บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

1.1 มูลสุกร

1.2 เปลือกลำไย

1.3 เมล็ดลำไย

1.4 น้ำ

2. อุปกรณ์

2.1 ชุดถังหมักและเก็บก๊าซชีวภาพ 12 ชุด

2.2 ตาชั่ง

2.3 กาวอีพ๊อกซี่

2.4 ซีลีโคนเหลว

2.5 กระป๋องตวง มูล เปลือก และเมล็ดลำไย

2.6 นาฬิกาจับเวลา

2.6 ซอล์ค

2.7 ไฟแช็ค

2.8 สมุดจดบันทึก

2.9 เตาทดสอบการติดไฟ

2.10 ไม้บรรทัด

2.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)/ค่าความนำไฟฟ้า (EC)

2.12 เครื่องอะตอมมิกแอพซอฟชันสเปกโทรสโกปี (Atomic absorbtion Spectroscopy)

2.13 เครื่องอัลตร้าไวโอเลตสเปกโทรสโกปี (Ultraviolet Spectroscopy)

2.14 เครื่องย่อยและเครื่องกลั่นของเคลดาล (Macro Kjeldahl digestion and distillationapparatus)

2.15 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (4 ตำแหน่ง)

2.16 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (3 ตำแหน่ง)

2.17 เครื่อง pH meter/EC Mettler toledo

2.18 ตู้อบ (Hot air oven)

2.19 ภาชนะใช้ทำแห้ง (Desiccator)

2.20 แผ่นร้อน (Hot plate)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2.21 ปิเปต ขนาด 1.0, 2.0, 4.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิลิตร

2.22 ขวดรูปชมพู่ขนาด 80, 125 และ 250 มิลลิลิตร

2.23 ขวดวัดปริมาตร 50, 100, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.24 กระบอกตวงขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร

2.25 บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

2.26 กรวยกรอง

2.27 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 92

2.28 หลอดหยดพร้อมลูกยาง

2.29 แท่งแก้วคนสาร

3. สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid; H_2SO_4), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 96%, M.W.98.078

2. เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol; C_2H_5OH), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99%, M.W. 278.05

3. โบรโมกรีซอลกรีน (bromoglysol green; $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) เกรดวิเคราะห์, M.W. 698.04

4. โพแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate; K_2SO_4), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99.0%, M.W. 174.27

5. ซาลิไซลิก (salicylic acid; C_6H_4 (OH). COOH), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99.0%, M.W. 249.68

6. โซเดียมไธโอซัลเฟต (sodium thiosulfate; $Na_2S_2O_{3.5}H_2O$), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 98.5%, M.W. 311.79

7. แอมโมเนียมเมทตาวานาเดต (ammonium metavanadate; NH_4VO_3), เกรดวิเคราะห์ ความบริสุทธิ์ 98.5%, M.W. 311.79

8. กรดไนตริก (nitric acid; HNO_3), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 65%, M.W. 63.013

9. กรดเปอร์คลอริก (perchloric acid; $HClO_4$), เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 70%, M.W. 100.47

10. โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride; KCl) เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99%, M.W. 74.55

11. แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate; $CaCO_3$) เกรดวิเคราะห์, ความบริสุทธิ์ 99.5%, M.W. 100.09

12. โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate; KH_2PO_4)

สถาบันของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

4. วิธีการทดลอง

ในแผนการทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) กำหนดให้มี 4 Treatments (T) 3 Replications (R) รวมทั้งหมด 12 หน่วยทดลอง ดังนี้

Treatment ที่ 1 มูลสุกร หมักกับ น้ำ

Treatment ที่ 2 มูลสุกร หมักกับ น้ำ กับ เมล็ดลำไย

Treatment ที่ 3 มูลสุกร หมักกับ น้ำ กับ เปลือกลำไย

Treatment ที่ 4 มูลสุกร หมักกับ น้ำ กับ เมล็ดลำไย และ เปลือกลำไย

5. แผนผังการทดลอง

T1R1	T1R2	T1R3
T2R1	T2R2	T2R3
T3R1	T3R2	T3R3
T4R1	T4R2	T4R3

6. วิธีดำเนินการทดลอง

1. เตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้หมัก

1.1 ระบบถังหมักแบบไร้ออกซิเจน

1.2 เปลือกลำไย

1.3 เมล็ดลำไย

1.4 มูลสุกร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ภาพที่ 8 ชุดถังหมักก๊าซชีวภาพ

2. การหมักเปลือก และเมล็ดลำไย กับมูลสุกร ในถังหมัก แบบไร้ออกซิเจน

2.1 นำเมล็ดลำไย เปลือกลำไย และมูลสุกรใส่ในชุดถังหมักแบบไร้ออกซิเจนโดยใช้อัตราส่วนของมูลสุกร: เปลือกหรือเมล็ดลำไย: น้ำ เท่ากับ 2:1:3

2.2 ต่อท่อนำก๊าซจากถังหมักเข้ากับถังพลาสติกใบแรกที่ไม่มีฝาถังและคว่ำอยู่ในถังพลาสติกใบที่สองซึ่งมีน้ำอยู่เต็ม หลังจากเกิดกระบวนการหมัก ก๊าซชีวภาพจะเพิ่มปริมาณมากขึ้นและเข้าไปแทนที่น้ำ ทำให้ถังใบแรกที่คว่ำอยู่ค่อย ๆ ลอยขึ้นเหนือถังใบที่สอง และนำความสูงของถังที่ลอยมาคำนวณปริมาตรก๊าซชีวภาพที่อยู่ในถังผลิตได้

2.3 ต่อท่อนำก๊าซจากถังใบแรกกับหัวเตาแก๊สเพื่อใช้ทดสอบการติดไฟ และจับเวลาตั้งแต่ไฟเริ่มติดจนไฟดับ

3. บันทึกปริมาตรก๊าซและระยะเวลาติดไฟของก๊าซที่ผลิตได้ตลอดการทดลอง

4. เก็บตัวอย่างน้ำในถังหมักในวันเริ่มและสิ้นสุดการทดลองไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

5. รวบรวมผลการทดลองแล้วนำไปวิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

7. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, และโพแทสเซียม

วิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจน

ชั่งตัวอย่างในถังหมักก๊าซชีวภาพ ด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง น้ำหนักประมาณช่วง 0.5-0.6 กรัม ใส่ใน kjeldahl test tube ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 98% H_2SO_4 10 มิลลิลิตร และเติม mix catalyst จำนวน 5 กรัม แล้วนำน้ำในถังหมักก๊าซชีวภาพแต่ละชนิดที่เติมสาร

เหล่านี้แล้ว ไปตั้งบนเตาสำหรับย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 360 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 50มิลลิลิตร จากนั้นนำ kjeldahl test tube ต่อกับเครื่องกลั่นโดยให้ปลายเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในerlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายกรดบอริก 10 มิลลิลิตร ที่ผสมสารละลาย mix indicator ประมาณ 4-5 หยด แล้วเติม sodium hydroxide จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสารละลายสีน้ำตาล หรือบางตัวอย่างจะได้สารละลายสีน้ำเงิน ซึ่งกลั่นที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาการกลั่น 100 วินาที กลั่นจนได้ปริมาตรของสารละลายประมาณ 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับ 0.2 N ของสารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก บันทึกผล และนำค่าที่ได้ไปคำนวณผลดังสมการ

สูตรการคำนวณหาปริมาณร้อยละไนโตรเจนทั้งหมด

$$\% \text{ Total N} = \frac{\text{N (HCl)} \times \{\text{ml (HCl)} - \text{ml (Blank)}\} \times 1.40067}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}$$

หมายเหตุ: - การทดลองต้องทำแบลงค์ ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

- การทดลองต้องหาปริมาณร้อยละไนโตรเจน ของปุ๋ยมาตรฐานสูตรไนโตรเจน 12.09 + 0.33% เพื่อเป็นการสอบเทียบความถูกต้องของการทดลอง

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณร้อยละฟอสเฟตทั้งหมด

เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm จำนวน 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วแต่ละขวด เติม molybdovanadate reagent 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่เตรียมได้ ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยพล๊อตกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสง (A) กับ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟอสฟอรัสชั่งตัวอย่างน้ำทิ้งจากถังหมักก๊าซชีวภาพด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ชั่งน้ำหนักให้อยู่ในช่วง 0.5-0.6 กรัม นำใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมกรดผสม HNO_3:$HClO_4$ อัตราส่วน 1:1 จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 องศาเซลเซียส ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้น

เหนือสารละลาย สารละลายจะมีลักษณะใส ให้สารเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตรจากนั้นยกออกจาก hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลายที่ย่อยได้มาขัดตะกอนแล้วปรับปริมาตรแรกด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย molybdovanadate 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร คำนวณหาความเข้มข้น ตามสูตรข้างล่างนี้

สูตรการคำนวณหาปริมาณร้อยละฟอสเฟตทั้งหมด ($\%P_2O_5$)

$$\% P_2O_5 = \frac{2.2913 \times \text{ความเข้มข้นของตัวอย่าง (ppm)} \times \text{ปริมาณแรกที่ปรับ (ml)} \times \text{dilution factor} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม)} \times 106}$$

หมายเหตุ: การทดลองได้วิเคราะห์หาปริมาณร้อยละฟอสเฟต จากปุ๋ยมาตรฐานสูตรฟอสเฟต 60.52 + 1.30% เพื่อเป็นการเทียบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 10, 20, 30,40 และ 50 ppm (working standard) โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 100 ppm จำนวน 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย suppressor จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่เตรียมแต่ละความเข้มข้นนี้ไปวัดค่าคายแสงด้วยเครื่อง AAS บันทึกผล นำผลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน พล๊อตกราฟระหว่างค่าการคายแสงกับความเข้มข้นมาตรฐานของโพแทสเซียมระดับความเข้มข้นต่างๆ ชั่งตัวอย่างน้ำทิ้งจากถังหมักก๊าซชีวภาพด้วยเครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ชั่งน้ำหนักประมาณ 1.0 - 1.5 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flash ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดผสม HNO_3:$HClO_4$ จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 องศาเซลเซียส ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลาย สารละลายจะมีลักษณะใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 – 40 นาที จากนั้นยกออกจาก hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลายที่ย่อยได้มาขัดตะกอนนำสารละลายที่ได้ปรับปริมาตรแรกด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 2, 4, 6, 8,10 มิลลิลิตรตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย suppressor จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง AAS บันทึกผลการทดลอง ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในตัวอย่าง หาได้โดยไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานดังที่กล่าวไว้ข้างต้น

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

สูตรการคำนวณหาปริมาณร้อยละโพแทสเซียมทั้งหมด ($\%K_2O$)

$$\% K_2O = \frac{1.2046 \times ppm\ K \times dilution\ factor \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)} \times 106}$$

หมายเหตุ

- การทดลองหาปริมาณร้อยละโพแทสเซียม ได้วิเคราะห์ในปุ๋ยมาตรฐานสูตรโพแทสเซียม 35.40 + 0.8

8. การศึกษาข้อมูล

1. การศึกษาข้อมูลการเกิดก๊าซชีภาพจนครบ 5 เดือน หลังเริ่มการทดลอง
   1.1 คำนวณหาปริมาตรก๊าซชีวภาพ มีหน่วยเป็น ลูกบาศก์เมตร
   1.2 ทดสอบการติดไฟ และจับเวลา มีหน่วยเป็น นาที
   1.3 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง pH ของน้ำหมักก๊าซชีวภาพ
   1.4 วัดค่าการนำไฟฟ้า EC ของน้ำหมักก๊าซชีวภาพ
   1.5 วัดค่าอุณหภูมิของน้ำหมักก๊าซชีวภาพ
   1.6 วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร N, P, K ของน้ำหมักก๊าซชีวภาพ

9. การวางแผนทำการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) ของข้อมูลในแต่ละลักษณะตามแผนการทดลอง (Completely Randomized Design, CRD) เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักเปลือก และเมล็ดลำไย ร่วมกับมูลสุกร โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของการทดลองโดยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

10. สถานที่ทดลอง

อาคารวิจัยพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

11. ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือน เมษายน พ.ศ 2559 – สิงหาคม พ.ศ 2559

สถาบันวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี