บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 น้ำทิ้งที่ใช้ในการทดลอง

น้ำทิ้งที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานโอคินอล(บริษัท ปากพนังห้องเย็น จำกัด) ตั้งอยู่ที่ จ.สมุทรสาคร เป็นโรงงานผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง พบว่า ตัวอย่างที่เก็บในช่วงเวลาที่ต่างกันจะมีสมบัติของน้ำทิ้งแตกต่างกันจะมากหรือน้อยขึ้นกับช่วงเวลาของแต่ละวัน ดังนั้น การเก็บน้ำทิ้งจึงจำเป็นต้องเก็บในช่วงเวลาเดียวกัน เก็บมาในปริมาณที่มากพอที่จะใช้ในการทดลองแต่ละชุด โดยเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในตู้แช่เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีเกลือแร่ต่างๆเช่น คลอไรด์,ฟอสเฟต น้ำทิ้งนี้ไม่มีสี ขุ่น และมีกลิ่นคาว

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.นภาวรรณ นพรัตนราภรณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodobacter spp.* สองสายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 8.1 และ 55.5 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกมาจากดินและน้ำในบ่อกุ้ง จ.สมุทรสาคร เซลล์มีลักษณะจับตัวกันเป็นฟลอคสามารถตกตะกอนได้เร็ว ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสองสายพันธุ์นี้ เก็บ stock culture ในอาหาร glutamate-malate (GM medium) ตามสูตรอาหารข้อ 3.3 โดยวิธี stab ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายเชื้อเดือนละครั้ง

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 อาหารสำหรับเก็บรักษาเชื้อ

อาหารสำหรับเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง คือ glutamate-malate(GM medium) มีส่วนผสมดังนี้

โซเดียมกลูตาเมต	3.8	กรัม
กรดมาลิค	2.7	กรัม
ยีสต์เอ็กซ์แทรค	2.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.8	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์	5.3×10^{-2}	กรัม
กรดนิโคตินิค	1.0×10^{-3}	กรัม
ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์	1.0×10^{-3}	กรัม
ไบโอติน	1.0×10^{-5}	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต	1.2×10^{-3}	กรัม
เฟอริคซิเตรต	2.5×10^{-3}	กรัม
โคบอลต์คลอไรด์	1.0×10^{-3}	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	30.0	กรัม
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชให้ได้ 6.8-7.0 ในกรณีที่เป็นอาหารวุ้นให้เติมวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ บรรจุอาหารในหลอดแก้วทดลองฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร หลอดละ 5 มิลลิลิตร ในกรณีที่เป็นอาหารเหลว บรรจุอาหารในหลอดแก้วฝาเกลียว ขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร ปริมาณหลอดละ 60 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.3.2 อาหารน้ำทิ้ง

น้ำทิ้งที่ใช้ในการทำวิจัยนี้เป็นน้ำทิ้งรวมของโรงงานโอดินอล ซึ่งเป็นโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง เนื่องจากน้ำทิ้งนี้มีปริมาณโปรตีนสูงเมื่อนำมาฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ จะเกิดตะกอนขาวขึ้น ดังนั้น เมื่อต้องการจะนำไปใช้เป็นอาหารที่ปลอดเชื้อ ก่อนจะนำมาเตรียมเป็น

อาหารน้ำทิ้ง ได้นำน้ำทิ้งไปต้มให้เดือดประมาณ 10 นาที เพื่อตกตะกอนโปรตีนบางส่วนออก แล้วนำไปกรองเอาส่วนใสไปใช้ในการเตรียมเป็นอาหารน้ำทิ้งต่อไป

3.4 อุปกรณ์ทดลอง

อุปกรณ์เครื่องมือทดลองที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ประกอบด้วยส่วนต่างๆที่สำคัญๆดังนี้

3.4.1 ส่วนเพาะเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

1) หลอดแก้วฝาเกลียวขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร

2) ขวดก้นแบนแบบของรูซ์ (Rhoux bottle) ขนาดความจุ 1.5 ลิตร

3) ถังหมักเปิดทำด้วยแผ่นพลาสติกใส หนา 1 เซนติเมตร ซึ่งประกอบเป็นลี่เหลี่ยมผืนผ้ากว้าง 11.5 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร สูง 37 เซนติเมตร ขนาดความจุของถัง 5 ลิตร

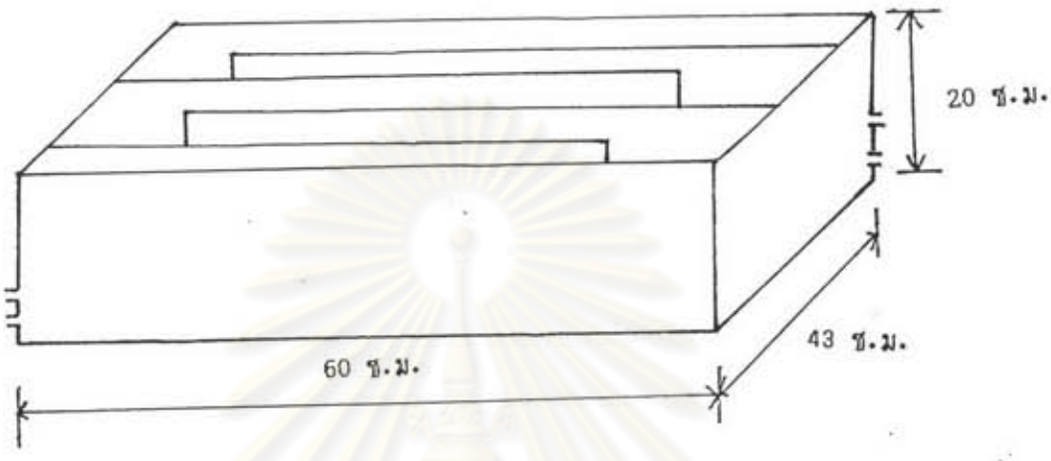
4) ถังหมักเปิดทำด้วยแผ่นพลาสติกใส หนา 1 เซนติเมตร ซึ่งประกอบเป็นลี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้าง 43 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร กั้นภายในเป็น 5 ช่อง และมีทางเปิด 4 ทางให้น้ำเข้าและออก ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร ขนาดความจุของถัง 40 ลิตร ดังรูปที่ 3.1 (จารุวรรณ,2532 และ ทัศนีย์,2534)

3.4.2 ส่วนระบบบำบัดต่อเนื่อง ซึ่งประกอบด้วย

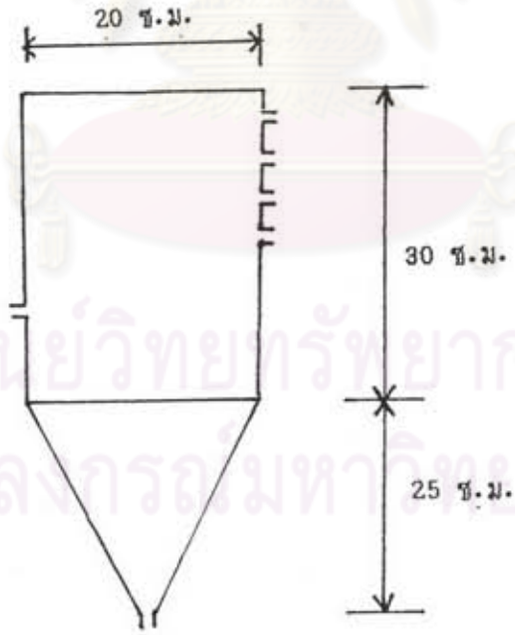
1) ถังหมักเปิดทำด้วยแผ่นพลาสติกใส หนา 1 เซนติเมตร ซึ่งประกอบเป็นลี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้าง 43 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร กั้นภายในเป็น 5 ช่อง และมีทางเปิด 4 ทางให้น้ำเข้าและออก ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร ขนาดความจุของถัง 40 ลิตร ดังรูปที่ 3.1 (จารุวรรณ,2532 และ ทัศนีย์,2534)

2) ถังตกตะกอนทำด้วยแผ่นพลาสติกใส หนา 1 เซนติเมตร ซึ่งประกอบเป็นรูปทรงกระบอกก้นกรวย ส่วนที่เป็นทรงกระบอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร มีทางให้น้ำเข้า 1 ช่องทางและทางให้น้ำออก 4 ช่องทางที่ปริมาตร 7,8,9 และ 10 ลิตร ส่วนก้นที่เป็นกรวย มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร มีทางให้น้ำออก 1 ช่องทางที่ปลายกรวย ทางให้น้ำเข้าและออกทั้งหมดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร ขนาดความจุของถัง 15 ลิตร ดังรูปที่ 3.2

I16736319



รูปที่ 3.1 แผนภาพแสดงถังหมักเปิด ขนาดความจุ 40 ลิตร (จารุวรรณ, 2532 และทัศนีย์, 2534)



รูปที่ 3.2 แผนภาพแสดงถังคกตะกอน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3) ปั๊มหมุนเวียน เป็นปั๊ม circulating pump model:PMD-311 มีช่องทางเข้าและออกอย่างละ 1 ช่องทาง ขนาดกำลังหมุนเวียน 15 ลิตรต่อนาที สำหรับหมุนเวียนอาหารและเชื้อให้ผสมกัน และ สำหรับสูบตะกอนจากก้นถังตกตะกอนเข้าสู่ถังหมัก ด้วยอัตรา 0.5 ลิตรต่อนาที

4) ปั๊มป้อนอาหารเข้า

ก. ใช้ปั๊มแบบ peristaltic pump model:STA-Multipurpose No.131900 สำหรับป้อนอาหารน้ำทิ้งที่อัตราการป้อนไม่เกิน 30 ลิตรต่อวัน

ข. ใช้ปั๊มซึ่งผลิตโดย บริษัท Chem/Tech International จำกัด Series100,Serial#17105 สำหรับป้อนอาหารน้ำทิ้งที่อัตราการป้อนตั้งแต่ 30 ลิตรต่อวันขึ้นไป

5) ระบบพลังงานแสง ใช้แผงไฟซึ่งประกอบด้วยหลอดไฟทังสเตนขนาด 100 วัตต์ จำนวน 6 ดวง

รูปที่ 3.3 แสดงระบบบำบัดต่อเนื่องที่ใช้ในการทดลองนี้

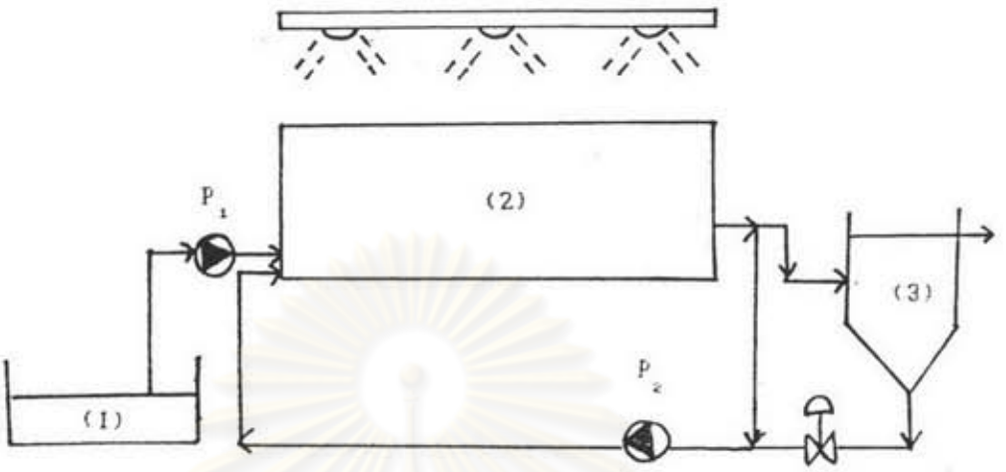
3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การศึกษาอัตราการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ทำการศึกษาลักษณะการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสองสายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 8.1 และ 55.5 โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร Glutamate-malate ซึ่งบรรจุในหลอดฝาเกลียวขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร ปริมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 6.8 ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เลี้ยงเชื้อโดยบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ส่องไฟด้วยหลอดทังสเตนขนาด 100 วัตต์ ด้วยความเข้มแสงประมาณ 3,000-5,000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง จนกว่าการเจริญจะคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์ค่าการเจริญโดยวัดปริมาณน้ำหนักแห้ง และ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช

3.5.2 การศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารน้ำทิ้ง

ภาชนะเพาะเลี้ยงหัวเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เป็นหลอดฝาเกลียวขนาดจุ 70 มิลลิลิตร โดยบรรจุอาหารGlutamate-malate 60 มิลลิลิตร ซึ่งปรับพีเอชเท่ากับ



(1) ถังเก็บน้ำเลียที่จะป้อนเข้าระบบ

(2) ถังหมักเปิดขนาด 40 ลิตร

(3) ถังตกตะกอน

P_1 ปั๊มป้อนน้ำเลียเข้าสู่ระบบ

P_2 ปั๊มหมุนเวียน

รูปที่ 3.3 แผนภาพแสดงเครื่องมืออุปกรณ์และการทำงานของระบบหมักต่อเนื่อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.8 แล้ว จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียลังเคราะห์แสงสายพันธุ์ 8.1 และ 55.5 ลงในแต่ละหลอด เลี้ยงเชื้อโดยบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส ส่องไฟด้วยหลอดทังสเตนขนาด 100 วัตต์ ด้วยความเข้มแสง 3,000-5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียลังเคราะห์แสงจากหลอดฝาเกลียวดังกล่าวข้างต้น ในหลอดฝาเกลียวขนาดความจุ 70 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุด้วยสารอาหารสูตรต่างๆ ปริมาณ 59.4 มิลลิลิตร โดยสูตรอาหารต่างๆนี้ถูกปรับพีเอชเท่ากับ 6.8 และทำการฆ่าเชื้อดังกล่าวมาแล้ว โดยเติมปริมาตรเชื้อ 0.6 มิลลิลิตร (คิดเป็นปริมาณเชื้อ 1 เปอร์เซ็นต์) ปิดด้วยจุกสำลี และกวนด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลาการเพาะเลี้ยงและแช่ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส และส่องไฟเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น แล้วเก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมง จนกว่าการเจริญจะคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์ค่าการเจริญโดยวัดปริมาณน้ำหนักแห้ง และ วัดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช สูตรอาหารที่ทำการทดลองนี้มีทั้งสิ้น 8 สูตร ซึ่งเติมสารอาหารต่างๆลงในน้ำทิ้งจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ดังนี้

สูตรที่ 1 ไม่เติมสารอาหารใดๆ

สูตรที่ 2 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 2 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 เติมกรดนิโคตินิค 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร, ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร และไบโอติน 1.0×10^{-5} กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 เติมแมงกานีสซัลเฟต 1.2×10^{-3} กรัมต่อลิตร, เฟอริคซิเตรต 2.5×10^{-3} กรัมต่อลิตร และโคบอลต์คลอไรด์ 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 เติมกรดนิโคตินิค 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร, ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร, ไบโอติน 1.0×10^{-5} กรัมต่อลิตร, แมงกานีสซัลเฟต 1.2×10^{-3} กรัมต่อลิตร, เฟอริคซิเตรต 2.5×10^{-3} กรัมต่อลิตร และโคบอลต์คลอไรด์ 1.0×10^{-3} กรัมต่อลิตร

3.5.3 การศึกษาหาปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมในน้ำทิ้ง

จากผลการทดลอง 3.5.2 ทำให้สามารถสรุปได้ว่าสารอาหารเสริมใดที่มีความสำคัญต่อการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ซึ่งจะกล่าวในบทที่ 4 ต่อไป ในการทดลองนี้เป็นการหาปริมาณสารอาหารเสริมต่างๆที่เหมาะสม ซึ่งทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.5.2 แต่เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง จนกว่าการเจริญคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์หาการเจริญโดยวัดปริมาณน้ำหนักแห้ง, การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช และนำตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์หาค่าซีโอดี สูตรสารอาหารเสริมมีดังนี้

สูตรที่ 1 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 2 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 9 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 10 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 11 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 12 เติมโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 13 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 14 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 15 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 16 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 17 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 18 เติมไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 3.0 กรัมต่อลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.5.4 การศึกษาระบบหมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสงแบบกะขนาด 1,500 มิลลิลิตร

เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสองสายพันธุ์ ในสูตรอาหารที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.5.3 โดยใช้หลอดฝาเกลียวดังได้กล่าวมาแล้ว จากนั้นถ่ายเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากหลอดฝาเกลียว ปริมาตร 150 มิลลิลิตร (คิดเป็นปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์) ลงในอาหารน้ำทิ้ง 2 สูตร คือ น้ำทิ้งที่ไม่เติมสารอาหาร และ สูตรอาหารน้ำทิ้งที่ได้จากการคัดเลือกจากข้อ 3.5.3 ซึ่งบรรจุในขวดหมักแบบบรูห์ขนาด 1,500 มิลลิลิตร ปริมาตร 1,350 มิลลิลิตร ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ ปิดด้วยจุกยางที่มีท่อสำหรับเก็บตัวอย่าง และ มีการกวนด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลาการเพาะเลี้ยง โดยจุ่มอยู่ในอ่างน้ำซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส และส่องไฟมีความเข้มแสง 3,000-5,000 ลักซ์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง จนกว่าการเจริญคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์หาการเจริญโดยวัดปริมาณวัตถุแห้ง, การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช, ปริมาณรงควัตถุ และ ค่าซีโอดี

3.5.5 การศึกษาระบบหมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสงแบบกะขนาด 30 ลิตร

ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.5.4 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารน้ำทิ้งที่ได้จากการคัดเลือกจากข้อ 3.5.3 ปริมาณ 300 มิลลิลิตร (คิดเป็นปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์) ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ลงในน้ำทิ้งที่ไม่เติมสารอาหาร ซึ่งบรรจุในถังพลาสติกใสแบบเปิดขนาด 5 ลิตร ปริมาณ 2,700 มิลลิลิตร ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ มีการกวนด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลาการเพาะเลี้ยง เพื่อหมุนเวียนให้อาหารคลุกเคล้ากับเชื้อ ส่องไฟตลอดเวลาด้วยหลอดทังสเตนขนาด 100 วัตต์ ด้วยความเข้มแสงประมาณ 3,000-5,000 ลักซ์ D.O. มีค่า 0.5-2 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 ชั่วโมง จากนั้นทำการถ่ายเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่เตรียมปริมาตร 3,000 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 700 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลงในอาหารน้ำทิ้งที่ได้จากการคัดเลือกจากข้อ 3.5.4 ซึ่งบรรจุในถังหมักแบบเปิดปริมาตร 30 ลิตร ปริมาตร 27,000 มิลลิลิตร (คิดเป็นปริมาณเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์) ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ และมีการใช้ปั๊มหมุนเวียน เพื่อผสมอาหารและเชื้อให้คลุกเคล้ากันตลอดเวลาการเพาะเลี้ยงส่องไฟด้านบนด้วยหลอดทังสเตนขนาด 100 วัตต์ 6 ดวง ความเข้มแสงประมาณ 3,000-4,000 ลักซ์ ใช้แท่งแก้วคันเขี่ยเซลล์ที่เกาะติดข้างผนังถังหมักวันละครั้ง เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง จนกว่าการ

เจริญคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์หาการเจริญโดยวัดปริมาณวัตถุแห้ง, การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช,ปริมาณรงควัตถุ และค่าซีโอดี

3.5.6 การศึกษาระบบหมักแบคทีเรียลังเคราะห์แสงแบบต่อเนื่อง

การเตรียมหัวเชื้อได้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองในหัวข้อ 3.5.5 จากนั้นนำหัวเชื้อมาเติมลงในถังขนาด 30 ลิตร มีการป้อนอาหารน้ำทิ้งเข้าสู่ถังหมักอย่างต่อเนื่องด้วยปั๊มป้อนอาหารเข้าโดยควบคุมที่อัตราไหลน้ำทิ้งคงที่ต่างๆ ปริมาตรของถังหมักจะคงที่ที่ 30,000 มิลลิลิตร ปริมาตรที่มากกว่านี้จะล้นออกจากถังหมักเข้าสู่ถังตกตะกอน มีการนำเซลล์ที่ตกตะกอนที่ก้นถังตกตะกอนหมุนเวียนมาใช้ในถังหมักอีกครั้งด้วยอัตรา 0.5 ลิตรต่อนาที ส่วนบนในถังตกตะกอนจะล้นออกจากระบบ ดังรูปที่ 3.3 เก็บตัวอย่างจากถังหมัก , ส่วนบนที่ล้นออกจากถังตกตะกอน และ ส่วนตะกอนจากส่วนล่างของถังตกตะกอน เก็บตัวอย่างวันละครั้ง จนกว่าการเจริญและการลดค่าซีโอดีคงที่และเริ่มลดลง นำตัวอย่างที่เก็บไปวิเคราะห์หาการเจริญโดยวัดปริมาณวัตถุแห้ง, การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช, ปริมาณรงควัตถุ และ ค่าซีโอดีและบีโอดี

3.6 การตรวจวิเคราะห์

3.6.1 การวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง(ค่า pH) นำอาหารน้ำทิ้งที่ป้อนเข้าสู่ระบบ และ ตัวอย่างจากส่วนที่ล้นออกจากถังตกตะกอนในช่วงเวลาต่างๆของการทดลอง นำไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย pH meter (ภาคผนวก ก1)

3.6.2 การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี (COD) และ ค่าบีโอดี (BOD) นำอาหารน้ำทิ้งที่ป้อนเข้าสู่ระบบ และ ตัวอย่างจากส่วนที่ล้นออกจากถังตกตะกอนในช่วงเวลาต่างๆของการทดลอง นำไปวิเคราะห์หาค่าซีโอดีโดยวิธี dichromate method และวิเคราะห์หาค่าบีโอดีโดยใช้ manometric apparatus (HACH model 2173B) (ภาคผนวก ก2 และ ก3)

3.6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหนักแห้งและวัตถุแห้ง นำตัวอย่างที่เก็บจากถังหมัก , ส่วนบนที่ล้นออกจากถังตกตะกอน และ ส่วนตะกอนจากส่วนล่างของถังตกตะกอน ในช่วงเวลา ต่างๆของการทดลอง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหนักแห้ง (ภาคผนวก ก8)

3.6.4 การวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุ นำตัวอย่างที่เก็บจากส่วนตะกอนจากส่วนล่างของถังตกตะกอน ในช่วงเวลาต่างๆของการทดลอง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุตามวิธีของ Hirayama และคณะ (1974) (ภาคผนวก ก9)

3.6.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารของน้ำทิ้ง นำอาหารน้ำทิ้งที่ป้อนเข้าสู่ระบบนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน , ฟอสเฟต ,คลอไรด์ (ตรวจวิเคราะห์โดยบริษัทวิศวกรรมเคมี จำกัด) และ ปริมาณน้ำตาลริดิซ์และน้ำตาลทั้งหมด (ภาคผนวก ก6 และ ก7)

3.6.6 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแขวนลอยและปริมาณของแข็งทั้งหมด นำอาหารน้ำทิ้งที่ป้อนเข้าสู่ระบบ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารแขวนลอย (ภาคผนวก ก5) และ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ภาคผนวก ก4)

3.6.7 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของเซลล์ นำเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่ได้จากระบบบำบัดน้ำทิ้ง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า เยื่อใย และกรดอะมิโนทั้งหมด (ตรวจวิเคราะห์ที่กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและพลังงาน

3.7 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ทางเคมี ฟิสิกส์ และ จุลชีววิทยา

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติบางประการของน้ำทิ้งจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสง การวิเคราะห์หาปริมาณรงควัตถุของเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสง และ ตรวจวัดการเจริญของเชื้อ ตามภาคผนวก ก

2. อุปกรณ์ที่ใช้วัดความเข้มแสงใช้ลักซ์มิเตอร์ (Lux meter : โมเดล LX50 ของบริษัท Digicon จำกัด)

3. อุปกรณ์ที่ใช้วัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen) โดยใช้ D.O. meter : โมเดล Oxi 92 ของบริษัท Wissewschaftlich-Technische จำกัด