

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. รูปแบบการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) เพื่อศึกษาค่าสัมประสิทธิ์จลนพลศาสตร์ (Kinetic Coefficients) ของจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ ในการบำบัดน้ำเสียจากกลุ่มอุตสาหกรรมการเกษตรโดยใช้ Serum Bottles เป็นถังปฏิกริยา Batch Reactor ในการทดลอง ทำการศึกษาใน 3 โรงงานที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิควบคุมที่ $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ โดยแต่ละชุดการทดลองทดลอง 3 ชั่วโมงในสัดส่วนน้ำเสียที่แตกต่างกัน

2. สถานที่ทำการวิจัย

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3. ประชากรศึกษา

ประชากรที่ศึกษา คือ ค่าสัมประสิทธิ์จลนพลศาสตร์ ที่หาจากจุลินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศ ในการบำบัดน้ำเสียจากกลุ่มอุตสาหกรรมการเกษตรจำนวน 3 โรงงาน คือ โรงงานไส้กรอกปลา โรงงานน้ำมันปาล์ม และโรงงานผลิตกรดมะนาว

4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- Serum Bottles ขนาด 120 มล. พร้อมฝาจุก
- Erlenmeyer Flask ขนาด 1,000 มล.
- Flask ขนาด 1,000 มล.
- กระดาษกรอง Whatman GFC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 55 มม.

2. เครื่องมือใช้ในการทดลอง

- เครื่องมือวัดก๊าซ (Gas Meter)
- เครื่องวัดพีเอช (pH Meter) ยี่ห้อ HANNA รุ่น 8417
- ตู้อินคิวเบต (Incubator) ยี่ห้อ MEMMERT รุ่น 800 D 06064

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SARTORIUS รุ่น CP 224 S
- โถดูดความชื้น (Dessicator)

3. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- สารอาหารสูตร Vanderbilt Media (ตารางที่ 5)
- ก๊าซไนโตรเจน (N_2) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

5. วิธีการศึกษาวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) แบ่งการทดลองออกเป็นดังนี้

การเก็บรวบรวมข้อมูลและวิธีวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์

การเก็บรวบรวมข้อมูล

- การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ของโรงงานทั้ง 3 แห่ง โดยเก็บน้ำตัวอย่างมีปริมาณ 2,000 มล./โรงงาน เก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อรวบรวมน้ำเสียที่ออกจากกระบวนการผลิตโดยนำ ตัวอย่างน้ำมาตรวจวิเคราะห์ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าพีเอช ซีโอดี และเอสเอส ตามมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสียใน Standard Method for the Examination of Wastewater (1998)

ในการเก็บตัวอย่างภาคสนามทำการวัดอุณหภูมิและพีเอชทำการบันทึกผลและค่าพารามิเตอร์อื่นนำมาวิเคราะห์และทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

- จุลินทรีย์ตั้งต้น

จุลินทรีย์ตั้งต้นแบบไม่ใช้อากาศ ที่ใช้ในการศึกษาเป็นจุลินทรีย์แบบเม็ด (Granular) จากระบบบำบัดน้ำเสีย ยูเอเอสบี บริษัท เสริมสุข จังหวัดปทุมธานี

- ขั้นตอนเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดลองโดยการเติมสารอาหารสูตร Vanderbilt Media เพื่อปรับให้จุลินทรีย์มีปริมาณเพียงพอรวมทั้งสภาวะเหมาะสมพร้อมที่จะดำเนินการทดลองจะมีการเติมกรดอะซิติก (Acetic Acid 5 เปอร์เซ็นต์) เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน จุลินทรีย์ 1 มล./วันใช้ระยะเวลา ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นเวลา 40 วัน ก่อนการทดลอง

- การเตรียมสารอาหาร

สารอาหารใช้ในการทดลองใช้สารอาหารสูตร Vanderbilt Media โดยการเตรียมสารเคมีจำนวน 22 ชนิด ผสมกับน้ำกลั่น ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของสารอาหาร (Basal Media) สูตร Vanderbilt Media

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (มก./ล.)
$\text{AlCl}_3(\text{H}_2\text{O})_6$	0.50
H_3BO_3	0.50
KI	10.00
$\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$	0.50
$\text{MnCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4$	10.00
$\text{Na}_2\text{MoO}_4(\text{H}_2\text{O})_2$	0.50
Na_2SeO_4	0.50
NH_4VO_3	0.50
$\text{NaWO}_4(\text{H}_2\text{O})_2$	0.50
$\text{FeCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4$	40.00
$\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	10.00
$\text{NiCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	0.50
ZnCl_2	0.50
NH_4Cl	1,200.00
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	80.00
$(\text{NaPO}_3)_6$	10.00
$\text{Na}_2\text{S}(\text{H}_2\text{O})_9$	300.00
KCl	400.00
$\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_7$	748.00
$\text{MgSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$	405.00
Cysteine	10.00
NaHCO_3	6,000.00

ที่มา : Dararat, 1996.

ขั้นตอนการทดลอง

1. เติมจุลินทรีย์จากที่เพาะเลี้ยงไว้ (Stock) ใส่ใน Serum Bottle ขนาด 120 มล. ให้ความเข้มข้นของจุลินทรีย์แบบเม็ด (MLVSS) แต่ละขวดเท่ากับ 2,000 มก./ล.

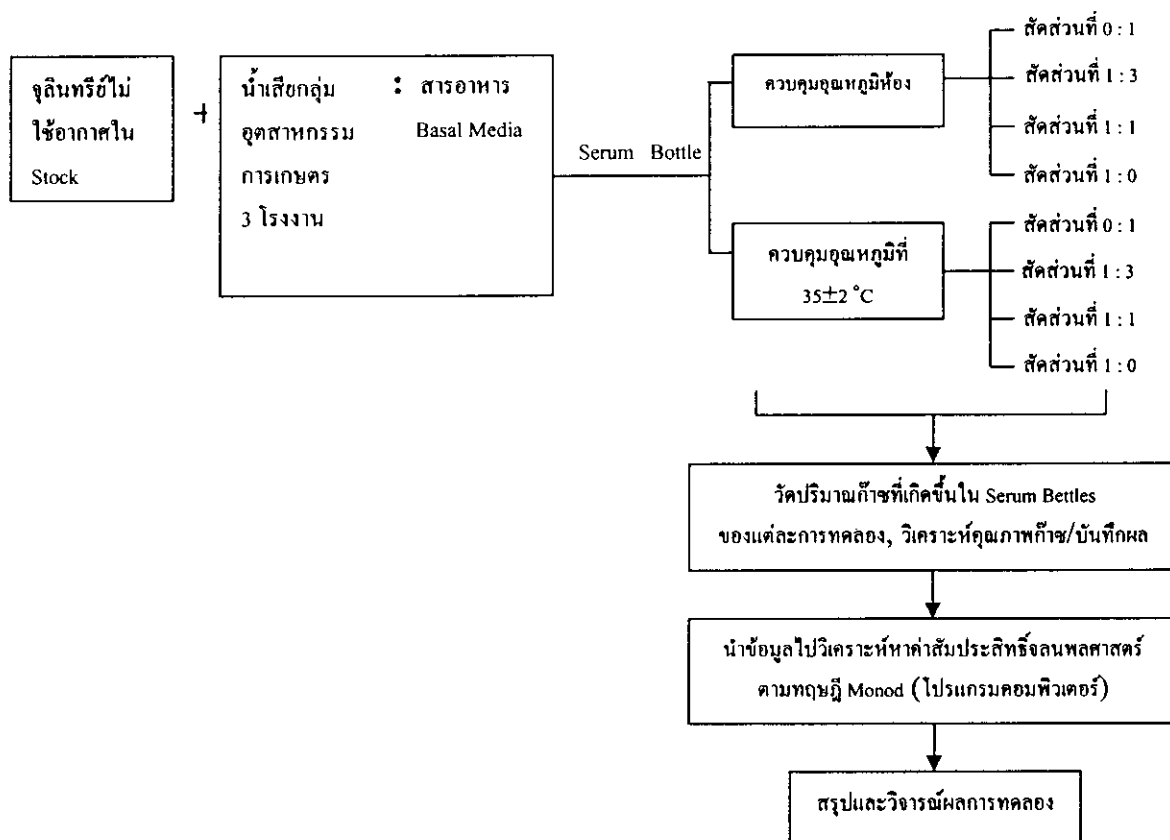
2. กำหนดสัดส่วน (Dilution) น้ำเลี้ยงจริงทั้ง 3 โรงงานต่อสารอาหาร (Basal Media) ใน Serum Bottle ดังนี้

สัดส่วน	0 : 1	(น้ำเลี้ยงจริงไม่เติม ต่อ สารอาหาร 50 มล.)
สัดส่วน	1 : 3	(น้ำเลี้ยงจริง 15 มล. ต่อ สารอาหาร 35 มล.)
สัดส่วน	1 : 1	(น้ำเลี้ยงจริง 25 มล. ต่อ สารอาหาร 25 มล.)
สัดส่วน	1 : 0	(น้ำเลี้ยงจริง 50 มล. ต่อ สารอาหารไม่เติม)

3. ทำการพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 30 เปอร์เซ็นต์ และก๊าซไนโตรเจน (N_2) 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ใน Serum Bottle เพื่อปรับสถานะให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน โดยสารอาหาร (Basal Media) จะมี $\text{Na}_2\text{S}(\text{H}_2\text{O})_6$ เป็นตัวปรับสถานะให้เป็นแบบไร้ออกซิเจน แล้วปิดฝาขวดไม่ให้อากาศภายนอกเข้า (การทดลองมีการควบคุมค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6.8-7.2 อุณหภูมิและปริมาณสารอาหารให้มีสภาพแวดล้อมเหมือนกันในแต่ละการทดลอง)

4. นำ Serum Bottle ที่ทดลองตามจำนวนที่กำหนดควบคุมที่อุณหภูมิห้องและใส่ตู้อินคิวเบต (Incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่ $35 \pm 2^\circ\text{C}$

5. วัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทุกวันใน Serum Bottle โดยใช้เครื่องมือวัดก๊าซ (Gas Meter) ใช้หลักแทนที่น้ำวัดทุกวันจนกว่าก๊าซจะหมดและจดบันทึกผลดังขั้นตอน ภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แสดงขั้นตอนการทดลองหาสัมประสิทธิ์จลนพลศาสตร์ของน้ำเลี้ยงกลุ่มอุตสาหกรรมเกษตร

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้อะมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์หาค่าสัมประสิทธิ์จลนพลศาสตร์จากค่าอัตราการใช้อาหารสูงสุดของจุลินทรีย์ (k) และค่าความเข้มข้นของสารอาหารที่ครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (K_s) จากสมการ Integrated Monod Equation โดยใช้เทคนิค Weighted Nonlinear Least-Squares Analysis