

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

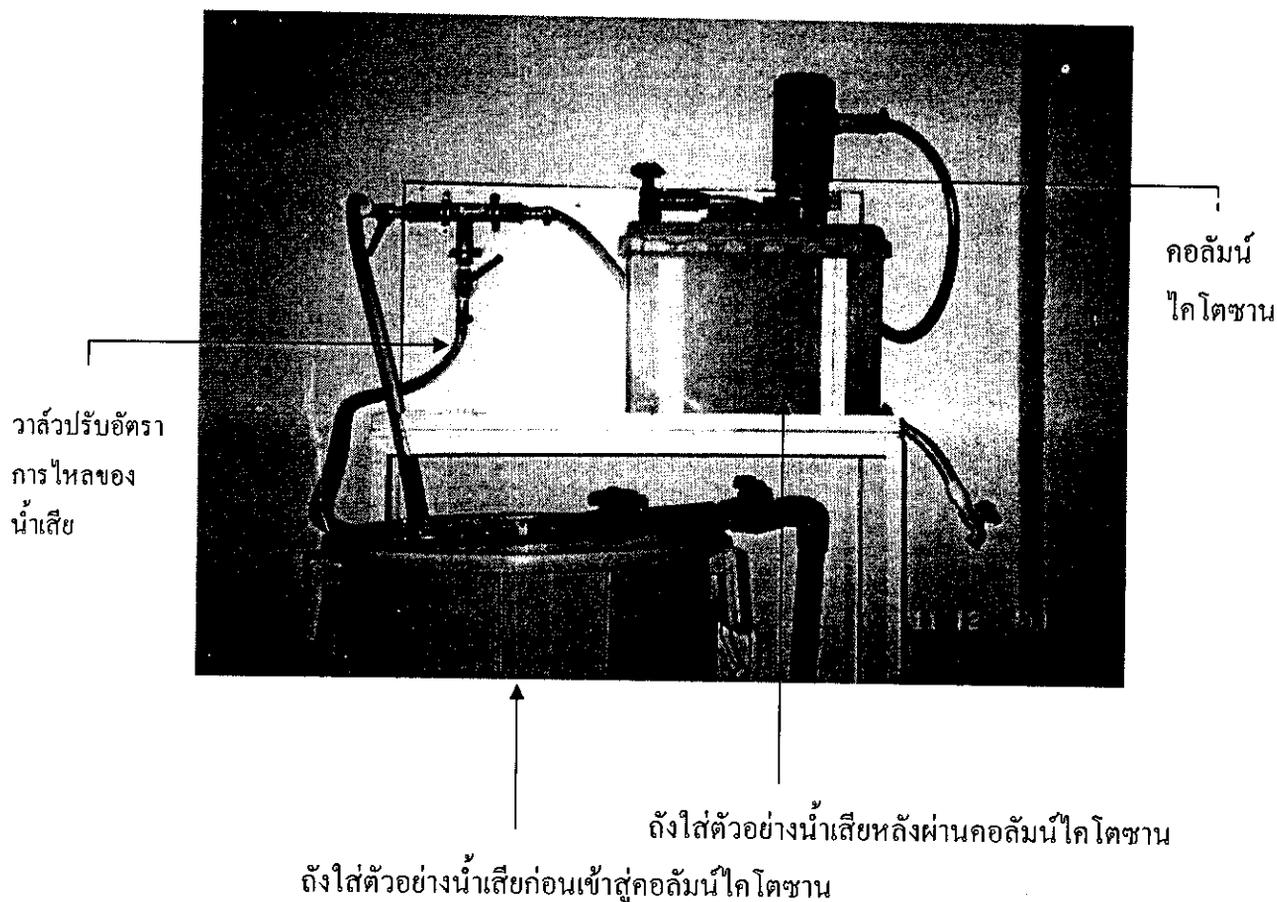
#### วัสดุอุปกรณ์

1. DO meter (YSI 5100 :Ohio ,USA)
2. ถังเก็บตัวอย่างขนาด 20 ล.
3. shaker (LM-570R: Yih der instrument, Thailand)
4. centrifuge (Z 233 MK-2: Hermle labortachnik, Germany)
5. ขวดบีโอดีพร้อมฝาจุกแก้ว
6. ตู้บ่มอุณหภูมิต่ำ
7. spectrophotometer (1001 plus :Milton Roy Spectronic)
8. suction pump (D3400 : Sartorius AG, Germany)
9. pH meter (pH 330/set-1 : Weilheim, Germany)
10. กระดาษกรอง GF/C
11. เครื่องวัดความขุ่น ( Model 2100 N : Dusseldorf, Germany)
12. คอลัมน์ไอโคโตซาน ดังแสดงในภาพ 12

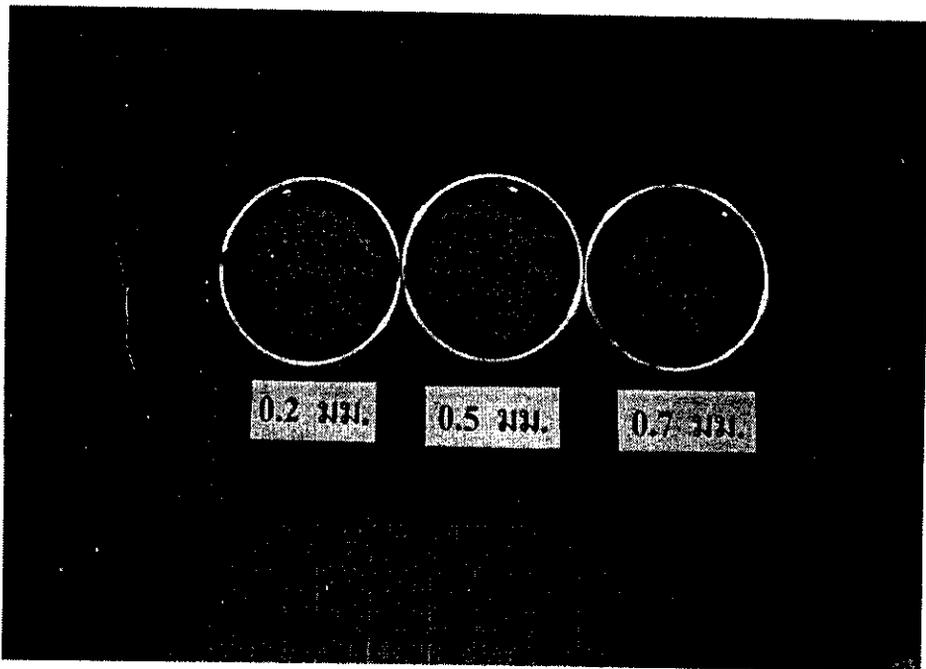
#### สารเคมี

1. Acetic acid
2. Sodium hydroxide
3. Deionize water
4. Potassium nitrate ( $KNO_3$ )
5. Potassiumdihydrogenphosphate ( $KH_2PO_4$ )
6. Sodium nitrite ( $NaNO_2$ )
7. Sodium hydroxide (NaOH)
3. Sodium choride (NaCl)
8. Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ )
9. Brucine sulphate

10. Sulphanilic acid
11. Sodium ethylene diamine tetraacetate (EDTA)
12. Sulphanilic acid
13. Napthyamine hydrochloride
14. Sodium acetate
15. Alcohol 95%
16. Ammonium molybdate
17. Potassium antimonyl ttrate
18. Ascorbic acid
19. Sulfuric acid



ภาพที่ 12 คอถัมน์ไคโตซานที่ใช้ในการศึกษา



ภาพที่ 13 ใคโตซานบีดส์ที่ใช้ในการศึกษานาถ 0.2, 0.5 และ 0.7 มม.

### ตัวอย่างน้ำเสีย

1. น้ำเสียจากแหล่งชุมชน เก็บจากท่อระบายน้ำเสียข้างตลาดสดหนองมน ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี ก่อนเก็บตัวอย่างทำการวัดค่าพีเอช อุณหภูมิ และบันทึกลักษณะทางกายภาพ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างแบบจ้วงตักด้วยกระบวยตักน้ำใส่ถังเก็บตัวอย่างขนาดความจุ 20 ล. จำนวน 3 ถัง นำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### ตะกอนเร่ง (activated sludge)

ตะกอนเร่งที่ใช้ในการศึกษานี้ นำมาจากระบบตะกอนเร่ง (activated sludge) โรงบำบัดน้ำเสียแสนสุขตอนล่าง โดยเก็บตัวอย่างตะกอนเร่งใส่ถังเก็บตัวอย่างขนาดความจุ 20 ล. จำนวน 1 ถัง หลังจากนั้นแบ่งใส่ถังเลี้ยงเชื้อปริมาตร 10 ล. ให้อาหารแก่จุลินทรีย์ในตะกอนเร่งทุกวัน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะใช้น้ำเสียจากแหล่งชุมชนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเติมน้ำเสีย 1% (v/v) ทุกวัน

## ไคโตซาน

ไคโตซานที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นไคโตซานผง จากหางุ้งส่วนจำกัดสยามไบโอเนทจ.ระยอง ระดับเกรดที่ใช้ในอุตสาหกรรม มีค่า degree of deacetylation (%DD) เท่ากับ 85%

### วิธีดำเนินการศึกษา

#### 1. การเตรียมไคโตซาน

ไคโตซานที่ใช้ในการทดลองนี้อยู่ในรูปบีดส์ (beads) วิธีการเตรียมประยุกต์มาจากวิธีของรัตนารุจิรวนิช (2544) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1.1 ชั่งผงไคโตซาน 20 กรัม ใส่ในสารละลายกรดอะซิติก 1% (v/v) ปริมาตร 1 ล. ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กวนอย่างต่อเนื่องจนได้สารละลายไคโตซานที่มีลักษณะหนืด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.2 หยดสารละลายไคโตซานลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 M โดยใช้สายยางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2, 0.5 และ 0.7 มม.

1.3 นำไคโตซานบีดส์ที่ได้ล้างด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนน้ำที่ล้างมีค่าพีเอช เท่ากับ 7

1.4 เก็บรักษาไคโตซานบีดส์ที่ได้ในน้ำปราศจากอ็อกซิเจนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 2. การศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานบีดส์ในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชนในระบบการเขย่า

วิธีการทดลองดัดแปลงมาจากวิธีของ โน และเมเยอร์ (No & Meyer, 1989)

##### 2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

2.1.1 เจือจางตัวอย่างน้ำเสียจากแหล่งชุมชนที่เก็บมา (มีค่าบีโอดีประมาณ 2,000-4,000 มก./ล.) โดยใช้ น้ำปราศจากอ็อกซิเจน วัดค่าบีโอดีตามวิธีการวิเคราะห์ ในภาคผนวก ก ให้อยู่ในช่วง 110 - 440 มก./ล.

2.1.2 เก็บรักษาตัวอย่างน้ำเสียที่เจือจางไว้ที่ห้องเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

##### 2.2 การศึกษาขนาดที่เหมาะสมของไคโตซานบีดส์

2.2.1 นำน้ำเสียตัวอย่างจากข้อ 2.1 ปริมาตร 120 มล. ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มล. ที่มีไคโตซานบีดส์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2, 0.5 และ 0.7 มม. ดังแสดงในภาพที่ 13 ในปริมาณ 10% (w/v) โดยมีชุดควบคุมคือ ตัวอย่างน้ำที่ไม่มีการเติมไคโตซานบีดส์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.2 นำชุดทดลองและชุดควบคุมไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที

2.2.3 ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาที

2.2.4 นำทิ้งส่วนบนไปวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

2.2.5 เปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ได้ระหว่างโคโคซานบีดส์ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2, 0.5 และ 0.7 มม. เพื่อหาขนาดที่เหมาะสมที่จะ นำไปใช้ในการทดลอง ขั้นต่อไป

2.3 การศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของโคโคซานบีดส์

2.3.1 นำน้ำเสียตัวอย่างจากข้อ 2.1 ปริมาตร 120 มล. ใส่ลงในฟลาสขนาด 250 มล. ที่มีโคโคซานบีดส์ขนาดเหมาะสม (จากผลการศึกษาในข้อ 2.2) ในปริมาณ 10, 20 และ 30% (w/v) ตามลำดับ โดยมีชุดควบคุมคือ ตัวอย่าง น้ำที่ไม่มีสารเติมโคโคซานบีดส์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.2 นำชุดทดลองและชุดควบคุมไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที

2.3.3 ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาที

2.3.4 นำน้ำเสียส่วนบนไปวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความ ขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

2.2.5 เปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ได้ระหว่างปริมาณโคโคซานบีดส์ 10, 20 และ 30% (w/v) เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการ ทดลองขั้นต่อไป

2.4 การศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

2.4.1 เตรียมตัวอย่างน้ำเสียในข้อ 2.1 ซึ่งมีค่าพีเอชต่าง ๆ คือ

ชุดที่ 1 ตัวอย่างน้ำเสียที่มีค่าพีเอช ประมาณ 5 (ไม่มีการปรับค่าพีเอช)

ชุดที่ 2 ตัวอย่างน้ำเสียที่ปรับค่าพีเอชประมาณ 7

ชุดที่ 3 ตัวอย่างน้ำเสียที่ปรับค่าพีเอชประมาณ 8

2.4.2 นำตัวอย่างน้ำเสียทั้ง 3 ชุด ปริมาตร 120 มล. ใส่ในฟลาสขนาด 250 มล. ที่เติมโคโคซานบีดส์ขนาดและปริมาณที่เหมาะสม (จากผลการทดลองในข้อ 2.2 และ 2.3) โดยมี ชุดควบคุม คือตัวอย่างน้ำเสียที่ไม่มีสารเติมโคโคซานบีดส์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.4.3 นำชุดทดลองและชุดควบคุมไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เกิดการตกตะกอน

2.4.4 นำส่วนที่เป็นสารละลายไปวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

2.4.5 เปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ได้ระหว่างน้ำเสียที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ กัน หาค่าพีเอชที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

### 3. การศึกษาประสิทธิภาพของคอลัมน์ไคโตซานในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน วิธีการทดลองดัดแปลงมาจากวิธีของ ลาสโก และเฮิร์สต์ (Lasko & Hurst, 1999)

#### 3.1 การศึกษาขนาดของไคโตซานบีดส์ที่เหมาะสม

3.1.1 เตรียม ไคโตซานบีดส์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2, 0.5 และ 0.7 มม.

โดยใช้วิธีการเตรียมไคโตซานบีดส์ดังรายละเอียดในข้อ 1

3.1.2 นำไคโตซานบีดส์แต่ละขนาดบรรจุลงในคอลัมน์ไคโตซานขนาด 3x21 นิ้ว ดังแสดงในภาพ 12 นำน้ำเสียตัวอย่างจากข้อ 2.1 ปริมาตร 30 ล. จำนวน

3 ถึง ทำการวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่นเริ่มต้น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก หลังจากนั้นนำน้ำเสียแต่ละถังผ่าน คอลัมน์ไคโตซาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อหนึ่งขนาดของไคโตซานบีดส์ โดยแต่ละซ้ำจะทำการเปลี่ยนไคโตซานบีดส์ในคอลัมน์

3.1.3 ตัวอย่างน้ำเสียที่ได้จากการผ่านคอลัมน์ไคโตซานนำมาวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอยและค่าความขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

3.1.4 เปรียบเทียบขนาดของไคโตซานบีดส์ในการลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ และนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

#### 3.2 การศึกษาความสามารถในการนำคอลัมน์ไคโตซานกลับมาใช้ใหม่

3.2.1 บรรจุไคโตซานบีดส์ (ขนาดจากผลการทดลองข้อ 3.1) ลงในคอลัมน์ไคโตซานขนาด 3x21 นิ้ว ดังแสดงในภาพ 12

3.2.2 นำตัวอย่างน้ำเสียจากข้อ 2.1 จำนวน 3 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วยตัวอย่างน้ำปริมาตร 20 ล. จำนวน 3 ถัง ทำการวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่นเริ่มต้น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก หลังจากนั้นนำตัวอย่างน้ำเสียแต่ละชุดผ่านคอลัมน์ไคโตซาน โดยแต่ละ ถังจะทำการผ่านแบบวนจำนวน 3 รอบ

3.2.3 ตัวอย่างน้ำเสียที่ได้จากการผ่านคอลัมน์ไคโตซานจะนำมาทำการวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอยและความขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ใน ภาคผนวก ก

3.2.4 บันทึกค่าความสามารถของคอลัมน์ไคโตซานในการนำกลับมาใช้งานใหม่

3.3 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของน้ำเสียจากแหล่งชุมชนผ่านคอลัมน์ไคโตซาน

3.3.1 บรรจุไคโตซานบีดส์ที่ขนาดเหมาะสม (จากผลการศึกษาข้อ 3.2) ลงในคอลัมน์ขนาด 3x21 นิ้ว

3.3.2 นำตัวอย่างน้ำเสียจากข้อ 2.1 ปริมาตร 10 ล. ทำการวิเคราะห์บีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่นเริ่มต้น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก หลังจากนั้นนำมาผ่านคอลัมน์ไคโตซานด้วยอัตราการไหล 1 ล./นาที่, 2 ล./นาที่ และ 3 ล./นาที่ โดยแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

3.3.3 นำตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านคอลัมน์ไคโตซานในแต่ละชุดการทดลองวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีการวิเคราะห์ใน ภาคผนวก ก

3.3.4 เปรียบเทียบอัตราการไหลของน้ำเสียจากค่าพารามิเตอร์ที่ลดลงเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

3.4 การศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมของน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

3.4.1 นำตัวอย่างน้ำเสียในข้อ 2.1 ปริมาตร 10 ล. ที่มีค่าพีเอชประมาณ 5 (ไม่มีการปรับค่าพีเอช), 7 และ 8 วิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และ ความขุ่นเริ่มต้น ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

3.4.2 นำตัวอย่างน้ำเสียในแต่ละค่าพีเอชผ่านคอลัมน์ไคโตซานที่บรรจุไคโตซานบีดส์ขนาดที่เหมาะสม (จากผลการศึกษาข้อ 3.1) โดยใช้อัตราการไหลของน้ำเสียที่เหมาะสม (จากผลการศึกษาข้อ 3.3) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.4.3 นำตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านคอลัมน์ไคโตซานวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีในภาคผนวก ก

3.4.4 เปรียบเทียบค่าพีเอชของตัวอย่างน้ำเสียจากค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ลดลง เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการใช้คอลัมน์ไคโตซาน

3.4.5 เปรียบเทียบการใช้ไคโตซานบีดส์ในระบบการเขย่าและคอลัมน์ไคโตซานในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

4. การศึกษาการใช้ตะกอนแร่และไคโตซานในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

4.1 การใช้ไคโตซานบีดส์บำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชนในระบบการเขย่า

4.1.1 เตรียมตัวอย่างน้ำเสียจากข้อ 2.1 ที่มีค่าพีเอชที่ได้จากผลการศึกษาข้อ 2

4.1.2 นำตัวอย่างน้ำเสียปริมาตร 120 มล. ใส่ในพลาสติกขนาด 250 มล. ที่เติม

โคโตซานบีดส์ขนาดและปริมาณที่ได้จากผลการศึกษาข้อ 2 โดยมีชุดควบคุมคือ ตัวอย่างน้ำเสียที่ไม่มีการเติมโคโตซานบีดส์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.1.3 นำชุดและชุดควบคุมไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอน

4.1.4 นำส่วนที่เป็นสารละลายไปวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีในภาคผนวก ก

4.2 การใช้คอลัมน์โคโตซานในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

4.2.1 นำตัวอย่างน้ำเสียจากข้อ 2.1 ที่มีค่าพีเอชจากผลการศึกษาข้อ 3 ปริมาตร 10 ล. วิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น เริ่มต้นตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก

4.2.2 นำตัวอย่างน้ำเสียผ่านคอลัมน์โคโตซานที่บรรจุโคโตซานบีดส์ขนาดและใช้อัตราการไหลของน้ำเสียที่ได้จากผลการศึกษาข้อ 3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2.3 นำตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านคอลัมน์โคโตซานวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีในภาคผนวก ก

4.3 การใช้ตะกอนเร่งและโคโตซานในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน

4.3.1 นำตัวอย่างน้ำเสียจากข้อ 2.1 ปริมาตร 30 ล. ใส่ในถังพลาสติกปากกว้าง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 50 เซนติเมตร เติมตะกอนเร่ง 10% (v/v) (ตะกอนเร่งที่ใช้มีค่า sludge volume index ระหว่าง 50–150 มก./ล.) ทำการทดลอง 3 ชุด

4.3.2 ทำการเติมอากาศแก่ตัวอย่างน้ำเสียเป็นเวลา 7 วัน โดยใช้หัวทราย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้วจำนวน 2 หัวต่อเข้ากับปั๊มให้อากาศ แล้วหย่อนลงในถังทดลอง ทั้ง 3 ชุด

4.3.3 เก็บตัวอย่างน้ำเสียปริมาตร 1 ล. ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน นำมาทำการตกตะกอนแยกส่วนน้ำเสียออกจากตะกอนเร่ง โดยการตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างน้ำเสียส่วนที่แยกออกจากตะกอนเร่งในแต่ละวันไปวิเคราะห์ค่าบีโอดี ปริมาณสารแขวนลอย และความขุ่น ตามวิธีในภาคผนวก ก

4.3.4 นำตัวอย่างน้ำเสียจากการบำบัดด้วยตะกอนเร่งเป็นระยะเวลา 3 วันไปบำบัดต่อด้วยโคโตซานบีดส์ในระบบการเขย่า โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากที่ทำการศึกษที่แล้วและวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ตามที่ได้ศึกษา

4.3.5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชนด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่การใช้ตะกอนเร่ง, การใช้โคโคซานบีดส์ในระบบการเขย่า และการใช้ตะกอนเร่งร่วมกับโคโคซานบีดส์