

บทที่ 3

แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 น้ำเสียสังเคราะห์และการเตรียม

น้ำเสียสังเคราะห์ (Synthetic wastewater) เตรียมขึ้นจากน้ำประปาโดยมีน้ำตาลทราย เป็นแหล่งสารอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon) และมีการเติมธาตุอาหาร (Nutrient) ต่างๆ ที่ จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบอย่างเพียงพอ โดยมีการปรับอัตราส่วน COD : N : P = 100: 1.1 : 0.2 สำหรับความเข้มข้นน้ำเสียสังเคราะห์เข้าระบบจะแปรผันตามระยะเวลาที่ เก็บน้ำเสีย โดยมีค่าซีโอดีประมาณ 150 660 1,660 และ 2,660 มก./ล. ที่ระยะเวลาที่เก็บ น้ำเสีย 0.4 2 5 และ 8 ชม.ตามลำดับ โดยส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ต่อน้ำประปา 1 ลิตร ที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบของธาตุอาหารต่างๆในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์และระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง (ปริมาณต่อน้ำประปา 1 ลิตร)

ส่วนประกอบของ ธาตุอาหาร	หน่วย	ซีโอดี (มก./ล.)			
		150	660	1660	2,660
น้ำตาลทราย	กรัม	0.4	1.76	4.43	7.10
NH ₄ Cl	มก.	10	50	100	400
KH ₂ PO ₄	มก.	2.5	5	20	25
K ₂ HPO ₄	มก.	5	10	40	50
NaHCO ₃	มก.	1,500	1,500	1,500	1,500
MgSO ₄ ·7H ₂ O	มก.	400	400	400	400
FeCl ₂ ·4H ₂ O	มก.	40	40	40	40
สารละลาย A*	มล.	0.1	0.1	0.1	0.1
น้ำประปา	ลิตร	1	1	1	1
COD : N : P		100 : 1.74 : 0.97	100 : 1.98 : 0.44	100 : 1.57 : 0.70	100 : 3.9 : 0.55

ที่มา: ดัดแปลงจาก Speece , 1996

*สารละลาย A เป็นธาตุอาหารรอง รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก

3.1.2 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

1. เครื่องวัดพีเอช
2. โถทำแห้ง
3. ตู้อบที่ปรับอุณหภูมิได้ 103-105°C.
4. ตาชั่งละเอียด
5. กระดาษกรอง GF/C 0.45 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 ซม.
6. ชุดกรองใช้กรองแบบบุชเนอร์
7. อลูมิเนียมฟอยล์
8. ปากคืบ
9. หลอดย่อย
10. บิวเรต
11. ขวดรูปกรวยขนาด 125 มล.
12. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต 0.1 นอร์มัล
13. สารละลายกรดซัลฟูริก
14. สารละลายเฟอร์โรอินดิเคเตอร์
15. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนซัลเฟต
16. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 นอร์มัล
17. อุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซ
18. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี
19. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
20. กล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนซ์

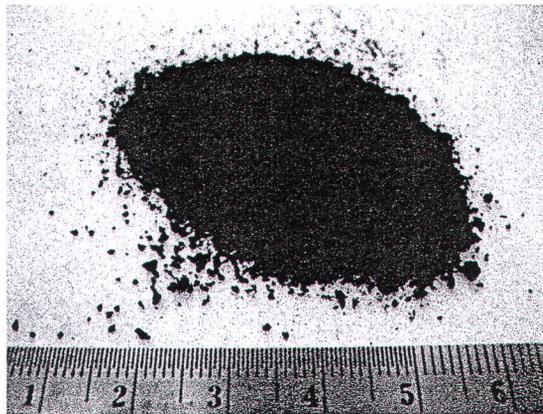
3.1.3 วัสดุตัวกลางที่ใช้ในงานวิจัย

วัสดุตัวกลางที่ใช้ในงานวิจัยคือเม็ดยางบดละเอียด (Crumb rubber) ที่ได้จากการนำยางรถยนต์เก่าใช้แล้วป้อนเข้าเครื่องบดพลาสติก จากนั้นยางจะถูกส่งไปยังชุดจานบดด้วยชุดป้อนระบบสิ้นผ่านเครื่องตรวจจับโลหะเพื่อให้แน่ใจว่าโลหะทุกชนิดถูกแยกออกจากยางรถยนต์ที่บดแล้ว โดยยางรถยนต์จะถูกบดระหว่างจานหมุนซึ่งมีผิวสัมผัสแบบพื้นเลื่อยและจานที่อยู่ฝั่งที่ได้จะถูกดูดด้วยพัดลมส่งมายังไซโคลนและปล่อยผ่านเครื่องกรองคัดขนาดทำให้ได้ขนาดยางบด ละเอียดตามต้องการ ทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพต่างๆ ของยางบดละเอียด ได้แก่ ความหนาแน่น และพื้นที่ผิวจำเพาะด้วยเครื่องมือวัดขนาดอนุภาค โดยในการทดลองนี้จะ

ใช้ยางบดละเอียดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.430 มม. ซึ่งมีข้อมูลทางกายภาพต่างๆ ดังผลการวิเคราะห์ของสถิติรตน์ รอดอารี (2551) ดังนี้

ขนาดของยางบดละเอียด	0.430 มม.
ความหนาแน่น	1.2 ก./ลบ.ซม.
พื้นที่ผิวจำเพาะ	0.025 ตรม./ก.
Uniformity coefficient	1.53

ลักษณะของเม็ดยางที่ใช้ในงานวิจัยนี้แสดงดังภาพที่ 3.1



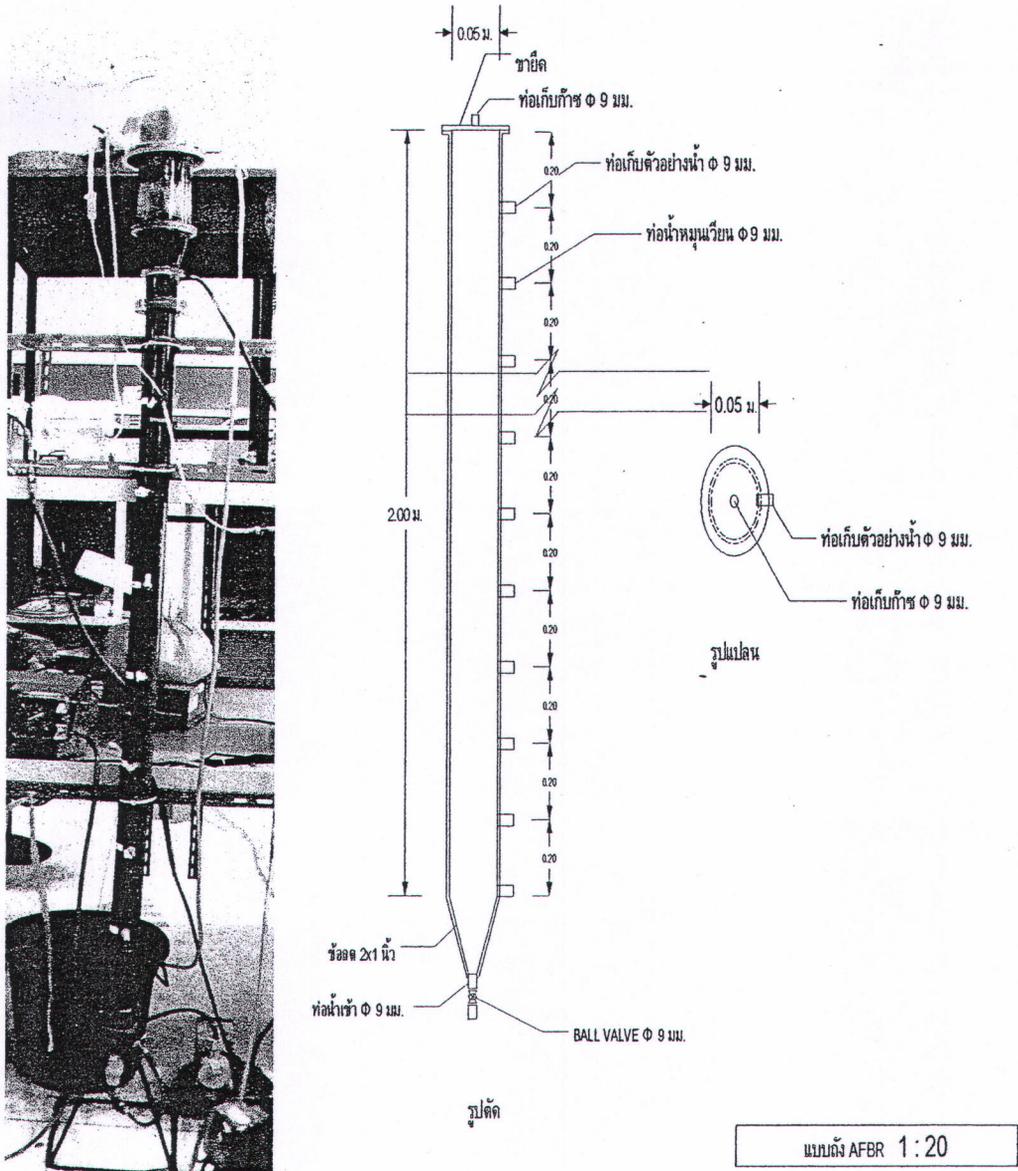
ภาพที่ 3.1 เม็ดยางบดละเอียด

3.2 ถังปฏิกรณ์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) โดยระบบที่ใช้ในการทดลองคือแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด (Anaerobic Fluidized Bed) ที่ทำการเดินระบบแบบไหลต่อเนื่อง อุปกรณ์ต่างๆ ประกอบไปด้วย ถังปฏิกรณ์ เครื่องสูบน้ำเสีย ถังพักน้ำเสียเข้าระบบ ถังพักน้ำทิ้ง และชุดอุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซ โดยมีรายละเอียดดังนี้

ถังปฏิกรณ์

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองทำจากพลาสติกใสที่มีความหนา 0.5 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.05 ม. สูง 2.0 ม. มีปริมาตรรวม 3.5 ลิตร จำนวน 2 ถัง โดยที่ก้นถังปฏิกรณ์มีลักษณะเป็นกรวยเพื่อให้ น้ำเสียที่ไหลเข้าถังปฏิกรณ์สามารถกระจายได้ทั่ว และทำให้เกิดความเหมาะสมต่อสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชัน โดยรายละเอียดของถังปฏิกรณ์ แสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 รูปถ่ายและแปลนแสดงรายละเอียดถึงปฏิกรณ์แอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบดที่ใช้ในการทดลอง

สำหรับการคำนวณขนาดถังปฏิกรณ์แอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด อัตราการไหลน้ำเสียเข้าระบบและอัตราการหมุนเวียนน้ำเสีย จะใช้สมการในการหาความเร็วต่ำสุดในการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์จากสมการที่ 2.19 และคำนวณความเร็วสุดท้ายของการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชันจากสมการที่ 2.20 และ 2.21 ซึ่งมีผลการคำนวณดังนี้

ความพุนที่ความเร็วต่ำสุดของการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชัน	0.4
ความพุนที่ความเร็วสุดท้ายของการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชัน	0.6
Reynold's numbers	0.6
ความเร็วต่ำสุดของการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชัน	1.08 ม./ชม.
ความเร็วสุดท้ายของการเกิดสภาวะฟลูอิดไดซ์เซชัน	5.47 ม./ชม.

เครื่องสูบน้ำเสีย

เครื่องสูบน้ำที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วยเครื่องสูบน้ำเสียเข้าระบบ และเครื่องสูบน้ำเสียหมุนเวียน โดยเครื่องสูบน้ำเสียเข้าระบบเป็นเครื่องสูบน้ำแบบไดอะแฟรม (Diaphragm Pump) ที่สามารถปรับเปลี่ยนอัตราการสูบได้ ในการทดลองนี้จะตั้งอัตราการสูบน้ำเสียเข้าสู่อุปกรณ์ตามทีออกแบบไว้ที่ 10.5 16.8 42 และ 130 ล./วัน สำหรับการสูบน้ำเสียเข้าสู่ถึงอุปกรณ์ทั้ง 2 ถัง ซึ่งเป็นปริมาณที่สอดคล้องกับระยะเวลาที่เก็บน้ำเสียที่กำหนดไว้ คือ 8 5 2 และ 0.4 ชม. ตามลำดับ ส่วนเครื่องสูบน้ำเสียหมุนเวียนเป็นเครื่องสูบน้ำแบบหอยโข่ง (Centrifugal pump) ที่สามารถปรับเปลี่ยนอัตราการสูบได้ จะใช้หมุนเวียนน้ำเสียเพื่อรักษาสภาวะฟลูอิดไดซ์ในชุดการทดลองที่ระยะเวลาที่เก็บน้ำเสียที่ 8 5 และ 2 ชม. โดยกำหนดอัตราการสูบน้ำเสียหมุนเวียนตามทีออกแบบไว้ประมาณ 10 ล./ชม.

ถังพักน้ำเสียเข้าระบบ

เป็นถังพลาสติกปริมาตร 100 ลิตรจำนวน 2 ถัง แต่ละถังสามารถเก็บน้ำเสียเพื่อสูบน้ำเข้าระบบและมีปริมาตรในการกักเก็บน้ำเสียไว้ได้อย่างน้อย 1 วัน โดยบริเวณข้างถังด้านในมีขีดบอกปริมาตรทุกๆ 5 ลิตรเพื่อสะดวกในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

ถังพักน้ำทิ้ง

เป็นถังพลาสติกปริมาตร 100 ลิตร จำนวน 2 ถัง ที่มีเวลาในการกักเก็บน้ำเสียไว้ได้อย่างน้อย 1 วัน ภายในถังมีขีดบอกปริมาตรน้ำทุกๆ 5 ลิตร เพื่อใช้ในการตรวจสอบอัตราการไหลของน้ำทิ้งขาออก

ชุดอุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซ

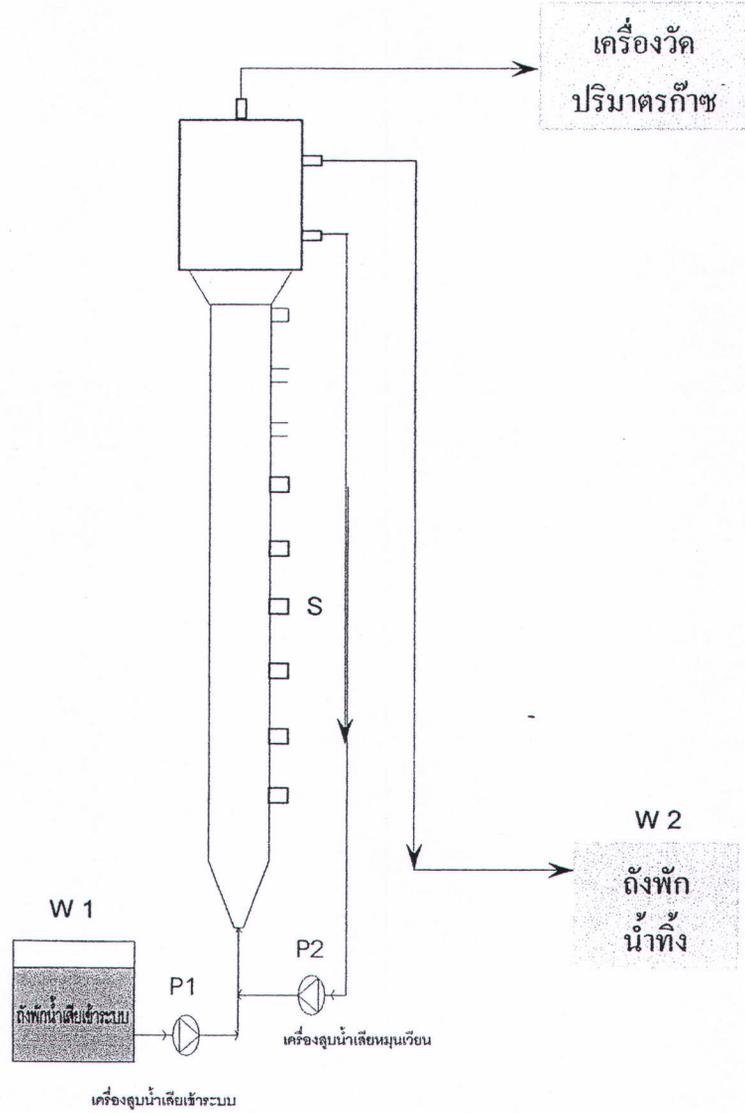
ทำการตรวจวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน ด้วยเครื่องวัดปริมาตรก๊าซตามแบบของ คีคเคิลฮัย โอภาสวัตชัย (2526) ซึ่งสามารถรับปริมาตรก๊าซเฉลี่ยได้ครั้งละ 60 ลบ.ซม.ต่อ 1 รอบของการพลิก โดยโครงสร้างทำจากพลาสติกใส ภายในบรรจุน้ำประปาที่มีการเติมกรดเกลือความเข้มข้น 1% โดยปริมาตร เพื่อป้องกันการเติบโตของสาหร่ายและการละลายกลับของก๊าซลงสู่น้ำ



3.3 การติดตั้งถึงปฏิกรณ์และหลักการทำงาน

การติดตั้งถึงปฏิกรณ์แวนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบดและหลักการทำงาน แสดงดังภาพที่ 3.3 โดยมีขั้นตอนการทำงานดังนี้

1. เครื่องสูบน้ำเสียเข้าระบบ (P1) จะสูบน้ำเสียจากถังพักน้ำเข้าส่งไปยังถึงปฏิกรณ์แวนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด
2. น้ำเสียไหลผ่านเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์แวนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบดและเกิดกลไกการบำบัดและย่อยสลายทางชีวภาพ โดยในการทดลองได้ทำการแปรค่าให้มีระยะเวลาที่กักเก็บน้ำในถึงปฏิกรณ์แตกต่างกัน 4 ค่า
3. น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจะถูกปล่อยออกจากถึงปฏิกรณ์และกักเก็บไว้ในถังพักน้ำทิ้ง
4. เครื่องสูบน้ำเสียหมุนเวียน (P2) จะสูบน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วกลับเข้าสู่ถึงปฏิกรณ์อีกครั้ง
5. ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพจะถูกส่งเข้าไปยังชุดอุปกรณ์วัดปริมาตรก๊าซเพื่อวิเคราะห์ปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน
6. จุดเก็บตัวอย่างมีด้วยกัน 4 จุดคือ W1 W2 S และ G1 โดย W1 และ W2 เป็นจุดเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ ซีโอดี ของแข็งแขวนลอย ทั้งหมด และพีเอช S เป็นจุดเก็บตัวอย่างตัวกลางในระบบเพื่อหาค่าปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ ส่วน G1 เป็นจุดเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ



ภาพที่ 3.3 ส่วนประกอบและจุดเก็บตัวอย่างของระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด

3.4 แผนการทดลอง

3.4.1 ตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

ในการทดลองนี้ตัวแปรสำคัญที่สนใจทำการศึกษาคือ ระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเสีย (Hydraulic Retention Time ; HRT) โดยจะทำการแปรผันระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเสียในถังปฏิกรณ์แอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบดแตกต่างกัน เพื่อหาระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเสียต่ำที่สุดที่มีความเหมาะสมในแง่ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีและการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยในการทดลองมีการกำหนดตัวแปรต่างๆ ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ระยะเวลาที่เก็บน้ำเสีย	0.4 2 5 และ 8 ชม.
2. ความเข้มข้นของน้ำเสียในรูปซีไอดี	150 660 1,660 และ 2,660 มก./ล.
3. อัตราการสูบน้ำเสียเข้าระบบ	10.5 16.8 42 และ 130 ล./วัน
ตัวแปรควบคุม	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. อัตราการระเหยอินทรีย์	8.0 กก.-ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
2. อัตราการไหลน้ำเสียหมุนเวียนเพื่อรักษาสภาวะฟลูอิดไดซ์	ประมาณ 10 ล./ชม.
3. สภาพความเป็นต่าง	เดิมในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อรักษาอัตราส่วน VFA/Alkalinity ประมาณ 0.4
ตัวแปรตาม	วิธีวิเคราะห์/ เครื่องมือวิเคราะห์
1. ซีไอดีที่บำบัดแล้ว	Dichromate Close Reflux Method
2. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด	Total residual dried at 103 -105 ^o C
3. ปริมาณก๊าซชีวภาพ	Gas Meter
4. องค์ประกอบก๊าซชีวภาพ	Gas Chromatography
5. พีเอช	Electronic pH meter
6. กรดไขมันระเหย	Direct Titration method
7. สภาพความเป็นต่าง	Direct Titration method
8. ชนิดและกลุ่มจุลินทรีย์บนตัวกลาง	Fluorescent In Situ Hybridization
9. ปริมาณจุลินทรีย์ที่เกาะบนตัวกลาง	Phospholipid analysis
10. โครงสร้างของจุลินทรีย์บนตัวกลาง	Scanning Electron Microscope
ตัวแปรที่ไม่ได้ควบคุม	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. อุณหภูมิ	-อุณหภูมิห้อง

3.4.2 แผนการทดลอง

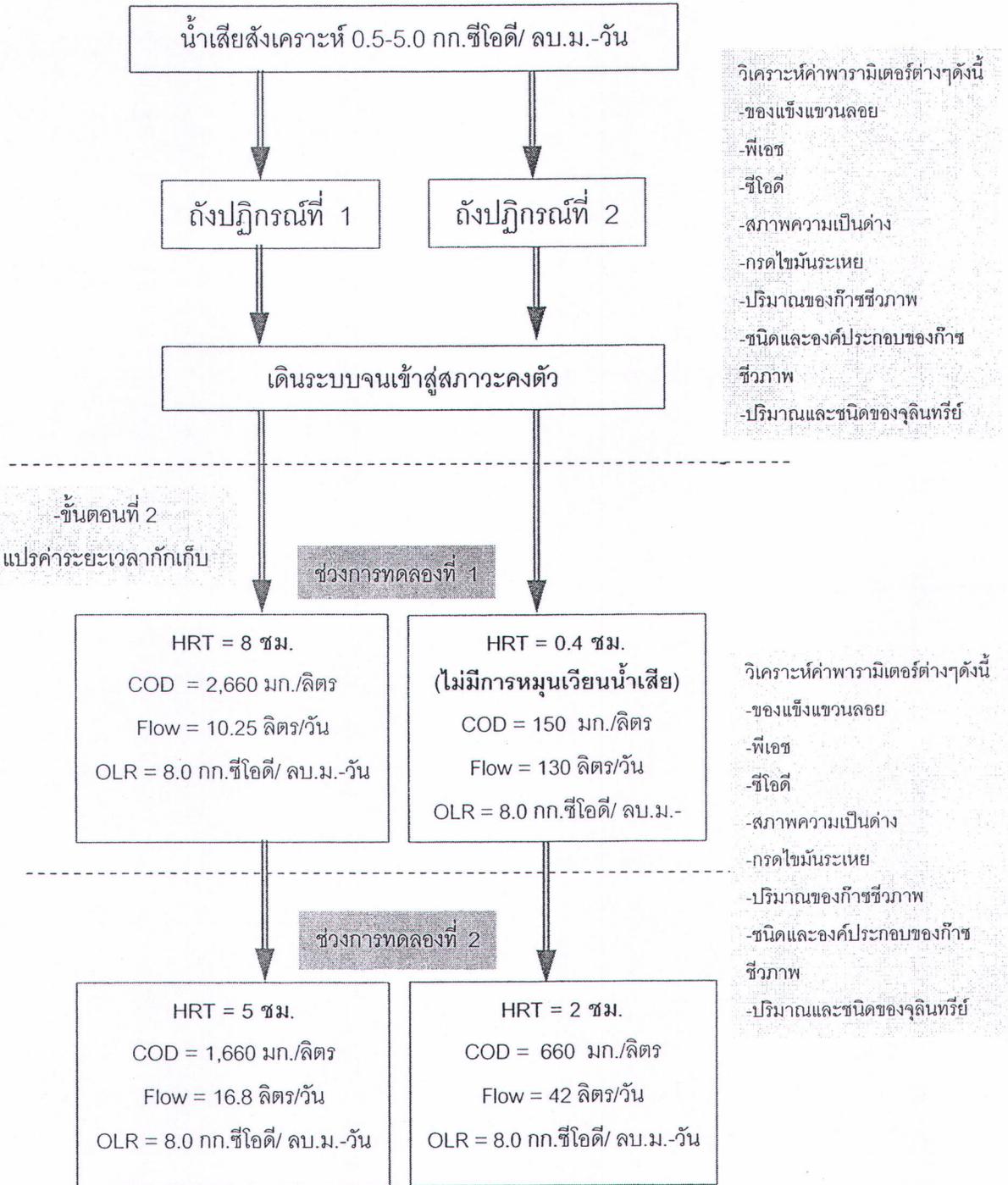
งานวิจัยนี้ทำการทดลองโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด 2 ถัง ที่มีลักษณะเหมือนกัน เติมน้ำระบบต่อเนื่องที่อัตราการระเหยอินทรีย์ 8.0 กก.-ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ดำเนินการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ณ ห้องปฏิบัติการวิจัย ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยป้อนน้ำเสียเข้าสู่ระบบที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสียต่างกัน 4 ค่า (0.4 2 5 และ 8 ชม.) เพื่อทำการศึกษามรรณะของระบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบดในแง่ต่างๆ ดังนี้

1. ประสิทธิภาพในการกำจัดซีไอดี
2. ปริมาณและองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพที่ระบบบำบัดผลิตได้ ได้แก่ ก๊าซมีเทน ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์
3. ปริมาณและชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบนวัสดุตัวกลางของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด

3.4.3 การดำเนินการทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอนได้แก่ การเริ่มเดินระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด และการทดลองแปรค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย โดยแผนผังขั้นตอนการดำเนินการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.4

- ขั้นตอนที่ 1 เริ่มเดินระบบ



ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองที่ 1 การเริ่มเดินระบบบำบัดแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด

- เริ่มการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด บรรจุเม็ดยางบดละเอียดที่ผ่านการคัดขนาดแล้วเพื่อเป็นวัสดุตัวกลางในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ถัง โดยให้มีความสูง 1 ใน 2 ของความสูงถังปฏิกรณ์
- นำหัวเชื้อจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียไร้ออกซิเจนถังแบบกร่องไร้อากาศ จากอาคารวิศวกรรมศาสตร์ 4 คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เติมลงในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ถัง จนมีความสูง 2 ใน 3 ส่วนของความสูงถังปฏิกรณ์
- ป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกรณ์โดยการเพิ่มอัตราภาระสารอินทรีย์เป็นลำดับขั้นตั้งแต่ 0.5 ถึง 5.0 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ลงในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ถัง โดยคาดว่าจะใช้ระยะเวลาประมาณ 70 วัน (Balaguer และคณะ, 1992) ดังแสดงในตารางที่ 3.3 หรือจนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวโดยสังเกตได้จากประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีและอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพคงที่

ตารางที่ 3.3 แผนการเพิ่มอัตราภาระสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด ในช่วงเริ่มเดินระบบ

วันที่	อัตราภาระสารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)
1-14	0.5
15-21	1.0
22-28	1.5
29-35	2.0
36-40	3.0
40-50	4.5
50-70	5.0

ขั้นตอนการทดลองที่ 2 การแปรค่าระยะเวลาเก็บน้ำเสีย

หลังจากที่ระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว จะทำการทดลองโดยแปรผันระยะเวลาเก็บน้ำเสียภายในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ถังแตกต่างกัน เพื่อศึกษาผลที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี การเกิดก๊าซชีวภาพ การเปลี่ยนแปลงปริมาณและกลุ่มจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบนตัวกลางในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ช่วงดังนี้

ช่วงการทดลองที่ 1

ควบคุมระยะเวลาเก็บน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ที่ 1 ให้มีค่าเท่ากับ 8 ชม. ส่วนถังปฏิกรณ์ที่ 2 จะทดลองเดินระบบที่ระยะเวลาเก็บน้ำเสียต่ำเท่ากับ 0.4 ชม. (โดยทำการเดินระบบภายใต้สภาวะที่ไม่มีการหมุนเวียนน้ำเสียภายใน)

ช่วงการทดลองที่ 2

เมื่อการทดลองช่วงที่ 1 เข้าสู่สภาวะคงตัว จะทำการแปรเปลี่ยนระยะเวลาเก็บน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 เป็น 5 และ 2 ชม. ตามลำดับ

โดยรายละเอียดสภาวะในการเดินระบบการทดลองของถังปฏิกรณ์แอนแอโรบิกฟลูอิดไดซ์เบด สำหรับการทดลองทั้ง 2 ช่วงแสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 สภาวะการเดินระบบของถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ในช่วงแปรค่าระยะเวลาเก็บน้ำเสีย

การทดลอง	ถังปฏิกรณ์ที่ 1			ถังปฏิกรณ์ที่ 2		
	เวลากักเก็บน้ำเสีย (ชม.)	อัตราการสูบน้ำเสียเข้าระบบ (ล./ชม.)	ซีโอดี (มก./ล.)	เวลากักเก็บน้ำเสีย (ชม.)	อัตราการสูบน้ำเสียเข้าระบบ (ล./ชม.)	ซีโอดี (มก./ล.)
ช่วงที่ 1	8	10.5	2,660	0.4	130	150
ช่วงที่ 2	5	16.8	1,660	2	42	660

3.4.4 วิธีการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์

พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวิเคราะห์จะจำแนกออกเป็น 3 กลุ่มได้แก่

- พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ ได้แก่ ค่าซีไอดี พีเอช ปริมาณกรดไขมันระเหย และค่าสภาพต่าง
ทั้งหมด
- พารามิเตอร์เกี่ยวกับก๊าซชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณและองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ
- พารามิเตอร์ด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์บน
ตัวกลาง

โดยรายละเอียดพารามิเตอร์ต่างๆ วิธีวิเคราะห์และความถี่ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ ความถี่และจุดเก็บตัวอย่าง

ประเภท ตัวอย่าง	พารามิเตอร์	ความถี่	จุดเก็บตัวอย่าง			
			น้ำเข้า (W1)	ในถัง (S)	น้ำออก (W2)	ก๊าซชีวภาพ (G)
ตัวอย่างน้ำ	ซีไอดี	ทุก 3 วัน	●		●	
	พีเอช	ทุกวัน	●		●	
	กรดไขมันระเหย	ทุก 3 วัน	●		●	
	สภาพต่างทั้งหมด	ทุก 3 วัน	●		●	
ก๊าซชีวภาพ	ปริมาณก๊าซ ชีวภาพ	ทุกวัน				●
	องค์ประกอบ	เมื่อระบบ				●
	ก๊าซชีวภาพ	คงตัว				
ตัวกลาง	ของแข็งแขวนลอย ทั้งหมด	ทุก 3 วัน			●	
	ปริมาณจุลินทรีย์ ในระบบ	เมื่อระบบ คงตัว		●		
	ชนิดจุลินทรีย์ ในระบบ	เมื่อระบบ คงตัว		●		

การศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญเกาะบนวัสดุตัวกลางในระบบบำบัดแอนแอโรบิก ฟลูอิดไดซ์เบดจะช่วยให้สามารถอธิบายกลไกและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบได้ดียิ่งขึ้น โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากลุ่มของจุลินทรีย์ที่เจริญเกาะบนวัสดุตัวกลางทั้งในเชิง ชนิดและปริมาณด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน 3 วิธีได้แก่

1. การศึกษาโครงสร้างของตะกอนจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

วิธีนี้เป็นการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์และลักษณะโครงสร้างทั้งภายในชั้นจุลินทรีย์และภายนอกเมื่อดึงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยายสูง เพื่อศึกษาการอยู่ร่วมกันของกลุ่มจุลินทรีย์และลักษณะการจับตัวของกลุ่มจุลินทรีย์รอบเม็ดยาง

2. การศึกษาจำนวนของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Lipid Phosphate concentration

วิธีการนี้เป็นแนวทางที่ใช้ในการศึกษาจำนวนแบคทีเรียทางอ้อมด้วยการวิเคราะห์ปริมาณของฟอสโฟไลปิด (Phospholipids) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ที่มีชีวิต โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะมีฟอสโฟไลปิดเป็นองค์ประกอบถึง 95% ดังนั้นความเข้มข้นของฟอสโฟไลปิดที่วิเคราะห์ได้จึงแสดงถึงปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในระบบ วิธีวิเคราะห์อ้างอิงของ Arnaiz และคณะ (2005) โดยรายละเอียดขั้นตอนการทดลองแสดงดังภาคผนวก ก

3. การศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)

เทคนิค FISH จะใช้เพื่อตรวจหากรดนิวคลีอิกซึ่งอยู่ในดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอของจุลินทรีย์กลุ่มที่เราจะศึกษาด้วยวิธีการชักนำให้โพรบซึ่งความจำเพาะเจาะจงต่อจุลินทรีย์ที่สนใจ ทำการศึกษา เข้าไปจับกับกรดนิวคลีอิกในดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอเป้าหมายที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์คู่สมกับโพรบภายในเซลล์ โดยโพรบที่ใช้จะถูกติดฉลากด้วยสารเรืองแสง เมื่อโพรบเข้าจับกับจุลินทรีย์เป้าหมายก็สามารถตรวจสอบได้จากการเรืองแสงที่เกิดขึ้นจากสายติดฉลากที่เกาะบนโพรบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีแหล่งกำเนิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ 0.5 มล. ใส่หลอดเก็บตัวอย่าง 1.5 มล.
เข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที
2. ดูดสารละลายออกจากหลอดทดลอง
3. เติม fixative solution เพื่อรักษาสภาพตัวอย่าง
4. นำไปตัวอย่างไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °ซ. เป็นเวลา 2 ชม. หรือข้ามคืน
5. หลังจากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที

6. ดูดสารละลายที่อยู่ในหลอดทดลอง
7. นำตัวอย่างล้างด้วยสารละลาย PBS 2 รอบ
8. เติมด้วยสารละลาย 1:1 (v/v) PBS/ethanol
9. หากยังไม่ทำการทดลองควรนำตัวอย่างไปเก็บที่อุณหภูมิ -20°C .

ขั้นตอน Hybridization

1. หยดตัวอย่างที่เตรียมแล้ว 3-5 หยดลงบนสไลด์ที่เตรียมไว้ แล้วทิ้งให้แห้ง
 2. นำน้ำออกจากเซลล์ที่จะทำการวิเคราะห์ด้วยการนำไปแช่ในเอทานอลความเข้มข้น 50 70 96% ตามลำดับ จากนั้นนำไปทิ้งไว้ให้แห้ง
 3. หยดสารละลาย hybridization และโพรบที่มีความเฉพาะเจาะจงกับชนิดจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา โดยใช้โพรบ EUB338 และ ARC915 รายละเอียดตามตารางที่ 3.6
 4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 46°C . ในอ่างที่มีความชื้น เป็นเวลา 1-1.5 ชม.-
 5. ล้างด้วยสารละลาย washing solution ที่อุณหภูมิ 48°C เป็นเวลาประมาณ 15 นาที
 6. ทำสไลด์ให้แห้งแล้วหยดด้วย DAPI ที่ความเข้มข้น 300 นาโนโมล
 7. ทำสไลด์ให้แห้ง แล้วหยด anti-fading solution
 8. นำไปสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีแสงฟลูออเรสเซนซ์
- โดยวิธีการวิเคราะห์ห้อย่างละเอียดนั้นแสดงในภาคผนวก ก

ตารางที่ 3.6 รายละเอียดของโพรบที่ใช้ในงานวิจัย

โพรบ	กลุ่มจุลินทรีย์ เป้าหมาย	Probe sequence (5'-3')	Reference
ARC915	Archea	GTGCTCCCCGCCAATTCCT	Stahl และคณะ, 1991
EUB338	Bacteria	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	Amann และ คณะ, 1990