

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

น้ำที่นำมาทดลองเป็นน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขแห่งหนึ่งในกรุงเทพฯ ที่ผ่านถังเติมอากาศและการตกตะกอนขั้นที่สองแล้ว แต่ยังไม่ผ่านระบบฆ่าเชื้อ โดยตัวอย่างจะถูกเก็บแบบจ้วง(Grab sampling) ในรางน้ำล้นของถังตกตะกอนขั้นที่สอง

3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการทดลอง

3.2.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำเสีย

- 1) แกลลอนพลาสติก ชนิด โพลีเอททิลีน ขนาดความจุ 5 ลิตร จำนวน 4 ใบ ใช้ในการเก็บน้ำเสียที่ระบบบำบัดน้ำเสีย
- 2) การเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อการวิเคราะห์ทางเคมี ใช้ขวดพลาสติก HDPE ขนาดความจุ 1 ลิตร
- 3) การเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด ใช้ขวดแก้วสีชา ที่มีฝาปิดสนิท ขนาด 150 มิลลิลิตร
- 4) การเก็บตัวอย่างน้ำเสียทางชีวภาพ ใช้ขวดแก้วปากกว้างพร้อมฝาปิดสนิทขนาด 125 มิลลิลิตรหุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียม บรรจุในกระป๋องโลหะไร้สนิม ทำการอบฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้

3.2.2 อุปกรณ์การทดลอง

การทดสอบการฆ่าเชื้อจะใช้เครื่องมือ ดังนี้

- 1) เครื่อง Jar Test Apparatus ขนาด 6 ใบกวน
- 2) ปีกเกอร์ขนาดความจุ 2.0 ลิตร

3.2.3 สารเคมีในการฆ่าเชื้อ ได้แก่

- ก. สารละลายคลอรีน 3 ระดับ คือ ที่ระดับความเข้มข้นของ Chlorine Break Point ต่ำกว่าระดับความเข้มข้นของ Chlorine Break Point 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงกว่าความเข้มข้นของ Chlorine Break Point 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ข. กรดเปอร์อะซิติค ใช้ระดับความเข้มข้นของ Park E. และคณะ(2014) คือระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และระดับเข้มข้นที่น้อยกว่าและมากกว่าระดับที่อ้างอิง 2

มิลลิกรัมต่อลิตร ได้เป็นระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3 วิธีการทดลอง

การดำเนินการทดลอง ซึ่งขั้นตอนการทดลองมีดังนี้

3.3.1 การเก็บตัวอย่าง

1. ตัวอย่างน้ำถูกเก็บแบบจ้วง โดยใช้ถังพลาสติกขนาดใหญ่ ในการตักน้ำจากถังตกตะกอนของระบบบำบัดเพื่อความปลอดภัยของผู้เก็บตัวอย่าง แล้วล้างถังพลาสติกด้วยน้ำเสีย 2-3 ครั้ง แล้วจึงบรรจุน้ำเสียจนเต็มถัง บรรจุถังเก็บน้ำเสียใน ลังน้ำแข็งนำมาที่ห้องปฏิบัติการ

2. การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำเพื่อการวิเคราะห์ ดำเนินการเก็บตัวอย่างตามลำดับดังนี้

2.1 การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำเพื่อการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรีย ผู้เก็บตัวอย่างจะนำขวดแก้วออกจากกระบอกโลหะ นำปิ๊กเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่ล้างด้วยน้ำเสียตัวอย่าง 2-3 ครั้ง แล้วถ่ายน้ำเสียลงในปิ๊กเกอร์ ลนไฟรอบปากขวด เทน้ำเสียจากปิ๊กเกอร์ลงในขวด ลนไฟรอบปากขวด ปิดฝา แล้วนำไปแช่เย็นรอการวิเคราะห์

2.2 การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำเพื่อการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพและ เคมี จะทำการถ่ายน้ำเสียใหม่ลงในปิ๊กเกอร์อีกครั้งแล้วจึงเทใส่ขวดเก็บตัวอย่างดังนี้

- ขวดแก้วสีชาทำการเก็บตัวอย่างน้ำเกือบเต็มขวด เติมนครดไนตริก 1-3 หยด ปิดฝาขวดให้แน่น แล้วแช่เย็นรอการวิเคราะห์

- ขวดพลาสติก HDPE ขนาด 1 ลิตร ทำการเติมน้ำเสียจนเต็มขวด ปิดฝาให้สนิท แล้วแช่เย็นรอการวิเคราะห์

การแช่เย็นจะแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสในตู้เย็นในห้องปฏิบัติการ ก่อนดำเนินการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน

3.3.2 ตัวอย่างน้ำจะถูกนำมาตั้งทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ตรวจวัดได้ขณะเก็บตัวอย่าง โดยตัวอย่างน้ำบางส่วนจะถูกนำไปวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของตัวอย่างน้ำ ที่ก่อนการทดลอง การวิเคราะห์ลักษณะของตัวอย่างน้ำจะใช้วิธีการทดสอบตามที่ระบุไว้ใน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd edition ลักษณะน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ได้แก่

1) ลักษณะทางกายภาพ

- ปริมาณตะกอนแขวนลอยในน้ำ (Suspended Solids) ใช้การวิเคราะห์ total suspended solid (non-filtrable residue)

2) ลักษณะทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใช้ pH meter
- ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Total Organic Carbon: TOC) ส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก

3) ลักษณะทางชีวภาพ

- จุลินทรีย์บ่งชี้ ได้แก่ total coliform fecal coliform และ *E. Coli* ใช้วิธี MPN
- จุลินทรีย์ *Enterococci* ใช้วิธี MPN โดยใช้ *Enterococcus* broth และ *Enterococcus* agar plate

3.3.3 การดำเนินการทดลองการฆ่าเชื้อ

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

น้ำเสียจะถูกถ่ายลงในบีกเกอร์ 3 ใบ ใบละ 1.5 ลิตร โดยบีกเกอร์ใบแรกจะใช้ทดสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และใบที่สองจะใช้ทดสอบการฆ่าเชื้อด้วยกรดเปอร์อะซิติค และใบที่ 3 ใช้เป็นบีกเกอร์ควบคุมคุณภาพการทดลอง (Control) แล้วจัดเตรียมสำหรับการทดสอบการฆ่าเชื้อในเครื่องจาร์เทส (Jar Test Apparatus)

ขั้นตอนที่ 2 การทดลองการฆ่าเชื้อเพื่อหาประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของสารเคมีมีการทดลองดังนี้

1. ทำการกวนเร็วตัวอย่างน้ำที่อัตราการกวนเร็ว 1000 - 1500 รอบ/นาที
2. ทำการเติมสารฆ่าเชื้อในปริมาณที่กำหนดไว้ แล้วทำการกวนเร็วต่อ อีก 1 นาที
3. ทำการกวนช้าที่อัตราเร็วในการกวน 15 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 30 นาทีแล้วจึงหยุดการกวน

4. ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากแต่ละบีกเกอร์ไปทำการตรวจวิเคราะห์ลักษณะด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ ของตัวอย่างน้ำทั้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทันที

5. ทำการทดลองซ้ำอีกจำนวน 4 ครั้งโดยแต่ละครั้งจะใช้น้ำทิ้งที่เก็บมาใหม่ในวันที่ทำการทดลองทุกครั้ง แล้วจึงทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อโคลิฟอร์มทั้งหมด ฟิคัลโคลิฟอร์ม อีโคไล เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่ให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด การคำนวณประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจะใช้วิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ} = \left[\frac{(\text{ปริมาณเชื้อก่อนการฆ่าเชื้อ} - \text{ปริมาณเชื้อหลังการฆ่าเชื้อ})}{\text{ปริมาณเชื้อก่อนการฆ่าเชื้อ}} \right] * 100$$

ขั้นตอนที่ 3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อของสารเคมีเมื่อใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด

ขั้นตอนนี้ทำการทดลองซ้ำตามขั้นตอนที่ 2 อีก 2 ครั้งโดยใช้ระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่ให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีที่สุด แล้วทำการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำทิ้งก่อนและหลังการฆ่าเชื้อ และทำการวิเคราะห์ปริมาณผลิตผลข้างเคียงของสารฆ่าเชื้อได้แก่ สารประกอบไตรฮาโลมีเทน และปริมาณ *Enterococci* ในน้ำทิ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เปรียบเทียบกับน้ำทิ้งที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

4 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

5. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ทางสถิติให้ สถิติ Non parametric โดยการวิเคราะห์ความแตกต่างใช้การทดสอบ Kruskal-Wallis Test และเปรียบเทียบความแตกต่างใช้การทดสอบ Mann-Whitney U test

