บทที่ 3

แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

การทดลองทั้งหมดในการวิจัยนี้ทำที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1 แผนการทดลอง

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาสมรรถนะภาพการกำจัดสีย้อมรีแอกทีฟชนิดอาโซจากน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้กระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก มีการแปรผันนิวเทรียนต์บรอธ+โซเดียมอะซิเทตที่อัตราส่วนต่างๆ เพื่อเป็นสารอาหารที่ส่งเสริมกระบวนการอีบีพีอาร์ และใช้กลูโคสเพื่อส่งเสริมให้GAOsเป็นจุลชีพหลักในระบบ นอกจากนี้ในชุดทดลองที่ใช้กลูโคสยังมีการแปรผันไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเข้าและแปรผันช่วงเวลาแอนแอโรบิกเพื่อให้แน่ใจว่าเกิดGAOsเป็นจุลชีพหลักในระบบ และเพื่อศึกษาผลของช่วงเวลาแอนแอโรบิกที่มีต่อการกำจัดสี ดังมีรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองดังตารางที่ 3.1 ในการทดลองแต่ละชุดนั้น เมื่อระบบเข้าสู่สถานะคงตัวแล้ว จะทำการวัดพารามิเตอร์ต่างๆ ติดต่อกัน 5 วัน รวมทั้งทำการพล็อตค่าพารามิเตอร์เหล่านี้ตามช่วงเวลาต่างๆ(profile)ในถังปฏิกิริยา

<u>ตัวแปรกำหนด</u>

- ขนาดถังปฏิกิริยา กำหนดให้มีขนาดกว้าง 20 ซม. ยาว 20 ซม. สูง 40 ซม. และ ให้ปริมาตรน้ำเสียในถังปฏิกิริยาที่จุดสูงสุดและต่ำสุดมีค่าความจุ 12 ลิตรและ 4 ลิตร ตามลำดับ ดังนั้นจะต้องเติมน้ำเสียเข้าระบบ 8 ลิตรในแต่ละวัฏจักร (หรือ $V_f : V_o = 2 : 1$)
- อายุสลัดจ์ของระบบเท่ากับ 8 วัน ซึ่งแบ่งเป็นอายุสลัดจ์ช่วงแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับ 6.3 และ 1.7 วัน ตามลำดับ ยกเว้นชุดG3 ซึ่งมีช่วงเวลาแอนแอโรบิกลดลง จะมีค่าเท่ากับ 4.4 และ 3.6 วัน ตามลำดับ หรืออายุสลัดจ์รวมเท่ากับ 8 วัน
- น้ำเสียสังเคราะห์ที่เข้าระบบมีความเข้มข้นสีเท่ากับ 10 มก./ล.ทุกชุดการทดลอง(มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 45.9 SU หรือ 784 ADMI)
- ซีโอดีน้ำเข้าเท่ากับ 500 มก./ล.

ตารางที่ 3.1 รายละเอียดของแต่ละชุดการทดลอง

สารอาหารที่เติมเข้าระบบ (มก./ล.ในเทอมซีโอดี)	ไนโตรเจน (มก./ล.)	ฟอสฟอรัส (มก./ล.)	เวลาแอนแอโรบิก/ แอโรบิก/จมตัว (ชม.)	เวลาวัฏจักร (ชม.)
NB+NaAc = 500+0 NB+NaAc = 350+150 NB+NaAc = 250+250 NB+NaAc = 0+500 กลูโคส 500 (G1)	50	15	18/5/1	24
กลูโคส 500 (G2)	25	5		
กลูโคส 500 (G3)	50	15	6/5/1	12

หมายเหตุ : NB = นิวเทรียนต์บรอธ NaAc = โซเดียมอะซิเทต

ตัวแปรอิสระ

- ชนิดของสารอาหารคือ นิวเทรียนต์บรอธ + โซเดียมอะซิเทตที่ 500+0, 350+150, 250+ 250 และ 0+500 มก./ล.ซีโอดี และกลูโคสที่ 500 มก./ล.ซีโอดี
- ช่วงเวลาแอนแอโรบิก (18 ชม.ในชุดทดลองNB+NaAc, G1 และ G2 และ 6 ชม.ในชุดทดลองG3)
- อุณหภูมิ (ตามสภาพจริง) โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 27.5 – 31.4 องศาเซลเซียส

ตัวแปรตาม

ได้แก่ พีเอช โออาร์พี ออกซิเจนละลาย ซีโอดี ทีเคเอ็น ฟอสฟอรัสละลาย เอสวี 30 เอ็มแอลเอสเอส เอ็มแอลวีเอสเอส เอสเอส สภาพด่าง พีเอชเอ และสี

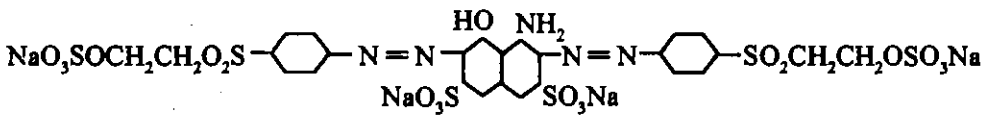
3.2 การเริ่มเดินระบบ

ในการวิจัยนี้ เริ่มเดินระบบโดยการเติมเอ็มแอลเอสเอสลงในถังปฏิกิริยา เพื่อให้มีค่าเอ็มแอลเอสเอสเริ่มต้นในแต่ละชุดการทดลองประมาณ 2500 มก./ล. โดยการทดลองที่ใช้นิวเทรียนต์บรอธ+โซเดียมอะซิเทตเป็นสารอาหารจะเริ่มโดยการนำเชื้อจากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยามาผสม

กับเชื้อที่เป็นPAOsคือ Acinetobacter calcoaceticus และ Pseudomonas fluorescens (ซื้อจากหน่วยบริการเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ) ซึ่งใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อถึง 7 เดือน(ดูภาคผนวก ค) จนแน่ใจว่าเป็นระบบอีบีพีอาร์ ทำการผสมเชื้อทั้งสองในอัตราส่วน 1 : 1 นำเชื้อที่ผสมแล้วนี้มาใส่ในตอนเริ่มต้นของระบบ ส่วนในการทดลองที่ใช้กลูโคสเป็นสารอาหารจะนำเชื้อใหม่จากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยาอย่างเดียวมาใส่ในตอนเริ่มเดินระบบ ทั้งนี้ก็เพราะต้องการให้เกิดเป็นเฉพาะGAOs ขึ้นในระบบ เพื่อเปรียบเทียบดูผลของความแตกต่างของชนิดจุลินทรีย์ในการกำจัดสี

3.3 น้ำเสียสังเคราะห์

สารที่เติม	ความเข้มข้นที่ต้องการ	ปริมาณที่เติม/ลิตร
Nutrient Broth	ซีโอดี 500; 350; 250 มก./ล.	545; 381.5; 272.5 มก. ตามลำดับ
$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$	ซีโอดี 500 มก./ล.	521 มก.
$CH_3COONa \cdot 3H_2O$	ซีโอดี 500; 250; 150 มก./ล	1,068; 534; 320.4 มก. ตามลำดับ
$(NH_2)_2CO$	ทีเคเอ็น 50; 25 มก.ไนโตรเจน/ล.	107; 53.5 มก. ตามลำดับ
KH_2PO_4	ฟอสฟอรัสทั้งหมด 15; 5 มก.ฟอสฟอรัส/ล.	66; 22 มก. ตามลำดับ
$NaHCO_3$	ความเป็นด่าง 500 มก. ไบคาร์บอเนต/ล.	688.5 มก.
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	เหล็ก 2.5 มก./ล.	7.25 มก.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	แมกนีเซียม 3.75; 1.25 มก./ล.	38; 12.7 มก. ตามลำดับ
$CaCl_2$	แคลเซียม 7.5; 2.5 มก./ล.	21; 7 มก. ตามลำดับ
Remazol Black B	สี 10 มก./ล.	10 มก.



2-(*p*-Aminophenysulfonyl)ethanol sulfate ester (2 mol.) ⇉ H-acid

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในแต่ละชุดการทดลองสำหรับกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก มีการติดตั้งดังรูปที่ 3.2 ใช้ไมโครโพรเซสเซอร์เพื่อควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆ และมีขั้นตอนการทำงานของช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้

1 : เปิด/ปิดโซลินอยด์วาล์วของท่อน้ำเข้า(A) ที่ต่อกับถังเก็บน้ำเสียที่เข้าระบบในขั้นตอนเติมน้ำเสีย (5 นาที)

2 : เปิด/ปิดเครื่องกวน(B)ในขั้นตอนแอนแอโรบิกและแอโรบิก (23 ชม. ในวัฏจักร 24 ชม. หรือ 11 ชม.ในวัฏจักร 12 ชม., เปิดพร้อมกับการเติมน้ำเสียเข้าระบบเป็นmix fill)

3 : เปิด/ปิดเครื่องเติมอากาศ(C) ในขั้นตอนออกซิก (5 ชม.) หลังจากผ่านขั้นตอนแอนแอโรบิกแล้ว 18 ชม. ในวัฏจักร 24 ชม. (หรือ 6 ชม.ในวัฏจักร 12 ชม.) รวมทั้งเปิด/ปิดโซลินอยด์วาล์วของท่อที่ใช้ในการทิ้งสลัดจ์ส่วนเกิน(D) ในช่วงท้ายขั้นตอนแอโรบิก

4 : ปิดอุปกรณ์ทุกอย่าง เพื่อให้สลัดจ์จมตัว (55 นาที)

5 : เปิด/ปิดโซลินอยด์วาล์วของท่อน้ำทิ้ง(E) ในถังปฏิกิริยาหลังตกตะกอน (5 นาที)

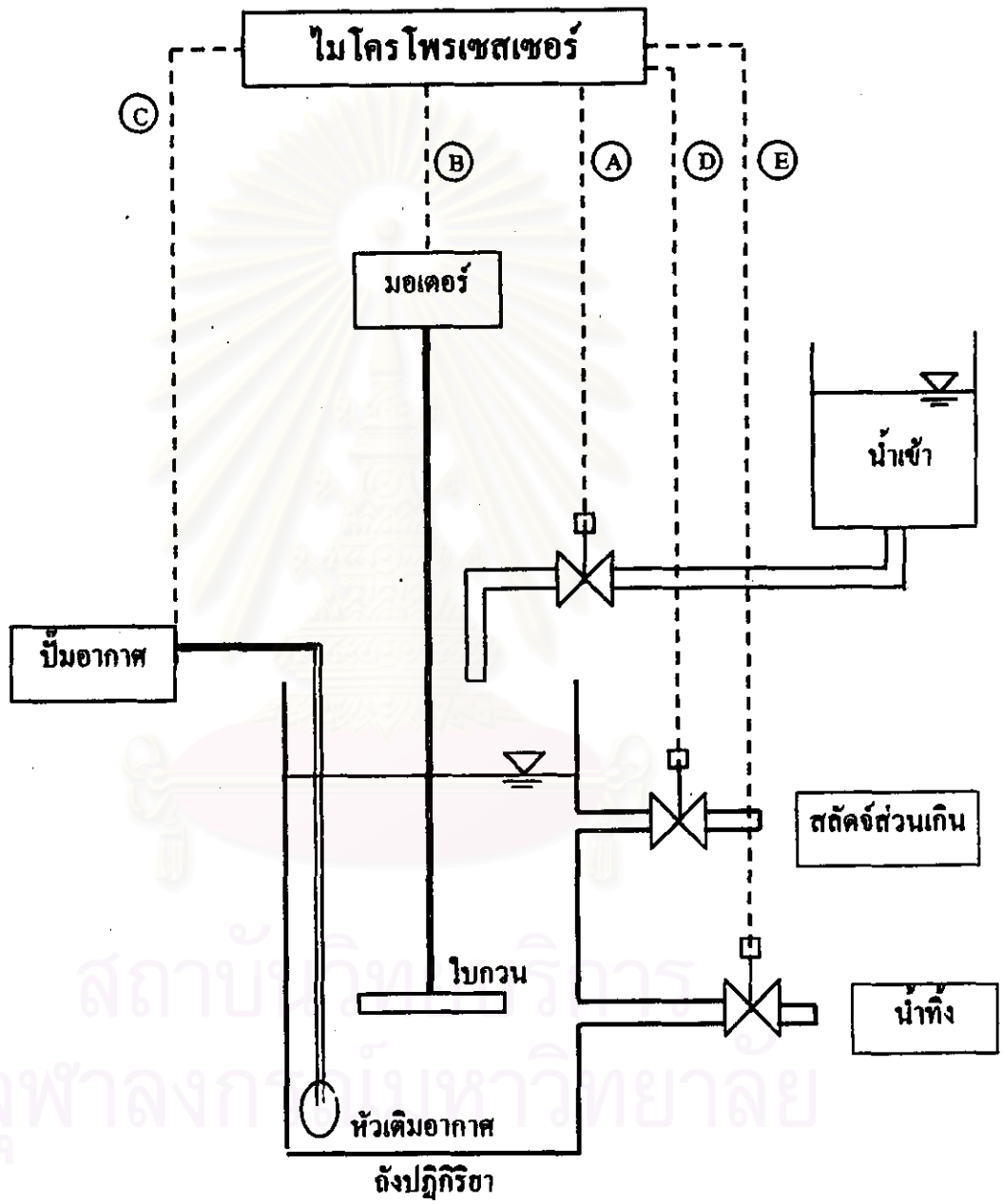
3.4.1 ถังปฏิกิริยา

ถังปฏิกิริยาเป็นถังอะคริลิกขนาดกว้าง 20 ซม. ยาว 20 ซม. สูง 40 ซม. จำนวน 3 ใบ โดยถังแต่ละใบเจาะรูที่ข้างถังจำนวน 2 รู เพื่อระบายน้ำใสส่วนบนทิ้ง และเพื่อระบายสลัดจ์ส่วนเกิน ตำแหน่งที่เจาะรูแสดงดังรูปที่ 3.1

หมายเหตุ : I - ท่อระบายน้ำทิ้งที่ $V_f : V_o = 2 : 1$

II - ท่อระบายสลัดจ์ส่วนเกิน

รูปที่ 3.1 ตำแหน่งที่เจาะรูข้างถังปฏิกิริยา



รูปที่ 3.2 เครื่องมือในการทดลองสำหรับกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

3.4.2 ถังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าระบบ

ถังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าระบบเป็นถังพลาสติกความจุ 10 ลิตร สำหรับเก็บกักน้ำเสียสังเคราะห์ก่อนเข้าระบบ โดยปริมาณน้ำเสียทั้งหมดที่เข้าระบบเท่ากับ 8 ลิตรต่อวัฏจักร โดยเจาะรูที่ก้นถังและมีไมโครโพรเซสเซอร์เป็นตัวควบคุมการเปิด/ปิดของโซลินอยด์วาล์ว

3.4.3 เครื่องกวน

เครื่องกวนจะใช้ทั้งในขั้นตอนแอนแอโรบิกและแอโรบิก ซึ่งประกอบด้วยมอเตอร์และใบพัด เพื่อทำหน้าที่ในการผสมน้ำเสียให้มีการสัมผัสกับเซลล์ของจุลชีพในการบำบัดน้ำเสีย โดยใบกวนทำด้วยพลาสติกและใช้มอเตอร์ที่มีความเร็วรอบระหว่าง 120-150 รอบ/นาที

3.4.4 เครื่องเติมอากาศ

เครื่องเติมอากาศจะทำหน้าที่ในการเติมออกซิเจนให้กับน้ำเสีย โดยจะใช้เป็นแบบปั๊มลมที่ใช้สำหรับเติมอากาศในตู้ปลา เพื่อคุมออกซิเจนละลายให้ไม่ต่ำกว่า 2 มก./ล.

3.4.5 ไมโครโพรเซสเซอร์

ไมโครโพรเซสเซอร์ ยี่ห้อมิตซูบิชิ รุ่น NS0 จำนวน input/output เท่ากับ 7/5 ทำหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆในระบบ เช่น ควบคุมการ เปิด/ปิดโซลินอยด์วาล์ว เครื่องเติมอากาศ และเครื่องกวน

3.4.6 อุปกรณ์อื่นๆ

- โซลินอยด์วาล์ว ยี่ห้อ SANGI รุ่น WK-15 ขนาด 0.5 นิ้ว จำนวน 3 ตัวต่อชุด ทำหน้าที่ในการเปิด/ปิดการไหลของน้ำในขั้นตอนเติมน้ำเสีย ทิ้งสลัดจ์ส่วนเกิน ปล่อยน้ำทิ้ง
- ท่อพีวีซี ขนาด 0.5 นิ้ว ทำหน้าที่เป็นทางเข้า/ออกของน้ำเสียและสลัดจ์ส่วนเกิน

3.5 การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์

ตารางที่ 3.2 ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างและความถี่การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์	ตำแหน่งการเก็บตัวอย่าง			
	น้ำเข้า	แอนแอโรบิก	ออกซิก	น้ำออก
พีเอช	3/W	3/W	3/W	3/W
ไอออร์พี	-	3/W/P	3/W/P	-
ออกซิเจนละลาย	-	3/W/P	3/W/P	-
อุณหภูมิ	3/W	3/W	3/W	3/W
ซีโอดี(กรอง, GF/C)	3/W*	3/W/P	3/W/P	3/W/P
ทีเคเอ็น(กรอง, GF/C)	3/W*	3/W/P	3/W/P	3/W/P
ฟอสฟอรัสละลาย (กรองด้วย 0.45 ไมครอน)	3/W*	3/W/P	3/W/P	3/W/P
พีเอชเอ	-	/P	/P	-
เอสวี 30	-	-	3/W	-
เอ็มแอลเอสเอส	-	-	3/W	-
เอ็มแอลวีเอสเอส	-	-	3/W	-
เอสเอส	-	-	-	3/W
สภาพด่าง(กรอง, GF/C)	3/W	3/W	3/W	3/W
สี (กรองด้วย 0.45 ไมครอน)	3/W	3/W/P	3/W/P	3/W/P

หมายเหตุ :

3/W : ตัวแปรที่ต้องวิเคราะห์สัปดาห์ละ 3 ครั้ง (เก็บที่ช่วงท้ายขั้นตอนต่างๆ)

/P : โพรไฟล์

* : ค่าทั้งหมด

ตารางที่ 3.3 วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
พีเอช	Electronic pH meter with glass electrode method (ยี่ห้อ Horiba รุ่น F-13)
โออาร์พี	Electronic ORP meter with platinum electrode method (ยี่ห้อ Radiometer รุ่น PHM80)
ออกซิเจนละลาย	Membrane electrode method (ยี่ห้อ YSI รุ่น Model 52)
อุณหภูมิ	Thermometer method (ยี่ห้อ YSI รุ่น Model 52)
ซีโอดี	Dichromate close reflux method
ทีเคเอ็น	Titration method
ฟอสฟอรัส	Vanadomolybdate acid method
พีเอชเอ	Gas Chromatography (ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น 7AG)
เอสวี 30	Settled Volume method
เอ็มแอลเอสเอส	GF/C + drying at 103 °C
เอ็มแอลวีเอสเอส	GF/C + drying at 550 °C
ของแข็งแขวนลอย	GF/C + drying at 103 °C
สภาพด่าง	Titration method
สี	Spectrophotometer, SHIMADZU UV-1201

การวัดสีนั้นจะกระทำโดยการนำน้ำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอน จากนั้นจึงนำไปวัดสีโดยใช้เครื่องสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ ซึ่งวัดสีออกมาในหน่วยแอ็บซอบแบนซ์ และเปอร์เซ็นต์ทรานสมิทแทนซ์ นำกราฟระหว่างค่าแอ็บซอบแบนซ์กับความยาวคลื่นมาหาพื้นที่ใต้กราฟมาคำนวณเป็นค่าสีในหน่วยเอสยู(Gregor, 1992) ซึ่งใช้เป็นตัวแทนในการดูแนวโน้มการกำจัดสีได้ ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ทรานสมิทแทนซ์จะนำมาคำนวณเป็นค่าสีในหน่วยเอดีเอ็มไอ ซึ่งเป็นหน่วยที่มีค่าโดดๆ(Allen, 1973)

ส่วนการวัดพีเอชเอกระทำโดยใช้วิธี GC (Lee, 1995 ; Randall, 1997) ซึ่งในการเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC กระทำดังต่อไปนี้

- นำตัวอย่างเอ็มแอลเอสเอสมาทำการหมุนเหวี่ยง(centrifuge) ที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาที (ให้ได้มวลอย่างน้อย 50 มก. ในการวิเคราะห์)
- นำมวลของแข็งที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงมาอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
- เติมสารละลายกรดซัลฟูริก 2 มล. (กรดซัลฟูริก 15 ส่วน ในเมธานอล 85 ส่วน)
- เติมสารละลายโซเดียมเบนโซเอต 0.1 มล. (ละลาย 1.695 ก. โซเดียมเบนโซเอตในเมธานอล 100 มล.)
- เติมคลอโรฟอร์ม 2 มล.
- นำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3.5 ชม. ทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 1 มล.
- เขย่าให้เข้ากัน 10 นาที เมื่อเสร็จแล้วจะเห็นการแยกชั้นโดยคลอโรฟอร์มอยู่ชั้นล่าง ส่วนน้ำและเมธานอลอยู่ชั้นบน

นำตัวอย่างที่เตรียมแล้วในชั้นล่าง(คลอโรฟอร์ม) 2 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่องGC โดยใช้คอลัมน์ EGSS-X 10 % mesh size 60/80 (3 มม. I.D. × 4 มม. O.D. ยาว 2 ม.) ใช้เครื่องตรวจวัดแบบ FID (flame ionization detector) และใช้ก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซพา(carrier gas)ที่อัตราการไหล 40 มล./นาที ตั้งอุณหภูมิของหัวฉีด(injector)ที่ 220 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด (detector)ที่ 220 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของเตา(oven)ที่ 140 องศาเซลเซียส

อนึ่งในงานนี้ไม่ได้วัดNO_x-N เพราะสีในน้ำเสียรบกวนการวิเคราะห์ การกำจัดไนโตรเจนจึงวัดเฉพาะในรูปทีเคเอ็น(ไม่ใช่ไนโตรเจนทั้งหมด) อย่างไรก็ตามเชื่อว่ามีการกำจัดNO_x-Nด้วย เพราะอาจุลลัดจ์นานพอและมีขั้นตอนแอน็อกซิกก่อนที่จะเกิดเป็นแอนแอโรบิกด้วย