

บทที่ 3

การวางแผนการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

การทดลองกระทำที่ห้องปฏิบัติการปริญญาโท ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีจำนวน 3 ถังที่มีลักษณะเหมือนกัน ทำการทดลองทั้งสิ้น 6 การทดลอง โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดละ 3 การทดลอง และใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลทรายและกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน

ตัวแปรอิสระที่ต้องกำหนดให้คงที่ คือ

- อัตราการสูบน้ำเสียสังเคราะห์เข้าระบบเท่ากับ 8 ล./วัน เท่ากันหมดทุกการทดลอง
- ระดับความเข้มข้นของซีไอดี เท่ากับ 500 มก./ล.

ตัวแปรอิสระทำการศึกษาคือ น้ำตาลและอะซิเตด

- อัตราส่วนซีไอดีต่อซัลเฟต 3 ค่า คือ 12, 6 และ 0.6
- ระดับความเข้มข้นของซัลเฟตตามอัตราส่วนซีไอดีต่อซัลเฟต คือ 840, 84 และ 42 มก./ล.

ตัวแปรตามที่ต้องวิเคราะห์คือ

- พีเอชและอุณหภูมิ
- ไออาร์พี
- ของแข็งแขวนลอยและของแข็งทั้งหมด
- สภาพต่างทั้งหมด
- ซีไอดีรวมในน้ำเสียสังเคราะห์เข้าระบบ
- ซีไอดีละลายซึ่งไล่ซัลไฟด์ออกแล้วในน้ำออกจากระบบ
- ปริมาณซัลเฟต
- ปริมาณซัลไฟด์รวม
- ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

- ปริมาณก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์
- ร้อยละของปริมาณก๊าซมีเทน, คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์
- MPN ของปริมาณแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

รายละเอียดของแผนการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลอง

ลำดับชุด การทดลอง	สารอาหาร	ความเข้มข้น (มก./ล.)		ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ ลบ.ม.-วัน)	อัตราส่วน ซีไอดี ต่อซัลเฟต	ปริมาณ น้ำเสีย (ล./วัน)	เวลากัก (ชั่วโมง)
		ซีไอดี	ซัลเฟต				
1/1	น้ำตาล	500	42	4.0	12	8	9
1/2	น้ำตาล	500	84	4.0	6	8	9
1/3	น้ำตาล	500	840	4.0	0.6	8	9
2/1	อะซิเตต	500	42	4.0	12	8	9
2/2	อะซิเตต	500	84	4.0	6	8	9
2/3	อะซิเตต	500	840	4.0	0.6	8	9

ป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีด้วยเครื่องสูบน้ำแบบรีดสายในอัตรา 8 ล./วัน เท่ากัน ทั้ง 3 ถังปฏิกรณ์ คิดเป็นเวลากักน้ำ 9 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเข้าและออกมาวิเคราะห์หาพารามิเตอร์ต่าง ๆ จนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว

3.2 การเตรียมน้ำเสีย

3.2.1 ส่วนประกอบของน้ำเสีย

น้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นในการทดลองนี้แบ่งเป็น 2 ชุดตามชนิดของสารอาหาร คือ น้ำตาล และอะซิเตต เพื่อศึกษาถึงผลของชนิดของสารอาหาร และในแต่ละชุดการทดลองจะเติมสารอาหารในปริมาณเทียบเท่ากับ 500 มก./ล. และแปรค่าความเข้มข้นซัลเฟตเป็น 42, 84 และ 840 มก./ล. เพื่อให้ได้ค่าอัตราส่วนซีไอดีต่อซัลเฟตเป็น 12, 6 และ 0.6 เป็นการศึกษาถึงผลของอัตราส่วนซีไอดีต่อซัลเฟต แต่นอกจากน้ำตาลหรืออะซิเตต และซัลเฟตที่ต้องเติมเพื่อศึกษาถึงผลที่

เกิดขึ้นแล้ว แแบกที่เรียในระบบซึ่งเป็นแบกที่เรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจนยังต้องการใช้ธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ อีกเพื่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิต จึงจำเป็นต้องมีการเติมธาตุอาหารอื่นลงไป ในน้ำเสียที่สังเคราะห์ขึ้นด้วย ธาตุอาหารหลักที่จำเป็นกับแบกที่เรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจนได้แก่ ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, และเหล็ก ซึ่งเติมในรูปของไนโตรเจน โซเดียมฟอสเฟต และเฟอริกคลอไรด์ ตามลำดับ ส่วนธาตุอาหารอื่นที่ต้องการเพียงเล็กน้อย แต่จำเป็นได้แก่ โคบอลท์ และนิกเกิล จะเติมในรูปของคลอไรด์ของโคบอลท์และนิกเกิล นอกจากนั้น ยังจำเป็นต้องเติมบีโอฟอรีให้กับระบบ เพื่อเป็นการรักษาระดับพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบกที่เรีย รายละเอียดของปริมาณสารที่เติมในน้ำเสียสังเคราะห์ ในชุดการทดลองต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 3.2 สัดส่วนของสารต่าง ๆ คิดเทียบกับซีไอดีแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของน้ำเสีย

ส่วนประกอบ		ลำดับชุดการทดลอง					
		1/1	1/2	1/3	2/1	2/2	2/3
น้ำตาล ^a	มก.	3,800	3,800	3,800	-	-	-
อะซิเตต ^b	มล.	-	-	-	4	4	4
โซเดียมซัลเฟต ^c	มก.	500	1,000	10,000	500	1,000	10,000
โซเดียมไบคาร์บอเนต ^c	มก.	2.85	2.85	2.85	2	2	1.5
โซเดียมไฮดรอกไซด์ ^d	มล.	-	-	-	4.0	4.0	3.75
ยูเรีย	มก.	175	175	175	175	175	175
โซเดียมฟอสเฟต	มก.	110	110	110	110	110	110
เฟอริกคลอไรด์	มก.	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3
นิกเกิลคลอไรด์	มก.	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63
โคบอลท์คลอไรด์	มก.	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63
น้ำประปา	ล.	-	8	8	-	8	8
น้ำกลั่น	ล.	8	-	-	8	-	-

^a น้ำตาลทรายยี่ห้อวังขนาย

^b กรดอะซิติกเข้มข้นยี่ห้อ J.T.Baker

^c Commercial grade

^d โซเดียมไฮดรอกไซด์ 8.8 N

ตารางที่ 3.3 สัดส่วนของสารต่าง ๆ ที่เติมคิดเทียบกับซีไอดี

การทดลองที่	สารที่เติม	อัตราส่วน	
1	โซเดียมคาร์บอเนต	COD:Total Alk	1:0.5
	ยูเรียและโซเดียมฟอสเฟต	COD:N:P	100:2:0.5
	เฟอร์ริกคลอไรด์, นิกเกิลคลอไรด์ และโคบอลท์คลอไรด์	COD:Fe:Ni:Co	100:0.07: 0.007:0.007
2	โซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมไฮดรอกไซด์*	COD:Total Alk	1:0.5
	ยูเรียและโซเดียมฟอสเฟต	COD:N:P	100:2:0.5
	เฟอร์ริกคลอไรด์, นิกเกิลคลอไรด์ และโคบอลท์คลอไรด์	COD:Fe:Ni:Co	100:0.07: 0.007:0.007

* เฉพาะชุดการทดลองที่ 2/3 (ความเข้มข้นของซัลเฟตในน้ำเสีย 840 มก./ล. ใช้ซีไอดีเป็นสารอาหาร) COD:Total Alk = 1:0.4

3.2.2 วิธีการเตรียมน้ำเสีย

การเตรียมน้ำเสียในแต่ละวันจะเตรียมน้ำเสียในถังน้ำพลาสติกขนาด 12 ล. ก่อนการเปลี่ยนน้ำเสียประมาณ 45 นาที เมื่อน้ำเสียหมดจะนำถังพักน้ำเสียมาล้างทำความสะอาดก่อนแล้วจึงเติมน้ำเสียที่เตรียมไว้ลงในถังพักน้ำเสียที่สะอาดแล้ว การเตรียมน้ำเสียทั้งในการทดลองแรกและการทดลองที่ 2 จะเตรียมสารเคมีในรูปของสารละลาย ยกเว้นโซเดียมไบคาร์บอเนตซึ่งเติมในรูปของแข็ง

การเตรียมสารอาหาร

- ในการทดลองแรก เตรียมสารละลายน้ำตาลโดยใช้น้ำตาล 1 กก. แล้วเติมน้ำให้มีปริมาตรรวม 2.5 ล. เขย่าขวดทุก 1 ชั่วโมงประมาณ 3 – 4 ครั้งและตั้งทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้น้ำตาลละลายเข้ากับน้ำเป็นเนื้อเดียว หาค่าซีไอดีของสารละลายน้ำตาลได้ประมาณ 421,000 มก./ล. การเตรียมน้ำเสียในแต่ละวันจึงเติมสารละลายน้ำตาล 9.6 มล. ในน้ำ 8 ล.
- ในการทดลองที่ 2 ใช้กรดอะซิติกเข้มข้น 3.8 – 4 มล. เติมน้ำ 8 ล. (ในช่วงแรกของการทดลองที่ 2 ใช้กรดอะซิติกเข้มข้นมาเตรียมเป็นสารละลายกรดอะซิติกโดยใช้

กรดอะซิติกเข้มข้น 200 มล. เติมน้ำให้เป็น 1 ล. เก็บไว้ในตู้เย็น สารละลายที่เตรียมไว้ จะใช้ปริมาณมากขึ้นเรื่อย ๆ เพื่อรักษาค่าซีโอดีในน้ำเข้าให้คงที่ โดยเพิ่มจาก 19 มล. เป็น 23 มล. ต่อวัน 8 ล. คาดว่าสารละลายที่เตรียมไว้ อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นจากการระเหยของกรดอะซิติก จึงได้เปลี่ยนมาใช้กรดอะซิติกเข้มข้นในการเตรียมน้ำเสียแทนเพราะคิดว่าความเข้มข้นอาจเปลี่ยนแปลงไม่มากเท่ากับสารละลายกรดอะซิติก พบว่าใช้กรดอะซิติกเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 3.8 มล. ในตอนเริ่มใช้มาเป็น 4 มล. เมื่อสิ้นสุดการทดลอง) ในระหว่างการทดลองต้องตรวจสอบปริมาณกรดอะซิติกที่เติมกับค่าซีโอดีของน้ำเข้าทุกสัปดาห์

การเตรียมธาตุอาหาร

- ซัลเฟต ใช้โซเดียมซัลเฟตชนิด commercial grade ในการเตรียมน้ำเสีย จากการวิเคราะห์พบว่ามีซัลเฟตอยู่ประมาณ 66 – 70 % ของน้ำหนักทั้งหมด การเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตจึงเตรียมโดยใช้โซเดียมซัลเฟตหนัก 100 ก. และ 400 ก. ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 2.5 ล. จะได้สารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 40 ก./ล. และ 160 ก./ล. หลังการเตรียมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเสร็จต้องตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายทุกครั้ง เพื่อป้องกันความผิดพลาดจากเปอร์เซ็นต์ความไม่บริสุทธิ์ของโซเดียมซัลเฟตที่อาจเปลี่ยนแปลงได้ ในการเตรียมน้ำเสีย จะเติมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 40 ก./ล. 5 มล. ในน้ำกลั่น 8 ล. เพื่อให้ได้น้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตเป็น 42 มก./ล. สาเหตุที่ต้องใช้น้ำกลั่นในการเตรียมน้ำเสียก็เพราะในน้ำประปามีซัลเฟตเข้มข้นประมาณ 30 – 50 มก./ล. ถ้าใช้น้ำประปาจะทำให้การควบคุมให้ซัลเฟตในน้ำเข้าเป็นไปได้อย่างมาก ส่วนน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตเท่ากับ 84 มก./ล. เตรียมโดยใช้น้ำประปา แต่จะวิเคราะห์หาซัลเฟตในน้ำประปาก่อนแล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมซัลเฟต 40 มก./ล. ที่เตรียมไว้เพื่อเพิ่มซัลเฟตในน้ำเสียให้ได้ความเข้มข้นเป็น 84 มก./ล. และใช้สารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 160 ก./ล. ประมาณ 25 มล. เติมนลงในน้ำประปา 8 ล. เพื่อให้ได้น้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟต 840 มก./ล. โดยก่อนเติมจะคิดซัลเฟตในน้ำประปาก่อนเติมทุกครั้ง
- ยูเรียและฟอสเฟต ในทั้งสองการทดลองใช้สารละลายยูเรียและโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้นเดียวกันในการเตรียมน้ำเสีย โดยใช้ยูเรีย 90 ก. และโซเดียมฟอสเฟต 60 ก. ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมเป็น 2.5 ล. เติมน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ 5 มล. ต่อวัน เสีย 8 ล.

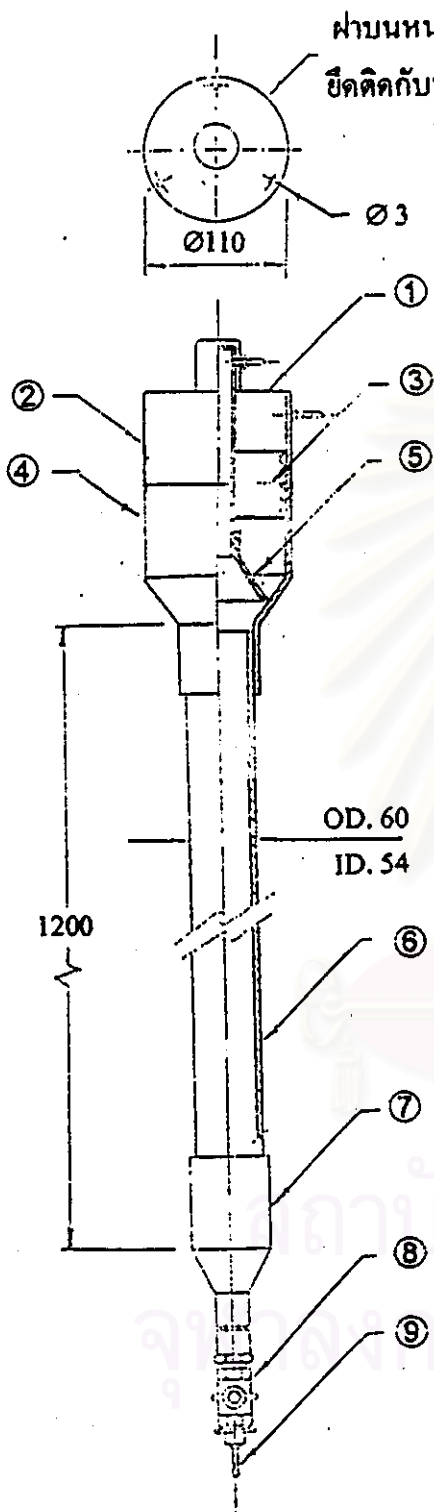
- เฟอริกคลอไรด์, นิกเกิลคลอไรด์และโคบอลท์คลอไรด์ เตรียมโดยใช้สารละลายโลหะหนักเข้มข้น 6.3 ก./ล. ลงในน้ำเสียโดยการใช้น้ำลดหยด โดยใช้สารละลายเฟอริกคลอไรด์ 20 หยดต่อน้ำเสีย 8 ล. ส่วนนิกเกิลและโคบอลท์คลอไรด์เติม 2 หยดต่อน้ำเสีย 8 ล.
- โซเดียมไบคาร์บอเนต ในการทดลองแรกใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต 2.85 ก.ต่อน้ำเสีย 8 ล. ส่วนในการทดลองที่ 2 ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต 2 ก. ร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 8.8 นอร์มัล 4 มล. ต่อน้ำเสีย 8 ล. สำหรับถังปฏิกรณ์ที่มีความเข้มข้นซัลเฟตเท่ากับ 42 และ 84 มก./ล. ส่วนที่ความเข้มข้นซัลเฟต 840 มก./ล. ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต 1.5 ก. และโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 8.8 นอร์มัล 3.5 มล.เติมในน้ำเสีย 8 ล.

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี

ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลองจำนวน 3 ถัง มีอยู่ 1 ถังที่ทำจากท่ออะคริลิกใส ส่วนอีก 2 ถังเป็นท่ออะคริลิกใสต่ออยู่กับท่อพีวีซีขนาด 2 นิ้ว ความสูงในส่วนของถังปฏิกรณ์ 1.2 ม. พื้นที่หน้าตัด 20 ตร.ซม. ปริมาตร 3 ล. ตอนบนเป็นอุปกรณ์แยก 3 สถานะ (Gas Solid Separator; GSS) ท่อน้ำเสียเข้าถังมีขนาด 1/8 นิ้ว ท่อน้ำออกมีขนาด 1/4 นิ้ว และมีท่อนำก๊าซขนาด 1/8 นิ้วต่อเข้ากับชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และอุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนที่น้ำ ลักษณะของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลองแสดงดังรูป 3.1

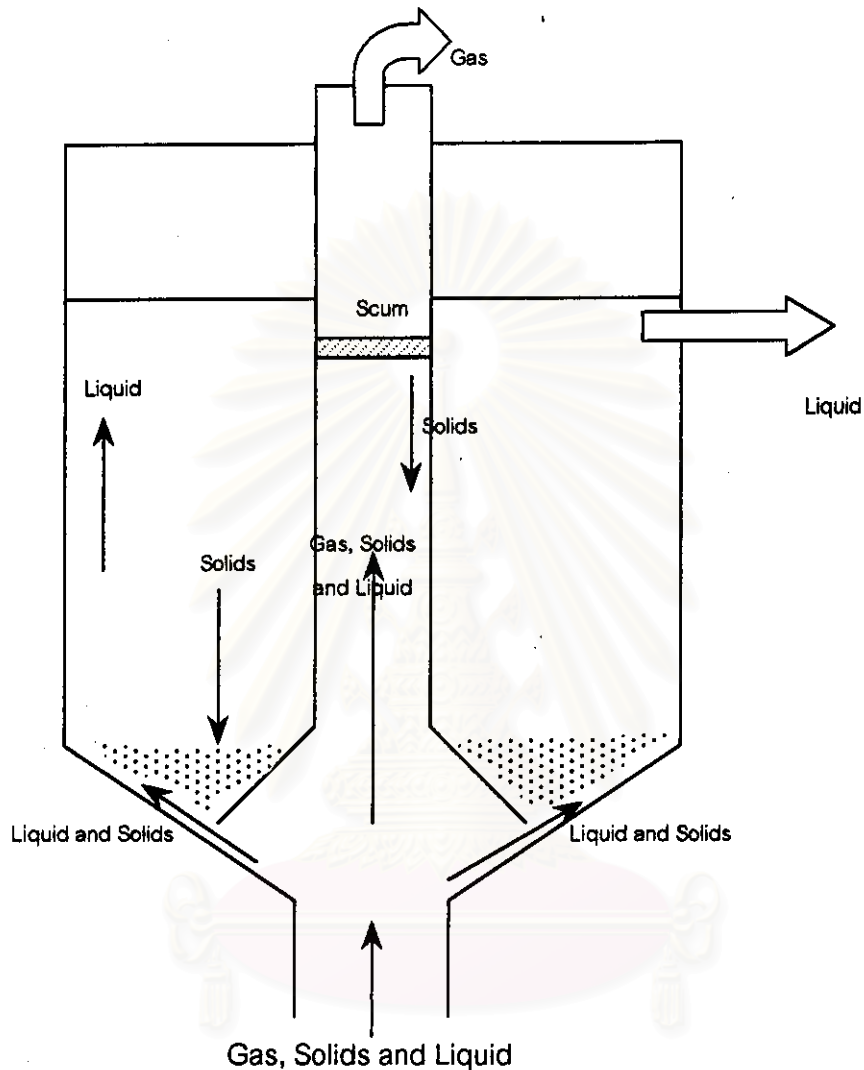
อุปกรณ์แยก 3 สถานะทำหน้าที่แยกก๊าซออกจากน้ำด้วยหลักการที่ว่า ก๊าซเคลื่อนที่ขึ้นสู่ตอนบนของถังเป็นเส้นตรง ไม่สามารถเลี้ยวได้ แต่การไหลของน้ำเสียไม่จำเป็นต้องเป็นเส้นตรง เมื่อน้ำเสียไหลขึ้นมาสู่ตอนบนของถังจะไหลออกสู่ส่วนตกตะกอนและไหลออกจากถังปฏิกรณ์ แต่ก๊าซจะเคลื่อนที่ไปยังส่วนบนสุดของถังและเข้าสู่อุปกรณ์เก็บก๊าซแบบแทนที่น้ำ ส่วนของแข็งที่ไหลขึ้นสู่ตอนบนของถัง ถ้าไหลขึ้นสู่ส่วนดักก๊าซก็จะอยู่ในส่วนดักก๊าซนั้น บางส่วนจะตกลงมาเข้าสู่ระบบใหม่ บางส่วนจะค้างอยู่และต้องกำจัดทิ้ง แต่ถ้าไหลออกไปสู่ส่วนตกตะกอน ความเร็วไหลขึ้นจะลดลงเพราะพื้นที่หน้าตัดใหญ่ขึ้น ทำให้ของแข็งที่หลุดออกไปตกตะกอนอยู่ในส่วนตกตะกอน



ถังปฏิกรณ์แบบยูเอเอสบี	
1	แผ่น
2	ข้อต่อตรงพีวีซี 4" คัดครึ่ง
3	ท่อตรงพีวีซี 4"
4	ข้อถคตรงพีวีซี 4"x 2"
5	ข้อถคตรงพีวีซี 3"x 1/2" คัดปลาย
6	ท่ออะคริลิก #603
7	ข้อถคตรงพีวีซี 2"x 1/2"
8	บอลกั้วถั่ว 1/2"
9	ข้อต่อสายยาง $\varnothing 1/2$ "
Concept designed by	รศ.ดร. มั่นสิน คัมจุตเวศม์
designed by	อรรณฤทธิ์ รื่นเรืองใจ (2542)
หน่วย มม.	มาตราส่วน N.T.S

รูปที่ 3.1 รายละเอียดของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลอง

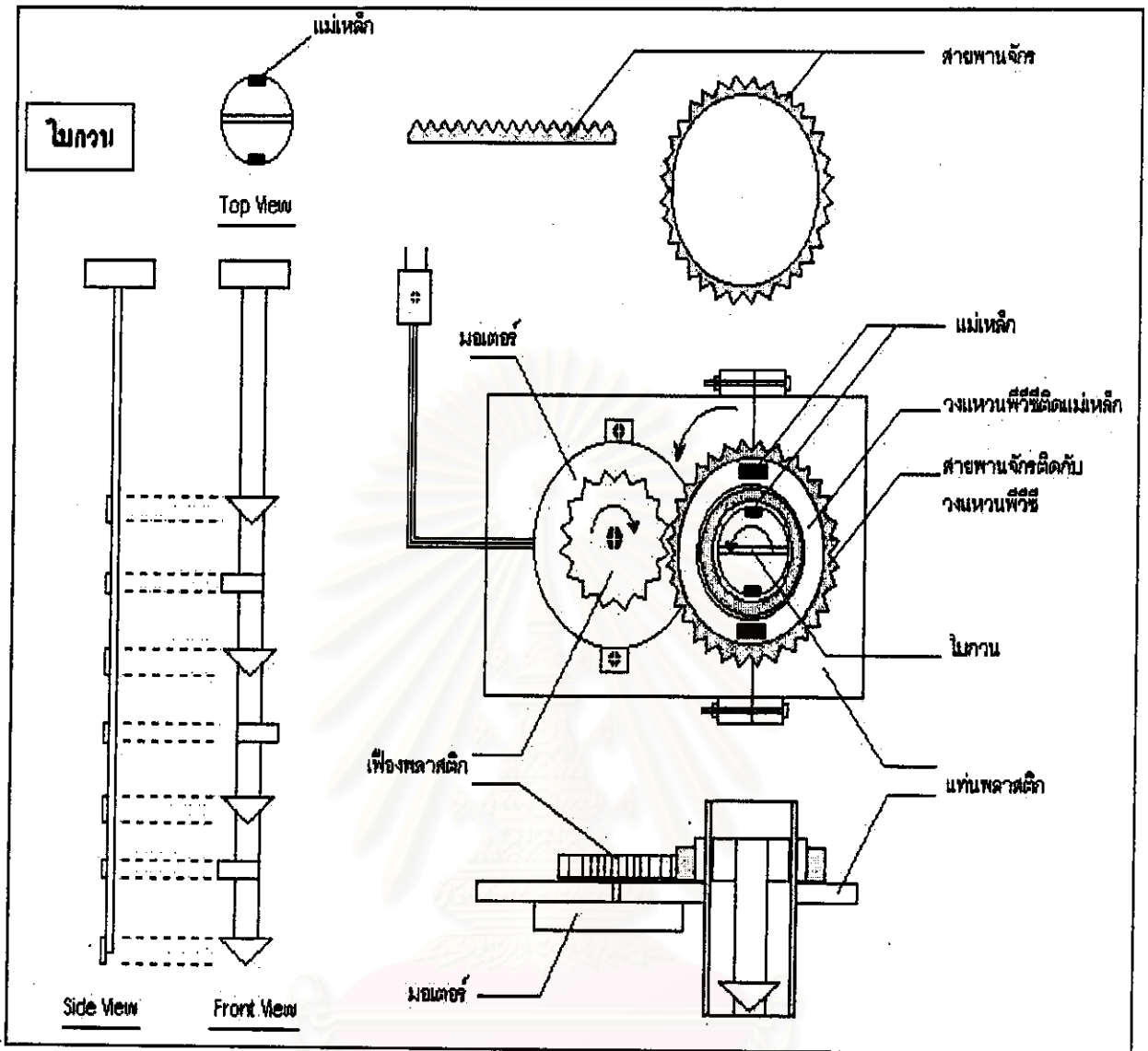
และทุก ๆ วันในขณะที่เตรียมน้ำเสียจะมีการยกส่วนดักก๊าซขึ้นเล็กน้อยให้ของแข็งที่ตกตะกอนอยู่ไหลกลับเข้าสู่ระบบได้ การทำงานของอุปกรณ์แยก 3 สถานะแสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ลักษณะการทำงานของอุปกรณ์แยก 3 สถานะ

3.3.2 ชุดเครื่องกวาน

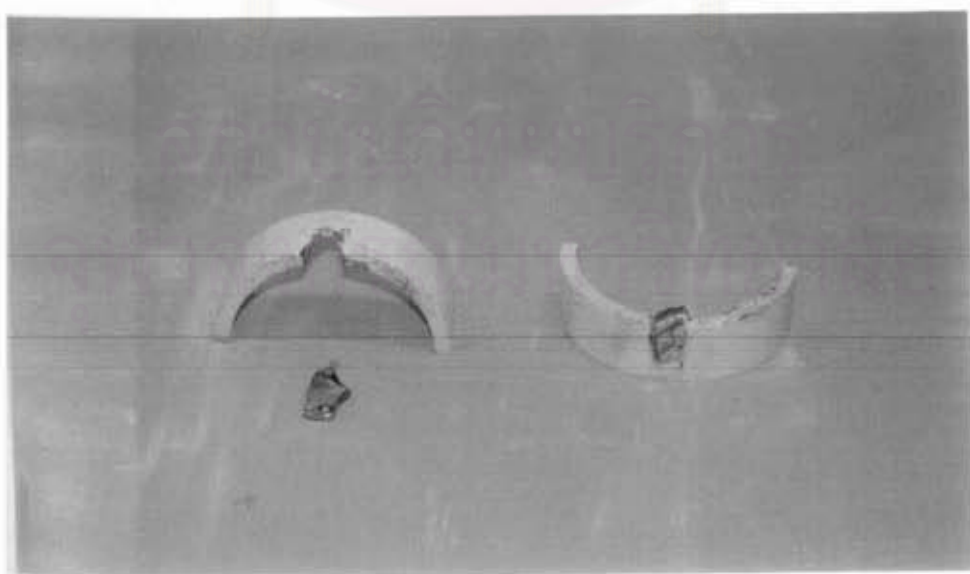
ในถังปฏิกรณ์ที่มีความเข้มข้นขัลเฟตสูง ลักษณะของสลัดจ์จะเริ่มเปลี่ยนจากเดิมที่เป็นเม็ดกลายเป็นผง เม็ดสลัดจ์ในตอนแรกซึ่งมีลักษณะร่วน ก๊าซไหลผ่านได้อย่างง่าย ๆ จะเริ่มมีลักษณะที่เกาะตัวกันมากขึ้น ก๊าซที่เดิมไหลผ่านได้ง่ายกลับถูกกักอยู่ระหว่างชั้นสลัดจ์และเกิดการสะสมตัว จนในที่สุดจะสามารถยกชั้นสลัดจ์ให้ลอยขึ้นมาได้ทั้งชั้น เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นจึงติดตั้งชุดเครื่องกวานซึ่งออกแบบและสร้างโดยอรทฤทธิ์ รื่นเรืองใจ (2542) แสดงดังรูปที่ 3.3 - 3.5



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รูปที่ 3.3 รายละเอียดของชุดเครื่องกวาน

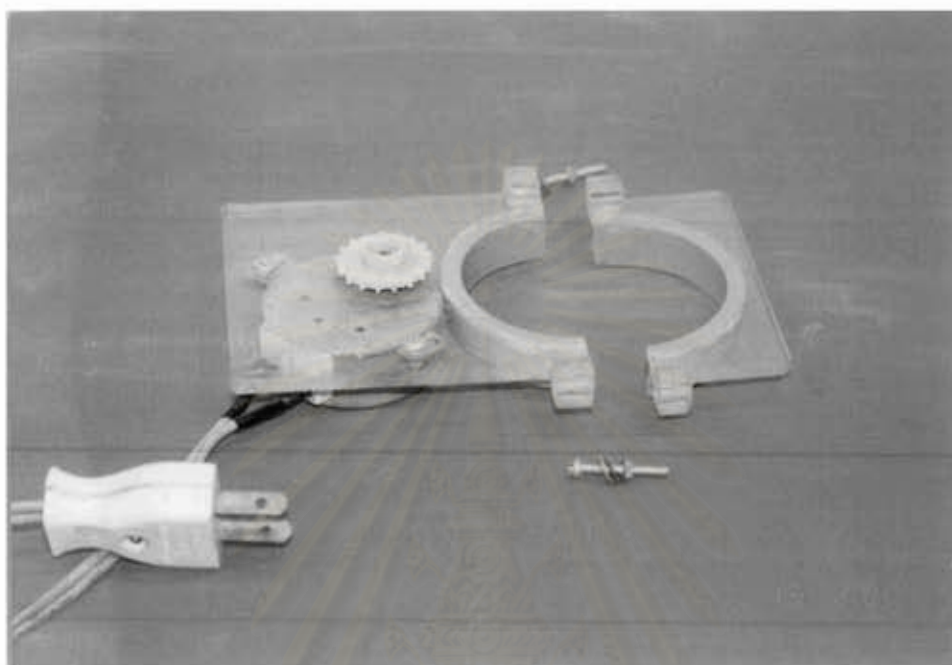


ก. ไบกาน

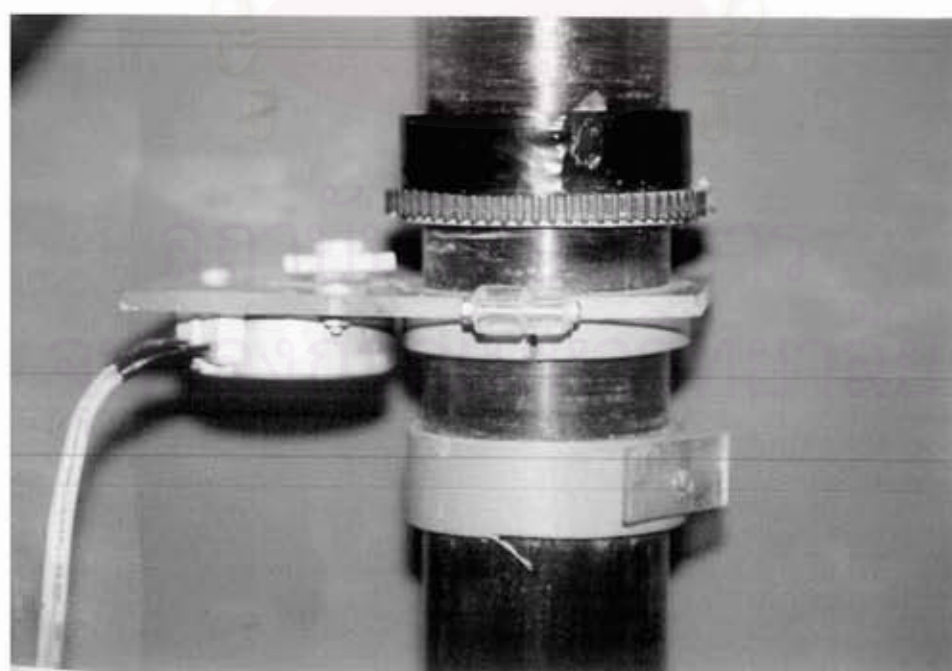


ข. วงแหวนพิวี่ซีติดแม่เหล็ก

รูปที่ 3.4 ไบกานและวงแหวนพิวี่ซี



ก. มอเตอร์และแท่นพลาสติก



ข. เครื่องกวนแม่เหล็กที่ติดตั้งกับถังปฏิกรณ์แล้ว
รูปที่ 3.5 ชุดขับของเครื่องกวนแม่เหล็ก

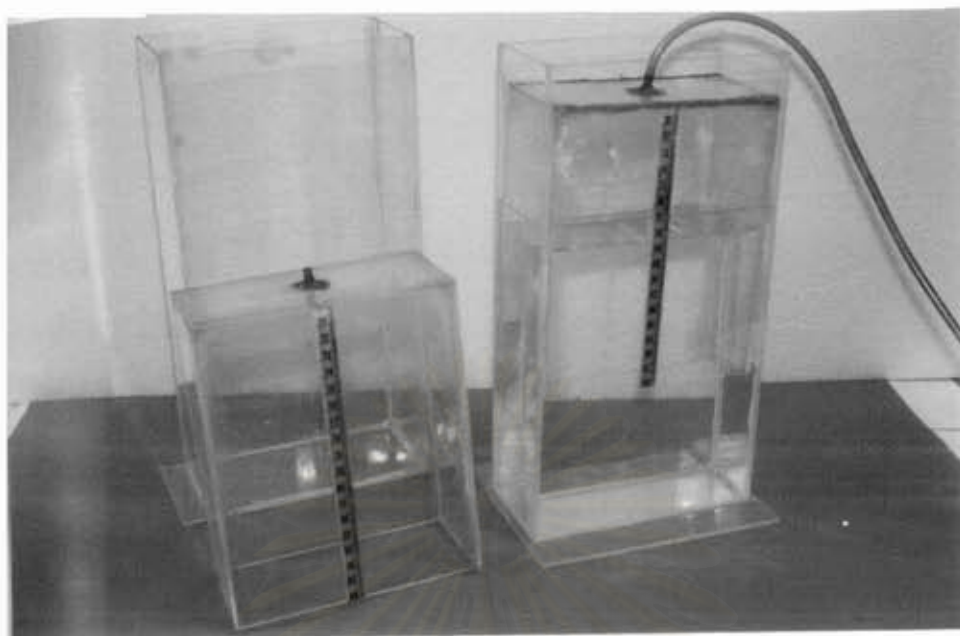
ชุดเครื่องกวนประกอบด้วยใบกวนและชุดขับ ใบกวนทำด้วยพลาสติกอยู่ภายในถังปฏิกรณ์ และยึดติดอยู่กับวงแหวนพีวีซีด้วยกาวพลาสติก ซึ่งวงแหวนพีวีซีจะมีแม่เหล็กติดอยู่ด้วย ส่วนชุดขับประกอบด้วยมอเตอร์ความเร็วรอบต่ำประมาณ 3 รอบต่อนาที แทนพลาสติกซึ่งยึดมอเตอร์ให้ติดกับถังปฏิกรณ์ วงแหวนพีวีซีซึ่งติดแม่เหล็กและมีสายพานมอเตอร์จักรเย็บผ้าไฟฟ้าพันอยู่โดยรอบ และเฟืองพลาสติกยึดอยู่กับมอเตอร์ ชุดเครื่องกวนทำงานโดยมอเตอร์หมุนขับฟันเฟืองพลาสติกให้ขับกับสายพานจักรเย็บผ้าซึ่งพันอยู่รอบวงแหวนพีวีซี เมื่อสายพานจักรเย็บผ้าถูกขับให้หมุน วงแหวนพีวีซีก็ถูกขับให้หมุนไปพร้อมกับแม่เหล็กที่ติดอยู่ด้วย แม่เหล็กที่ติดกับวงแหวนพีวีซีซึ่งวงนอกจะติดติดกับแม่เหล็กที่ติดกับวงแหวนพีวีซีวงใน เมื่อแม่เหล็กวงนอกหมุนจะทำให้แม่เหล็กวงในหมุนไปด้วย แม่เหล็กวงในยึดติดกับวงแหวนพีวีซีวงในจึงทำให้วงแหวนพีวีซีวงในและใบกวนหมุนตามการหมุนของมอเตอร์ไปด้วย การหมุนอย่างช้า ๆ ของใบกวนทำให้ก๊าซไหลผ่านชั้นสลัดจ์ได้โดยไม่รบกวนเมือสลัดจ์ เนื่องจากหมุนด้วยความเร็วรอบที่ต่ำมาก

3.3.3 อุปกรณ์ป้อนน้ำเสีย

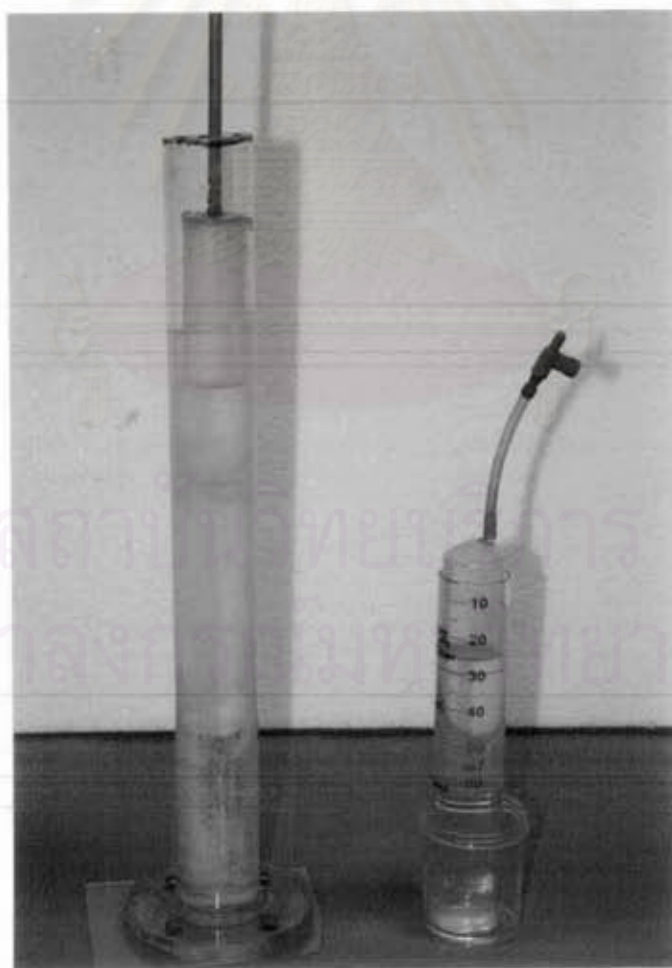
อุปกรณ์ที่ใช้ในการป้อนน้ำเสียประกอบไปด้วยถังพักน้ำเสียและเครื่องสูบน้ำแบบรีดสายถังพักน้ำเสียใช้ถังพลาสติกขนาด 10 ล. เจาะรูที่ก้นถังและเฉียงถังไว้ตลอดเพื่อให้ใช้น้ำเสียได้ทั้งหมดโดยไม่เหลือทิ้งในแต่ละวัน รูที่ก้นถังต่อกับสายยางพลาสติกขนาด 3 มม. ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องสูบน้ำแบบรีดสาย ยี่ห้อ Watson-Marlow ซึ่งป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ด้วยอัตรา 8 ล./วัน สายยางที่เครื่องสูบน้ำแบบรีดสายรีดใช้สายยางซิลิโคนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 3 มม.

3.3.4 อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนที่น้ำ

อุปกรณ์เก็บก๊าซแบบแทนที่น้ำอาศัยน้ำเป็นตัวดักไม่ให้ก๊าซหนีออกไปและใช้ความดันของก๊าซที่เกิดขึ้นในการยกอุปกรณ์เก็บก๊าซให้ลอยขึ้น ปริมาตรของก๊าซหาได้จากความสูงของอุปกรณ์เก็บก๊าซที่ถูกยกให้ลอยขึ้นคูณกับพื้นที่หน้าตัดของอุปกรณ์ อุปกรณ์เก็บก๊าซแบ่งออกเป็น 2 ขนาด ขนาดแรกทำจากแผ่นอะคริลิกใสเชื่อมต่อกันด้วยกาวเชื่อมอะคริลิก ต่อเป็นรูปกล่องสี่เหลี่ยมขนาดภายใน $7 \times 14.3 \times 18$ ซม.³ คิดเป็นปริมาตร 1,800 มล. คว่ำอยู่ในกล่องอะคริลิกใสขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย สูง 30 ซม. ซึ่งใส่น้ำพิเอชประมาณ 2 – 3 ไร่ 2,000 มล. ดังแสดงในรูปที่ 3.6



ก. แบบกล่องสี่เหลี่ยม ขนาดใหญ่ ปริมาตร 1,800 มล.



ข. แบบทรงกระบอก ขนาดเล็ก ปริมาตร 100 มล. และ 60 มล.

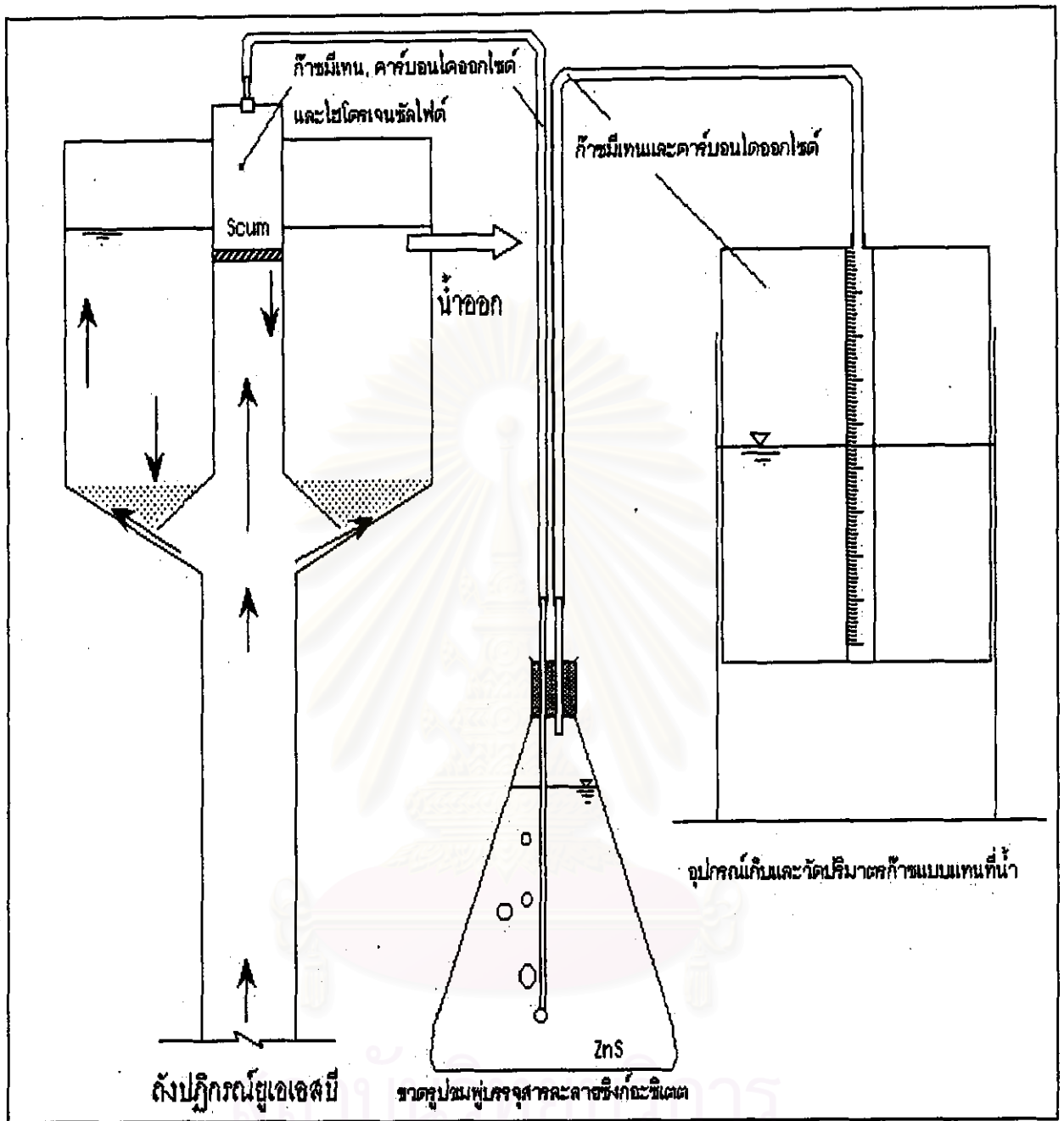
รูปที่ 3.6 อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนทีน้ำ

เมื่อก๊าซจากระบบไหลเข้าสู่อุปกรณ์เก็บก๊าซ ก๊าซจะยกกล่องอะคริลิกให้สูงขึ้น ความสูงของกล่องอะคริลิกที่ถูกยกให้สูงขึ้นอ่านได้จากแถบวัดความสูงที่ติดไว้ข้างกล่อง แต่การยกกล่องให้สูงขึ้นไม่ได้ยกขึ้นตรง ๆ เสมอไป เมื่อกล่องถูกยกให้สูงขึ้นจะเอียงทำให้ไม่สามารถอ่านค่าความสูงได้ การสร้างกล่องจึงต้องทำให้กล่องขนาดใหญ่ใบนอกสวมพอดีกับกล่องขนาดเล็กที่ซ่อนอยู่ข้างใน เมื่อกล่องขนาดเล็กลอยขึ้นจะถูกบังคับจากกล่องข้างนอกทำให้ลอยขึ้นตรง ๆ ส่วนอุปกรณ์เก็บก๊าซขนาดเล็ก ในการทดลองแรก ทำจากกระบอกตวงพลาสติกขนาด 100 มล. ตัดฐานออกใส่อยู่ในท่ออะคริลิกใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 3.2 ซม. ในการทดลองที่สอง ทำจากหลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 60 มล. ใส่อยู่ในหลอดเนสเลอร์ขนาด 100 มล. เก็บก๊าซด้วยหลักการเดียวกันแต่มีขนาดเล็กกว่าเพื่อให้อ่านค่าได้ละเอียดขึ้น อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซขนาดใหญ่มีอยู่ 2 ชุด ใช้กับถังปฏิกรณ์ที่มีซิลเฟตเข้มข้น 42 และ 84 มก./ล. ส่วนขนาดเล็กใช้กับถังปฏิกรณ์ที่มีความเข้มข้นซิลเฟต 840 มก./ล. น้ำที่ใช้เติมเพื่อดักก๊าซในทุกชุดอุปกรณ์ถูกปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้นให้มีพีเอชประมาณ 2 - 3 เพื่อป้องกันการละลายน้ำของก๊าซ และเติมน้ำทุก ๆ 4 สัปดาห์เนื่องจากภาวะระเหยของน้ำในอุปกรณ์

3.3.5 ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

การดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์อาศัยสารละลายซิงก์อะซิเตตดักจับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้กลายเป็นตะกอนซิงก์ซัลไฟด์ ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ประกอบด้วยขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มล. บรรจุด้วยสารละลายซิงก์อะซิเตต พีเอชประมาณ 3 - 3.5 เพื่อป้องกันการละลายน้ำของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปากขวดปิดด้วยจุกยางสีดำเจาะรูสองรู สอดท่อแก้วนำก๊าซขนาด 1/8 นิ้ว 2 ท่อเป็นท่อเข้าและท่อออก ปลายท่อเข้าต่อกับส่วนดักก๊าซของถังปฏิกรณ์และจุ่มอยู่ในได้สารละลายซิงก์อะซิเตตต่ำลงไปประมาณ 5 ซม. ก๊าซจากถังปฏิกรณ์ที่เกิดขึ้นจะผ่านเข้าสู่ส่วนชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ทำปฏิกิริยากับสารละลายซิงก์อะซิเตต เกิดเป็นตะกอนซิงก์ซัลไฟด์ ก๊าซที่ผ่านสารละลายซิงก์อะซิเตตมาได้จะไหลผ่านท่อแก้วนำก๊าซออกไปเก็บไว้ในอุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนที่น้ำ ดังแสดงในรูปที่ 3.7

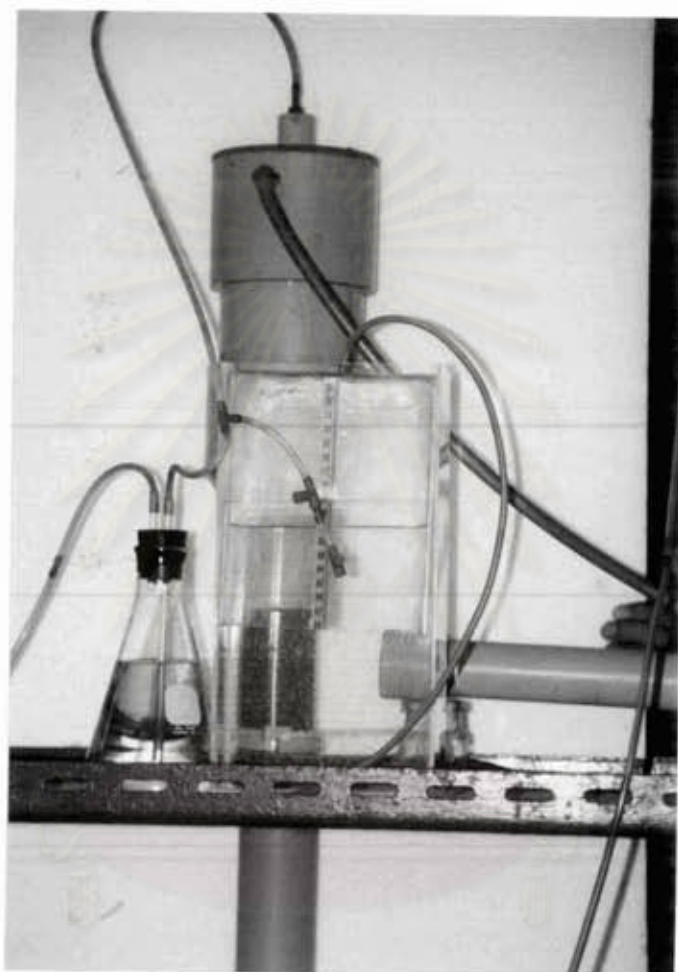
เมื่อครบ 24 ชั่วโมง สารละลายซิงก์อะซิเตตในขวดรูปชมพู่จะถูกนำกรองเอาตะกอนซิงก์ซัลไฟด์ แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ที่ถูกดักจับไว้ในแต่ละวันต่อไป



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก. รายละเอียดของชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

รูปที่ 3.7 ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์



ข. ลักษณะของชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

รูปที่ 3.7 ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

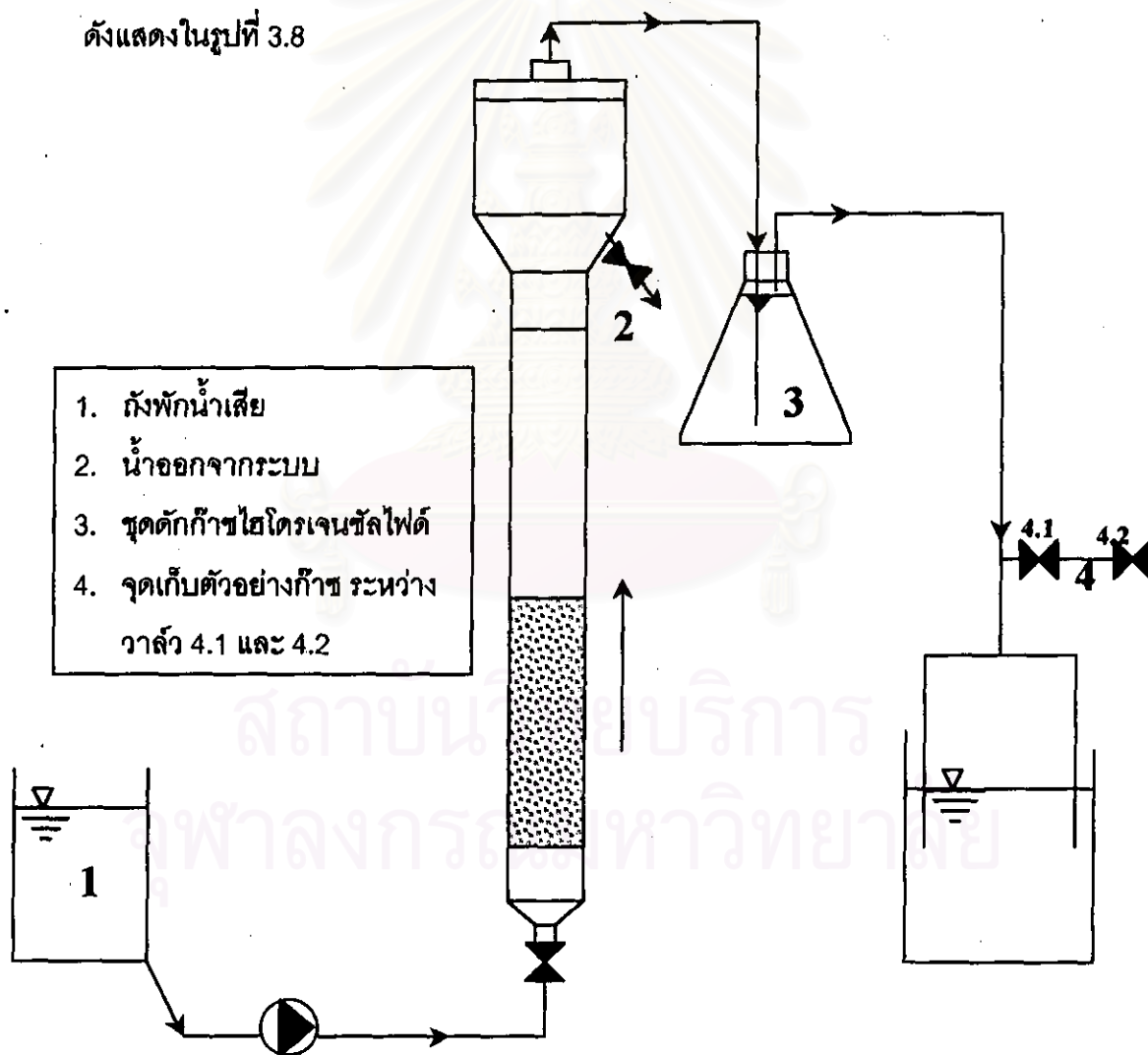
3.4 การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.1 จุดเก็บตัวอย่าง

จุดเก็บตัวอย่างมีอยู่หลายจุดด้วยกัน ได้แก่

- ถังพักน้ำเสีย
- น้ำออกจากระบบยูเอเอสบี
- ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์
- อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาณก๊าซแบบแทนที่น้ำ

ดังแสดงในรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 รายละเอียดของจุดเก็บตัวอย่างน้ำ

จากรูปที่ 3.8 แต่ละจุดที่เก็บตัวอย่างจะถูกนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 รายละเอียดการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ตัวอย่าง

จุดเก็บตัวอย่าง	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ความถี่	วิธีการวิเคราะห์
1. ถังพักน้ำเสีย	ซีโอดี	จ, พ, ศ	Closed Reflux
	ซัลเฟต	จ, พ, ศ	Turbidimetric Method
	พีเอชและอุณหภูมิ	ทุกวัน	เครื่องวัดพีเอช HORIBRA รุ่น F-13
	สภาพต่างทั้งหมด	จ, พ, ศ	Potentiometric Method
2. น้ำออก	ซีโอดี	จ, พ, ศ	Closed Reflux
	ซัลเฟต	จ, พ, ศ	Turbidimetric Method
	ซัลไฟด์	จ, พ, ศ	Iodometric Method
	พีเอชและอุณหภูมิ	ทุกวัน	เครื่องวัดพีเอช HORIBRA รุ่น F-13
	สภาพต่างทั้งหมด	จ, พ, ศ	Potentiometric Method
	ของแข็งทั้งหมด	จ, พ, ศ	Standard Method 2540b
	ของแข็งแขวนลอย	จ, พ, ศ	Standard Method 2540d
	ไออาร์พี	จ, พ, ศ	เครื่องวัดไออาร์พี Metrohm รุ่น 744
3. ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์	ซัลไฟด์	สัปดาห์ละ 2 ครั้ง	Iodometric Method
4. อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาณก๊าซแบบแทนที่น้ำ	ปริมาณก๊าซทั้งหมด	ทุกวัน	อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาณก๊าซแบบแทนที่น้ำ
	สัดส่วนของก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์	Steady state 6 ครั้ง	Gas Chromatography

รายละเอียดวิธีวิเคราะห์แสดงใน Standard Method 19 edition, 1995

3.4.2 วิธีการเก็บตัวอย่าง

- ถังพักน้ำเสีย

เก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ปิเปตหรือโวลูเมตริกปิเปต (volumetric pipet) ดูดน้ำเสียมาวิเคราะห์

- น้ำออกจากระบบยูเอเอสบี

เก็บตัวอย่างน้ำโดยการเปิดวาล์วที่ติดอยู่กับถังปฏิกรณ์ในส่วน GSS ดังแสดงในรูปที่ 3.8 วาล์วหมายเลข 2 ภาชนะที่ใช้เก็บคือ volumetric flask เก็บน้ำจากวาล์วหมายเลข 2 ไปวิเคราะห์หาพีเอช, อุณหภูมิ และสภาพต่างทันทีที่เก็บ การเก็บน้ำไปวิเคราะห์ซีไอดี, ซีลเฟด และของแข็งแขวนลอยไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์ทันที แต่ไม่ทิ้งไว้นานเกิน 30 นาที การเก็บน้ำไปวิเคราะห์ซีลเฟดต้องวิเคราะห์ทันทีที่เก็บ ส่วนไออาร์พีใช้การเปิดฝาดังแล้วจุ่ม probe วัดไออาร์พีลงไปวัดในถังปฏิกรณ์โดยตรง

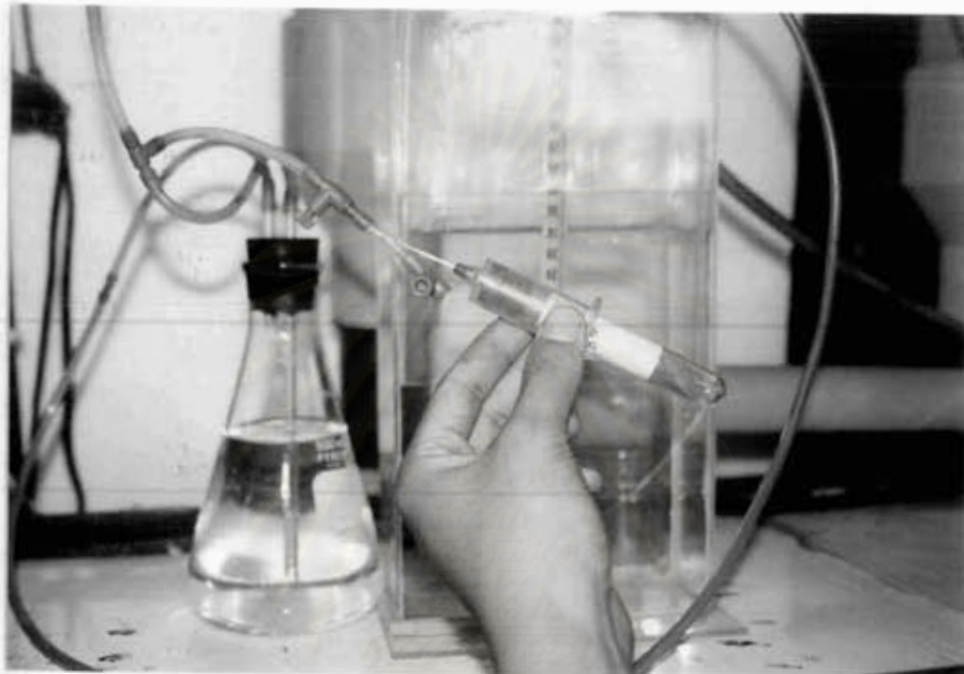
- ชุดดักก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำน้ำทั้งหมดในขวดรูปชมพู่มาวิเคราะห์หาซีลไฟด์ทั้งหมด

- อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนที่น้ำ

ก๊าซในอุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซเก็บจากจุดที่ 4 ระหว่างวาล์ว 4.1 และ 4.2 ดังรูปที่ 3.8 ก่อนการเก็บตัวอย่างต้องเตรียมอุปกรณ์เก็บก๊าซให้พร้อม ได้แก่ เข็ม 2 ปลายและหลอดเก็บก๊าซยี่ห้อ Venoject ซึ่งเป็นหลอดแก้วสุญญากาศ มีฝาเป็นจุกยางรักษาให้ความดันในหลอดเป็นลบอยู่เสมอ การเก็บตัวอย่างต้องรอให้ก๊าซในอุปกรณ์เก็บก๊าซมีมากพอสมควร เปิดวาล์ว 4.1 และ 4.2 ให้ก๊าซในอุปกรณ์เก็บก๊าซไหลผ่านประมาณ 10 วินาที เพื่อให้แน่ใจว่าในจุดที่ 4 (เป็นสายยางซิลิโคน) มีก๊าซที่เราต้องการเก็บอยู่ แทนเข็ม 2 ปลายเข้าไปในสายยางซิลิโคนที่จุดที่ 4 แล้วจึงดันหลอดเก็บก๊าซให้เข็มอีกปลายหนึ่งทะลุจุกยางเข้าไปในหลอด ก๊าซจากอุปกรณ์เก็บก๊าซจะถูกดูดเข้าไปในหลอดเก็บก๊าซเนื่องจากความดันในหลอดที่เป็นลบ ทิ้งไว้สักครู่ ประมาณ 5 – 10 วินาที จึงดึงหลอดเก็บก๊าซ

ออกจากเข็มสองปลาย (ต้องดึงหลอดเก็บก๊าซออกก่อนเสมอ เพราะถ้าดึงเข็มออกจากจุดที่ 4 โดยเข็มอีกด้านยังเสียบอยู่กับหลอดอาจทำให้อากาศเข้าไปในหลอดเก็บก๊าซได้) นำหลอดเก็บก๊าซไปแช่เย็นไว้เพื่อป้องกันการขยายตัวของก๊าซจากอุณหภูมิ จากนั้นดึงเข็มออกแล้วจึงปิดวาล์ว 4.1 และ 4.2 ดังแสดงในรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 การเก็บตัวอย่างก๊าซไปวิเคราะห์

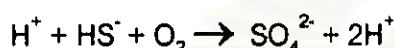
3.4.3 เทคนิคในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ

การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ทำตามวิธีใน standard method 19 edition (1995) แต่การวิเคราะห์พารามิเตอร์บางตัวต้องใช้วิธีเฉพาะบางอย่างในการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง พารามิเตอร์เหล่านั้น ได้แก่

- ซีไอดี

การวิเคราะห์ซีไอดีน้ำออกจากถังปฏิกรณ์โดยปกติจะวิเคราะห์ออกมาเป็นซีไอดีรวม กล่าวคือ วิเคราะห์สารรีดิทซ์หรือตัวให้อิเล็กตรอนทั้งหมดในน้ำ ด้วยการใช้สารออกซิไดส์อย่างแรง คือ ไดโครเมตเป็นตัวทำปฏิกิริยา ปริมาณของไดโครเมตที่ทำปฏิกิริยาไปก็คือปริมาณของสารรีดิทซ์ทั้ง

หมดในน้ำนั่นเอง และปริมาณไดโครเมตที่ถูกใช้ไปนี้ก็จะเทียบเท่ากับออกซิเจนปริมาณหนึ่ง ปริมาณออกซิเจนที่เทียบเท่ากับไดโครเมตที่ถูกใช้ไปในปฏิกิริยาออกซิไดส์ตัวให้อิเล็กตรอนในน้ำ ทั้งหมดก็คือ ค่าซีไอดี ข้อดีของซีไอดีคือวิเคราะห์ได้ง่ายในเวลาอันรวดเร็ว แต่ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า ไดโครเมตจะทำปฏิกิริยากับตัวให้อิเล็กตรอนทั้งหมดโดยไม่เลือกว่าสารนั้นจะเป็นสารอินทรีย์หรือไม่ ย่อยสลายได้ทางชีวภาพหรือไม่ ในขณะที่เป้าของงานวิจัยคือการหาประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ของระบบ ดังนั้นในกรณีของการวิเคราะห์น้ำที่มีซัลไฟด์ละลายอยู่ด้วย ค่าซีไอดีที่วิเคราะห์ได้ส่วนหนึ่งจะมาจากซัลไฟด์ ดังแสดงในสมการต่อไปนี้



ซัลไฟด์ 1 มก. ทำให้วิเคราะห์ซีไอดีได้เพิ่มขึ้นประมาณ 1 มก. ดังนั้นในกรณีที่มีซัลไฟด์ในน้ำเสียอยู่ไม่มากนัก เช่นในกรณีของถังปฏิกรณ์ที่มีความเข้มข้นซัลเฟตเท่ากับ 12 และ 6 มก./ล. ซัลไฟด์แม้จะรบกวนการวิเคราะห์ซีไอดีแต่ก็ไม่มากนัก แต่ในกรณีที่มีซัลไฟด์ละลายอยู่ในน้ำเสียมาก ๆ ก็มีความจำเป็นต้องกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียออกก่อนที่จะวิเคราะห์ซีไอดี

การกำจัดซัลไฟด์สามารถทำได้ง่าย ๆ ไปพร้อม ๆ กับการวิเคราะห์หาซัลเฟตและของแข็งแขวนลอย โดยการนำตัวอย่างน้ำที่เก็บมาประมาณ 150 มล. มากรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาดรู 0.47 μm น้ำที่ได้ส่วนหนึ่งนำไปหาซัลเฟต ส่วนน้ำที่เหลือนำมาใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 หยดเพื่อปรับพีเอชให้ต่ำกว่า 2 ณ พีเอชระดับนี้ ซัลไฟด์ที่ละลายน้ำอยู่เกือบ 100 % จะอยู่ในรูปไฮโดรเจนซัลไฟด์ นำน้ำเสียที่ปรับพีเอชแล้วมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่าตามแนวนอน ยี่ห้อ Kika Labortechnik รุ่น HS501 digital ความเร็วรอบ 100 – 150 rpm เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง ความปั่นป่วนที่เกิดจากการเขย่าจะทำให้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในน้ำเสียหนีออกจากน้ำ เมื่อไล่ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกหมดแล้ว จึงนำน้ำที่ได้ไปหาซีไอดีตามปกติ ดังแสดงในรูปที่ 3.10

- ซัลเฟต

การวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟตในการทดลองนี้ใช้วิธี Turbidimetric ซึ่งใช้ผงผลึกแบเรียมคลอไรด์เติมลงไปลงในน้ำเสียที่มีซัลเฟต แบเรียมจะจับตัวกับซัลเฟตในน้ำเสียเกิดเป็นผลึกแบเรียมซัลเฟตสีขาวขุ่น วัดความขุ่นที่เกิดขึ้นเทียบกับความขุ่นของสารละลายซัลเฟตมาตรฐานก็จะทราบความเข้มข้นของซัลเฟตในน้ำ น้ำเสียที่นำมาวิเคราะห์ซัลเฟตจึงต้องกรองก่อนเพื่อป้องกันความขุ่นที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ซัลเฟต และก่อนการเติมผงแบเรียมคลอไรด์ต้องเติมสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพน้ำก่อน เรียกว่าสารละลายบัฟเฟอร์เอ ในขั้นตอนนี้เองที่อาจ



รูปที่ 3.10 การกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียด้วยการปรับพีเอชและการเขย่าสร้างความปั่นป่วน

เกิดปัญหาขึ้น กล่าวคือ เมื่อเติมสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพน้ำ จะเกิดตะกอนสีขาวขุ่นขึ้น ทั้ง ๆ ที่ยังไม่ได้เติมผงแบเรียมคลอไรด์ สันนิษฐานว่าเป็นเพราะซัลไฟด์ในน้ำเสียอาจทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์เกิดเป็นตะกอนขึ้นมา วิธีแก้ไขก็คือ หลังจากเติมสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพน้ำแล้ว ให้นำน้ำนั้นไปวัดค่าความขุ่นก่อน บันทึกค่าความขุ่นที่วัดได้ไว้ หลังจากนั้นนำมาเติมแบเรียมคลอไรด์แล้วนำไปวัดค่าความขุ่น บันทึกค่าความขุ่นที่อ่านได้ในครั้งที่สอง นำค่าความขุ่นที่บันทึกไว้ทั้งสองครั้งมาหักลบกัน แล้วจึงนำค่าความขุ่นที่หักลบกันแล้วมาเทียบกับกราฟมาตรฐานก็จะได้ความเข้มข้นของซัลเฟตตามต้องการ

นอกจากนั้น ในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตต่ำ (ต่ำกว่า 10 มก./ล.) ต้องใช้สารละลายบัฟเฟอร์อีกชนิดหนึ่งเรียกว่าสารละลายบัฟเฟอร์บีในการปรับสภาพน้ำเสียแทน

- ซัลไฟด์

การวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟด์ตามปกติ จะใช้สารละลายซิงก์อะซิเตตตกตะกอนซัลไฟด์ในรูปซิงก์ซัลไฟด์ แต่ในกรณีของการวิเคราะห์ซัลไฟด์ในห้องปฏิบัติการ เราสามารถวิเคราะห์ซัลไฟด์

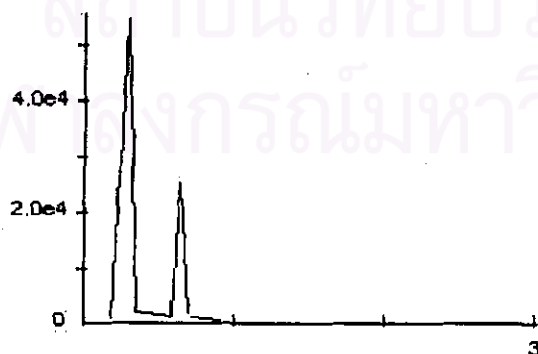
ได้ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง จึงไม่จำเป็นต้องใช้สารละลายซิงก์อะซิเตตเพื่อรักษาซัลไฟด์ไม่ให้ระเหยหนีออกจากน้ำเสีย ก่อนการเก็บตัวอย่างจะเติมสารละลายมาตรฐานไอโอดีน 0.025 นอร์มัล และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มัล ลงในขวดรูปชมพู่ นำน้ำตัวอย่างที่เก็บมาเปิดใส่ขวดรูปชมพู่ที่เตรียมไว้ ซัลไฟด์ในน้ำเสียจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีน เมื่อไตเตรตหาไอโอดีนที่เหลือก็จะทราบความเข้มข้นของซัลไฟด์ในน้ำเสียได้ การใช้ไอโอดีนทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์โดยตรงมีข้อดีคือช่วยลดขั้นตอนของการตกตะกอนซัลไฟด์ด้วยซิงก์อะซิเตต ไม่ต้องสิ้นเปลืองกระดาษกรอง และลดเวลาในการทำงานลง

- ก๊าซมาตรฐานสำหรับเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ(Gas Chromatograph; GC)

การวิเคราะห์ก๊าซด้วยเครื่อง GC อาจกล่าวได้ว่าเป็นวิธีการที่น่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับมากที่สุดในการวิเคราะห์ก๊าซขณะนี้ นักวิจัยที่จำเป็นต้องวิเคราะห์ก๊าซจึงต้องรู้วิธีการที่ถูกต้องในการใช้เครื่อง GC และรู้วิธีที่จะแปรผลที่ได้อย่างถูกต้อง

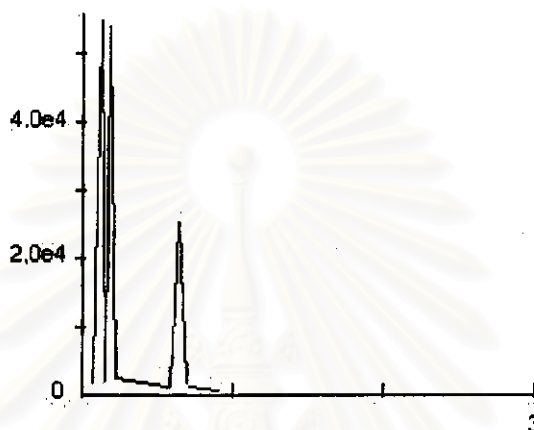
ปกติแล้ว เครื่อง GC จะมี detector หลายประเภท เช่น Flame Ionisation Detector (FID), Electron Capture Detector (ECD), Nitrogen Selective Detector (NSD) และ Flame Photometric Detector (FPD) เป็นต้น แต่สำหรับการวิเคราะห์ก๊าซ ต้องเลือกใช้ detector ของเครื่องที่เรียกว่า Thermal Conductivity Detector (TCD)

ผลการวิเคราะห์ของเครื่อง GC จะแสดงออกมาในรูปของกราฟ และพื้นที่ใต้กราฟตามระยะเวลาต่าง ๆ ดังแสดงในรูป 3.11



รูปที่ 3.11 ตัวอย่างกราฟที่ได้จากเครื่อง GC

จากรูปที่ 3.11 แกนตั้งของกราฟไม่ระบุหน่วย แต่เป็นแกนของปริมาณก๊าซ ส่วนแกนนอนเป็นเวลา (retention time) ก๊าซต่างชนิดกันจะได้ peak ของกราฟที่คนละเวลากัน แต่ก๊าซชนิดเดียวกันจะได้ peak ออกมาในเวลาใกล้เคียงกัน (แม้จะฉีดคนละครั้งกัน) ลักษณะของกราฟที่ดีจะได้ peak ที่แยกจากกันอย่างชัดเจน แต่ถ้าผลที่ได้ออกมาในลักษณะที่เป็น peak ซ้อนทับกันที่เวลาใกล้ ๆ กันแสดงว่ามีความผิดพลาดเกิดขึ้นต้องวิเคราะห์ใหม่ ดังแสดงในรูป 3.12



รูปที่ 3.12 ตัวอย่างกราฟจากเครื่อง GC ที่ซ้อนทับกัน

จากกราฟที่ได้เป็น peak แยกกันอย่างชัดเจน ผลจากเครื่องจะแสดงพื้นที่ใต้กราฟที่เวลาต่าง ๆ กัน เช่น ที่เวลา T_1 ได้พื้นที่ใต้กราฟ 100,000 ที่เวลา T_2 ได้พื้นที่ใต้กราฟ 3,000,000 เป็นต้น ตามปกติแล้ว ห้องปฏิบัติการหรือเจ้าหน้าที่ที่เป็นผู้วิเคราะห์ก๊าซจะทราบอยู่ก่อนแล้วว่า ก๊าซชนิดใดจะเกิด peak ที่เวลาใด และจะเป็นผู้ระบุให้ทราบ แต่ข้อมูลที่แสดงนอกจากจะบอกเวลากับพื้นที่ใต้กราฟแล้ว ยังแสดงเปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใต้กราฟด้วย ยกตัวอย่างเช่น

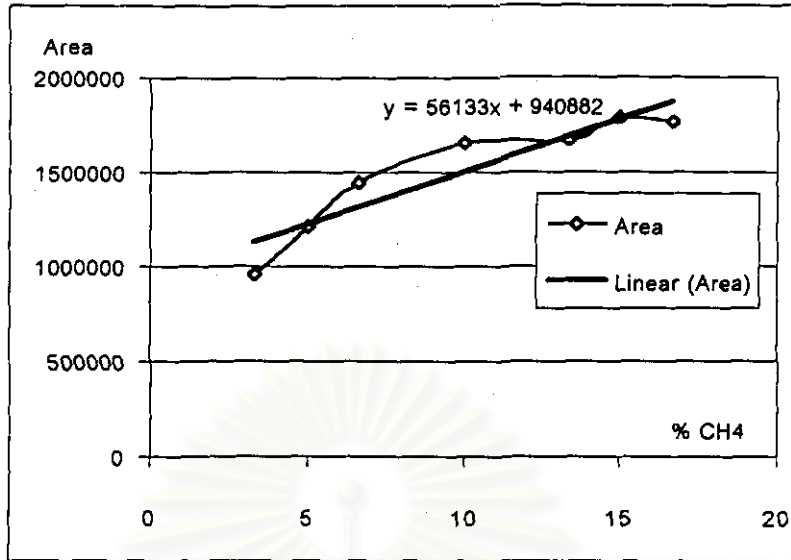
เวลา	พื้นที่	เปอร์เซ็นต์พื้นที่	ชนิดของก๊าซ (เจ้าหน้าที่ระบุ)
0.334	213250	30.5	อากาศ
0.450	351641	50.2	มีเทน
0.780	135284	19.3	คาร์บอนไดออกไซด์
รวม	700175		

อากาศที่ระบุในตอนแรกคือก๊าซที่ใช้เป็นตัวนำ (carrier gas) ไม่ใช่อากาศจริง ๆ ส่วนเปอร์เซ็นต์พื้นที่เป็นค่าที่ไม่สามารถแปรผลได้ ผู้สังเคราะห์ต้องไม่แปรผลผิดว่า มีอากาศ 30.5

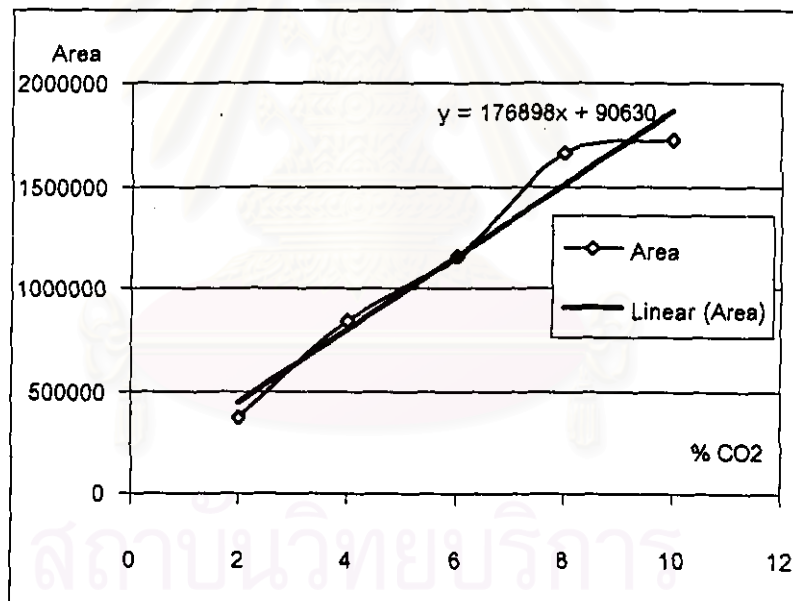
เปอร์เซ็นต์ มีมีเทน 50.2 เปอร์เซ็นต์ และมีคาร์บอนไดออกไซด์ 19.3 เปอร์เซ็นต์ การวิเคราะห์ผลที่ถูกต้องจำเป็นต้องนำพื้นที่ที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งกราฟมาตรฐานจะได้มาจากการวิเคราะห์ก๊าซที่ต้องการทราบปริมาณที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น ถ้าต้องการทราบว่า มีมีเทนเท่าใดก็เตรียมก๊าซมีเทนมาตรฐานที่ 5, 10, 15, 20, ... , 50 เปอร์เซ็นต์ ไปวิเคราะห์ นำพื้นที่ได้กราฟของมีเทนมาเขียนคู่กับเปอร์เซ็นต์ของก๊าซมีเทน โดยให้เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนเป็นแกนนอน ด้วยการเทียบพื้นที่ได้กราฟที่วิเคราะห์ได้กับกราฟมาตรฐานจะทำให้ได้เปอร์เซ็นต์ก๊าซที่ถูกต้อง

วิธีการเตรียมก๊าซมาตรฐานอย่างง่ายก็คือ นำขวดทนความดันที่รู้ปริมาตรแน่นอน (งานวิจัยนี้ใช้ขนาด 60 มล.) มาไล่อากาศออกด้วยก๊าซไนโตรเจนประมาณ 3 นาที จากนั้นจึงเปิดจุกยางและผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม แล้วจึงบรรจุก๊าซไนโตรเจนลงขวดโดยผ่านเข็มเบอร์ 23 ขณะเดียวกันใช้เข็มเบอร์ 23 อีกอันหนึ่งปล่อยก๊าซภายในออก เป็นเวลา 10 นาที ดึงเข็มทั้งสองอันออก ใช้หลอดฉีดขนาดต่าง ๆ กันดูดก๊าซภายในออกตามปริมาตรที่ต้องการเตรียม เช่น ต้องการเตรียมก๊าซมีเทน 5 เปอร์เซ็นต์ ต้องดูดก๊าซไนโตรเจนออกจากขวดขนาด 60 มล.เท่ากับ 3 มล. แล้วจึงฉีดก๊าซมีเทนลงไปแทนอีก 3 มล. เป็นต้น

ในงานวิจัยนี้ ได้เตรียมกราฟมาตรฐานมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ตามวิธีการที่กล่าวมาข้างต้น ได้กราฟมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 3.13 ซึ่งจะเห็นว่าเส้นกราฟมาตรฐานที่ได้ไม่เป็นเส้นตรง แสดงว่าเกิดความผิดพลาดเกิดขึ้น สาเหตุของความผิดพลาดอาจมาจากขั้นตอนต่าง ๆ ในการเตรียมก๊าซมาตรฐาน เนื่องจากก๊าซเป็นสิ่งที่มองไม่เห็น ความผิดพลาดจากการรั่วไหลของก๊าซในการเตรียมก๊าซมาตรฐานก็อาจเกิดขึ้นได้ หรือก๊าซที่ใช้เตรียมเป็นก๊าซมาตรฐานมีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดของเครื่อง GC เอง เพราะการวัดก๊าซต้องเปลี่ยนคอลัมน์ที่ใช้และตั้งเครื่องให้ถูกต้องตามข้อกำหนดของผู้ผลิตเครื่อง ถ้าตั้งค่าได้ไม่ตรงก็อาจทำให้ผลวิเคราะห์ผิดพลาดได้ นอกจากนั้นหลังการฉีดตัวอย่าง 1 ตัวอย่างต้องรอประมาณ 3 นาทีเพื่อไล่ก๊าซที่ค้างอยู่ให้หมด เป็นการป้องกันไม่ให้ตัวอย่างที่ฉีดไปก่อนมาปนกับตัวอย่างที่ฉีดต่อมา แต่ความเร่งรีบและจำนวนตัวอย่างที่ต้องฉีดเป็นจำนวนมากทำให้เจ้าหน้าที่ที่วิเคราะห์ไม่ได้รอ 3 นาทีดังที่ควรจะเป็น แต่ฉีดต่อเนื่องกันไปเรื่อย ๆ (จากการสังเกตและสอบถามเจ้าหน้าที่ของวิจัยเอง) ทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อนไปจากที่ควรจะเป็น ดังนั้นในการวิเคราะห์ก๊าซนอกจากจะต้องเตรียมก๊าซมาตรฐานให้ถูกต้องแน่นอนที่สุดแล้ว สิ่งจำเป็นอีกประการหนึ่งก็คือต้องส่งวิเคราะห์กับห้องปฏิบัติการที่เชื่อถือได้ว่าทำงานอย่างถูกต้อง หรือต้องศึกษาเครื่อง GC และใช้ด้วยตนเองเพื่อให้มั่นใจได้ว่าทำถูกต้องจะช่วยลดข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้



ก. กราฟมาตรฐานของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์



ข. กราฟมาตรฐานของก๊าซมีเทน

รูปที่ 3.13 กราฟมาตรฐานของก๊าซมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์จากเครื่อง GC

3.5 การนับจำนวนแบกทีเรียชนิดไมโครออกซิเจน

3.5.1 จุดประสงค์

- หาจำนวนแบกทีเรียสร้างมีเทน (MPB) และแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (SRB) ต่อน้ำหนักสลัดจ์แห้ง 1 ก.
- หาสัดส่วนจำนวนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี ที่เลี้ยงด้วยสารอาหารต่างชนิดกันและที่ค่าอัตราส่วนซีไอดีต่อซัลเฟตต่างกัน

3.5.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

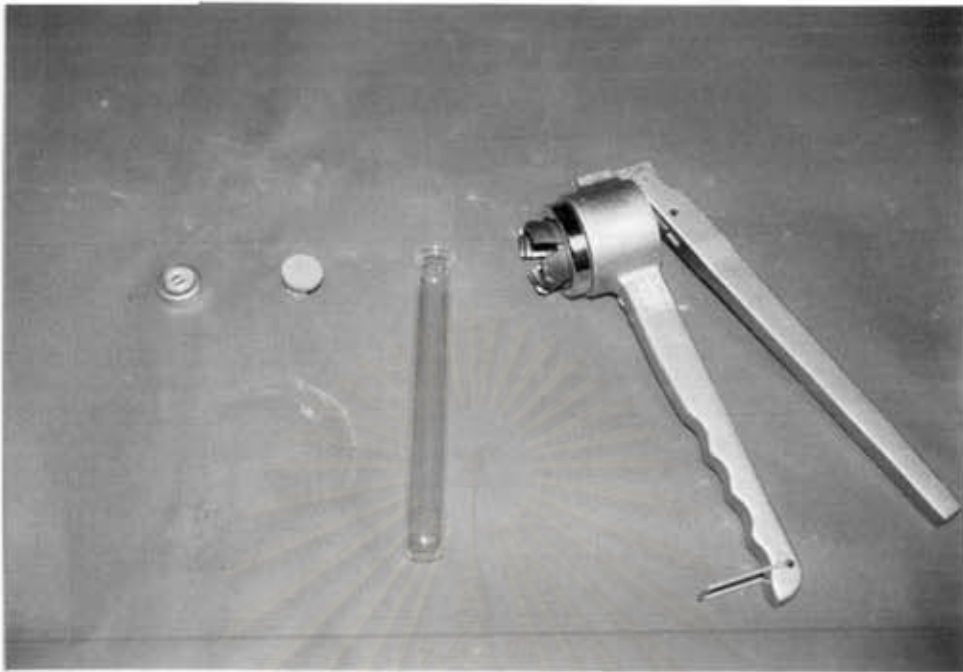
- 1) หลอดชนิดยาขนาด 1 มล., 10 มล. และ 20 มล.
- 2) เข็มเบอร์ 18 และ 23
- 3) ขวดทนความดันขนาด 20 มล. สำหรับเลี้ยงเชื้อ, จุกยาง, ฝาอะลูมิเนียม และที่ปิดฝาอะลูมิเนียม (No. 20488 (18 by 150 mm) Balch tube with butyl rubber stopper and aluminum seal to be crimped) ดังแสดงในรูปที่ 3.14
- 4) ก๊าซไนโตรเจน, ก๊าซไฮโดรเจน:คาร์บอนไดออกไซด์ 80:20 ของบริษัท TIG
- 5) เครื่องเคลือบหุ่นโดยเทคนิคของฮังเกต (Hungate, 1969) ดังแสดงในรูปที่ 3.15
- 6) เครื่องวอร์เท็กซ์มิกเซอร์
- 7) ท่อทองแดงสำหรับดูดก๊าซออกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 3.16

3.5.3 สารเคมี

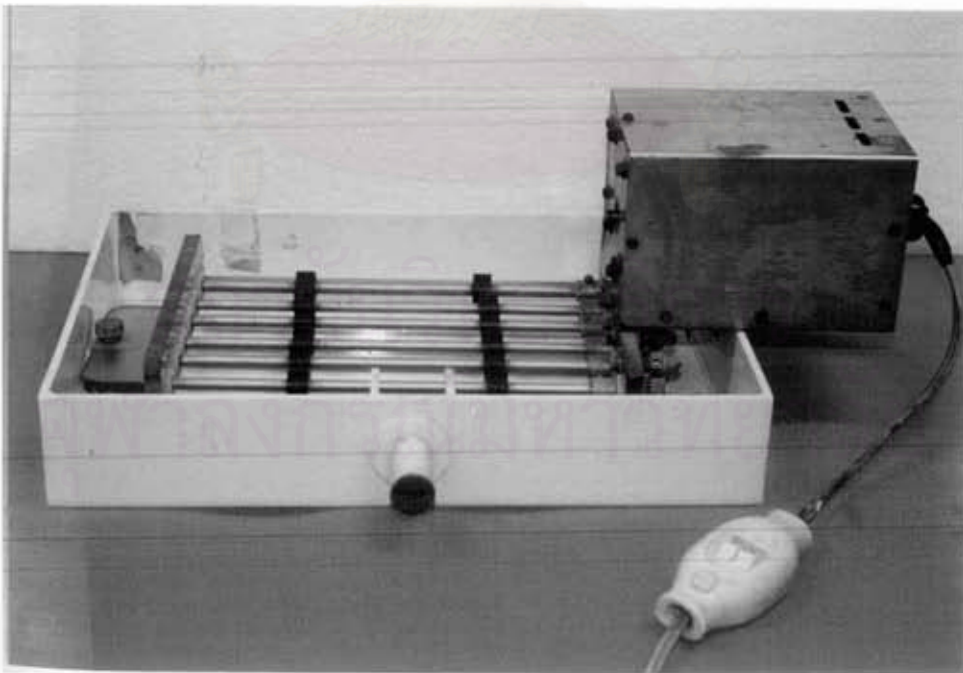
- สารเคมีทั่วไป

- 1) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

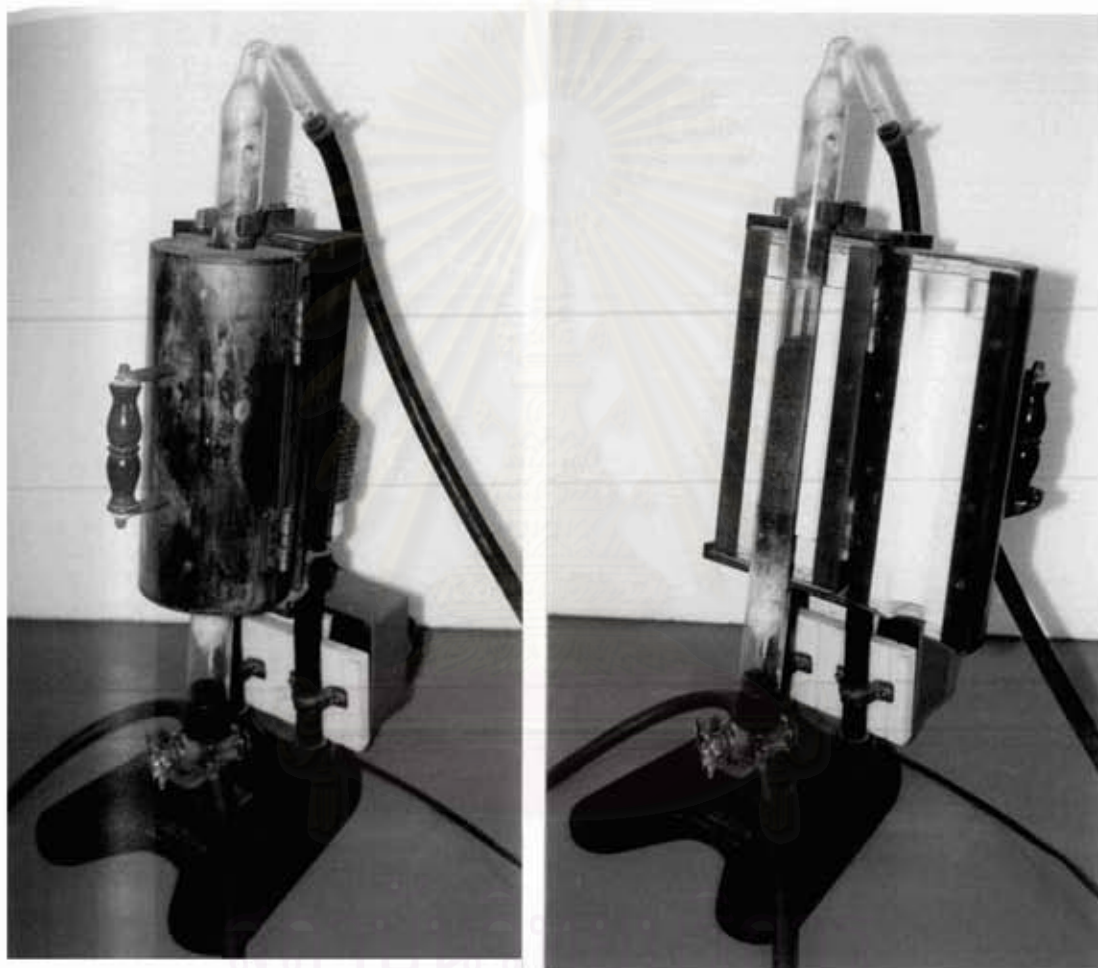
KH_2PO_4	75 g
K_2HPO_4	145 g
น้ำกลั่น	500 ml



รูปที่ 3.14 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 3.15 เครื่องเคลือบหินด้วยเทคนิคของยั้งเกต



ก. หลอดแก้วบรรจุควิปริกออกไซด์

ข. ลักษณะภายนอกของท่อทองแดง
สำหรับดูดออกซิเจน

รูปที่ 3.16 ท่อทองแดงสำหรับดูดก๊าซออกซิเจน

ปรับค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้ KOH ให้ได้ประมาณ 6.8-7.2 จากนั้นบรรจุลงขวดทนความดันภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน ปิดด้วยจุกยาง และผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม นำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที

2) สารละลายรีซาลูตินิเคเตอร์

ละลายสี่ซัลเฟอร์ซาลูติน 0.2 ก. ในน้ำกลั่น 100 มล.

3) สารละลายรีดิวิซ์

ซีสเตอีนไดคัลไนด์ 12.5 ก./น้ำกลั่น 1000 มล. (ใช้กับ SRB เพื่อไม่ให้เกิดการตกตะกอนของ FeS ใน media)

โซเดียมซัลไฟด์ 25 ก./น้ำกลั่น 1000 มล. (ใช้กับ MPB)

ปรับค่าความเป็นกรดต่างให้ได้ 9.5 โดยโซเดียมไฮดรอกไซด์ บรรจุลงขวดภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ปิดด้วยจุกยาง และผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม นำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 14 นาที

4) สารละลาย Trace Mineral

ไนโตรโลสไตรอะซิดิก	6.4	g
FeSO ₄	0.05	g
MnCl ₂	0.05	g
CoCl ₂	0.085	g
CaCl ₂	0.05	g
ZnCl ₂	0.05	g
CuCl ₂	0.01	g
H ₃ BO ₃	0.005	g
Na ₂ MoO ₄	0.005	g
Na ₂ SeO ₃	0.085	g
NiSO ₄	0.0013	g
น้ำกลั่น	500	ml

ละลายไนโตรโลไตรอะซิติกในน้ำกลั่น 100 มล. ปรับค่าความเป็นกรดต่างให้ได้ 6.5 โดยใช้ KOH แล้วจึงเติมสารอื่นให้ได้ปริมาตรเป็น 500 มล. บรรจุลงขวดภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน

5) สารละลายวิตามิน

ไบโอติน	0.001	g
กรดโฟลิก	0.001	g
บี 6 (ไพริดอกซิน) ไฮโดรคลอไรด์	0.005	g
บี 1 (ไทอามีน) ไฮโดรคลอไรด์	0.0025	g
บี 2 (ไรโบฟลาวิน)	0.0025	g
นิโคตินิก (ไนอาซิน)	0.0025	g
แพนโทเทนิค	0.0025	g
บี 12 (ไซยาโนโคบาลามิน)	0.00005	g
พาราอะมิโนเบนโซอิก	0.0025	g
กรดลิโปอิก	0.0025	g
น้ำกลั่น	500	ml

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายน้ำและบรรจุลงขวด ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านเยื่อกรองที่มี pore size ขนาด 0.2 ไมครอน (เนื่องจากการอบฆ่าเชื้ออาจทำให้สารต่าง ๆ เหล่านี้เปลี่ยนรูปได้) ดังแสดงในรูปที่ 3.17

6) คิวปริกออกไซด์ที่บรรจุในหลอดแก้วภายในท่อทองแดงเพื่อใช้จับออกซิเจน

- สารเคมีสำหรับแบกที่เรียกสร้างมีเทน

1) อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวพื้นฐาน

น้ำกลั่น	945	ml
NaCl	0.9	g



ก. เข็กรองและอุปกรณ์ที่ใช้ในการกรอง



ข. การบรรจุสารอาหารลงขวดปลอดเชื้อ

รูปที่ 3.17 การบรรจุสารอาหารลงขวดปลอดเชื้อด้วยการกรองผ่านเข็กรอง

MgCl ₂	0.2	g
CaCl ₂	0.1	g
NH ₄ Cl	1	g
Trace Mineral	10	ml
สารละลายวิชาจุลิน	1	ml

ปรับความเป็นกรดต่างให้ได้ 7.4 โดย KOH

2) อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

สูตรอาหารเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแต่มีการเติมก้อน 1.5 %

3) สับสเตรตที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

ไซเตียมอะซิเตต 1 mM และก๊าซ H₂:CO₂ (80:20)

- สารอาหารสำหรับ SRB

1) อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวพื้นฐาน ใช้ Postgate's Medium E มาดัดแปลงใช้¹

KH ₂ PO ₄	0.5	g
Na ₂ SO ₄	1.0	g
NH ₄ Cl	1.0	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0	g
CaCl ₂ ·6 H ₂ O	1.0	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O ²	0.0073	g
Yeast Extract	1.0	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ละลายสารเคมีแต่ละอย่างในน้ำกลั่น 50 มล. แยกกัน จากนั้นจึงนำมาเทรวมกันแล้วปรับ pH เป็น 7.6 ด้วย KOH เติมสารละลายวิชาจุลิน 1 มล. (ผสมรวมกันแล้วเติมน้ำที่เดียว 1000 มล. จะมีสารเคมีบางตัวไม่ละลาย-จากประสบการณ์)

- 2) สารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
 สูตรอาหารเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแต่มีการเติมวุ้น 1.5 % (ประมาณ 0.4 ก./หลอด)
- 3) สับสเตรตที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน
- 4) โซเดียมแลคเตต¹ 175 g/l (20 ml)

หมายเหตุ;

¹ Postgate's Medium E มีสูตรดังนี้

KH ₂ PO ₄	0.5	g
Na ₂ SO ₄	1.0	g
NH ₄ Cl	1.0	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0	g
CaCl ₂ ·6 H ₂ O	1.0	g
Sodium Lactate	3.5	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	g
Ascorbate	0.1	g
Thioglycollate	0.1	g
Purified agar	15	g
Yeast Extract	1.0	g
น้ำกลั่น	1000	ml

ลองเตรียม media ตามรายการ พบว่าเมื่อเติม FeSO₄·7H₂O จะทำให้เกิดการตกตะกอนขึ้นใน media ทั้ง ๆ ที่เติมไม่ถึง 0.5 g ตามรายการ ทำให้ต้องดัดแปลงสูตรอาหารบางตัวเพื่อไม่ให้เกิดปัญหาการตกตะกอนขึ้น

² "However, 66 µg FeSO₄ added to 9 ml of the complete medium provides enough iron to identify SRB colonies by their sulphide generation, but insufficient to react with the sulphide reductant." Lereet, P. N. 1991, *Anaerobic microbiology*, p. 221

จากข้อความดังกล่าว จึงทดลองเติม FeSO_4 0.0073 g ลงในสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1000 มล. (ซึ่งเมื่อแบ่งใส่หลอด หลอดละ 9 มล. แล้ว จะได้ FeSO_4 หลอดละ 66 ไมโคร ก. พอดี) พบว่าไม่เกิดการตกตะกอนเกิดขึ้น จึงตัดสินใจลดปริมาณ FeSO_4 ลงจาก 0.5 g เหลือ 0.0073 g

๑. โซเดียมแลคเตตที่ใช้เข้มข้น 50 % มี ถ.พ. เท่ากับ 1.27 ซึ่งจาก Postgate's Medium E จะเติมโซเดียมแลคเตต 3.5 ก.ต่อ media 1 ล.

$$\begin{aligned}\text{โซเดียมแลคเตต 50 \%} &= 500 \text{ g/l} \times 1.27 \text{ g/l} \\ &= 635 \text{ g/l}\end{aligned}$$

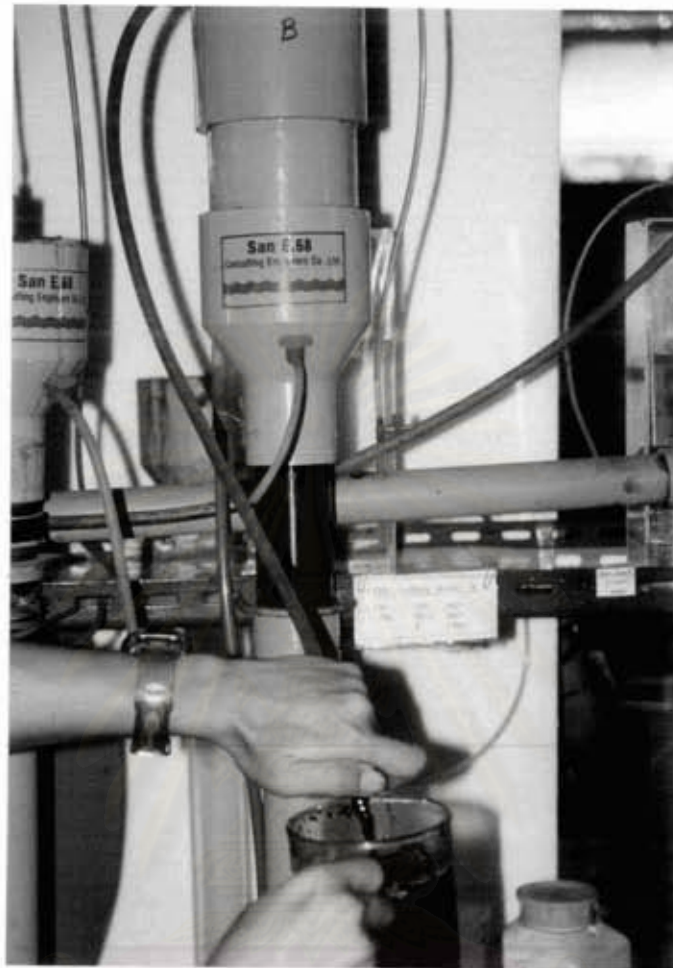
3.5.4 วิธีการทดลอง

1) เตรียมเชื้อเริ่มต้น

เก็บตัวอย่างสลัดจ์ที่ได้จากถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีในชุดการทดลองแรกและชุดการทดลองที่ 2 โดยการใช้สายยางดูดสลัดจ์ตอนบน และตอนกลางของถังปฏิกรณ์ ส่วนตอนล่างของถังปฏิกรณ์ ใช้การเปิดวาล์วได้ดังแล้วนำภาชนะมารองรับ ดังแสดงในรูปที่ 3.18

นำตัวอย่างที่ได้มาผสมรวมกันในอัตราส่วนเท่า ๆ กัน บรรจุลงในขวดแก้วทึบความดันขนาด 60 มล. ปิดด้วยจุกยางและผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม ใส่อากาศตอนบนขวดด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส โดยตัวอย่างที่เก็บไว้ในตู้เย็นเก็บไว้ได้ไม่เกิน 6 เดือน

2) คำนวณจำนวนตัวอย่างที่ต้องทำในแต่ละครั้ง



รูปที่ 3.18 การเก็บตัวอย่างสถิติจากถังปฏิกรณ์

คำนวณจำนวนตัวอย่างที่ต้องเตรียมเพื่อใช้เพาะเลี้ยง โดยคำนวณจาก	
จำนวนการทดลอง	2 ชุดการทดลอง
จำนวนตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ 3 ถัง	3 ตัวอย่าง
ชนิดของสารอาหารที่ใช้	3 ชนิด
ความเข้มข้นของสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6})	6 ความเข้มข้น
ความเข้มข้นของสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} และ 10^{-7})	6 ความเข้มข้น
จำนวนตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น (เฉพาะสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง)	3 ตัวอย่าง (เพื่อหาค่าเฉลี่ย)

จำนวนตัวอย่างสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว = $3 \times 6 = 18$ ตัวอย่าง/ถึงปฏิกรณ์

จำนวนตัวอย่างสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง = $3 \times 6 \times 3 = 54$ ตัวอย่าง/ถึงปฏิกรณ์

ดังนั้น ในแต่ละครั้งจะเตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 25 หลอดและสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง 65 หลอด สาเหตุที่ต้องเตรียมมากกว่าที่คำนวณเพราะป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ แต่ไม่อาจเตรียมจำนวนมาก ๆ ในครั้งเดียวได้เนื่องจากข้อจำกัดด้านอุปกรณ์อันได้แก่ จำนวนจุกยางและหลอดเลี้ยงเชื้อไม่เพียงพอ

จำนวนตัวอย่างทั้งหมดในการทำวิจัย = $2 \times 3 \times (18 + 54) = 432$ ตัวอย่าง

3) เตรียมสารอาหารทั่วไป

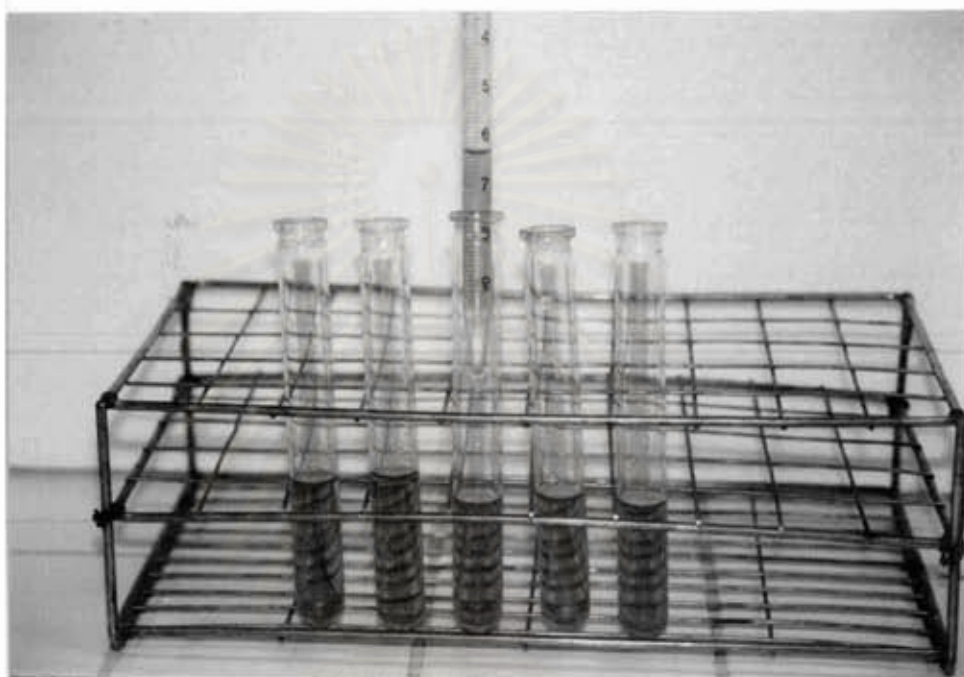
- เตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

เตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวตามสูตรเคมีและวิธีการดังแสดงในหัวข้อ 3.5.3 จำนวนตัวอย่างดังแสดงในหัวข้อ 3.5.4 (2) นำสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เตรียมไว้มาบรรจุลงหลอดทนความดัน หลอดละ 8.5 มล. ดังแสดงในรูปที่ 3.19 จากนั้นใส่อากาศออกจากหลอดโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 3.20 แล้วจึงปิดด้วยจุกยางพร้อมผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที

หลังจากนั้นนำมาเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 มล., สารรีดิวซ์ 0.1 มล., สารละลายวิตามิน 0.1 มล. และสารอาหารต่าง ๆ เข้มข้น 1,000 มิลลิโมลาร์ 0.2 มล. โดยการเติมสารทั้งหมดนี้ใช้เข็มเบอร์ 23 โดยเทคนิคปลอดเชื้อ ดังรูปที่ 3.21 และ 3.22 จะได้หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาณ 9 มล.

- เตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

เตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวตามสูตรเคมีและวิธีการดังแสดงในหัวข้อ 3.5.3 จำนวนตัวอย่างดังแสดงในหัวข้อ 3.5.4 (2) นำสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เตรียมไว้มาบรรจุลงหลอดทนความดัน หลอดละ 2.85 มล. จากนั้นใส่อากาศออกจากหลอดโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 3.19 แล้วจึงปิดด้วยจุกยางพร้อมผนึกด้วยฝาอะลูมิเนียม นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที

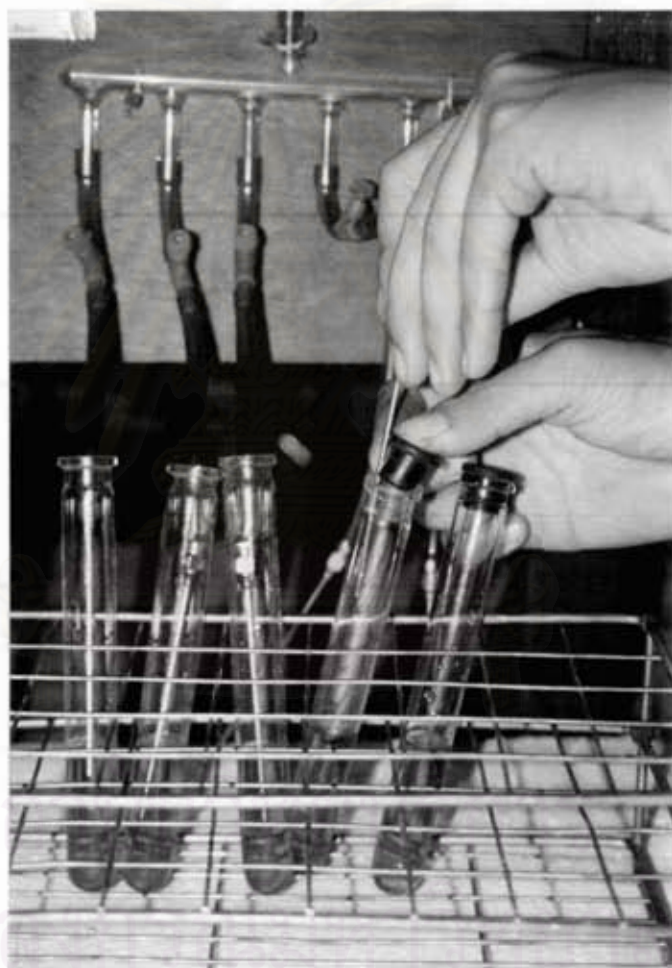


รูปที่ 3.19 การบรรจุสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลงหลอดทนความดัน

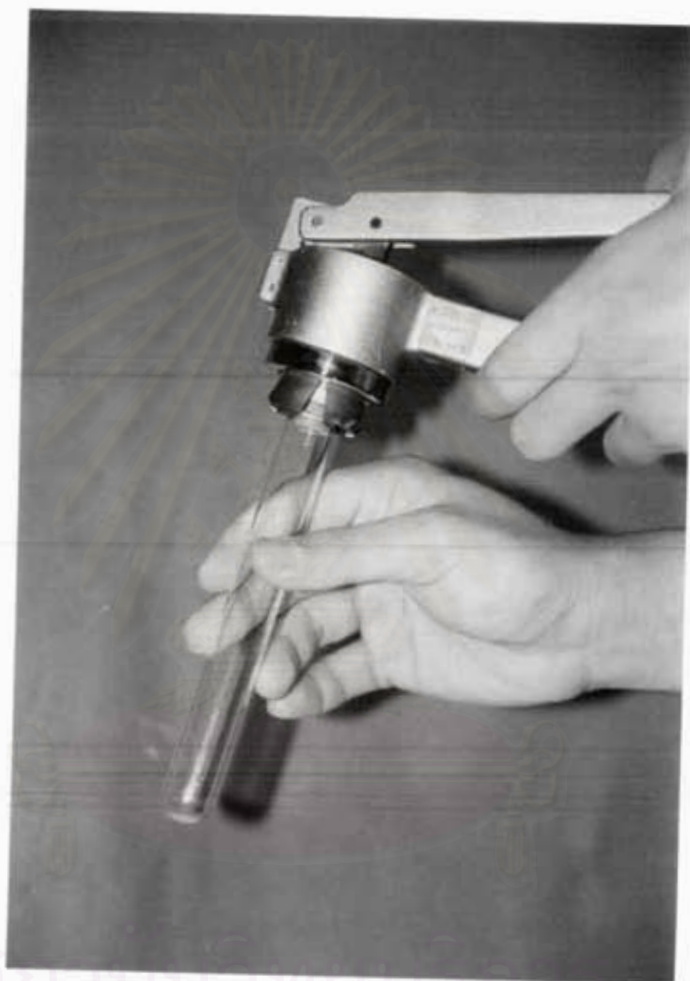
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.20 การได้อากาศออกจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน



รูปที่ 3.21 การปิดหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยจุกยาง



รูปที่ 3.22 การปิดหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยฝาอะลูมิเนียม

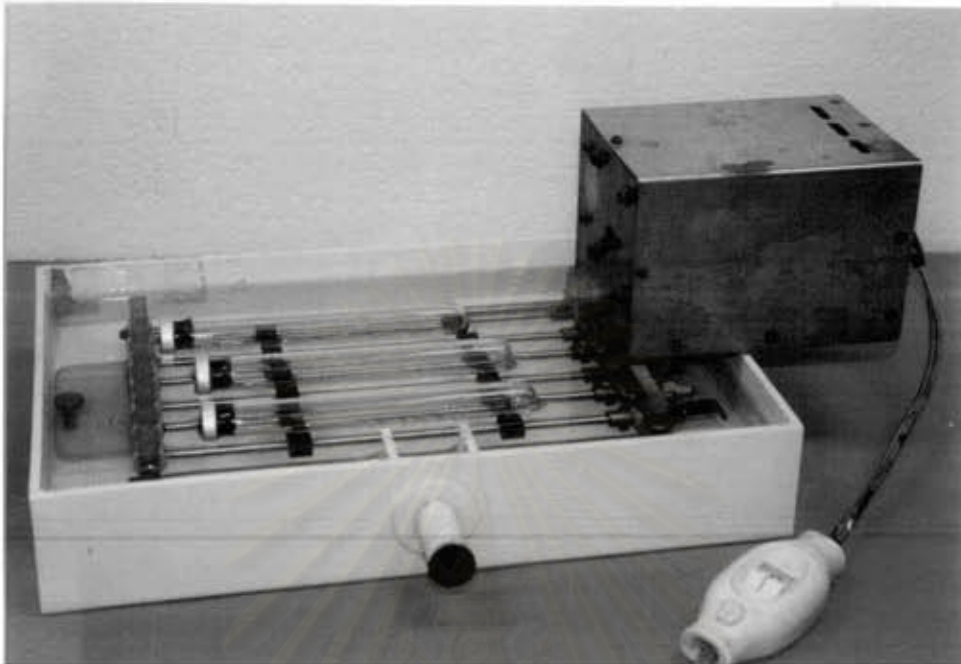
4) การเตรียมเชื้อเบื้องต้น

นำขวดเก็บตัวอย่างมาเขย่าด้วยเครื่องวอร์เทกซ์มิกเซอร์เพื่อให้เชื้อผสมเข้ากัน จากนั้นดูด สลัดจ์จากขวดเก็บตัวอย่างด้วยเข็มเบอร์ 18 ปริมาณ 1 มล. มาถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ เหลว ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จะได้หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเข้มข้น 10^{-1} ทำเช่นเดียวกันให้ครบทุก สารอาหาร จากนั้นนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเข้มข้น 10^{-1} ที่เตรียมได้ไปเขย่าบนเครื่องวอร์- เทกซ์มิกเซอร์ ใช้เข็มเบอร์ 18 ดูดของเหลวภายในหลอดปริมาณ 1 มล. มาถ่ายลงในหลอดอาหาร เลี้ยงเชื้อเหลวอีกหลอดหนึ่ง ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จะได้หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเข้มข้น 10^{-2} ด้วยวิธีการเดียวกันนี้ เตรียมสารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจนครบตามจำนวนตัวอย่างที่คำนวณไว้

5) การหาปริมาณที่นับได้ของแบคทีเรียในสลัดจ์

นำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่เตรียมไว้ไปหลอมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (ใช้ตู้อบ ความดันหรืออ่างน้ำร้อน) เป็นเวลาประมาณ 7 - 10 นาทีเพื่อให้หลอมเหลว จากนั้นเติมสาร ละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.03 มล. สารรีดิวซ์ 0.03 มล. สารอาหารเข้มข้น 1,000 มิลลิโมลาร์ 0.06 มล. ในช่วงนี้ต้องทำงานอย่างรวดเร็วเพราะกุนอาจทำให้อาหารแข็งได้ ถ้าอาหารแข็งตัวในช่วงนี้ให้ นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนจนอาหารหลอมเหลวอีกครั้งหนึ่ง (จากประสบการณ์จะนำอาหารเลี้ยงเชื้อ แข็งจากอ่างน้ำร้อนมาเพียง 2 - 3 หลอดในแต่ละครั้ง พอเติมสารต่าง ๆ ครบกุนจะเริ่มแข็งตัว) จาก นั้นเติมสารละลายวิตามิน 0.03 มล. พร้อมกับนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวมาเขย่าด้วยเครื่อง วอร์เทกซ์มิกเซอร์ ดูดของเหลวในหลอดออกมา 0.03 มล. จะได้เชื้อที่เจือจางลงจากหลอดอาหาร เลี้ยงเชื้อเหลว 10 เท่า (เติมวิตามินและเชื้อที่ต้องการเพาะหลังสุด เพราะถ้าเติมก่อนแล้วกุนแข็งตัว ต้องนำไปทำให้กุนหลอมใหม่อาจทำให้วิตามินเสื่อมสภาพและเชื้อตายได้) ให้นำไปวางบนเครื่อง มือของยังเกตซึ่งหมุนตลอดเวลาขณะที่น้ำไหลผ่าน กุนจะแข็งตัวเคลือบผิวด้านในอย่างสม่ำเสมอ ดังแสดงในรูปที่ 3.23 นำไปบ่มต่อในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนับจำนวน โคโลนีของเชื้อทุกสัปดาห์

การเติมสารอาหารด้วยอะซิเตตและแลคเตตเติมได้ง่ายด้วยการใช้เข็มฉีดยา แต่สาร อาหารที่เป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ต้องเติมโดยผ่านจากดั่งก๊าซโดยตรง ด้วยเข็มฉีดยา เบอร์ 23 โดยใช้ความดัน 1 บรรยากาศเป็นเวลา 5 นาที (เปิดวาล์วให้ก๊าซภายในถังไหลออกมา ก่อนสัก 20 วินาที แล้วจึงแทงเข็มฉีดยาผ่านฝาปิดยางเพื่อเติมก๊าซ เพราะบางครั้งอาจมีออกซิเจน ค้างอยู่ในท่อได้) ดังแสดงในรูปที่ 3.24

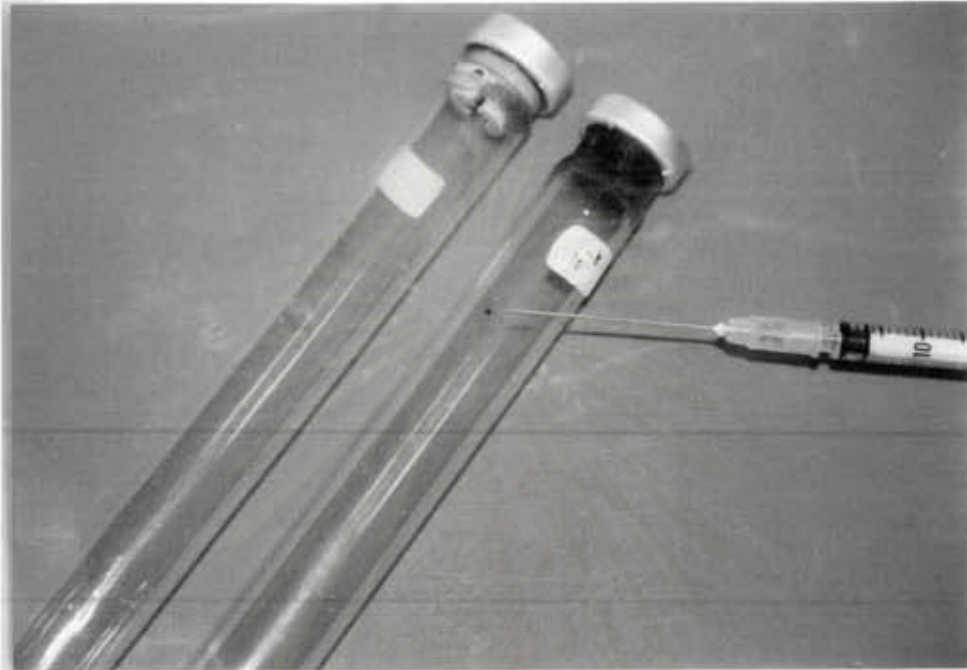


รูปที่ 3.23 การเคลือบสารอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเข้ากับผิวในของหลอดอาหารด้วยเทคนิคของยังเกต

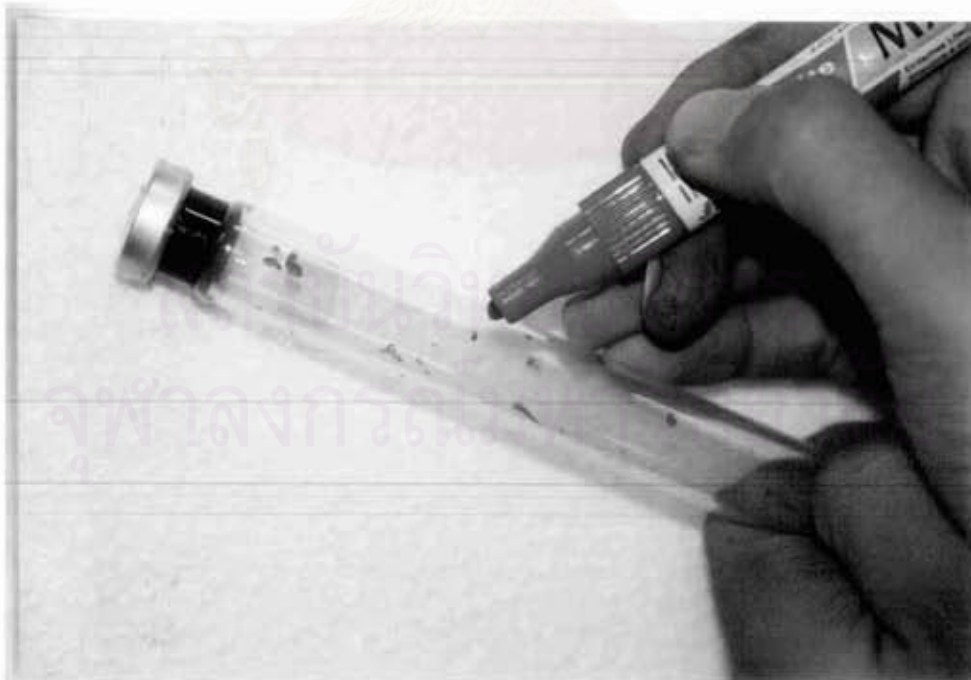


รูปที่ 3.24 วิธีการเติมสารอาหารที่เป็นก๊าซ

โดยปกติแล้วจะใช้เวลาประมาณ 2 - 3 สัปดาห์ก็จะเห็นเชื้อได้ชัดเจนพอที่จะนับได้ วิธีการนับทำโดยนำหลอดมาส่องกับแสงไฟแล้วใช้สิแต้มโคลินที่นับไปแล้วจนนับจำนวนทั้งหมดได้ ดังแสดงในรูปที่ 3.25



ก. ลักษณะโคโลนีของแบกทีเรีย



ข. การนับจำนวนโคโลนี

รูปที่ 3.25 วิธีการนับโคโลนีของแบกทีเรีย

6) หาปริมาณแบคทีเรียในเซลล์แห้ง 1 ก.

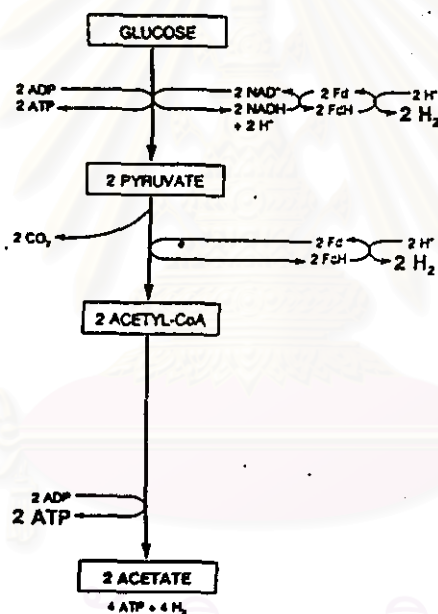
ใช้เข็มฉีดยา (เบอร์ 28) ดูดตัวอย่างเซลล์ที่แช่เย็นไว้มาหาคำนวณน้ำหนักแห้งโดยการกรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำไปอบที่ 105 และ 550 องศาเซลเซียส เพื่อหาของแข็งแขวนลอยและของแข็งแขวนลอยระเหย ปริมาณแบคทีเรียที่นับได้จะคิดต่อ 1 กรัมของแข็งแขวนลอยระเหย

3.6 การใช้สมมูลมวลของซีไอทีและซัลเฟอร์ทำนายการเปลี่ยนแปลงมวลสารในระบบ

การวิเคราะห์หาพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในน้ำในแต่ละวันสามารถทำได้ไม่ยาก และสามารถทำเสร็จได้ในเวลาที่รวดเร็ว ไม่ว่าจะเป็นการวิเคราะห์ซีไอที ซัลเฟต ซัลไฟด์ ฟิเอช ความเป็นด่าง อุณหภูมิ ไออาร์พี ฯ แต่การวิเคราะห์หาส่วนประกอบและปริมาณของก๊าซแต่ละชนิดที่เกิดขึ้นเป็นเรื่องที่ยุ่งยากและต้องใช้เวลาาน เนื่องจากการวิเคราะห์หาสัดส่วนของก๊าซแต่ละชนิดต้องใช้เครื่อง GC (Gas Chromatography) ซึ่งต้องเตรียมก๊าซที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่าง ๆ ไปวิเคราะห์เทียบกับก๊าซที่เราต้องการทราบส่วนประกอบและปริมาณ ซึ่งเป็นงานที่ต้องละเอียดและใช้เวลา ดังนั้นการวิเคราะห์ก๊าซในแต่ละครั้งจึงต้องรอให้จำนวนตัวอย่างก๊าซที่เก็บไว้มีปริมาณพอเหมาะ ไม่มากหรือน้อยเกินไปเพื่อไม่ให้เสียเวลาและค่าใช้จ่ายที่มากเกินไป เป็นเหตุให้ผลการวิเคราะห์ในแต่ละวันขาดข้อมูลในส่วนของก๊าซไป การหาสมมูลของซีไอทีในระบบจึงเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก แต่การใช้สมมติฐานในหัวข้อ 3.6.1 ร่วมกับข้อมูลที่ได้ในแต่ละวันทำให้พอจะหาสมมูลมวลของซีไอทีได้ และสามารถทำนายได้ถึงปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น, สัดส่วนของก๊าซแต่ละชนิด, สัดส่วนการใช้โอเลกตรอนโดยแบคทีเรียสร้างที่เทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, ปริมาณซัลไฟด์ละลายน้ำ และปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น ประโยชน์ที่ได้รับจากการทำนายการเปลี่ยนแปลงมวลสารในระบบ คือ การช่วยให้ทราบได้ว่าในขณะที่ทำการทดลองอยู่นั้น ข้อมูลต่าง ๆ สัมพันธ์กันอย่างไร ช่วยปรับปรุงการทำงานในแต่ละวันโดยเทียบปริมาตรก๊าซที่วัดได้ในแต่ละวันกับปริมาตรก๊าซที่ได้จากการคำนวณว่าแตกต่างกันมากหรือน้อยเพียงไร ถ้าปริมาตรที่คำนวณได้ต่างกับปริมาตรก๊าซที่วัดได้จริงมากมีสาเหตุมาจากพารามิเตอร์ตัวใด ทบทวนและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์พารามิเตอร์ตัวนั้น ในการวิเคราะห์ครั้งต่อไปก็เอาใจใส่ให้มากขึ้น ถ้าพารามิเตอร์ทุกตัวไม่แตกต่างไปจากวันก่อน ๆ ก็ต้องตรวจสอบการทำงานของอุปกรณ์ เช่น อุปกรณ์เก็บและวัดปริมาตรก๊าซแบบแทนที่น้ำว่ารั่วหรือไม่ ลายยางแตกหรือรั่วหรือไม่ ส่วนดักก๊าซใน GSS ต้นเนื่องจาก scum หรือไม่ ฯ ทำให้การทำงานเป็นไปได้อย่างถูกต้องและราบรื่น

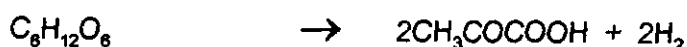
3.6.1 สมมติฐานเบื้องต้น

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า สารอินทรีย์ที่เข้าสู่กระบวนการให้ออกซิเจน ถ้าเป็นสารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่จะถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสให้เล็กลง ก่อนจะผ่านเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิส และถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของกรดอะซิติกซึ่งจะถูกใช้ต่อไปโดยแบคทีเรียสร้างมีเทนหรือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (ในกรณีที่ไม่มีไนเตรต) แต่ผลิตภัณฑ์ของกระบวนการให้ออกซิเจนนอกจากกรดอะซิติกแล้ว ยังให้ไฮโดรเจนเป็นผลิตภัณฑ์อีกด้วย โดยซีไอดีที่เข้าระบบจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกประมาณ 70 % และเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนประมาณ 30 % ดังนั้น สมมติฐานแรกที่น่าไปใช้เป็นเงื่อนไขพื้นฐานในการทำนายการเปลี่ยนแปลงมวลสารในระบบก็คือ "ซีไอดีที่ถูกกำจัดทั้งหมดด้วยกระบวนการให้ออกซิเจน ถูกย่อยสลายผ่านทางกรดอะซิติก 70 % และผ่านทางไฮโดรเจน 30 %" สมมติฐานนี้มีที่มาจากการศึกษาการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดอะซิติกดังแสดงในรูปที่ 3.26



รูปที่ 3.26 การเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นอะซิเตต (Fenchel และ Finlay, 1995: 43)

สมการการเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดอะซิติกแสดงดังสมการที่ 3.1



(glucose) (pyruvic)



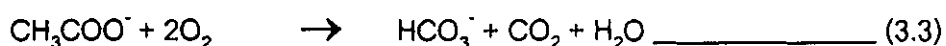
กลูโคส	1 โมล เทียบเท่ากับซีไอดี 192 ก. (100%)
อะซิติก	2 โมล เทียบเท่ากับซีไอดี 128 ก. (66.6%)
ไฮโดรเจน	4 โมล เทียบเท่ากับซีไอดี 64 ก. (33.3%)

ดังนั้น ซีไอดีจากน้ำตาล 100 % ถูกย่อยสลายผ่านทางกรดอะซิติกประมาณ 70 % และผ่านทางไฮโดรเจนประมาณ 30 %

จากงานของ Lovley และคณะ (1982), งานของ Visser (1994: 12) และงานของ Omil (1996) ดังที่ได้แสดงในหัวข้อ 2.4.1 กล่าวถึงแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนว่าเป็นผู้บริโภคไฮโดรเจนในระบบ สามารถใช้ไฮโดรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นสมมติฐานอีกประการหนึ่งก็คือ "ไฮโดรเจนในระบบถูกใช้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก่อนแบคทีเรียสร้างมีเทน"

3.6.2 การใช้ซีไอดีในระบบโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

จากตาราง 2.8 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซัลเฟต 1 โมลรับอิเล็กตรอนจากไฮโดรเจน 4 โมล ได้ซัลไฟด์ 1 โมล ส่วนแบคทีเรียสร้างมีเทนใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมลรับอิเล็กตรอนจากไฮโดรเจน 4 โมล ได้มีเทน 1 โมล และจากตารางที่ 2.11 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซัลเฟต 1 โมลรับอิเล็กตรอนจากอะซิเตต 1 โมล ได้ซัลไฟด์ 1 โมลกับคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมล ส่วนแบคทีเรียสร้างมีเทนใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมลรับอิเล็กตรอนจากอะซิเตต 1 โมล ได้มีเทน 1 โมลกับคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมล แต่ไฮโดรเจน 4 โมลเทียบเท่ากับซีไอดี 2 โมลและอะซิเตต 1 โมลเทียบเท่ากับซีไอดี 2 โมล ดังแสดงในสมการ 3.2 และ 3.3



ดังนั้น จากสมการที่ 3.2, 3.3, ตารางที่ 2.8 และ 2.11 เราจึงสรุปได้ดังตารางที่ 3.5

$$C^* = K_h P^*$$

$$C^* = \text{ความเข้มข้นของก๊าซที่ละลายน้ำ (โมล/ล.)}$$

$$K_h = \text{ค่าคงที่ (โมล/ล.-บรรยากาศ)}$$

$$P^* = \text{ปริมาณก๊าซที่วัดเป็น partial pressure (บรรยากาศ)}$$

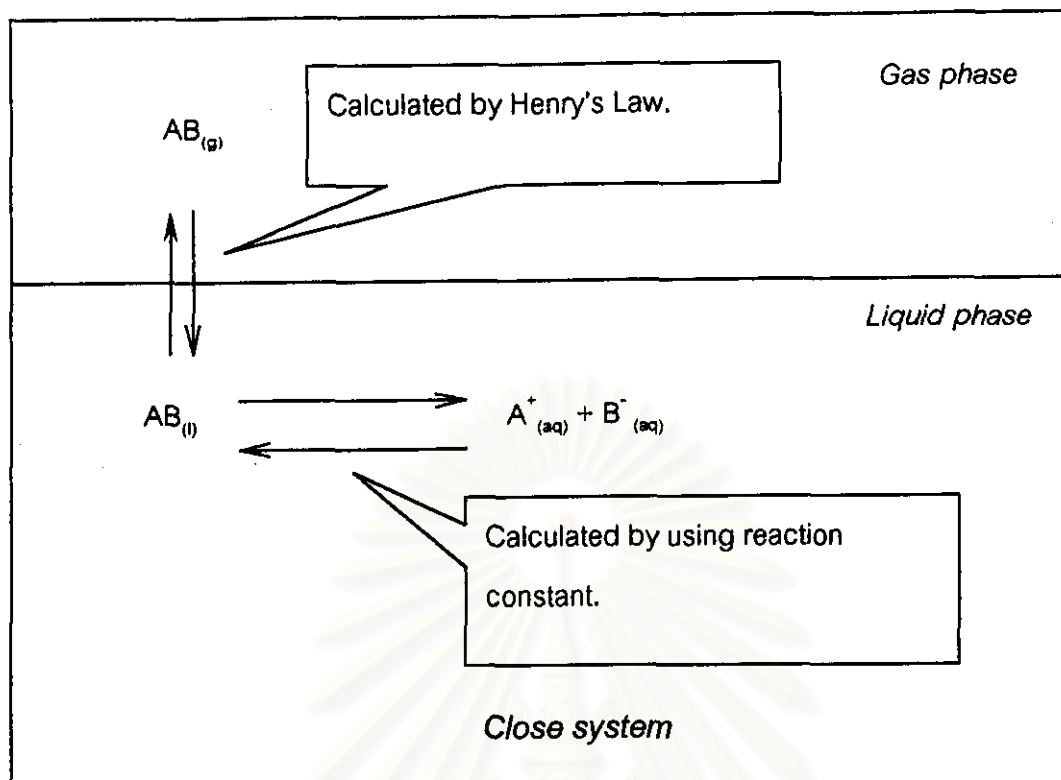
ได้จาก
 กฎของเฮนรี่ - กฎของเฮนรี่
 กฎของเฮนรี่กล่าวว่า "สำหรับก๊าซที่ละลายในของเหลวและก๊าซที่ละลายในของเหลว ความสามารถในการละลายขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซ (partial pressure) ในบรรยากาศเหนือ" สามารถคำนวณ

ของก๊าซที่ละลายในของเหลวสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.27
 ความสัมพันธ์ของอัตราในสถานะก๊าซ, ที่ละลายในของเหลวในแง่ของอัตราจากกฎของเฮนรี่
 ค่าคงที่การแพร่ของของเหลวของก๊าซที่ละลายในของเหลว 1 ส่วนการแพร่ของของเหลวในของเหลว
 ปฏิสัมพันธ์กับน้ำและแก๊สที่ละลายในของเหลว การแพร่ของของเหลวที่ละลายในของเหลวในของเหลว
 เหนือในของเหลวที่ละลายในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลว
 เกิดขึ้นในระบบปิด ที่ซึ่งมีผลต่อการไหลของของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลว
 การไหลออกของของเหลวที่ละลายในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลว
 กระบวนการไหลออกของของเหลวที่ละลายในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลวในของเหลว

3.6.3 การละลายของก๊าซในของเหลว

แบบที่	การแพร่	มวลสารที่ละลายใน (โมล)		
		ที่ไหล	ที่ไหล	ที่ไหล
SRB	ไฮโดรเจน	-2	-1	0
	อะซิโตน	-2	-1	0
MPB	ไฮโดรเจน	-2	-1	0
	อะซิโตน	-2	-1	0

ตารางที่ 3.5 มวลสารที่ละลายในของเหลวที่ไหลออกโดยแบบที่ 1 จากการใช้ของเหลวที่ละลายในของเหลวและแบบที่ 2



รูปที่ 3.27 การละลายน้ำของก๊าซและการแตกตัวของก๊าซละลายน้ำ

ค่า K_n ของก๊าซบางชนิดแสดงดังตารางที่ 3.6

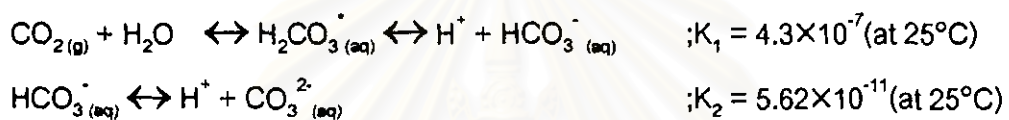
ตาราง 3.6 ค่าคงที่ K_n ของก๊าซต่าง ๆ (10^{-4} โมล/ล.-บรรยากาศ) (มันสัน ดัชนีอุตสาหกรรม, 2537: 95)

T, °C	Air	CO ₂	CO	C ₂ H ₆	H ₂	H ₂ S	CH ₄	NO	N ₂	O ₂
0	12.9	764	15.8	44.2	9.62	2,070	24.8	32.9	10.5	21.8
10	10.1	535	12.6	29.4	8.75	1,520	18.7	25.5	8.33	17.0
20	8.38	392	10.4	21.2	8.14	1,150	14.8	21.1	6.93	13.8
30	7.20	299	8.96	16.3	7.63	914	12.4	17.9	6.03	11.7
40	6.40	239	7.98	13.2	7.40	748	10.7	15.8	5.35	10.4
50	5.88	197	7.30	11.1	7.28	630	9.64	14.2	4.92	9.46
60	5.50	163	6.77	9.85	7.28	540	8.88	13.3	4.63	8.85
70	5.30		6.58	8.93	7.30	467	8.34	12.7	4.44	8.40
80	5.20		6.58	8.40	7.37	412	8.15	12.4	4.41	8.10
90	5.15		6.57	8.10	7.40	386	8.04	12.3	4.41	7.98
100	5.20		6.57	8.03	7.46	376	7.93	12.2	4.41	7.93

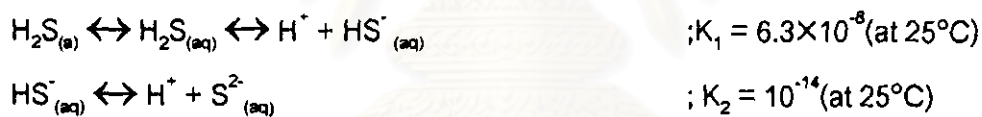
ค่า K_h เป็นค่าคงที่ที่ขึ้นอยู่กับชนิดของสารและอุณหภูมิ ดังนั้นการคำนวณหาปริมาณก๊าซละลายน้ำจะต้องระบุอุณหภูมิทุกครั้ง

- การแตกตัวของก๊าซชีวภาพที่ละลายน้ำ

ก๊าซที่เกิดขึ้นในกระบวนการไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟตอยู่ด้วยประกอบด้วยก๊าซ 3 ชนิด คือ ก๊าซมีเทน, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งก๊าซมีเทนเมื่อละลายน้ำแล้วจะไม่แตกตัว ส่วนการละลายน้ำของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นไปตามสมการข้างล่าง



การละลายน้ำของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นไปตามสมการข้างล่าง



ค่าคงที่การแตกตัวของสารขึ้นอยู่กับค่า ionic strength ของสารละลายและอุณหภูมิ ค่า ionic strength ของสารละลายสามารถหาได้โดยการวัดค่าของแข็งละลายน้ำ (TDS) แล้วจึงนำมาเทียบกับกราฟเพื่อหาค่า ionic strength

ตามปกติแล้ว ค่า K_2 (ค่าคงที่ของการแตกตัวครั้งที่ 2) มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับค่า K_1 ดังนั้นเพื่อลดความยุ่งยากในการคำนวณจึงไม่นำเอาค่า K_2 มาใช้คำนวณด้วย

3.6.4 การคำนวณเพื่อทำนายการเปลี่ยนแปลงมวลสารในระบบ

ก่อนการคำนวณจำเป็นต้องทราบค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ คือ

1) ซีไอดีเข้า

- 2) ซีไอดีออก
- 3) ซัลเฟตเข้า
- 4) ซัลเฟตออก
- 5) จุดหนุมิ
- 6) พีเอช

การคำนวณเริ่มต้นจาก

ก) หาค่าซีไอดีและซัลเฟตที่ถูกกำจัด

สมมติว่าซีไอดีที่ถูกกำจัดเท่ากับ C โมล ส่วนซัลเฟตถูกกำจัดเท่ากับ S โมล เกิดมีเทนทั้งหมด T_{CH_4} เป็นก๊าซมีเทน M โมล, เกิดไบคาร์บอเนตทั้งหมด T_{CO_2} เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ B โมล และเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ทั้งหมด T_{H_2S} เป็นก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ F โมล

จากตารางที่ 3.5 ;

แบกที่เรียรีดิทซ์ซัลเฟตใช้ซีไอดี = $S \times 2 = 2S$ โมล

แบกที่เรียสร่างมีเทนใช้ซีไอดี = $C - 2S$ โมล

ซีไอดีถูกย่อยสลายผ่านทางอะซิเตต = $0.7C$ โมล

ซีไอดีถูกย่อยสลายผ่านทางไฮโดรเจน = $0.3C$ โมล

- ไฮโดรเจนในระบบมีมากกว่าซีไอดีที่ถูกใช้โดยแบกที่เรียรีดิทซ์ซัลเฟต ($0.3C > 2S$)

จากสมมติฐานข้อที่ 2 ในหัวข้อ 3.6.1 แบกที่เรียรีดิทซ์ซัลเฟตเป็นผู้บริโภคไฮโดรเจนในระบบ ถ้าไฮโดรเจนในระบบมีมากกว่าซีไอดีที่ถูกใช้โดยแบกที่เรียรีดิทซ์ซัลเฟต แสดงว่าแบกที่เรียรีดิทซ์ซัลเฟตใช้ซีไอดีทั้งหมดจากไฮโดรเจน ไฮโดรเจนส่วนที่เหลือและอะซิเตตที่เกิดขึ้นทั้งหมดถูกใช้โดยแบกที่เรียสร่างมีเทน ดังแสดงในรูปที่ 3.28 ส่วนปริมาณสารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการใช้ซีไอดีของแบกที่เรียทั้งสองพวกแสดงในตาราง 3.7

H ₂ 0.3C	HAc 0.7C
SRB 2S	MPB C-2S

รูปที่ 3.28 สัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน เมื่อไฮโดรเจนในระบบมีมากกว่าซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟต

ตารางที่ 3.7 มวลสารที่เปลี่ยนไปจากการใช้ซีโอดีโดยแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน เมื่อไฮโดรเจนในระบบมีมากกว่าซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟต

แบกทีเรีย	สารอาหาร	มวลสารที่เปลี่ยนไป (โมล)				
		ซีโอดี	ซัลเฟต	คาร์บอนไดออกไซด์	มีเทน	ไฮโดรเจนซัลไฟด์
SRB	ไฮโดรเจน	-2S	-S	0	0	+S
	อะซิเตต	0	0	0	0	0
MPB	ไฮโดรเจน	0.3C-2S	0	-(0.3C-2S)/2	+(0.3C-2S)/2	0
	อะซิเตต	-0.7C	0	+0.35C	+0.35C	0
Total				0.2C+S	0.5C-S	S

- ไฮโดรเจนในระบบมีน้อยกว่าซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟต ($0.3C < 2S$)

ถ้าไฮโดรเจนในระบบมีอยู่น้อยกว่าซีโอดีที่แบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟตใช้ไป แสดงว่าไฮโดรเจนทั้งหมดและอะซิเตตบางส่วนถูกใช้ไปโดยแบกทีเรียรีดิทิวซ์ซัลเฟต อะซิเตตส่วนที่เหลือถูกใช้โดยแบกทีเรียสร้างมีเทน ดังแสดงในรูปที่ 3.29 ส่วนปริมาณสารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นแสดงในตารางที่ 3.8

H ₂ 0.3C	HAc 0.7C
SRB 2S	MPB C-2S

รูปที่ 3.29 สัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกที่เรียรีดิวัชชีลเฟตและแบกที่เรียสร้างมีเทน เมื่อไฮโดรเจนในระบบมีน้อยกว่าซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกที่เรียรีดิวัชชีลเฟต

ตารางที่ 3.8 มวลสารที่เปลี่ยนไปจากการใช้ซีโอดีโดยแบกที่เรียรีดิวัชชีลเฟตและแบกที่เรียสร้างมีเทน เมื่อไฮโดรเจนในระบบมีน้อยกว่าซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกที่เรียรีดิวัชชีลเฟต

แบกที่เรีย	สารอาหาร	มวลสารที่เปลี่ยนไป (โมล)				
		ซีโอดี	ชีลเฟต	คาร์บอนไดออกไซด์	มีเทน	ไฮโดรเจนซัลไฟด์
SRB	ไฮโดรเจน	-0.3C	-0.15C	0	0	+0.15C
	อะซิเตต	-(2S-0.3C)	-(S-0.15C)	+(2S-0.3C)	0	+(S-0.15C)
MPB	ไฮโดรเจน	0	0	0	0	0
	อะซิเตต	-(C-2S)	0	+(C-2S)/2	+(C-2S)/2	0
Total				0.2C+S	0.5C-S	S

จากตารางที่ 3.7 และ 3.8 เมื่อเปรียบเทียบผลรวมของมวลสารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น พบว่าสูตรการคำนวณที่ได้มีค่าเหมือนกัน ดังนั้นจากสูตรการคำนวณที่ได้จากตารางที่ 3.7 และ 3.8 จะทำให้เราทราบปริมาณสารในระบบทั้งหมดที่เปลี่ยนรูปไป แต่สารต่าง ๆ นั้นจะอยู่ในรูปก๊าซ, ละลายน้ำอยู่ และแตกตัวไปเท่าใดสามารถหาได้จากค่าคงที่ของการแตกตัวของสารนั้นและจากกฎของเฮนรี

ข) วิเคราะห์หาการละลายน้ำของสารแต่ละชนิดจากค่าคงที่การแตกตัว

ไบคาร์บอเนตและไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นในระบบสามารถละลายน้ำและแตกตัวเป็นไอออนได้ แต่มีเทนที่เกิดขึ้นแม้จะละลายน้ำได้แต่ไม่แตกตัวเป็นไอออน ดังนั้นการหาปริมาณการแตกตัวจึงคำนวณเฉพาะคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่านั้น

การคำนวณปริมาณการแตกตัวต้องหาจากค่าคงที่ของการแตกตัว (K_a) ของคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นหลัก ค่าคงที่ของการแตกตัวจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและ ionic strength ของสารละลาย ซึ่งค่า ionic strength สามารถหาได้จากค่าของแข็งละลายน้ำ

ให้ค่าคงที่การแตกตัวของกรดคาร์บอนิกเท่ากับ K_{CO_2} และคาร์บอนไดออกไซด์ในระบบทั้งหมดเท่ากับ T_{CO_2}

$$K_{CO_2} = [H^+][HCO_3^-]/[H_2CO_3]$$

$$K_{CO_2} = 10^{-pH} \times (HCO_3^-)/H_2CO_3$$

แต่ $T_{CO_2} = HCO_3^- + H_2CO_3 + B$; แทนค่า HCO_3^- ด้วย $T_{CO_2} - H_2CO_3 - B$

$$K_{CO_2} = 10^{-pH} \times (T_{CO_2} - H_2CO_3 - B)/H_2CO_3$$

$$H_2CO_3(aq) = \frac{10^{-pH}/K_{CO_2} \times (T_{CO_2} - B)}{1 + 10^{-pH}/K_{CO_2}} \quad (3.4)$$

ในทำนองเดียวกัน ให้ค่าคงที่การแตกตัวของไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่ากับ K_{H_2S} , ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นในระบบทั้งหมดเท่ากับ T_{H_2S} จะได้

$$H_2S(aq) = \frac{10^{-pH}/K_{H_2S} \times (T_{H_2S} - F)}{1 + 10^{-pH}/K_{H_2S}} \quad (3.5)$$

ค) หาปริมาณการละลายน้ำของก๊าซแต่ละชนิดจากกฎของเฮนรี

ในระบบเกิดก๊าซมีเทน M โมล, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ B โมล, ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ F โมล และไนโตรเจน N โมล ดังนั้น

$$\text{ความดันพาร์เชียลของก๊าซมีเทน} = M/(M+B+F+N)$$

$$\text{ความดันพาร์เชียลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์} = B/(M+B+F+N)$$

$$\text{ความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์} = F/(M+B+F+N)$$

$$\text{ความดันพาร์เชียลของก๊าซไนโตรเจน} = N/(M+B+F+N)$$

จากกฎของเฮนรี

$$CH_4(aq) = K_{h-CH_4} \times M/(M+B+F+N)$$

$$\text{แต่ } T_{\text{CH}_4} = \text{CH}_{4(\text{aq})} + M$$

$$T_{\text{CH}_4} - M = K_{\text{h-CH}_4} \times M / (M+B+F+N) \quad (3.6)$$

$$(M+B+F+N) = K_{\text{h-CH}_4} \times M / (T_{\text{CH}_4} - M) \quad (3.7)$$

$$\text{H}_2\text{CO}_{3(\text{aq})} = K_{\text{h-CO}_2} \times B / (M+B+F+N)$$

$$\text{จาก 3.4; } \text{H}_2\text{CO}_{3(\text{aq})} = \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}} \times (T_{\text{CO}_2} - B)$$

$$\therefore \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}} \times (T_{\text{CO}_2} - B) = K_{\text{h-CO}_2} \times B / (M+B+F+N) \quad (3.8)$$

แทนค่า (M+B+F+N) จากสมการ 3.7;

$$\frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}} \times (T_{\text{CO}_2} - B) = K_{\text{h-CO}_2}/K_{\text{h-CH}_4} \times (T_{\text{CH}_4} - M)/M \times B$$

$$\frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}} \times T_{\text{CO}_2} = \left\{ \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{CO}_2}} + K_{\text{h-CO}_2}/K_{\text{h-CH}_4} \times (T_{\text{CH}_4} - M)/M \right\} \times B \quad (3.9)$$

$$\text{H}_2\text{S}_{(\text{aq})} = K_{\text{h-H}_2\text{S}} \times F / (M+B+F+N)$$

$$\text{จาก 3.5; } \text{H}_2\text{S}_{(\text{aq})} = \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}} \times (T_{\text{H}_2\text{S}} - F)$$

$$\therefore \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}} \times (T_{\text{H}_2\text{S}} - F) = K_{\text{h-H}_2\text{S}} \times F / (M+B+F+N) \quad (3.10)$$

แทนค่า (M+B+F+N) จากสมการ 3.7;

$$\frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}} \times T_{\text{H}_2\text{S}} = \left\{ \frac{10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}}{1 + 10^{-\text{pH}}/K_{\text{H}_2\text{S}}} + K_{\text{h-H}_2\text{S}}/K_{\text{h-CH}_4} \times (T_{\text{CH}_4} - M)/M \right\} \times F \quad (3.11)$$

$$\begin{aligned}
 N_{2(\text{aq})} &= K_{n-N_2} \times N / (M+B+F+N) \\
 \text{แต่ } T_{N_2} &= N_{2(\text{aq})} + N \\
 T_{N_2} - N &= K_{n-N_2} \times N / (M+B+F+N) \quad (3.12)
 \end{aligned}$$

แทนค่า $(M+B+F+N)$ จากสมการ 3.7;

$$\begin{aligned}
 T_{N_2} - N &= K_{n-N_2} / K_{n-CH_4} \times (T_{CH_4} - M) / M \times N \\
 N &= T_{N_2} / [K_{n-N_2} / K_{n-CH_4} \times (T_{CH_4} - M) / M + 1] \quad (3.13)
 \end{aligned}$$

$$\text{โดย } T_{N_2} = K_{n-N_2} \times 0.78$$

ค่าตัวเลข 0.78 คือ ความดันพาร์เชียลของไนโตรเจนในอากาศ

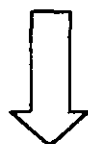
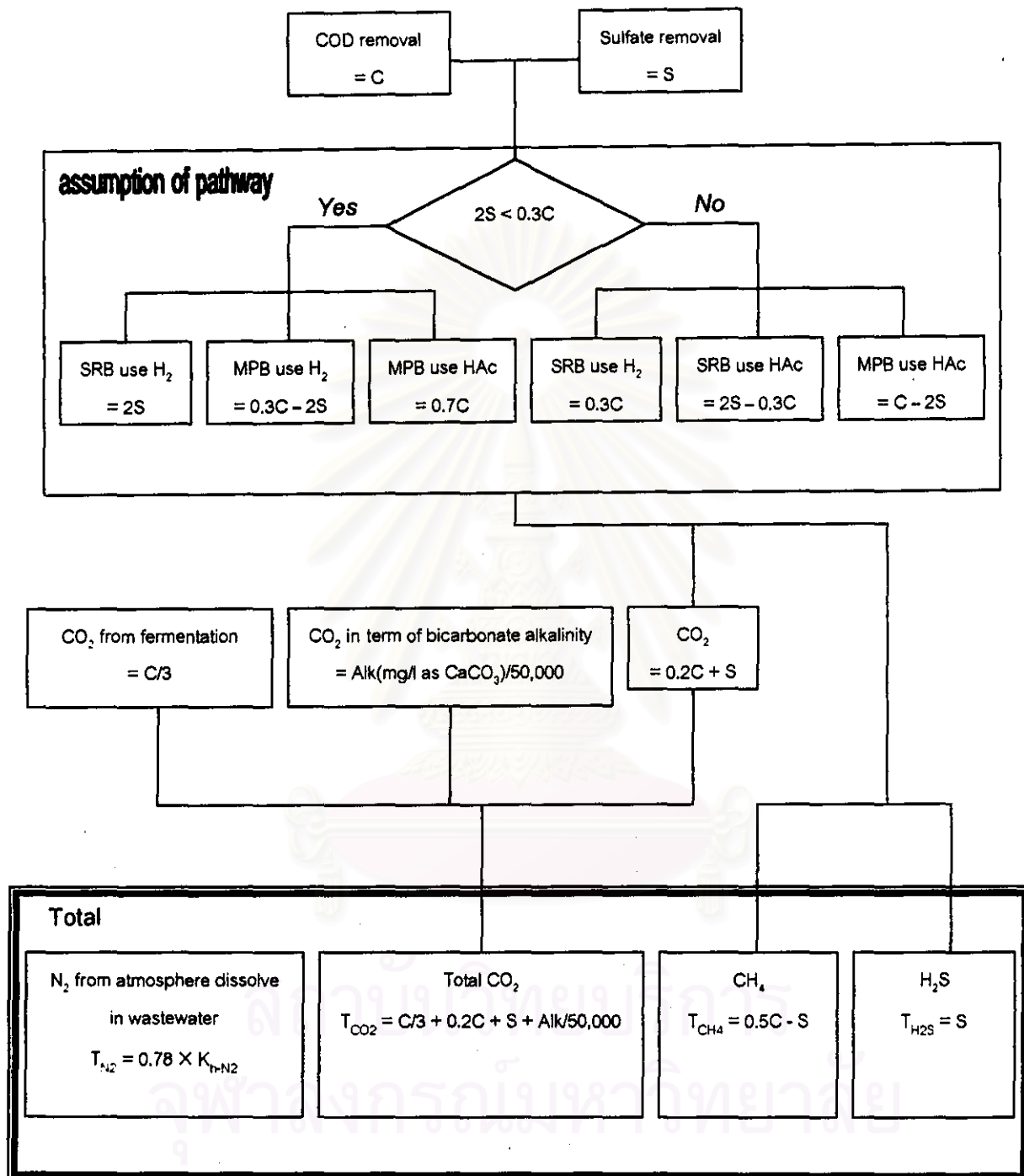
แทนค่า $M+B+F+N$ จากสมการ 3.6 ได้สมการ 3.9, 3.11 และ 3.13 แล้วจัดรูป จะได้ B , F และ N ในรูปของ M จากนั้นใช้วิธีการสมมติ M เป็นค่าต่าง ๆ จะได้ค่า B , F และ N ออกมา นำไปแทนค่าในสมการ 3.6, 3.8, 3.10 และ 3.12 หาค่า $M/(M+B+F+N)$, $B/(M+B+F+N)$, $F/(M+B+F+N)$ และ $N/(M+B+F+N)$ แล้วนำค่าที่ได้หั่งสี่ค่ามาบวกกัน ซึ่งผลลัพธ์จะต้องเป็น 1 ดังนั้นถ้า M ที่สมมติขึ้นไม่ทำให้ผลบวกเป็น 1 ก็ต้องสมมติใหม่จนกว่าจะได้ผลลัพธ์เท่ากับ 1 จะเห็นได้ว่าวิธีการแก้สมการมีความยุ่งยากมาก แต่ในการคำนวณจริงเราสามารถป้อนค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองลงในคอมพิวเตอร์ และเขียนโปรแกรมให้คอมพิวเตอร์คำนวณ จะทำให้ได้ผลลัพธ์อย่างถูกต้องและรวดเร็วมาก

จากวิธีการที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้น อาจสรุปให้สั้นลงได้ด้วยการแบ่งขั้นตอนทั้งหมดเป็น 3 ขั้นตอนใหญ่ ๆ ดังแสดงต่อไปนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

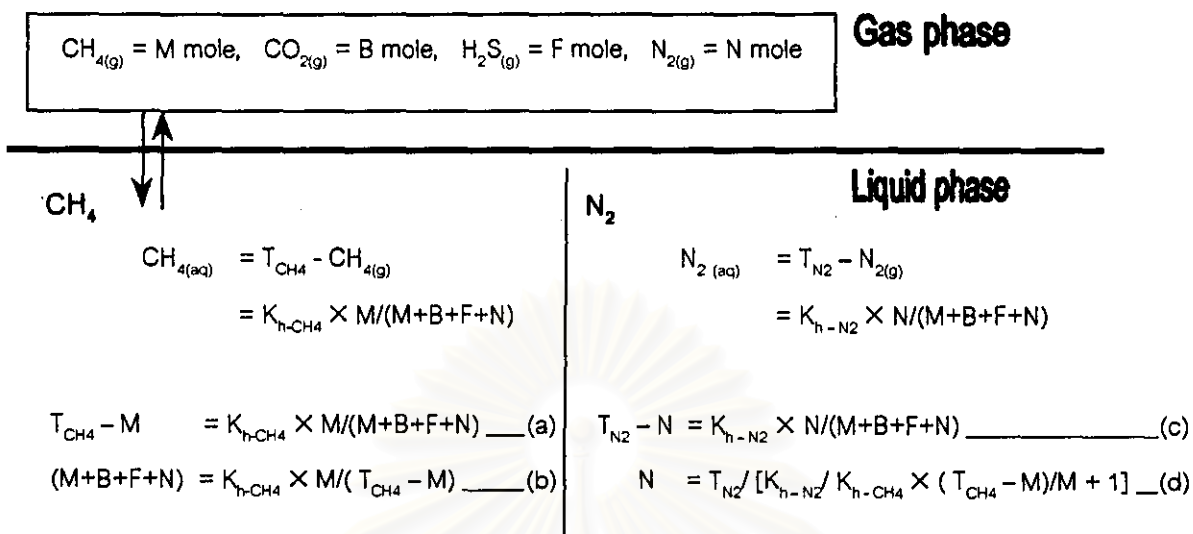
Step I Find the quantity of all species in the system.

All in mole/l.



Step II

Step II Find relationship between gas and liquid phase.



$H_2CO_3^*$ & HCO_3^-

$$H_2CO_3^* = K_{h-CO_2} \times B / (M+B+F+N)$$

$$HCO_3^- = K_{CO_2} \times H_2CO_3^* / 10^{-pH}$$

$$T_{CO_2} = H_2CO_3^* + HCO_3^- + B$$

$$\frac{10^{-pH} / K_{CO_2} \times (T_{CO_2} - B)}{1 + 10^{-pH} / K_{CO_2}} = K_{h-CO_2} \times B / (M+B+F+N) \text{ --- (e)}$$

$$\frac{10^{-pH} / K_{CO_2}}{1 + 10^{-pH} / K_{CO_2}} \times T_{CO_2} = \frac{10^{-pH} / K_{CO_2}}{1 + 10^{-pH} / K_{CO_2}} + K_{h-CO_2} / K_{h-CH_4} \times (T_{CH_4} - M) / M \times B \text{ --- (f)}$$

H_2S

$$H_2S_{(aq)} = K_{h-H_2S} \times F / (M+B+F+N)$$

$$HS^- = K_{H_2S} \times H_2S_{(aq)} / 10^{-pH}$$

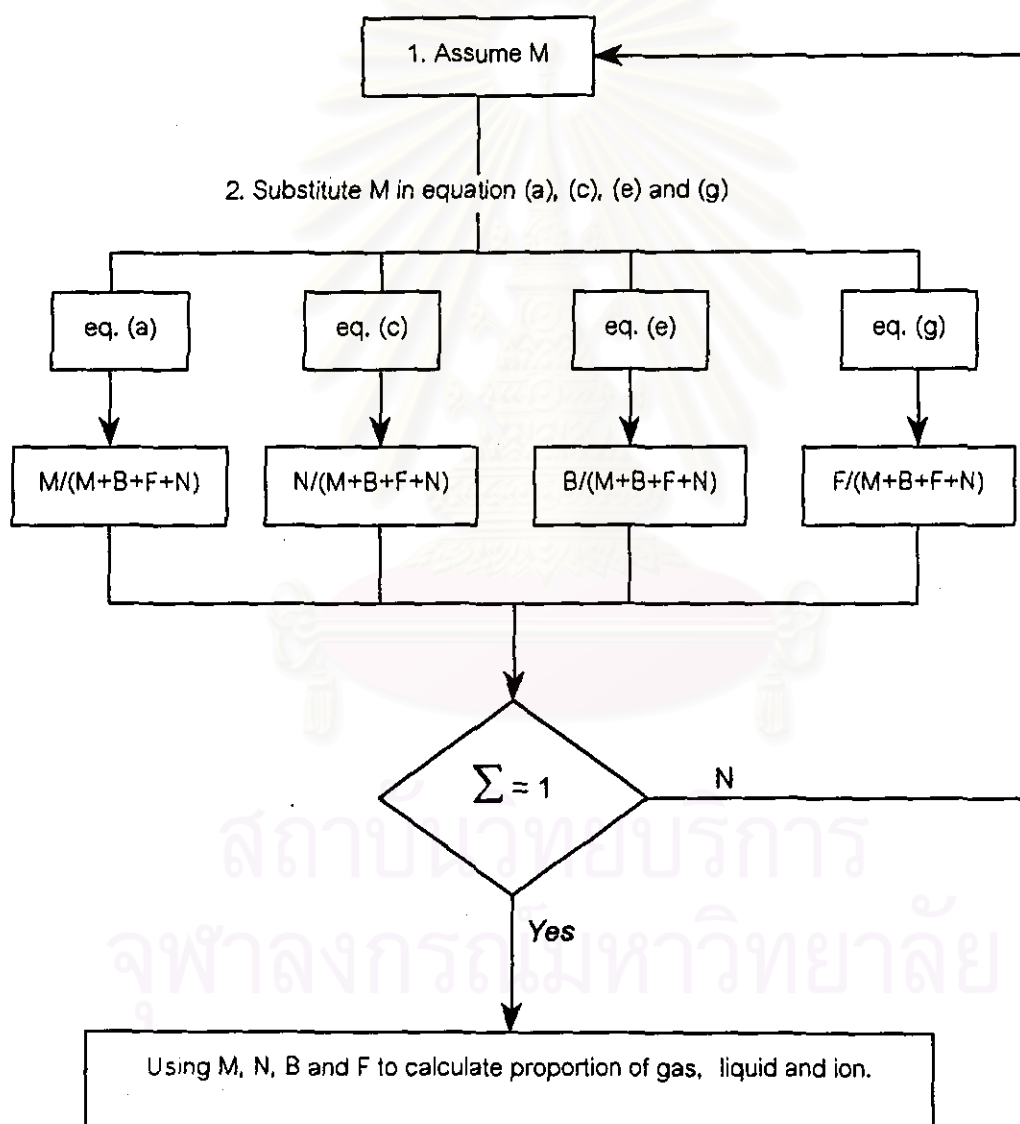
$$T_{H_2S} = H_2S_{(aq)} + HS^- + F$$

$$\frac{10^{-pH} / K_{H_2S}}{1 + 10^{-pH} / K_{H_2S}} \times (T_{H_2S} - F) = K_{h-H_2S} \times F / (M+B+F+N) \text{ --- (g)}$$

$$\frac{10^{-pH} / K_{H_2S}}{1 + 10^{-pH} / K_{H_2S}} \times T_{H_2S} = \frac{10^{-pH} / K_{H_2S}}{1 + 10^{-pH} / K_{H_2S}} + K_{h-H_2S} / K_{h-CH_4} \times (T_{CH_4} - M) / M \times F \text{ --- (h)}$$

Step III Trial and error.

1. Assume M and substitute in equation (d) (f) and (h), we can get B, F and N.
2. Substitute M, B, F and N in equation (a), (c), (e) and (g) respectively, then we get $M/(M+B+F+N)$, $N/(M+B+F+N)$, $B/(M+B+F+N)$ and $F/(M+B+F+N)$.
3. The sum of each value from No. 2 must be equal to 1, if not, assume the new value of M until the result is 1.



ตัวอย่างการคำนวณ:

ซีโอดีเข้า 523 มก./ล. ซีโอดีออก 41 มก./ล. ซัลเฟตเข้าระบบ 85 มก./ล. ซัลเฟตออก 12 มก./ล.
พีเอช 6.24 สภาพต่างในน้ำเข้า 273 มก./ล. หินปูน สมมติไม่คิดผลจากอุณหภูมิและ ionic strength: $K_{\text{CO}_2} = 4.45 \times 10^{-7}$, $K_{\text{H}_2\text{S}} = 9.77 \times 10^{-8}$, $K_{\text{h-CH}_4} = 1.36 \times 10^{-3}$ โมล/ล.-บรรยากาศ,
 $K_{\text{h-CO}_2} = 3.46 \times 10^{-2}$ โมล/ล.-บรรยากาศ, $K_{\text{h-H}_2\text{S}} = 0.103$ โมล/ล.-บรรยากาศและ $K_{\text{h-N}_2} = 6.48 \times 10^{-4}$ โมล/ล.-บรรยากาศ

- หาจำนวนโมลซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน

ซีโอดีที่ถูกกำจัด = $523 - 41 = 482$ มก./ล. = $482/32,000 = 0.01506$ โมล/ล.

ซัลเฟตที่ถูกกำจัด = $85 - 12 = 73$ มก./ล. = $73/96,000 = 0.00076$ โมล/ล.

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซีโอดี = $0.00076 \times 2 = 0.00152$ โมล

แบกทีเรียสร้างมีเทนใช้ซีโอดี = $0.01506 - 0.00152 = 0.01354$ โมล

ซีโอดีถูกย่อยสลายผ่านอะซิเตต = $0.7 \times 0.01506 = 0.01054$ โมล

ซีโอดีถูกย่อยสลายผ่านไฮโดรเจน = $0.01506 - 0.01054 = 0.00452$ โมล

- หาปริมาณสารที่เกิดขึ้น

จากตารางที่ 3.7

คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบ

$$= 0.2 \times 0.01506 + 0.00076 = 0.00377 \text{ โมล}$$

คาร์บอนเนตในน้ำเข้า = 273 มก./ล. หินปูน = $273/50,000 = 0.00546$ โมล

จากสมการ 3.1 ในขั้นตอนการสร้างกรด มีคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น 2 โมลต่อซีโอดีที่ถูกกำจัด 192 ก. หรือ 6 โมลซีโอดี ดังนั้นคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นในขั้นตอนสร้างกรด

$$= 0.01506 \times 2/6 = 0.005021 \text{ โมล}$$

คาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมด (T_{CO_2}) = $0.00377 + 0.00546 + 0.005021 = 0.01425$ โมล

มีเทน = $0.5 \times 0.01506 - 0.00076 = 0.00677$ โมล

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ = 0.00076 โมล

ความดันพาร์เชียลของไนโตรเจนในอากาศ = 0.78 ดังนั้นไนโตรเจนในน้ำเสียเข้าระบบ

$$= 0.78 \times 6.48 \times 10^{-4} = 0.0005054 \text{ โมล}$$

- แทนค่าคงที่ต่าง ๆ ลงในสมการ

จาก 3.7;

$$M+B+F+N = 1.36 \times 10^{-3} \times M / (0.00677 - M) \quad (3.14)$$

จาก 3.9;

$$0.00804 = \{0.564 + 25.4 \times (0.00677 - M) / M\} \times B \quad (3.15)$$

จาก 3.11;

$$0.00065 = \{0.855 + 75.88 \times (0.00677 - M) / M\} \times F \quad (3.16)$$

จาก 3.13;

$$N = 0.0005054 / [0.476 \times (0.00677 - M / M + 1)] \quad (3.17)$$

- แก้สมการด้วยวิธี Trial and Error

แก้สมการ 3.14, 3.15, 3.16 และ 3.17;

สมมติ $M = 0.005$ จะได้ $B = 0.000841$, $F = 0.0000234$ และ $N = 0.000432$ โมล นำกลับไป
แทนค่าในสมการ 3.6, 3.8, 3.10 และ 3.12 ได้ค่า

$$M / (M+F+B+N) = 1.302, B / (M+B+F+N) = 0.2189, F / (M+B+F+N) = 0.0061 \text{ และ } N / (M+F+B+N) = 0.1126$$

ผลรวมเท่ากับ $1.640 \neq 1$

สมมติ $M = 0.0057$ จะได้ $B = 0.00151$, $F = 0.000043$ และ $N = 0.000464$ โมล นำกลับไป
แทนค่าในสมการ 3.6, 3.8, 3.10 และ 3.12 ได้ค่า

$$M / (M+F+B) = 0.7874, B / (M+B+F) = 0.2081, F / (M+B+F) = 0.000043 \text{ และ } N / (M+F+B+N) = 0.0641$$

ผลรวมเท่ากับ $1.065 \neq 1$

เปลี่ยนค่า M ไปเรื่อย ๆ จะได้ค่า $M = 0.005779$, $B = 0.001633$, $F = 0.00004685$ และ $N = 0.0004672$ ได้ผลรวมเป็น 1

สรุป:

ซีโอติที่ถูกย่อยสลายไป 482 มก.หรือ 0.01506 โมล ร่วมกับซิลเฟตที่ถูกกำจัดไป 73 มก.หรือ 0.00076 โมล ทำให้เกิด

- ก๊าซมีเทน 0.005779 โมลหรือ 141.3 มล. คิดเป็น 73.2 %
- ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.001633 โมลหรือ 39.9 มล. คิดเป็น 20.6 %
- ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ 0.00004685 โมลหรือ 1.1 มล. คิดเป็น 0.59 %
- ก๊าซไนโตรเจน 0.0004672 โมลหรือ 11.4 มล. คิดเป็น 5.9 %
- ปริมาตรรวม = 193 มล./ล.น้ำเสีย
- มีเทนละลายน้ำ 0.000992 โมล (24.2 มล.) คิดเป็นซีโอติ = $0.000992 \times 64,000 = 63$ มก.
- คาร์บอนไดออกไซด์ละลายน้ำ(ทั้งแตกตัวและไม่แตกตัว) = 0.00126 โมล
เป็น $H_2CO_3^*$ = 0.007117 โมล
และเป็น HCO_3^- = 0.0055 โมล = 275 มก. หินปูน
- ซัลไฟด์ละลายน้ำทั้งหมด 0.0007136 โมล = $0.0007136 \times 32,000 = 22.8$ มก.

การทำนายการเปลี่ยนแปลงมวลสารในระบบตามวิธีการข้างต้นไม่ได้คำนวณซีโอติที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นเซลล์แบคทีเรียด้วย ซึ่งผลการคำนวณจะถูกต้องยิ่งขึ้นถ้านำเอาซีโอติที่ถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์แบคทีเรียมาคิด โดยผลการทดสอบสมมติฐานที่ใช้ค่าที่ได้จากงานวิจัยนี้มาคำนวณแสดงดังภาคผนวก ข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย