บทที่ 4

แผนการดำเนินการวิจัย

4.1 แผนการวิจัย

4.1.1 แผนงานทั่วไป

การวิจัยนี้ได้ทำขึ้นที่ห้องปฏิบัติการวิจัยภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การดำเนินการวิจัยประกอบไปด้วยขั้นตอนต่างๆ คือขั้นตอนการเพาะเชื้อแบคทีเรียในสารอาหารแบบ Pure Culture ขั้นตอนการปรับสภาพเชื้อให้มีความเคยชินกับน้ำเสียที่มีตะกอนสังเคราะห์ จากนั้นจึงเริ่มทำการทดลองแบบทีละเท (Batch Process) และแบบต่อเนื่อง (Continuous Process) ตามลำดับทั้งนี้ทุกครั้งจะต้องมีการทำ Control Run เพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองด้วย

4.1.2 ขั้นตอนการวิจัย

ขั้นตอนการวิจัยประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(ก) การเพาะเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คือ <u>*Thiobacillus ferrooxidans*</u> (ATCC 19859) ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว โดยใช้อัตราส่วนแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตรต่อสารอาหาร 50 มิลลิลิตร ในการเพาะเชื้อแต่ละครั้งจะได้เชื้อประมาณ 400 มิลลิลิตรและทุก ๆ 7 วัน จะต้องมีการเปลี่ยนสารอาหารใหม่ แบคทีเรียที่เหลือจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

โดยเก็บไว้ได้เพียง 1 เดือน การเปลี่ยนสารอาหารจะต้องกระทำอย่างต่อเนื่องจนกว่าการทดลองจะสิ้นสุดลง เพื่อจะได้มีเชื้อแบคทีเรียสำรองเก็บไว้ใช้ตลอดการวิจัย

(ข) การปรับสภาพเชื้อให้มีความเคยชินกับน้ำเสียที่มีตะกอนสังเคราะห์ (Adapt Culture)

ก่อนที่จะมีการนำเชื้อแบคทีเรียไปใช้ จะต้องมีการปรับสภาพเชื้อแบคทีเรียให้มีความเคยชินกับน้ำเสียก่อน โดยนำเชื้อแบคทีเรียไปเลี้ยงในสารอาหารที่มีความเข้มข้นของตะกอนซัลไฟด์ด้วย และเมื่อเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ ก็จะนำเชื้อแบคทีเรียชุดนี้ไปใช้ในการทดลองโดยสังเกตการเติบโตได้จากสีที่เปลี่ยนไป เป็นสีแดงของสนิมเหล็ก

(ค) ปฏิบัติการ Leaching แบบทีละเท (Batch Process)

ปฏิบัติการแบบทีละเทจะเริ่มทันที เมื่อเชื้อแบคทีเรียในขั้นตอนการปรับสภาพเชื้อมีการเจริญเติบโตแข็งแรงเต็มที่ โดยระยะเวลาในการทดลองจะใช้เวลาประมาณ 12-15 วัน พิจารณาจากประสิทธิภาพในการ Leaching โลหะหนักว่าสามารถ Leaching ได้สูงสุดหรือถึงจุด Steady Stage แล้ว

(ง) ปฏิบัติการ Leaching แบบต่อเนื่อง (Continuous Process)

ปฏิบัติการแบบต่อเนื่อง จะทำต่อจากแบบทีละเท เมื่อการ Leaching ของระบบมีค่าสูงสุดและคงที่แล้ว โดยจะมีการเปลี่ยนค่าระยะเวลาเก็บกัก (Detention Time) เป็น 4,3,2,1 วันตามลำดับ ซึ่งแต่ละช่วงเวลาเก็บกักจะใช้เวลาประมาณ 10 วันรวมเวลาที่ใช้ในการปฏิบัติการแบบต่อเนื่องเป็น 40 วัน

4.1.3 การเก็บผลและติดตามผล (Sampling and Monitoring)

ทำการเก็บตัวอย่าง ณ เวลาประมาณ 16.00 น. ของทุก ๆ วัน ตั้งแต่เริ่มการทดลองแบบทีละเท จนถึง แบบต่อเนื่อง พารามิเตอร์ทำการวิเคราะห์ได้แก่ pH,ORP,SS ส่วนน้ำใสที่ได้จากการกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ประมาณ 30 มิลลิลิตร จะใช้ในการวิเคราะห์ โลหะหนักสัปดาห์ละ 1 ครั้งด้วยเครื่อง Atomic Absorbtion ยี่ห้อ WATSON MARLOW ของภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการเก็บรักษาตัวอย่างระหว่างการรอนำไปวิเคราะห์แต่ละสัปดาห์จะต้องเก็บรักษาด้วยไนตริก (1+1)ให้มี pH ประมาณ 2 เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของระบบ ซึ่งได้แก่สีของน้ำเสียในถังปฏิกรณ์มีส่วนช่วยในการควบคุมระบบ กล่าวคือ ถ้าปฏิกิริยาดำเนินไปได้ด้วยดี จะมีสีค่อนข้างเป็นน้ำตาลแดง

4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

4.2.1 ถังปฏิกรณ์ (Reactor)

การสกัดโลหะหนักออกจากตะกอนสลัดจ์นี้ จะทำในถังปฏิกรณ์ใสทำด้วยพลาสติกอะครีลิกขนาด 25x25x30 เซนติเมตร ที่มีการควบคุมปริมาตรที่ 15 ลิตร โดยในการทดลอง 1 ชุดจะประกอบด้วยถังปฏิกรณ์ 3 ใบ ใบแรกเติม $FeSO_4.7H_2O$ 1.0 กรัม/ลิตร ใบที่สองเติม $FeSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม/ลิตรและใบสุดท้ายไม่เติม $FeSO_4.7H_2O$ เพื่อเป็น Control Run โดยที่ในถังปฏิกรณ์แต่ละใบทำหน้าที่เป็นทั้งถังเติมอากาศ และถัง Mixingไปในตัว

4.2.2 แหล่งเก็บตะกอน (Sludge Storage)

ใช้ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 4 ลิตร ทำด้วยแก้ว Pyrex เจาะรูที่ก้น เป็นช่องส่งตะกอนไปยังถังปฏิกรณ์

4.2.3 เครื่องกวน (Magnetic Stirrer)

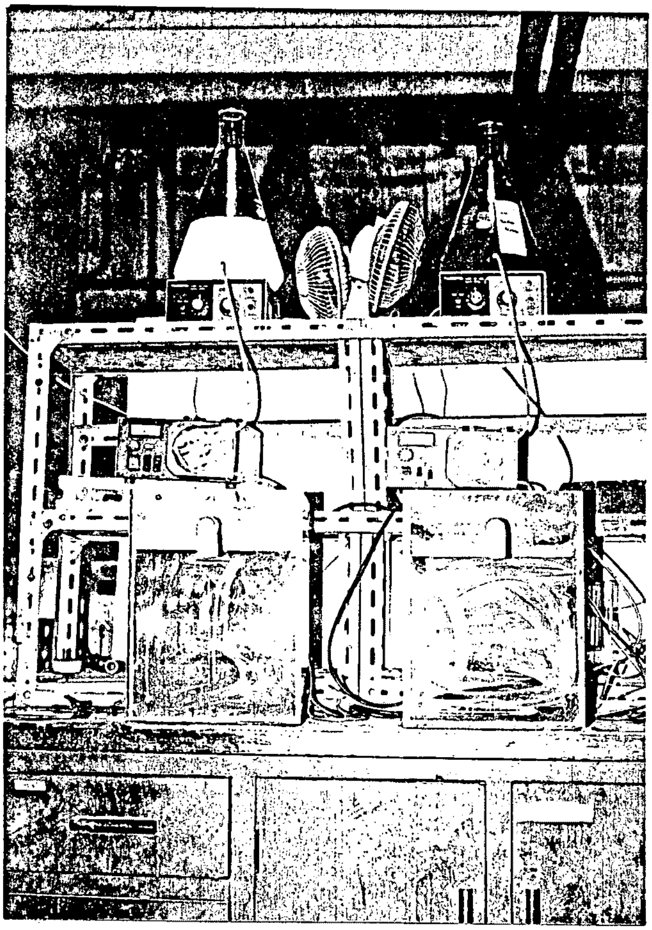
เครื่องกวนทำหน้าที่กวนตะกอนใน Sludge Storage ไม่ให้ตกตะกอน และเพื่อผสม $FeSO_4.7H_2O$ ให้ทั่วถึง

4.2.4 เครื่องสูบชนิดรีดสาย (Peristaltic Pump)

เครื่องสูบชนิดรีดสายที่ใช้ในการวิจัยเป็นยี่ห้อ WATSON MARLOW จะถูกปรับอัตราการสูบให้เกิดระยะเวลาเก็บกัก (Detention Time) 4,3,2 และ 1 วันในถังปฏิกรณ์ขนาด 15 ลิตร

4.2.5 เครื่องเติมอากาศ (Air Blower)

เครื่องเติมอากาศที่ใช้เป็น Air Blower เนื่องจากให้ลมที่แรงกว่าทำให้เกิดการเติมอากาศอย่างทั่วถึงภายในถังปฏิกรณ์ นอกจากนี้ยังสะดวกในการติดตั้งด้วย ส่วนหัวเติมอากาศใช้แบบหัวฟู่ซึ่งใช้ในตู้เลี้ยงปลาทั่วไป



รูปที่ 4.1 แสดงถึง Model ที่ใช้ในการวิจัย

4.3 ตะกอนสลัดจ์สังเคราะห์ (Synthetic Sludge)

ตะกอนสลัดจ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นตะกอนซัลไฟด์ มี 3 ชนิดคือ CuS , NiS และ ZnS โดยเตรียมให้ได้ความเข้มข้นของตะกอนสลัดจ์ 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตรเตรียมได้โดยใช้ตะกอนสลัดจ์ 3 กรัมและ 6 กรัมตามลำดับ แล้วผสมน้ำให้ได้ 15 ลิตรใส่ลงในถังปฏิกรณ์

4.4 วิธีการทดลอง

4.4.1 การเลี้ยงแบคทีเรีย

การเลี้ยงแบคทีเรียจะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร หรือขวดที่มีปริมาตรประมาณ 1 ลิตร โดยใช้ปริมาณแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตรต่อสารอาหาร 50 มิลลิลิตร และเติมอากาศโดยต่อสายยางเข้ากับปิเปตต์ แล้วเสียบปิเปตต์ลงในขวดที่อุณหภูมิห้องจนกว่าแบคทีเรียจะเจริญเติบโตจึงนำไปใช้ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความเคยชินกับน้ำเสียต่อไป ส่วนการเปลี่ยนสารอาหารใหม่จะทำทุก ๆ 7 วัน หรือเมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่ (ซึ่งจะสังเกตได้จากสีของสารอาหารจะเปลี่ยนเป็นสีแดงของสนิมเหล็ก และมีคราบสนิมเกาะที่ข้างขวด)

4.4.2 การปรับสภาพเชื้อให้มีความเคยชินกับน้ำเสียสังเคราะห์ (Adapt Culture)

ในการบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไป การใช้เชื้อเป็น Seed ต้องมีช่วงระยะเวลาหนึ่งที่ให้เชื้อปรับตัวให้เคยชินกับน้ำเสียซึ่งเรียกว่าช่วง Start Up ขั้นตอนการ Start Up นี้มีความสำคัญมาก เพราะถ้า Seed ไม่สามารถที่จะปรับตัวให้เข้ากับน้ำเสีย ก็ไม่สามารถที่จะดำเนินการบำบัดน้ำเสียได้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะดังกล่าว

การปรับสภาพเชื้อของเชื้อ ***Thiobacillus ferrooxidans*** ให้มีความเคยชินกับน้ำเสีย จะทำในขวดแก้ว หรือ ขวดรูปชมพู่ ขนาด 1 ลิตร โดยใช้ตะกอนโลหะซัลไฟด์สังเคราะห์ที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2-5 มิลลิลิตร เติมในสารอาหาร 500 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 4 เลี้ยงจนสังเกตว่าสีของสารอาหารเปลี่ยนเป็นสีแดง จึงมีการเติมตะกอนซัลไฟด์ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีการเติม $FeSo_4.7H_2O$ 1 กรัมต่อลิตรจำนวน 15 มิลลิลิตรทุก ๆ 2 วันเป็นเวลา 1 เดือน และในช่วงนี้ต้องมีการเติมอากาศอย่างเพียงพอ

4.4.3 การปฏิบัติการแบบทีละเท

ใช้ถังปฏิกรณ์ขนาด 25x25x30 เซนติเมตร จำนวน 3 ใบ แต่ละใบจะควบคุมปริมาตรให้อยู่ที่ 15 ลิตร ความเข้มข้นของตะกอนในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในถังปฏิกรณ์ใบแรกจะเติม $FeSO_4.7H_2O$ 1.0 กรัมต่อลิตร (15 กรัม/15 ลิตร) ถังปฏิกรณ์ใบที่สองเติม $FeSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัมต่อลิตร (7.5 กรัม/15 ลิตร) ถังปฏิกรณ์ใบที่สามไม่ต้องเติม $FeSO_4.7H_2O$ เพื่อทำหน้าที่เป็น Control Run และทุกใบจะปรับ pH ให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดซัลฟิวริก 1 N ในถังปฏิกรณ์ 2 ใบแรกจะเติมแบคทีเรียที่ได้ทำการปรับสภาพเชื้อแล้วลงไป 300 มิลลิลิตรเติมอากาศและการMixing อย่างทั่วถึงโดยใช้ Air Blower และทุก ๆ วันเวลาประมาณ 16.00 น. จะเก็บตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ถังละประมาณ 30 มิลลิลิตรเพื่อนำไปวิเคราะห์โลหะหนัก จากนั้นจึงเติม $FeSO_4.7H_2O$ ลงไป 1 กรัมต่อลิตร และ 0.5 กรัมต่อลิตร ในถังปฏิกรณ์ใบที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

4.4.4 ปฏิบัติการ Leaching แบบต่อเนื่อง

ปฏิบัติการ Leaching แบบต่อเนื่องจะทำต่อจากแบบทีละเท ซึ่งปฏิบัติการแบบทีละเทจะใช้เวลาประมาณ 10-15 วัน (ซึ่งต้องพิจารณาจากผลการวิเคราะห์โลหะหนัก ว่าถึงจุดสูงสุดและคงที่แล้ว) ชุดของเครื่องมือจะเพิ่ม Sludge storage ซึ่งยกระดับให้สูง

Sludge Storage นี้จะวางบน Magnetic Stirrer เพื่อกวนไม่ให้สลัดจ์ตกตะกอนและจะสูบตะกอนด้วยเครื่องสูบแบบรีดสายซึ่งมีข้อแนะนำว่าสายยางซิลิโคนที่ต่อจาก Sludge Storage ลงสู่เครื่องสูบแบบรีดสาย ควรจะอยู่ในแนวดิ่ง เพื่อป้องกันการตกตะกอนในเส้นท่อจากนั้นปรับอัตราการสูบตะกอนให้มี Detention Time ในถังปฏิกรณ์เป็น 4 วัน (ขณะเริ่มต้น) เมื่อเวลาผ่านไป 10-15 วันหรือพิจารณาจากการวิเคราะห์โลหะหนัก ว่าถึง Steady Stage ของการ Leaching หรือยังถ้าระบบเข้าสู่ Steady Stage ก็ปรับอัตราการสูบให้เกิด Detention Time 3 วัน, 2 วัน และ 1 วันในถังปฏิกรณ์ตามลำดับ

ตะกอนที่เก็บใน Sludge Storage จะต้องเติม $FeSO_4.7H_2O$ ลงไป 1.0 กรัมต่อลิตร และ 0.5 กรัมต่อลิตร สำหรับของถังปฏิกรณ์ใบที่ 1 และใบที่ 2 ตามลำดับและปรับ pH ให้เป็น 4 ด้วย กรดซัลฟิวริก 1N จากนั้นทุก ๆ วันเวลาประมาณ 16.00 น. จึงเก็บตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ถังละประมาณ 30 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์โลหะหนัก