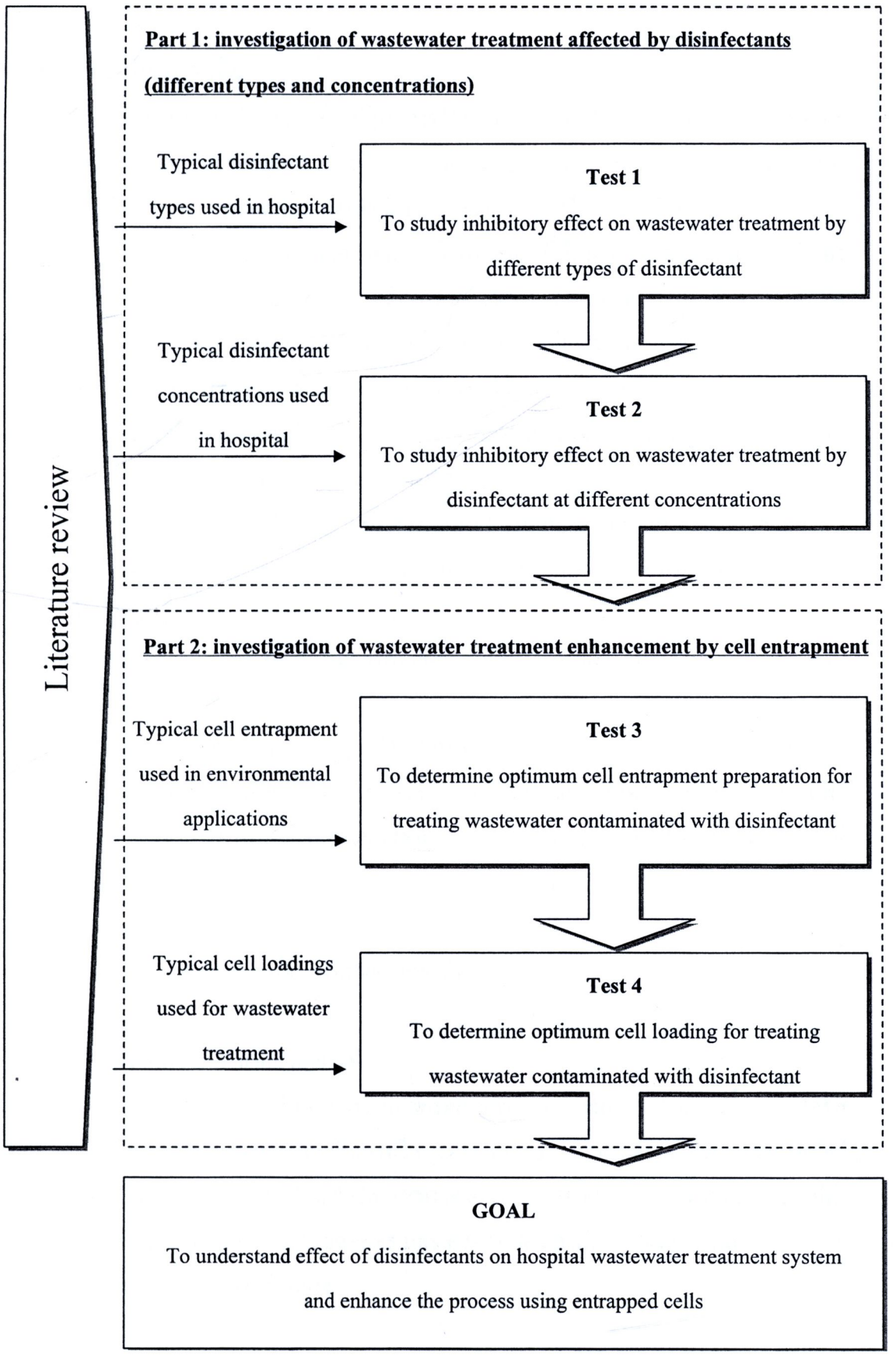
บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 กรอบการวิจัย

กรอบแนวคิดของงานวิจัยนี้สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.1 โดยหลังจากศึกษาทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องแล้ว งานวิจัยนี้ซึ่งเป็นงานทดลองในระดับห้องปฏิบัติการสามารถแบ่งภาระงานออกได้เป็น 2 ส่วนหลัก คือ 1) การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าเชื้อชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกสารฆ่าเชื้อที่มีผลกระทบยับยั้งการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียมากที่สุด และ 2) การปรับปรุงระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเซลล์ดักติด ในส่วนนี้มีเป้าหมายหลัก เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการดักติดเซลล์ และปริมาณเซลล์ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำทิ้ง การทดลองประกอบด้วยชุดทดลอง 3 ชุด ซึ่งได้แก่ ชุดเซลล์ดักติด ชุดเซลล์อิสระ และชุดเม็ดแคลเซียมแอลจีเนต (CA) ที่ไม่มีเซลล์สำหรับใช้เป็นชุดควบคุม ซึ่งผลการทดลองยังนำมาใช้คำนวณหาค่าจลนพลศาสตร์การบำบัดน้ำเสียด้วย



รูปที่ 3.1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการโดยศึกษาทดลองที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และมีการเก็บข้อมูลและน้ำตัวอย่างจากโรงพยาบาลวารินชำราบเพื่อประกอบการทดลอง การดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 5 ช่วง คือ

1) การศึกษาและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้อง โดยขั้นตอนนี้เป็นการรวบรวมข้อมูลสมบัติของสารฆ่าเชื้อและความเป็นพิษ หลักการและวิธีการดักติดเซลล์ สมบัติของสารดักติด หลักการและวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย การงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในอดีต
2) การออกแบบการทดลอง ขั้นตอนนี้เป็นการวางแผนและออกแบบการทดลอง โดยมุ่งเน้นให้ออกแบบให้ครอบคลุมวัตถุประสงค์ของการศึกษาทั้งหมด และมีชุดเปรียบเทียบเพื่อสามารถบ่งชี้ความเชื่อมั่นของผลการศึกษาได้
3) การทดลองและการอภิปรายผล ขั้นตอนนี้เป็นการทดลองตามแผนการที่วางไว้ตามกรอบการวิจัยในรูปที่ 3.1 และวิเคราะห์ผลการศึกษา คำนวณหาค่าจลนพลศาสตร์การบำบัดน้ำเสียที่เปลี่ยนไป
4) สรุปผลการศึกษา ขั้นตอนนี้เป็นการสรุปผลการศึกษาทั้งหมด และเสนอแนะแนวทางในการศึกษาต่อในอนาคต
5) การเผยแพร่ผลงานและการประยุกต์ใช้ในอนาคต ผลการศึกษานี้ได้นำเสนอให้โรงพยาบาลตัวอย่างเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ นอกจากนี้ผลการศึกษายังจะได้รับการเผยแพร่ในวงการวิชาการผ่านทางการประชุมวิชาการ หรือบทความวิจัยในวารสารวิชาการได้ต่อไป

สำหรับรายละเอียดของการทดลองมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.2.1 น้ำเสียโรงพยาบาลสังเคราะห์

น้ำเสียสังเคราะห์เตรียมจากสารเคมีเกรดการค้า 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) ยูเรีย ($CO(NH_2)_2$) และแคลเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$) โดยน้ำเสียมีสัดส่วนค่าซีโอดีต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (COD:N:P) เท่ากับ 100:5:1 น้ำเสียสังเคราะห์ค่าซีโอดีและพีเอชประมาณ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 6.5-7.0 ตามลำดับ ซึ่งค่าดังกล่าวอ้างอิงจากลักษณะน้ำเสียของโรงพยาบาลตัวอย่าง

สารฆ่าเชื้อที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเกรดการค้ามี 3 ชนิด (ซึ่งเป็นสารที่ใช้มากที่สุด 3 อันดับแรกในโรงพยาบาลตัวอย่าง) ได้แก่ กลูตาร์แอลดีไฮด์ (Glutaraldehyde; GA) โพวิโดน ไอโอดีน (Povidone Iodine; PI) สารฆ่าเชื้อชีวภาพ (Eco-friendly biocide; EB) สารทั้งสามชนิดถูกเติมลงน้ำเสียสังเคราะห์ในถังปฏิกรณ์ต่าง ๆ เป็นไปตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ลักษณะน้ำเสียสังเคราะห์ (การทดลองที่ 1 และ 2)

Test No.	Test description*	Reactor name	Disinfectant	
			Type	Concentration (%, v/v)
1	Effect of disinfectant types	TYPE-GA	GA	0.1
		TYPE-PI	PI	0.1
		TYPE-EB	EB	0.1
		TYPE-ND	no disinfectant	0.0 (control)
2	Effect of disinfectant concentrations	CONC-0.1	The worst type from test 1	0.1
		CONC-0.2		0.2
		CONC-0.3		0.3
		CONC-0.0		0.0 (control)

* Activated sludge concentration in reactors was 1,000 mg SS/L

3.2.2 การเลี้ยงและปรับสภาพจุลินทรีย์ตะกอนเร่ง

จุลินทรีย์ตั้งต้นที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นจุลินทรีย์ตะกอนเร่ง สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวเพาะเลี้ยงและปรับสภาพในห้องปฏิบัติการ เป็นระยะเวลาประมาณ 2 เดือน ก่อนเริ่มการทดลอง ถังปฏิกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์มีขนาด 30 ลิตร เดินระบบแบบเอสบีอาร์ (SBR; Sequencing Batch Reactor) มีเวลากักน้ำ (hydraulic retention time) และเวลากักตะกอน (solid retention time) เท่ากับ 1 และ 30 วัน ตามลำดับ ระบบมีการเติมอากาศเพื่อให้ระบบมีค่าออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen; DO) สูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างต่อเนื่อง

3.2.3 การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ตะกอนเร่ง

3.2.3.1 เซลล์ตะกอนเร่งอิสระ (free activated sludge)

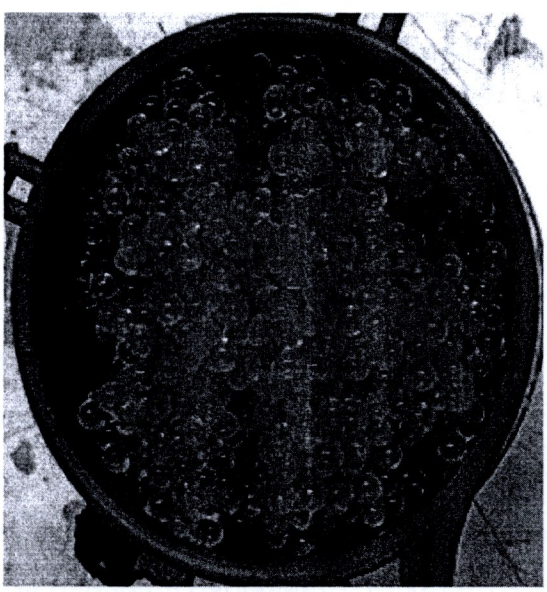
เซลล์อิสระเตรียมจากจุลินทรีย์ตั้งต้น (1,000 มิลลิลิตร) โดยนำจุลินทรีย์ดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

จากนั้นรินน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากตะกอนจุลินทรีย์ แล้วจึงเจือจางตะกอนจุลินทรีย์และปรับปริมาตรด้วยน้ำดีไอ (DI; deionized water) เป็น 10 มิลลิลิตร ตะกอนจุลินทรีย์เข้มข้นนี้จะได้นำไปเติมลงในถังปฏิกรณ์เซลล์อิสระต่อไปและใช้ในการเตรียมเซลล์ดักติดในขั้นตอนต่อไป

3.2.3.2 เซลล์ตะกอนเร่งดักติด (entrapped activated sludge)

เซลล์ดักติดเตรียมตามวิธีการดักติดเซลล์ด้วยสารแคลเซียมแอลจีเนตของ Pramanik and Khan (2008) ซึ่งดัดแปลงมาจาก Smidsrod and Skjak-Braek (1990) วิธีการนี้เป็นวิธีที่กระทำได้ง่ายและประสบความสำเร็จในการใช้งานหลายลักษณะ (Hill and Khan, 2008; Pramanik and Khan, 2008; Siripattanakul et al., 2010)

วิธีการเริ่มต้นจากเตรียมสารละลายโซเดียมแอลจีเนต (Fluka, Singapore) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผสมกับตะกอนจุลินทรีย์เข้มข้น (เตรียมด้วยวิธีการเดียวกับการเตรียมเซลล์อิสระ) หลังจากกวนผสมสารข้างต้นจนเข้ากันดี จากนั้นหยดส่วนผสมดังกล่าวลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ส่วนผสมจะแข็งตัวเป็นเม็ดเจลทรงกลมที่มีจุลินทรีย์ดักติดภายใน (มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 มิลลิเมตร) จากนั้นแช่เม็ดเซลล์ดักติดในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่อไปเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้เม็ดเซลล์ดักติดมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น หลังจากนั้นแช่เซลล์ดักติดไว้ในน้ำดีไอก่อนนำไปใช้งาน เม็ดเซลล์ดักติดมีลักษณะดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 เซลล์ดักติดด้วย CA

3.2.4 การทดลองอิทธิพลของสารฆ่าเชื้อในการยับยั้งการบำบัดน้ำเสีย

3.2.4.1 อิทธิพลของชนิดสารฆ่าเชื้อ

การทดลองในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อต่างชนิดในการยับยั้งการบำบัดน้ำเสีย ตามที่กล่าวไว้ข้างต้นสารฆ่าเชื้อที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้เป็นสารที่มีการใช้ปริมาณมากที่สุดในโรงพยาบาลตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ GA PI และ EB ผลจากการศึกษาในขั้นตอนนี้ใช้ในการพิจารณาสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในการศึกษาขั้นต่อ ๆ ไป การทดลองกระทำซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate experiment) โดยประกอบด้วยชุดทดลอง 4 ชุด ซึ่งได้แก่ TYPE-GA TYPE-PI TYPE-EB และ TYPE-ND รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 3.1

ถังปฏิกรณ์แต่ละถังบรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ 250 มิลลิลิตร (น้ำเสียเติมสารฆ่าเชื้อร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร) และเซลล์ตะกอนเร่งที่ปรับสภาพแล้ว โดยในถังปฏิกรณ์มีค่าเอ็มแอลเอสเอส (MLSS; Mixed Liquor Suspended Solids) เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดทดลองทั้งหมดได้รับการเขย่าในเครื่องเขย่าแบบบ่มที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง น้ำเสียตัวอย่าง (10 มิลลิลิตร) ถูกเก็บอย่างต่อเนื่องทุกชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์หาค่าซีโอดีละลาย (soluble COD) จลนพลศาสตร์การยับยั้งและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียพิจารณาจากค่าซีโอดีละลาย โดยค่าจลนพลศาสตร์การยับยั้งคำนวณจากสมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามแนวทางงานวิจัยในอดีต (Ochoa-Herrera et al., 2009)

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{(Average treatment activity of the reactor)}}{\text{(Average treatment activity of the control)}} \times 100 \qquad \text{สมการที่ 3.1}$$

$$\text{Efficiency (\%)} = \frac{\text{(Influent COD in each reactor)}}{\text{(Effluent COD in each reactor)}} \times 100 \qquad \text{สมการที่ 3.2}$$

3.2.4.2 อิทธิพลของความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อ

การทดลองในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อต่างชนิดในการยับยั้งการบำบัดน้ำเสีย สารฆ่าเชื้อชนิดที่ส่งผลยับยั้งการบำบัดน้ำเสียสูงที่สุดจากการทดลองแรกเป็นสารที่เลือกใช้ในการทดลองขั้นนี้ ผลจากการศึกษาในขั้นตอนนี้ใช้ในการพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสารฆ่าเชื้อต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย การทดลองกระทำซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate experiment) โดยประกอบด้วยชุดทดลอง 4 ชุด ซึ่งได้แก่ CONC-0.1 CONC-0.2 CONC-0.3 และ CONC-0.0 รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบในถัง

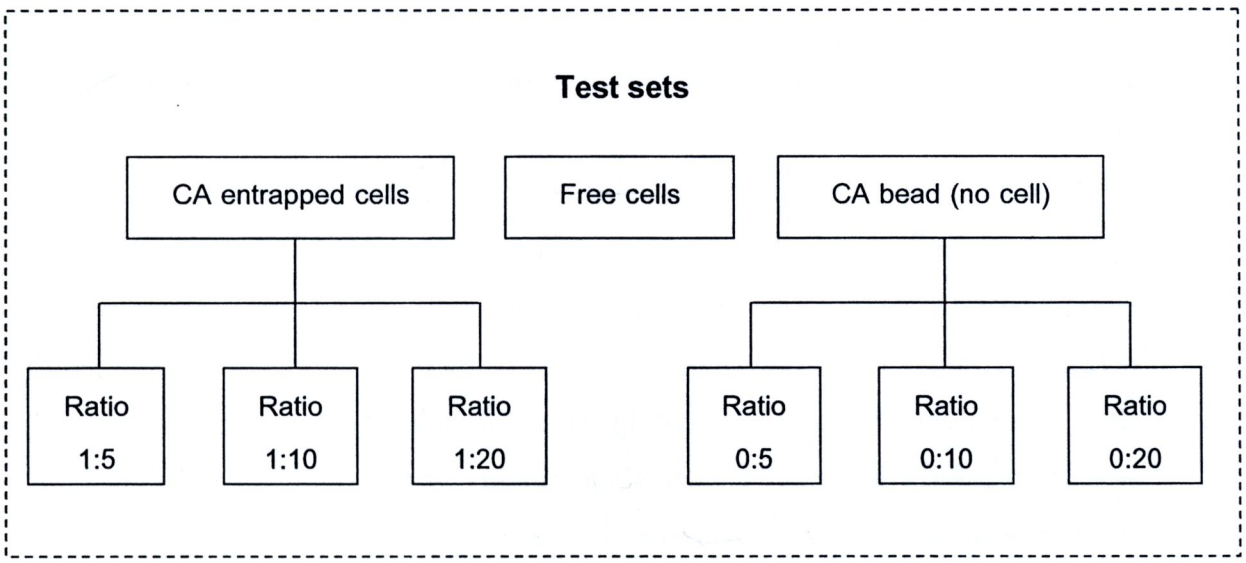
ปฏิกรณ์ การเดินระบบบำบัดน้ำเสีย การเก็บตัวอย่าง ตลอดจนการคำนวณหาค่าจลนพลศาสตร์การยับยั้งและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียกระทำในลักษณะเดียวกันกับการทดลองที่ 1

3.2.5 การทดลองการปรับปรุงการบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลด้วยระบบเซลล์ดักติด

3.2.5.1 การหาสภาวะการเตรียมเซลล์ดักติดที่เหมาะสม

งานวิจัยในอดีตได้ระบุถึงผลกระทบของอัตราส่วนเซลล์ต่อวัสดุดักติด (cell-to-matrix ratio) ต่อความสามารถในการซึมผ่านของสารอาหารต่าง ๆ และความสามารถในการปกป้องเซลล์จากสารพิษ (Kim et al., 2001; Siripattanakul et al., 2008) ซึ่งผลกระทบนี้ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์ดักติด ดังนั้นการทดลองในขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาอัตราเซลล์ดักติดที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีสารฆ่าเชื้อปนเปื้อน

การทดลองกระทำซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate experiment) โดยประกอบด้วยชุดทดลอง 8 ชุด ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ชุดเซลล์ดักติด ชุดเซลล์อิสระ และชุดเม็ดแคลเซียมแอลจิเนต (CA) มีรายละเอียดแสดงไว้ในรูปที่ 3.3 และตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.3 ชุดทดลองการหาอัตราส่วนเซลล์ต่อวัสดุดักติดที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบในชุดทดลองการหาอัตราส่วนเซลล์ต่อวัสดุดักติดที่เหมาะสม (การทดลองที่ 3)

Test No.	Test	Test name	Cell type	Cell-to-matrix ratio (mL of cells: mL of calcium alginate)		
				Volume of cells (or DI) (mL)	Volume of CA (mL)	Total inoculated volume (mL)
3	Optimization of cell-to-matrix ratios	CM-1:05	Entrapped cells	10*	50	60
		CM-1:10		10*	100	110
		CM-1:20		10*	200	210
		FC-1:00	Free cells	10*	0	10
		CA-0:05	Only CA matrices	10**	50	60
		CA-0:10		10**	100	110
		CA-0:20		10**	200	210
		NC-0:00	Control	10**	0	10

* Concentrated activated sludge at the final concentration in reactor of 1,000 mg SS/L

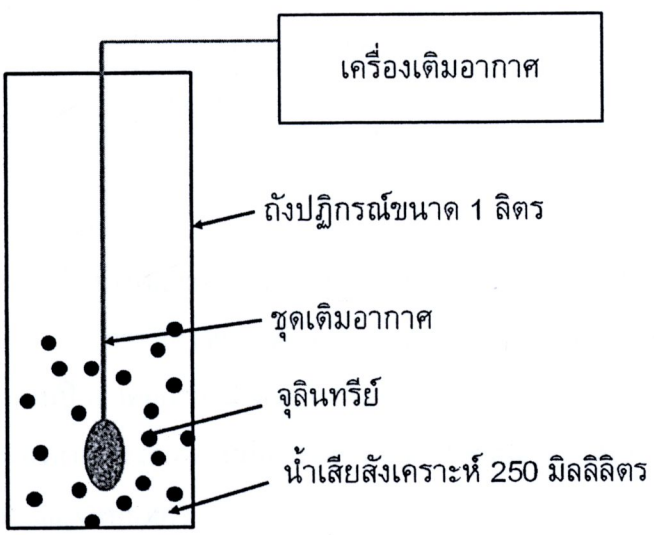
** Sterile DI

ถังปฏิกรณ์แต่ละถังบรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ 250 มิลลิลิตร (น้ำเสียเติมสารฆ่าเชื้อชนิดและความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ 1 และ 2) และเซลล์ตะกอนเร่งที่ปรับสภาพแล้วตามรายละเอียดในตารางที่ 3.1 โดยในถังปฏิกรณ์มีค่าเอ็มแอลเอสเอส (MLSS; Mixed Liquor Suspended Solids) เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดทดลองทั้งหมดได้รับการเขย่าในเครื่องเขย่าแบบบ่มที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง น้ำเสียตัวอย่าง (10 มิลลิลิตร) ถูกเก็บอย่างต่อเนื่องทุกชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์หาค่าซีโอดีละลาย (soluble COD) จลนพลศาสตร์การยับยั้งและประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียพิจารณาจากค่าซีโอดีละลาย โดยค่าจลนพลศาสตร์การยับยั้งคำนวณจากสมการที่ 3.1 และ 3.2 เม็ด CA ตัวอย่างได้ศึกษาลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscopic; SEM) เพื่อใช้ประกอบผลการศึกษาการบำบัดน้ำเสีย

3.2.5.2 การหาปริมาณเซลล์ดักติดที่เหมาะสม

งานวิจัยในอดีตได้ระบุว่าปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ (cell loading) เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการบำบัดน้ำเสีย (Siripattanakul et al., 2009) การทดลองในขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อหาปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ดักติดที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีสารฆ่าเชื้อปนเปื้อน การทดลองเป็นการศึกษาเปรียบเทียบกับเซลล์จุลินทรีย์อิสระ โดยการศึกษาพิจารณาครอบคลุมประสิทธิภาพและเสถียรภาพของระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเซลล์ดักติดและเซลล์อิสระระยะยาว

ถังปฏิกรณ์จำลองเป็นถังพลาสติกทรงกระบอกขนาด 1 ลิตร (ปริมาตรน้ำเสียทดลอง 150 มิลลิลิตร) ต่อกับเครื่องเติมอากาศ (ควบคุมให้มีปริมาณออกซิเจนละลายมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีลักษณะดังรูปที่ 3.4 ถังปฏิกรณ์เดินระบบแบบเอสบีอาร์ โดยระบบเอสบีอาร์แต่ละวัฏจักรมีช่วงการทำงาน 5 ช่วง คือ เวลาเติมน้ำเสีย (fill) ทำปฏิกิริยา (react) ตกตะกอน (settle) ระบายน้ำเสีย (draw) และพักระบบ (idle) รวมทั้งสิ้นใช้เวลาประมาณ 9 ชั่วโมง ซึ่งมีช่วงเวลาทำปฏิกิริยาและตกตะกอนเท่ากับ 6 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ



รูปที่ 3.4 ลักษณะถังปฏิกรณ์จำลองในการหาปริมาณเซลล์ที่เหมาะสม

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

งานวิจัยนี้มีชุดทดลองทั้งหมด 6 ชุด (ซึ่งรายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 3.3) การทดลองในขั้นตอนนี้เตรียมเซลล์ในสภาวะที่เหมาะสมที่ทดลองได้ในการทดลองที่ 3 และมีน้ำเสียเติมสารฆ่าเชื้อชนิดและความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองที่ 1 และ 2 ชุดทดลองทุกชุดเดินระบบถังปฏิกรณ์ 10 วัฏจักร โดยแต่ละวัฏจักรมีการเก็บตัวอย่างน้ำก่อนและหลังออกจากระบบเพื่อวิเคราะห์หาค่าซีโอดี สำหรับการประเมินประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย การทดลองทุกชุดได้ดำเนินการในลักษณะเดียวกัน 2 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของการทดลอง

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบในชุดทดลองการหาปริมาณเซลล์ที่เหมาะสม (การทดลองที่ 4)

Test No.	Test	Test name	Cell type	Cell loading (mg SS/L)
4	Optimization of cell loading	EC-1,000	Entrapped cells	1,000
		EC-2,000		2,000
		EC-3,000		3,000
		FC-1,000	Free cells	1,000
		FC-2,000		2,000
		FC-3,000		3,000

3.2.6 วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ค่าซีโอดีละลาย ของแข็งแขวนลอยและพีเอชเป็นไปตามวิธีการมาตรฐาน (APHA et al., 1998) การวิเคราะห์ค่าซีโอดีละลายใช้วิธีการย่อยด้วยสารละลายโปแตสเซียมไดโครเมต (รีฟลักซ์แบบปิด) โดยกรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง GF/C ก่อน (รายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก) ส่วนการวัดค่าพีเอชใช้เครื่องวัดค่าพีเอช (InoLab pH level 1, WTW GmBH, Weilheim, Germany)

สำหรับการศึกษาลักษณะโครงสร้างระดับจุลภาคของเม็ด CA ด้วยกล้อง SEM เป็นไปตามวิธีการที่เสนอไว้ในงานวิจัยในอดีต (Hill and Khan, 2008; Siripattanakul et al., 2010) เม็ด CA ล้างด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 2 ครั้ง และตรึงในสารละลายผสมระหว่างกลูตาร์แอลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างและแช่เม็ด CA ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 2 ครั้ง

แล้วจึงดึงน้ำ (dehydrate) ออกจากเม็ด CA ด้วยการแช่ในสารละลายดังต่อไปนี้ 1) สารละลายเอทานอล (ร้อยละ 30) ผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ (0.07 โมลาร์) 2) สารละลายเอทานอล (ร้อยละ 50) ผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ (0.05 โมลาร์) 3) สารละลายเอทานอล (ร้อยละ 70) ผสม

กับแคลเซียมคลอไรด์ (0.03 โมลาร์) 4) สารละลายเอทานอล (ร้อยละ 90) ผสมกับน้ำ และ 5) เอทานอลร้อยละ 100 ตามลำดับ เป็นเวลาสารละลายชนิดละ 30 นาที แล้วจากนั้นทำแห้งเม็ด CA ด้วยเครื่องทำแห้งที่จุดวิกฤติ (critical point drier) สุดท้ายตัดเม็ด CA และเคลือบตัวอย่างด้วยทอง โดยใช้เครื่อง Balzers SCD 030 sputter coater และศึกษาลักษณะด้วยกล้อง SEM (JEOL JSM-6300)