงในปีกเกอร์

2) จุ่มอิเล็กโตรดลงในปีกเกอร์วัด pH

3) จากนั้นไตเตรตด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.02 N ทำการไตเตรตตัวอย่าง

จนกระทั่ง pH ลดลงถึง 4.3 จดปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรต แต่ถ้าหาก pH ของสารละลายตัวอย่างต่ำกว่า 4.3 ไม่มีค่าสภาพต่าง

การคำนวณ

$$\text{สภาพต่างทั้งหมด} = \frac{(\text{ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรต}) (N) (50,000)}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

## 7) Total phenolic content

### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 2) หลอดทดลอง
- 3) ปีกเกอร์
- 4) ปิเปต
- 5) Folin-Ciocalteu's phenol
- 6) 7% NaCO<sub>3</sub>
- 7) กรดแกลลิก

### ข. วิธีวิเคราะห์

- 1) ปิเปตตัวอย่าง 0.25 mL ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 mL โดยสารละลายตัวอย่างจะต้องเจือจางให้อยู่ในปริมาณความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 2) ปิเปตน้ำกลั่น 3 mL ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายตัวอย่างอยู่
- 3) เติม Folin-Ciocalteu's phenol ลงในหลอดทดลองตัวอย่าง ปริมาณ 0.25 mL
- 4) เติม 7% NaCO<sub>3</sub> 2.5 mL ลงในหลอดทดลอง จากนั้นผสมทั้งหมดให้เข้ากันอย่างดี
- 5) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จึงนำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 6) สารละลายมาตรฐานที่ใช้เป็นกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นการเส้นตรงเป็นข้อมูลจากค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในการคำนวณความเข้มข้นในการคำนวณความเข้มข้นในตัวอย่างจากค่าการดูดกลืนแสงต่อไป

## 8) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate content)

จากการศึกษาเพื่อทราบปริมาณขององค์ประกอบหลักของพืชสำหรับเป็นอาหารเพื่อป้อนเข้าสู่กระบวนการหมักจะต้องมีการหาองค์ประกอบต่าง ๆ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่สำคัญคือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งสามารถคำนวณได้จากการหักลบองค์ประกอบต่าง ๆ ที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตออกไป

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด} = 100 - (\text{ความชื้น} + \text{ไขมัน} + \text{โปรตีน} + \text{เถ้า} + \text{ฟีนอลิก})$$

## 9) Sulfate content

### ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี

- 1) Sulfate cell test
  - หลอดทดลองพร้อมน้ำยาสำหรับทำปฏิกิริยา
  - ผงแบเรียมไอออนสำหรับทำปฏิกิริยากับซัลเฟต (reagent SO<sub>4</sub> -1K)
- 2) เครื่องวัดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์รุ่น ฟาโร 300



3) เครื่องผสมสารในหลอดทดลอง (Vortex รุ่น Genie 2)

**ข. วิธีวิเคราะห์**

1) นำสารละลายตัวอย่างที่มีการเจือจางเพื่อให้ปริมาณความเข้มข้นของซัลเฟตอยู่ในช่วง 500 mg/L  $\text{SO}_4^{2-}$  โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างลงในหลอดทดลอง 2 mL ที่มีสารเคมีสำหรับทำปฏิกิริยาจากชุดทดลอง

2) ตักผงแบเรียมไอออน (reagent  $\text{SO}_4^{-1}\text{K}$ ) ลงในหลอดทดลองปริมาณ 1 ซ้อนของชุดทดลอง

3) จากนั้นปิดฝาหลอดให้แน่นแล้วเขย่าให้สารละลายและตะกอนทั้งหมดผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารในหลอดทดลอง

4) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น ฟาโร 300 เครื่องจะทำการเรียกข้อมูลและดำเนินการตรวจวัดตามข้อมูลที่ถูกระบุจากการจากบาร์โคดของหลอดทดลองและได้ค่าความเข้มข้นของซัลเฟตออกมาในหน่วย mg/L

10) การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereo Microscope)

**ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี**

- 1) จานใส่ตัวอย่าง
- 2) ที่คีบ
- 3) น้ำกลั่น
- 4) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ
- 5) คอมพิวเตอร์สำหรับแสดงภาพและบันทึกภาพถ่าย

**ข. วิธีวิเคราะห์**

- 1) คีบตัวอย่างที่ต้องการใส่ลงในจานสำหรับใส่ตัวอย่าง โดยเทน้ำกลั่นลงไปใ้ในภาควัตถุตัวอย่างให้ท่วมตัวอย่าง
- 2) นำภาควัตถุตัวอย่างไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอแบบใช้แสง ที่ขนาดขยายต่าง ๆ ด้วยการปรับกำลังขยายและเลนส์โฟกัสตามที่ต้องการ และเลื่อนภาควัตถุตัวอย่างเพื่อหาบริเวณตัวอย่างที่ต้องการสังเกตเพื่อศึกษาและบันทึกภาพถ่ายไว้ ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

11) การวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยง่าย

ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography รุ่น HP 1100, Hewlett-Packard

**ก. อุปกรณ์เครื่องแก้วและสารเคมี**

1. เครื่อง HPLC ที่ประกอบด้วย คอลัมน์ รุ่น Pinnacle II C18 และ UV Detector
2. ชุดกรอง Mobile Phase
3. Ultrasonic bath
4. ขวดใส่ Solvent ขนาด 1
5. ขวดวัดปริมาตร
6. ไมโครปิเปต

7. เมมเบรน ขนาด 0.25  $\mu\text{m}$
8. Syringe พลาสติก ขนาด 1 mL
9. หลอดหยด
10. ซ้อนตักสาร
11. 2.5 mM กรดซัลฟิวริก
12. Methanol (HPLC grade)
13. Deionized water
14. กรดแลคติก อะซิติก บิวทิริก และ โพรพิโอนิกทำเป็นสารมาตรฐานผสม

#### ข. วิธีวิเคราะห์

Condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารละลายตัวพา : 2.5 mM  $\text{H}_2\text{SO}_4$

อัตราการไหล : 0.60 mL/min

ปริมาตรที่ฉีดเข้าคอลัมน์ : 10  $\mu\text{L}$

ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด : 210 nm

ก่อนหน้านี้เป็นการหา VFA ที่ง่ายโดยการไตเตรตแต่ไม่สามารถวิเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ของกรดได้ แต่การวิเคราะห์โดยวิธีนี้สามารถที่จะบอกได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ ซึ่งก่อนทำการทดลองด้วยเครื่อง HPLC ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ได้ก่อนนำมาวิเคราะห์ โดยต้องถูกทำให้ตกตะกอนโดยการปั่นเหวี่ยงแล้วนำส่วนใสกรองลงในขวด Vial จากนั้นจึงสามารถนำไปวัดด้วยเครื่อง HPLC ได้ ซึ่งจะต้องมีการเตรียม standard mix ที่ ได้แก่ กรดแลคติก อะซิติก บิวทิริก และโพรพิโอนิก ความเข้มข้นต่าง ๆ ใส่ลงใน Vial เพื่อวิเคราะห์เช่นเดียวกันกับตัวอย่าง

ในส่วนของสารละลายตัวพาที่ใช้คือสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 mM เป็นสารละลายตัวพาตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ให้ผ่านคอลัมน์ และไปยังดีเทคเตอร์ที่จะต้องทำการกรองและไล่ฟองแก๊สออก ส่วนน้ำกลั่น และเมทานอลจะถูกเตรียมเช่นเดียวกันใช้เป็นสารละลายตัวพาสำหรับล้างคอลัมน์หลังจากเสร็จสิ้นการวิเคราะห์

นำค่าพื้นที่ใต้กราฟตัวอย่างที่ขึ้นตรงกับเวลาของมาตรฐานของกรดชนิดนั้น ๆ ไปคำนวณหาความเข้มข้น จากสมการเส้นตรงค่าความชันกราฟของสารมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

## 12) การวิเคราะห์ผลผลิตแก๊สชีวภาพจากการหมัก

### ก. สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) เครื่องวิเคราะห์ Gas chromatography – Thermal conductivity detector
- 2) เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับประมวลผลพื้นที่ใต้กราฟ
- 3) เข็มฉีดยา และหลอดที่มีการต่อกับวาล์วล็อก
- 4) ถังเก็บแก๊สสำหรับแก๊สมาตรฐาน
- 5) ถังแก๊สไฮโดรเจน
- 6) ถังแก๊สอาร์กอน
- 7) ถังแก๊สมีเทน

**ข. วิธีวิเคราะห์**

Condition ที่ใช้ในการทดลอง

แก๊สตัวพา : Ar 30 mL/min

จุดฉีดยา : 100°C

ตู้อบ : 50 °C

ตัวตรวจจับ : 100°C

ปริมาตรที่ฉีด : 0.5 mL

เริ่มจากการวิเคราะห์แก๊สมาตรฐานแก๊สไฮโดรเจน และมีเทน โดยบรรจุแก๊สมาตรฐานลงในถุงเก็บแก๊ส จากนั้นใช้เข็มเก็บแก๊สปริมาตร 0.5 mL ฉีดลงที่จุดฉีดยาของเครื่อง GC และเมื่อดีเทคเตอร์ตรวจจับได้ คอมพิวเตอร์จะประมวลผลเป็นพื้นที่ใต้กราฟออกมา ใช้เป็นค่ามาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณและความเข้มข้นของแก๊สที่เกิดขึ้นในถังหมักได้ ซึ่งแก๊สตัวอย่างที่เก็บจากถังหมักเก็บที่ปริมาตร 0.5 mL นำมาฉีดที่จุดฉีดยาเช่นเดียวกัน เมื่อได้ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ก็สามารถคำนวณหาปริมาณของแก๊สไฮโดรเจน มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นได้ที่เกิดขึ้นได้ เพื่อหาปริมาณแก๊สของไฮโดรเจนและมีเทนที่เกิดขึ้นในถังหมัก ในการทดลองนี้ใช้เครื่อง Model SHIMADZU GC 14 A ดีเทคเตอร์ชนิด Thermal conductivity detectors (TCD) โดยใช้ Column ชนิด molecular sieve containing stainless steel SS350A 80/100 mesh long 1.5 m

Prince of Songkhla University  
Pattani Campus

ภาคผนวก ข

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ข.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติบางประการทางกายภาพและทางเคมีของ POME

Date	TS (g/L)	VS (g/L)	COD (g/L)	TKN (g/L)	NH <sub>3</sub> -N (g/L)	Oil and greass (g/L)
13/6/57	51.88	42.76	63.84	-	0.140	15.08
5/11/57	71.62	61.84	-	-	-	-
29/11/57	72.61	63.15	-	-	-	-
20/4/58	74.74	59.10	67.58	0.797	-	14.11
13/6/58	60.35	50.37	-	-	-	-
19/10/58	81.02	74.04	89.95	-	-	-
13/10/58	83.58	74.14	-	-	-	-
30/10/58	80.10	70.16	-	-	-	-
11/11/58	65.91	54.60	67.20	-	-	-
10/12/58	77.90	69.18	-	-	-	-
10/12/58	64.47	48.22	-	-	-	-
10/12/58	55.03	46.72	-	-	-	-
17/2/59	55.60	46.20	-	-	-	-
9/3/59	50.14	41.21	-	-	-	-
9/3/59	48.84	44.40	-	-	-	-
15/6/59	72.90	63.62	96.60	1.120	-	-

ตารางที่ ข.2 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสาหร่ายพวงชะโด

Date	TS % (w/w)	VS %TS (w/w)	COD %TS (w/w)	TKN %TS (w/w)	NH <sub>3</sub> -N %TS (w/w)	Oil and grease %TS (w/w)
29/11/57	95.26*	83.71	-	14.34	-	-
20/11/57	92.74*	75.81	-	-	0.217	-
13/10/58	89.05*	79.61	-	-	-	-
18/8/58	4.20	98.25	-	-	-	-
2/3/59	5.20	98.97	-	-	-	-
14/3/59	5.63	99.17	-	-	-	-
4/4/59	4.36	99.01	-	-	-	-
15/6/16	4.24	99.30	92.86	12.29	-	3.705

\*ตัวอย่างสาหร่ายพวงชะโดที่ใช้วิเคราะห์เป็นแบบแห้ง

ตารางที่ ข.3 ผลการวิเคราะห์ COD, TKN, Total phenolic content และ  $\text{SO}_4^{2-}$  ของน้ำหมักขาออกที่ HRT ต่าง ๆ

substrat	COD (mg/L)	TKN (mg/L)	Total phenolic content (mg/L)	$\text{SO}_4^{2-}$ (mg/L)	TS (g/L)	VS (g/L)
Effluent CSTR HRT 5 d	61,920	4,42.4	1,298.0	772.1	53.43	44.96
Effluent CSTR HRT 4 d	43,360	603.4	1,088.0	878.0	54.68	37.9
Effluent CSTR HRT 3 d	37,760	582.4	1,038.0	873.0	51.05	34.15
Effluent CSTR HRT 2 d	31,680	588.0	1,008.0	777.3	38.05	25.17
Effluent CSTR HRT 1 d	42,720	572.6	1,258.0	896.2	38.96	24.19
Effluent PFR HRT 52.5 d	4,200	427.7	361.2	129.8	17.15	6.08
Effluent PFR HRT 40 d	3,100	318.5	117.5	59.0	19.77	8.55
Effluent PFR HRT 30 d	2,100	233.8	73.7	41.4	18.58	6.43

**ตารางที่ ข.4** ข้อมูลความเข้มข้นของแก๊สไฮโดรเจนจากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้นตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโด ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Hydrogen Concentration (%)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7	8.8	4.5	0.0
2	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	17.8	24.0	17.5	18.8	17.0	10.6
3	0.0	0.0	0.0	1.7	17.0	24.6	35.6	20.2	18.8	19.0	13.2
4	0.0	13.5	21.3	22.5	26.7	32.9	34.7	18.3	17.4	21.2	13.1
5	13.8	24.2	28.7	30.5	29.2	24.5	23.1	15.6	15.2	21.4	12.1
6	29.1	36.9	37.6	32.5	35.5	27.0	21.6	15.8	16.7	22.0	9.7
7	21.1	31.4	33.5	36.4	32.8	25.8	20.6	14.5	14.3	20.6	9.0
8	17.3	30.1	21.0	20.5	22.9	18.0	24.8	13.2	15.4	14.0	9.1

**ตารางที่ ข.5** ข้อมูลไฮโดรเจนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนในขั้นตอนแรกของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Cumulative hydrogen (mL-H <sub>2</sub> )										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	0.09	11.94
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.62	0.95	10.99	0.76	17.63
5	0.00	0.00	9.43	1.82	15.64	0.31	15.67	0.89	19.45	0.05	26.91
6	8.59	0.93	17.80	2.30	24.05	0.53	24.98	1.62	24.88	0.55	28.81
7	25.87	4.77	36.41	3.19	35.38	2.92	30.89	0.88	33.60	2.25	31.42
8	28.09	3.74	38.04	3.93	36.46	3.33	34.35	2.38	35.13	3.97	31.91

**ตารางที่ ข.6** ข้อมูลความเข้มข้นของแก๊สมีเทน จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Methane Concentration (%)										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	83.7	88.8	91.1	91.5	83.0	87.6	83.6	80.6	80.2	80.9	82.3
2	58.9	64.1	59.8	70.3	70.6	72.4	69.5	62.7	68.1	64.8	64.3
3	69.3	68.6	70.1	70.2	69.3	76.4	77.5	78.7	77.3	76.7	82.5
4	52.7	53.0	57.1	54.4	67.6	65.3	67.9	70.9	70.6	70.9	74.9
5	55.9	52.8	54.8	57.9	65.6	72.2	66.6	71.7	71.6	67.9	70.3
6	65.6	64.9	64.8	64.5	64.8	74.0	77.1	78.2	78.6	76.2	78.9
7	63.9	62.7	64.0	63.9	64.1	70.6	73.7	73.1	74.0	73.3	76.9
8	61.3	59.5	61.0	62.9	63.2	71.3	71.6	73.9	73.3	72.0	76.1
9	65.8	62.0	59.6	61.8	59.9	69.7	66.9	75.4	69.3	74.3	81.3
10	58.2	56.4	57.7	57.8	60.0	63.8	68.6	68.7	69.3	68.3	71.9
11	59.9	58.5	60.6	59.8	62.1	65.9	57.0	69.4	70.0	64.5	74.0

**ตารางที่ ข.7** ข้อมูลผลมีเทนรวม จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตมีเทนในขั้นตอนสองของกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากน้ำหมักของขั้นตอนแรกจากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายฟงชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

Time (d)	Cumulative methane (mL-H <sub>2</sub> )										
	P10:0	P9:1	P8:2	P7:3	P6:4	P5:5	P4:6	P3:7	P2:8	P1:9	P0:10
1	73.1	75.3	79.4	81.3	70.1	76.0	71.0	65.5	62.4	58.1	62.2
2	86.1	87.4	92.5	94.1	85.4	86.8	87.5	76.7	73.7	68.5	72.8
3	136.1	131.7	139.1	135.2	121.3	123.1	125.5	111.8	101.6	98.9	102.4
4	142.5	137.2	144.3	140.3	128.5	127.4	130.2	114.9	106.2	102.9	106.7
5	148.8	141.0	147.5	145.3	136.0	133.9	132.6	118.7	110.4	104.6	110.1
6	171.1	160.3	160.2	156.0	149.5	141.2	145.0	126.5	120.4	116.9	118.4
7	181.4	168.3	165.5	162.5	155.0	149.9	151.3	130.2	125.8	123.5	120.8
8	186.5	171.4	168.5	165.5	158.4	159.4	155.0	133.1	130.9	127.0	122.7
9	189.2	176.2	170.8	167.3	159.4	163.5	156.6	136.1	131.6	129.2	127.0
10	192.0	178.1	173.5	169.1	161.7	164.8	160.5	138.4	133.4	131.1	127.7
11	193.3	180.4	176.3	170.8	163.6	166.8	161.5	139.2	134.2	132.4	128.4



ตารางที่ ข.8 ข้อมูลผลรวม และผลผลิตของไฮโดรเจนและมีเทนสุดท้าย จากการศึกษาศักยภาพของการผลิตแก๊สไฮโดรเจนและมีเทน ในกระบวนการหมักสองขั้นตอน จากการย่อยสลายร่วมแบบไร้อากาศของ POME และสาหร่ายพวงชะโดที่อัตราส่วนต่าง ๆ

POME: C. demersum (VS Basis)	C/N ratios	Cumulative hydrogen (mL-H <sub>2</sub> )	Hydrogen production yield (mL-H <sub>2</sub> /g-VS)	Cumulative methane (mL-CH <sub>4</sub> )	Methane production yield (mL-CH <sub>4</sub> /g-VS)
100:0	29.0	29.55±3.81	49.2±3.81	77.8±3.4	410.4±18.7
90:10	27.7	39.21±3.37	65.3±3.37	64.9±3.2	360.7±18.0
80:20	26.6	36.57±3.33	60.9±3.33	60.8±2.9	337.8±16.1
70:30	25.4	34.46±3.27	57.4±3.27	55.3±2.7	307.2±15.1
60:40	24.2	35.25±4.00	58.7±4.00	48.1±5.4	267.0±30.2
50:50	23.0	32.00±2.36	53.3±2.36	51.3±3.9	284.8±21.9
40:60	21.8	33.57±1.07	55.9±1.07	46.0±3.0	255.4±16.8
30:70	20.6	18.58±0.94	31.0±0.94	23.7±1.8	131.6±10.0
20:80	19.4	17.45±1.19	29.1±1.19	18.7±2.4	103.7±13.5
10:90	18.2	18.21±1.72	30.3±1.72	16.9±2.4	94.0±13.5
0:100	17.0	16.40±0.98	27.3±0.98	12.9±1.7	71.9±9.4