



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง
การควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล

**Control and Monitoring Wastewater Treatment Plant by
Using Molecular Biological Technique**

โดย
ปิยะนุช เนียมทรัพย์ และคณะ

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2555

รหัสโครงการวิจัย มจ.1-54-011



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล
Control and Monitoring Wastewater Treatment Plant by Using Molecular Biological
Technique

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2554
จำนวน 327,500 บาท

หัวหน้าโครงการ

ผศ.ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์

ผู้เข้าร่วมโครงการ

อ.ดร.พีรภานต์ บรรณเจตกิจ

อ.ดร.มูจลินทร์ ผลจันทร์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

30/ธันวาคม/2555

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย เรื่อง การควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล ได้สำเร็จลุล่วง โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักวิจัย และส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2554 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะ วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รวมทั้งสถาบัน IQS มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

โรงงานผลิตอาหารทะเลทั้งสามแห่ง ซึ่งไม่สามารถเปิดเผยชื่อโรงงานในที่นี้ได้ ที่ได้อนุเคราะห์ ตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียของทางโรงงาน เพื่อให้ผู้วิจัยได้ใช้ศึกษาในโครงการวิจัยนี้

คณะผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัย



สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
ABSTRACT	3
คำนำ	4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	39
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	48
สรุปผลการวิจัย	65
เอกสารอ้างอิง	67
ภาคผนวก	71

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณการใช้น้ำในกระบวนการผลิตปลาทะเลแช่แข็ง	13
ตารางที่ 2 ข้อมูลการใช้น้ำ-น้ำแข็ง และภาระบีโอดี-ชีโอดีของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง	14
ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำเสีย และ COD Loading ต่อวันของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งแต่ละกลุ่มสถานประกอบการที่ใช้ระบบ UASB	15
ตารางที่ 4 ลักษณะน้ำเสียจากอุตสาหกรรมปลา	16
ตารางที่ 5 ค่าการออกแบบถังปฏิกรณ์ UASB เมื่อเริ่มต้นระบบ	18
ตารางที่ 6 ค่า COD loading ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30°C	19
ตารางที่ 7 ความเร็วในการไหลของน้ำ และความสูงของถังปฏิกรณ์	20
ตารางที่ 8 ข้อมูลการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งชนิดต่างๆ	28
ตารางที่ 9 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจินัส Clostridium	32
ตารางที่ 10 ชนิดและหน้าที่ของแบคทีเรียอื่นๆที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์	34
ตารางที่ 11 แบคทีเรียที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสีย	37
ตารางที่ 12 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง	38
ตารางที่ 13 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์น้ำเสีย	44
ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1	48
ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2	49
ตารางที่ 16 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3	50
ตารางที่ 17 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 1	51
ตารางที่ 18 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 2	52
ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 3	52
ตารางที่ 20 ลักษณะน้ำเข้า และน้ำออกเฉลี่ยจากระบบ UASB ของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง	53
ตารางที่ 21 คุณลักษณะน้ำเข้า - น้ำออกโดยเฉลี่ยจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งของอุตสาหกรรมที่ทำการศึกษา	56
ตารางที่ 22 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1	57

	ก
	หน้า
ตารางที่ 23 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2	57
ตารางที่ 24 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3	58
ตารางที่ 25 ผลการโคลนชิ้นส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบน้ำเสีย	
สองระบบ	60



สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	วงจรชีวภาพของแหล่งน้ำ	11
ภาพที่ 2	ส่วนประกอบต่างๆ ของระบบ UASB	17
ภาพที่ 3	การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารตั้งต้นกับมวลของจุลินทรีย์	22
ภาพที่ 4	การย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน	29
ภาพที่ 5	แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1	42
ภาพที่ 6	แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2	43
ภาพที่ 7	แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3	43
ภาพที่ 8	Map and Sequence reference points of the RBC TA cloning vector	45



การควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล

Control and Monitoring Wastewater Treatment Plant by

Using Molecular Biological Technique

ปิยะนุช เนียมทรัพย์¹ พีรกานต์ บรรเจิดกิจ² มุจลินทร์ ผลจันทร์¹

Piyanuch Niamsup¹, Peerakarn Banjerdkit²

and Mujalin Pholchan¹

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 52190

²คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10903

บทคัดย่อ

จากการศึกษาข้อมูลจากพารามิเตอร์คุณภาพของน้ำเสียบีโอดี ซีโอดี ทีเคแอล ฟอสฟอรัส ทั้งหมด ไขมันและน้ำมัน ของแ่งแขวนลอย จากการบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) ด้วย ตะแกรงดักขยะ/บ่อดักไขมัน และผ่านระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) ก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง ของน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1 พบว่า ประสิทธิภาพการบำบัดของแ่งแขวนลอย (SS) มีประสิทธิภาพการบำบัดน้อยมากเฉลี่ย เป็น 10.13 % ยกเว้นในเดือนที่ 3 พบว่าสูงถึง 44.09 % ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดของ พารามิเตอร์ตัวอื่นๆที่สามารถบำบัดได้สูงด้วยเช่นกัน เช่น ประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดีสามารถ บำบัดได้ถึง 27.93% ,ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีบำบัดได้สูงถึง 50.00 % ส่วนประสิทธิภาพการ บำบัดไนโตรเจนในรูปทีเคแอล อยู่ในเกณฑ์ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์การบำบัดไนโตรเจนของ ระบบบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดได้ 15 % อุตสาหกรรมที่ 2 จากการศึกษพบว่าประสิทธิภาพการ บำบัดของเดือนที่ 1 และ 2 มีประสิทธิภาพการบำบัดต่ำในทุกพารามิเตอร์ ในอุตสาหกรรมที่ 3 พบว่าระบบบำบัดของอุตสาหกรรมมีประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ดี สามารถบำบัดบีโอดี, ซีโอดี, ของแ่งแขวนลอย, ทีเคแอล และ ฟอสเฟตทั้งหมด ได้สูงโดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดเฉลี่ยเป็น 42.43, 46.05, 71.72, 36.90, 39.1% ตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน สามารถบำบัดได้สูงในครั้งที่ 3 เป็น 60.92 %

จากผลการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบน้ำเสียโดยการใช เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลโดยนำตัวอย่างแบคทีเรียที่เก็บจากน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบ่ง

ออกเป็นสองระบบคือ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) และระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนซึ่งของอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง และน้ำเสียจากบ่อ แอโรบิกและบ่อแอโรบิกของอุตสาหกรรมที่ 3 ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารไนโตรเจน อย่างละ 3 ชั่วโมง นำมาผสมรวมกัน แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณยีนด้วย 16S rRNA ยีนด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำมาทำการโคลนยีนส่วน 16S rRNA ในเชื้อ *E.coli* จากผลการโคลนและทำการคัดเลือกดีเอ็นเอสายผสมด้วยขนาด (Rapid size screening) พบว่าสามารถโคลนยีนส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) จำนวนทั้งสิ้น 116 โคลน และจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนจำนวนทั้งสิ้น 56 โคลน ซึ่งโคลนทั้งหมดนี้จะถูกนำไปหาลำดับเบสของดีเอ็นเอของยีนส่วน 16S rRNA และทำการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank และทำการจัดกลุ่มต่อไป



Abstract

This research was conducted to study the wastewater treatment parameters which consisted of BOD, COD, TKN, total phosphorus, lipid and oil, and suspended solid (SS) from the primary treatment with the UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) before pass through the activated sludge process (aerobic water treatment) of the first industry. We found that the capacity of suspended solid treatment was at average of 10.13% except on the 3rd month that increased to 44.09% correlated with the other parameters such as BOD, COD and TKN which showed the capacity at 27.93, 50.0 and 15.0%, respectively. For the second industry, the wastewater treatment capacity of the 1st and 2nd month showed low capacity in all parameters. For the third industry, we found that wastewater treatment capacity showed at high level in all parameters at 42.43, 46.05, 71.72, 36.90 and 39.1% for BOD, COD, SS, TKN and total phosphorus, respectively.

The bacterial diversity wastewater treatment was studied by using molecular biology technique. The samples were collected from two systems which consisted of UASB (anaerobic) from the third industry and activated sludge process (aerobic) from the first and second industries. Bacteria from these samples were DNA extracted, PCR amplification and cloned the 16S ribosomal RNA (16S rRNA) in *Escherichia coli*. From the rapid sized screening, a total of 116 clones were selected from UASB and 56 clones were selected from activated sludge process. All of these clones will be followed by DNA sequencing, homology search with GenBank database and their groupings.

คำนำ

ปัญหาน้ำเสียเกิดขึ้นจากความเจริญเติบโตของประเทศ ทั้งทางด้านเศรษฐกิจ จำนวนประชากรทั้งนี้ น้ำเสียเกิดขึ้นจากการใช้น้ำของมนุษย์เพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ นับแต่ปี พ.ศ. 2500 เป็นต้นมาในช่วงหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 ทุกประเทศได้เร่งฟื้นฟูเศรษฐกิจ จุดกำเนิดการเกิดน้ำเสียสำหรับประเทศไทยเกิดขึ้นในช่วงปี พ.ศ. 2512 ถึง พ.ศ. 2515 อุตสาหกรรมได้มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่แม่น้ำแม่กลอง ความเน่าเสียในแม่น้ำเกิดขึ้นเป็นระยะ ๆ ในช่วงฤดูร้อนของปี พ.ศ. 2515-2516 ได้เกิดภาวะเน่าเสียในแม่น้ำแม่กลองอย่างรุนแรงส่งผลกระทบต่อชุมชนใกล้เคียงเป็นวงกว้าง กระทรวงอุตสาหกรรมจึงเริ่มบังคับให้อุตสาหกรรมอุตสาหกรรมมีการก่อสร้างระบบบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ จึงถือเป็นจุดกำเนิดของงานบำบัดน้ำเสียในประเทศไทย ในปีพ.ศ. 2518 ได้มีการตราพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2518 พร้อมทั้งจัดตั้งสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติขึ้น ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2530 – 2539 เศรษฐกิจของประเทศไทยได้ขยายตัวอย่างมาก ซึ่งมีผลให้เกิดมลภาวะเนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมอุตสาหกรรมและชุมชน จากนั้นในปี พ.ศ. 2535 ได้มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 แทนพระราชบัญญัติ ฯ ปี พ.ศ. 2518 ซึ่งนอกจากจะทำให้มีการปรับปรุงส่วนราชการใหม่โดยมีการจัดตั้งกรมควบคุมมลพิษ สำนักงานนโยบายแผนและสิ่งแวดล้อม และกรมส่งเสริมสุขภาพสิ่งแวดล้อมขึ้นแทนสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ

จะเห็นได้ว่าการสร้างระบบบำบัดน้ำเสียของประเทศไทยมีมายาวนานเกือบ 40 ปี แต่ปัญหาคูกลามของน้ำเน่าเสียยังคงปรากฏตามชุมชนใกล้เคียงพื้นที่แม้มีระบบบำบัดน้ำเสีย ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการควบคุม ติดตามและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียในพื้นที่ส่วนใหญ่ใช้เทคนิคทางเคมีหรือชีวเคมีที่เป็นวิธีการบอกสถานะของระบบบำบัดน้ำเสียโดยรวม และระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศไทยมากกว่าร้อยละ 80 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีววิทยาซึ่งอาศัยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม ในขณะที่วิธีการตรวจวิเคราะห์ความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสียอาศัยเทคนิคทางเคมีหรือชีวเคมี ได้แก่ ค่าซีโอดี (COD: Chemical Oxygen Demand) หรือ ค่าบีโอดี (BOD : Biochemical Oxygen Demand) โดยนำมาคำนวณเป็นประสิทธิภาพการบำบัด อันเป็นการแสดงถึงความสามารถของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบนั้น ๆ ทำให้การควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียไม่สามารถกระทำได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ เนื่องจากปัจจัยที่ใช้ในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณอาหาร (ค่า COD หรือ BOD) สารอาหาร (ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) และสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ ต่างเป็นปัจจัยทางเคมีวิเคราะห์ที่ถูกกำหนดในช่วงที่กว้าง

ทำให้ไม่เฉพาะเจาะจงกับจุลินทรีย์บางกลุ่มที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแต่ละประเภท ดังนั้นเพื่อในงานทางด้านระบบบำบัดน้ำเสียเกิดความรู้ความเข้าใจอย่างละเอียดขึ้นในกระบวนการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์โดยเทียบกับค่า COD หรือ BOD ที่ใช้บ่งบอกถึงความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสีย อย่างไรก็ตามการบ่งชี้ประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์จากกระบวนการเพาะเลี้ยงมีข้อจำกัดในการตรวจสอบใช้เวลานาน และเกิดความผิดพลาดในการตรวจสอบ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล (molecular biology) คือ การทำ 16S rDNA clone library ร่วมกับ เทคนิค Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) มาใช้ในแก้ไขปัญหาที่เกิดจากข้อจำกัดในการเพาะเลี้ยงดังกล่าว โดยเทคนิคทั้ง 2 วิธีนี้ไม่ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยง อีกทั้งยังใช้เวลารวดเร็วในการตรวจสอบ เทียบกับข้อมูลวิเคราะห์ทางเคมีที่นิยมใช้ในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย คือ ค่า COD - BOD โดยสามารถนำข้อมูลเปรียบเทียบนี้ไปใช้ในการวางแผนและควบคุมระบบ ตั้งแต่การเริ่มต้นระบบ และการดำเนินระบบ เพื่อให้ระบบทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง และมีเสถียรภาพที่ดีในระยะยาว

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเรื่องการควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล มีความสอดคล้องกับนโยบายและยุทธศาสตร์การพัฒนาชาติ (พ.ศ. 2551-2554) สอดคล้องกับ ยุทธศาสตร์ที่ 4 การเสริมสร้างและพัฒนาทุนทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม กลยุทธ์การวิจัยที่ 1 การบริหารจัดการและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม อย่างยั่งยืน แผนงานวิจัยที่ 9 การวิจัยเกี่ยวกับมลพิษ การจัดการมลพิษและผลกระทบสิ่งแวดล้อม จากมลพิษ เนื่องจากเป็นงานวิจัยโดยพัฒนาใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อการควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งมีจุดด้อยในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียที่มีมายาวนานกว่า 40 ปี ซึ่งเป็นการส่งผลกระทบยาวในการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า รวมทั้งส่งเสริมให้เกิดอนุรักษ์ทรัพยากรน้ำอันเป็นปัจจัยพื้นฐานของการดำรงชีวิตของมวลมนุษยชาติและสิ่งแวดล้อมในสถานการณ์โลกที่ร้อน และสอดคล้องกับยุทธศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในกลุ่มเรื่องเร่งด่วนที่ 6 เทคโนโลยีใหม่และเทคโนโลยีที่สำคัญสำหรับอุตสาหกรรม แผนงานวิจัย การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษากลุ่มของจุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีอิทธิพลต่อการควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสีย
2. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่แม่นยำทางด้านกลุ่มจุลินทรีย์เพื่อการควบคุมและตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสีย



การตรวจเอกสาร

ระบบบำบัดน้ำเสียในประเทศไทยมากกว่าร้อยละ 80 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีววิทยาซึ่งอาศัยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม โดยเฉพาะระบบบำบัดน้ำเสียของภาคอุตสาหกรรม ในขณะที่วิธีการตรวจวิเคราะห์ความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสียอาศัยเทคนิคทางเคมีหรือชีวเคมี ได้แก่ ค่าซีโอดี (COD: Chemical Oxygen Demand) หรือ ค่าบีโอดี (BOD : Biochemical Oxygen Demand) โดยนำมาคำนวณเป็นประสิทธิภาพการบำบัด อันเป็นการแสดงถึงความสามารถของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบนั้น ๆ ทำให้การควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียไม่สามารถกระทำได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ เนื่องจากปัจจัยที่ใช้ในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณอาหาร (ค่า COD หรือ BOD) สารอาหาร (ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) และสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ ต่างเป็นปัจจัยทางเคมีวิเคราะห์ที่ถูกกำหนดในช่วงที่กว้าง ทำให้ไม่เฉพาะเจาะจงกับจุลินทรีย์บางกลุ่มที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแต่ละประเภท ดังนั้นเพื่อให้งานทางด้านระบบบำบัดน้ำเสียเกิดความรู้ความเข้าใจอย่างละเอียดขึ้นในกระบวนการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์โดยเทียบกับค่า COD หรือ BOD ที่ใช้บ่งบอกถึงความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสีย อย่างไรก็ตามการบ่งชี้ประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์จากกระบวนการเพาะเลี้ยงมีข้อจำกัดในการตรวจสอบใช้เวลานาน และเกิดความผิดพลาดในการตรวจสอบ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล (molecular biology) คือ การทำ 16S rDNA clone library ร่วมกับเทคนิค Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) มาใช้ในแก้ไขปัญหาที่เกิดจากข้อจำกัดในการเพาะเลี้ยงดังกล่าว โดยเทคนิคทั้ง 2 วิธีนี้ไม่ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยง อีกทั้งยังใช้เวลารวดเร็วในการตรวจสอบเทียบกับข้อมูลวิเคราะห์ทางเคมีที่นิยมใช้ในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย คือ ค่า COD – BOD โดยสามารถนำข้อมูลเปรียบเทียบนี้ไปใช้ในการวางแผนและควบคุมระบบ ตั้งแต่การเริ่มต้นระบบและการดำเนินระบบ เพื่อให้ระบบทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงและมีเสถียรภาพที่ดีในระยะยาว

1. ระบบบำบัดน้ำเสีย (Wastewater treatment plant)

กระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในปัจจุบัน สามารถแบ่งออกได้เป็นประเภทใหญ่ๆ 3 ประเภท ได้แก่ (คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, 2538; สุเทพ, 2549)

- 1) กระบวนการทางกายภาพ (Physical Processes)
- 2) กระบวนการทางเคมี (Chemical Processes)
- 3) กระบวนการทางชีวภาพ (Biological Processes)

กระบวนการทางกายภาพ หมายถึง กระบวนการที่ใช้หลักการทางกลศาสตร์ในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งรวมทั้งการแยกสารแขวนลอยโดยใช้ตะแกรง การแยกกรวดทราย การปรับสมดุลของปริมาณน้ำเสีย การตกตะกอน การทำให้ลอยตัว การแยกไขมัน การถ่ายเทก๊าซและการเติมอากาศ การกรอง กระบวนการรีเวิร์สออสโมซิส

กระบวนการทางเคมีเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีการใช้สารเคมีหรือมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นในน้ำเสีย ซึ่งได้แก่ การปรับค่าความเป็นกรดด่าง การตกตะกอนทางเคมี การดูดซับผิว การฆ่าเชื้อโรคโดยสารเคมี

กระบวนการทางชีวภาพเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ปนมากับน้ำเสีย สามารถแยกออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ขึ้นอยู่กับประเภทของจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยสลาย ได้แก่

- 1) กระบวนการที่ใช้ออกซิเจน (aerobic processes)
- 2) กระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic processes)

ในแต่ละประเภทยังสามารถแบ่งออกได้เป็นแบบที่ให้จุลินทรีย์ต้องลอยอยู่ในน้ำเสีย (suspended growth) และแบบที่ให้จุลินทรีย์เกาะติดกับวัสดุตัวกลาง (attached growth) กระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่นิยมใช้ในการบำบัดน้ำเสียส่วนใหญ่ (มันสิน, 2543, Tchobanoglous *et al.* , 2004 และ สุเทพ, 2549) ได้แก่

1) ประเภทใช้ออกซิเจน

ระบบตะกอนจุลินทรีย์เร่ง (Activated Sludge) มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ ถังเติมอากาศ (aerobic tank) และถังตกตะกอน (secondary sedimentation tank) และการสูบตะกอนออกจากถังตกตะกอนป้อนกลับไปยังถังเติมอากาศ เพื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศให้มากพอที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ปนมากับน้ำเสียได้อย่างรวดเร็ว เป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่นิยมใช้มากที่สุดในระบบหนึ่ง

ระบบบ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon) มีลักษณะคล้ายระบบตะกอนจุลินทรีย์เร่ง เพียงแต่บ่อเติมอากาศและบ่อตกตะกอนโดยทั่วไปจะมีระยะเวลาเก็บกัก (detention time) นานกว่าในระบบตะกอนจุลินทรีย์เร่ง และอาจไม่มีการสูบตะกอนจากบ่อตกตะกอนกลับไปยังบ่อเติมอากาศ

ระบบบ่อฝัง (Stabilization Pond) เป็นบ่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อาศัยจุลินทรีย์ที่ใช้ ออกซิเจนโดยออกซิเจนจะซึมจากอากาศเหนือผิวน้ำลงน้ำหรือเกิดจากการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำที่เกิดขึ้นในบ่อไม่ต้องอาศัยเครื่องจักรกลในการเติมอากาศให้กับน้ำอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ช้ากว่าการเติมอากาศ จึงต้องการพื้นที่มากกว่าแต่ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานและการบำรุงรักษาต่ำ

การหมักแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Digestion) เป็นกระบวนการที่ใช้บำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูง หรือใช้บำบัดตะกอนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียกระบวนการอื่น โดยทำการเก็บกักน้ำเสียไว้ในถังหมักซึ่งอาจปรับอุณหภูมิให้สูงกว่าปกติเพื่อเร่งอัตราการย่อยสลายน้ำเสีย มีการเติมอากาศเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้น้ำเสียเพื่อให้กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน

2) ประเภทไม่ใช้ออกซิเจน

การหมักแบบไร้อากาศ (Anaerobic Digestion) เป็นการบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงหรือตะกอนที่เกิดจากการบำบัดน้ำเสียกระบวนการอื่น โดยกักเก็บน้ำเสียไว้ในถังซึ่งปิดมิดชิดเป็นเวลานานและปล่อยให้จุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ในกระบวนการนี้จะมีก๊าซมีเทน (methane) และคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) เกิดขึ้น

ระบบบ่อไร้อากาศ (Anaerobic Pond) เป็นการบำบัดน้ำเสียโดยกักเก็บไว้ในบ่อและปล่อยให้จุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียในลักษณะคล้ายกับกระบวนการหมักแบบไร้อากาศที่กล่าวข้างต้น เพียงแต่ระบบบ่อไร้อากาศจะใช้บ่อที่ขุดขึ้น และมีลักษณะเป็นการบำบัดแบบธรรมชาติมากกว่า

ระบบบ่อกรองไร้อากาศ (Anaerobic Filter) เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่เกาะติดอยู่ที่ผิวของวัสดุกรองที่บรรจุอยู่ในถังและผ่านน้ำเสียเข้าไปโดยที่วัสดุกรองทั้งหมดจะจมอยู่ใต้น้ำ โดยทั่วไปการผ่านน้ำเสียจะผ่านจากด้านล่างของถังและให้น้ำเสียที่ผ่านชั้นวัสดุกรองไหลลงรางที่ติดตั้งอยู่เหนือระดับชั้นวัสดุกรองหรือมีให้ตะกอนที่ปนมากับน้ำเสียเข้าไปอุดตันในช่องว่างของวัสดุกรอง

จากกระบวนการบำบัดข้างต้น กระบวนการทางชีวภาพนับเป็นกระบวนการที่สำคัญในการบำบัดมลภาวะทางน้ำ โดยอาศัยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียเป็นสำคัญ ประสิทธิภาพของการบำบัดจึงขึ้นอยู่กับความสามารถของจุลินทรีย์ในการทำงานภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ปัจจุบันการศึกษาการทำงานของจุลินทรีย์สามารถวัดได้จากผลการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำเสียเป็นสำคัญ

2. ระบบนิเวศวิทยาของแบคทีเรียในน้ำเสีย

การศึกษาและดูแลระบบบำบัดน้ำเสียโดยเฉพาะระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยกระบวนการบำบัดทางชีววิทยา (Biological treatment) เป็นหลักจำเป็นต้องเข้าใจถึงบทบาทและความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียทาง

ชีววิทยา พบว่าเป็นแบคทีเรียกว่า 95% รองลงมาได้แก่ รา สาหร่าย และโปรโตซัว ตามลำดับ (คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, 2538; สุเทพ, 2551)

นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ ส่วนมากแบคทีเรียและสาหร่ายเป็นกลุ่มจุลินทรีย์สำคัญที่เริ่มต้นในวงจรชีวภาพของแหล่งน้ำ ดังภาพที่ 1

จากวงจรชีวภาพของแหล่งน้ำจะพบว่า แบคทีเรียสามารถใช้สารอินทรีย์ในรูปที่ละลายน้ำ เปลี่ยนเป็นสารประกอบของเซลล์ใหม่และสารอนินทรีย์ และสาหร่ายในแหล่งน้ำจะนำสารอนินทรีย์ไปใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ โดยเซลล์ใหม่ของแบคทีเรียและสาหร่ายจะกลายเป็นอาหารของโปรโตซัว โรติเฟอร์และครัสตาเซียน ตามลำดับ ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะกลายเป็นอาหารของปลาเล็กและปลาใหญ่ สุดท้ายปลาจะกลายเป็นอาหารของมนุษย์ตามลำดับ และมนุษย์ทิ้งของเสียที่เหลือจากกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ลงแหล่งน้ำ โดยของเสียเหล่านี้เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์ของแหล่งน้ำต่อไป การเกิดสมดุลของวงจรชีวภาพในแหล่งน้ำมีปัจจัยที่สำคัญคือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen; DO) โดยแหล่งน้ำได้รับออกซิเจนตามธรรมชาติจากหลายแหล่ง ได้แก่ การคายออกซิเจนจากปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ การแลกเปลี่ยนออกซิเจนระหว่างบรรยากาศและผิวน้ำ และการถ่ายเทออกซิเจนในแหล่งน้ำที่มีการไหลเร็ว (Turbulent flow) ดังนั้นหากแหล่งน้ำได้รับปริมาณสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น กระตุ้นให้จุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนเพื่อสร้างเซลล์ใหม่มากขึ้น ปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลงทำให้สัตว์น้ำที่อยู่ในระดับสูงกว่า เช่น ปลาขนาดใหญ่ซึ่งมีความอ่อนไหวมากที่สุดต่อปริมาณออกซิเจนที่เปลี่ยนแปลง ตายลงตามด้วยปลาขนาดเล็ก จากนั้นเป็นครัสตาเซียน โรติเฟอร์และโปรโตซัว ตามลำดับ ทำให้แหล่งน้ำนั้นเกิดภาวะขาดออกซิเจนรุนแรงขึ้นจนกลายเป็นสถานะไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดจุลินทรีย์กลุ่มใหม่คือ จุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งผลที่ได้จากการย่อยสลายสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในภาวะแบบไม่ใช้ออกซิเจนนี้ คือ กลิ่นเหม็น และสีดำจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสารโลหะซัลไฟด์ต่างๆ



ภาพ 1 วงจรชีวิตของแหล่งน้ำ

ที่มา : ดัดแปลงจาก วันเพ็ญ วิโรจน์กูฏ, 2531. ชีวิตาสำหรับวิศวกรสิ่งแวดล้อม

กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาที่มีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสียประเภทไม่ใช้ออกซิเจน คือ *Pseudomonas* และ *Clostridium* เนื่องจาก *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifier) ซึ่งใช้ในเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจน ในขณะที่ไนเตรทอาจเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียได้อีกทางหนึ่งขึ้นอยู่กับกลุ่มของแบคทีเรีย (สุบัณฑิต, 2548 , สุเทพ, 2549 และ Tchobanoglous *et al.* ,2004) สำหรับ *Clostridium* เป็นจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในปฏิกิริยาการหมักโดยใช้ไนเตรทจากนั้นเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (สุบัณฑิต, 2548 และ Tchobanoglous *et al.* ,2004) สำหรับแบคทีเรียที่มักพบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนจะมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับประเภทหรือแหล่งที่มาของน้ำเสีย เช่น น้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารคอง จะพบกลุ่มแบคทีเรียทนเค็ม ในขณะที่อุตสาหกรรมแปรรูปนม จะเป็นกลุ่มแบคทีเรียในดีฟออิงแบคทีเรียเป็นกลุ่มแบคทีเรียเด่น (สุบัณฑิต, 2548)

3. การศึกษาแบคทีเรียในน้ำเสีย

การตรวจสอบแบคทีเรียที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไป มักจะเป็น Culture based methods อาทิเช่น Direct plate count หรือ Most Probable Number (MPN) ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด เนื่องจากจุลินทรีย์บางกลุ่มไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ หากเพาะเลี้ยงได้ก็ใช้เวลานาน ทำให้จุลินทรีย์บางส่วนไม่เคยมีการตรวจพบและไม่มีการศึกษาและอาจเกิดความผิดพลาดในการตรวจสอบได้ง่าย เนื่องจากเชื้อบางชนิดมีคุณลักษณะใกล้เคียงกัน (Amann *et al.*, 1995) โดยในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลขึ้นเพื่อใช้ในการตรวจจับแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม โดยเทคนิคไม่ทำการเพาะเลี้ยง (unculturable technique) ซึ่งจะทำให้ได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น ในปัจจุบันได้มีการนำเอา Ribosomal RNA ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดมาใช้ในการตรวจหาและจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความจำเพาะสูง ถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วกว่าวิธีการดั้งเดิม อีกทั้งไม่ต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ทำให้สามารถจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่มาจากสิ่งแวดล้อมซึ่งยากต่อการเพาะเลี้ยงได้ นอกจากนี้ยังได้มีการนำเอา 16S Ribosomal RNA มาทำ Fluorescent *In Situ* Hybridization มาใช้ในการศึกษา Microbial Organization และหน้าที่ของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศน์ต่างๆ

เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลที่ถูกนำมาใช้ในการศึกษาแบคทีเรียในน้ำเสีย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษายีนในส่วน of 16S ribosomal RNA ร่วมด้วยการออกแบบ DNA probe เพื่อใช้ในการตรวจจับจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำและใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น เนื่องจากไม่ต้องมีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (Amann *et al.*, 1995) โดยนักวิจัยจากต่างประเทศได้มีการศึกษาแบคทีเรียในน้ำเสียโดยใช้วิธีดังกล่าวมาบ้างแล้ว (Xin *et al.*, 2008; Feder *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2003) แต่ในประเทศไทยเองมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากต่างประเทศ กลุ่มของแบคทีเรียที่พบในน้ำเสียแบบต่าง ๆ ทั้งชนิดและปริมาณอาจมีความแตกต่างจากงานวิจัยของต่างประเทศ

4. คุณลักษณะน้ำเสียอุตสาหกรรม

แม้ว่าน้ำเสียที่เกิดในประเทศไทยที่มีปริมาณมากในแต่ละปี คือ น้ำเสียจากชุมชน แต่เนื่องจากการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียจากชุมชนนั้นโดยส่วนใหญ่อยู่ภายใต้การดูแลของภาครัฐ และและมีความสกปรกต่ำเมื่อเทียบกับน้ำเสียจากภาคอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งเป็นอุตสาหกรรมอาหารที่มีความสำคัญที่สุดประเภทหนึ่งของประเทศไทย สามารถส่งออกและสร้างรายได้เข้าสู่ประเทศในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก และยังเป็นอุตสาหกรรมที่ก่อให้เกิดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตในปริมาณมากเช่นกัน น้ำเสียส่วนใหญ่ของอุตสาหกรรมประเภทนี้เป็นน้ำเสียที่มี

องค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนของเศษเนื้อ เลือด และไขมันของสัตว์ทะเลที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต มีผลทำให้ค่าบีโอดี ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และค่าน้ำมันและไขมันสูง ดังนั้นอุตสาหกรรมดังกล่าวจึงจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ เพื่อให้ได้คุณภาพน้ำทิ้งตามมาตรฐานที่กฎหมายกำหนดไว้ กระบวนการบำบัดน้ำเสียส่วนใหญ่ของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งจึงเป็นกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ โดยการใช้จุลินทรีย์เป็นตัวย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้มีปริมาณน้อยลงหรือตามที่กฎหมายกำหนดไว้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงเป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียให้มีประสิทธิภาพ ซึ่งหากทำการศึกษาและทำความเข้าใจถึงชนิดและสมบัติของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสีย ทำให้สามารถควบคุมประสิทธิภาพการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียให้ดียิ่งขึ้นได้

ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแช่แข็งใช้อาหารจำพวกอาหารทะเลสด เช่น ปู กุ้ง ปลา และปลาหมึกเป็นวัตถุดิบ น้ำสะอาดหรือน้ำประปาเป็นวัตถุดิบอีกประเภทหนึ่งก็นำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็งในปริมาณมากเช่นกัน โดยมีวัตถุประสงค์ในการใช้ล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ การล้างภาชนะและเครื่องจักรอุปกรณ์ การล้างผลิตภัณฑ์ในระหว่างกระบวนการผลิต การทำความสะอาดบริเวณพื้นที่ทำงาน และช่วยในการชำระล้างเศษซากต่างๆ นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำแข็งและน้ำเย็น เพื่อคงความสดและควบคุมการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิต ทั้งนี้หากพิจารณาถึงการใช้น้ำรวมทั้งน้ำแข็งในแต่ละขั้นตอนการผลิต พบว่าการผลิตอาหารทะเลแช่แข็งนั้นมีการใช้น้ำในทุกขั้นตอน และยังมีปริมาณน้ำใช้ที่แตกต่างกันด้วย ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณการใช้น้ำในกระบวนการผลิตปลาทะเลแช่แข็ง

ขั้นตอนการผลิต	ปริมาณน้ำใช้ (ลูกบาศก์เมตรต่อตันวัตถุดิบ)
การละลายน้ำแข็ง	5
การทำความสะอาดวัตถุดิบ	1
การขอดเกล็ด	10-15
การตัดหัวปลา	1
การตัดแต่งชิ้นต้น	1-3
การลอกหนังปลา	0.2-0.6
การตัดแต่งชิ้นสุดท้าย	0.1
การแช่เยือกแข็งและจัดเก็บ	0.2

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2548)

นอกจากนี้ยังมีข้อมูลในการใช้น้ำและน้ำแข็งในกระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง พร้อมทั้งข้อมูลการะบีโอดีและซีโอดีของสถานประกอบการในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งจำนวน 20 แห่ง (กรมอุตสาหกรรมอุตสาหกรรม, 2551) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อมูลการใช้น้ำ-น้ำแข็ง และการะบีโอดี-ซีโอดีของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง

สถานประกอบการ	ผลิตภัณฑ์หลัก	กำลังผลิต (ตันต่อวัน)	การใช้น้ำ (ม. ³ ต่อตัน)	การใช้ น้ำแข็ง (ม. ³ ต่อตัน)	การะบีโอดี (กก.ต่อตัน)	การะซีโอดี (กก.ต่อตัน)
1	กุ้ง	28.85	49.01	2.17	48.49	56.89
2	กุ้ง	17.43	51.06	2.35	51.34	94.03
3	กุ้ง	9.79	48.62	0.86	60.92	114.88
4	กุ้ง	6.14	28.51	3.34	47.46	63.34
5	กุ้ง	6.36	45.11	3.56	172.23	246.04
6	กุ้ง	5.31	25.58	3.89	3.9	10.04
7	ปลา	14.14	25.78	0.64	47.51	82.55
8	ปลาทูน่า	3.61	16.49	1.92	2.69	11.04
9	ปลาทูน่า	4.26	28.28	0.00	4.71	21.50
10	ปลา	6.56	29.27	3.33	105.73	134.92
11	ปลา	34.79	22.18	0.55	19.13	26.96
12	ปลาหมึก	11.62	31.27	1.34	23.46	39.10
13	ปลาหมึก	1.67	30.75	3.04	58.01	82.88
14	ปลาหมึก	26.79	40.09	2.45	78.25	97.81
15	ปลาหมึก	59.69	25.45	0.95	70.67	86.70
16	ปลาหมึก	1.43	27.68	2.16	92.11	129.95
17	ซูริมิ	42.93	26.18	2.00	107.23	172.13
18	ซูริมิ	22.14	35.01	1.28	115.19	175.31
19	ซูริมิ	4.59	35.50	2.07	69.05	144.97
20	ซูริมิ	13.39	49.59	3.33	216.97	280.56

ที่มา: กรมอุตสาหกรรมอุตสาหกรรม (2551)

น้ำเสียจากกระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง เกิดจากการล้างวัตถุดิบเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งน้ำเสียดังกล่าวมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง เนื่องจากการปนเปื้อนของเศษเนื้อ เลือด และไขมันของสัตว์ทะเลที่ใช้เป็นวัตถุดิบ มีผลทำให้ค่าบีโอดี ค่าของแข็งแขวนลอย และค่าไขมันและน้ำมันสูง โดยน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตจะถูกส่งไปบำบัดยังระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรม ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งส่วนใหญ่ใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเนื่องจากน้ำเสียดังกล่าวมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง ทั้งนี้ทางอุตสาหกรรมอาจเลือกใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) หรือระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic) ในการบำบัดน้ำเสีย หรือใช้ทั้ง 2 ระบบร่วมกัน สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) ของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ดังตารางที่ 3

ตาราง 3 ปริมาณน้ำเสีย และ COD Loading ต่อวันของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งแต่ละกลุ่มสถานประกอบการที่ใช้ระบบ UASB

ประเภทอุตสาหกรรม	ปริมาณน้ำ และ COD Loading	
	m ³ /day	Kg COD/day
กุ้งแช่แข็ง (1)	1,000	2,100
กุ้งแช่แข็ง (2)	1,000	1,500
ทำปลา	250	600
แช่แข็งและซูริมิ	2,400	3,000

ที่มา: สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย (2548)

โดยทั่วไปอุตสาหกรรมอาหาร จะมีปริมาณสารอินทรีย์ปะปนมากับน้ำเสียปริมาณสูงทำให้ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนเข้ามามีบทบาทในการบำบัด เพราะสามารถลดค่า BOD Loading ได้มาก ดังนั้นระบบ UASB; Up-flow Anaerobic Sludge Blanket จึงเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่อุตสาหกรรมอุตสาหกรรมนิยมใช้ในการบำบัดน้ำเสีย

ตาราง 4 ลักษณะน้ำเสียจากอุตสาหกรรมปลา

พารามิเตอร์ทางเคมี	หน่วย	ความเข้มข้น	
		การล้างและการแช่	น้ำเสียรวม
COD	mg/l	5,250	873
SS	mg/l	371	119
TDS	g NaCl/l	46	17
Cl ⁻	g/l	27	10
SO ₄ ²⁻	mg/l	1,240	164
TKN	mg N/l	747	128
T-P	mg P/l	5	5

ที่มา: Dan (2000)

จากตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียมีปริมาณคลอรีนอยู่ค่อนข้างสูง ซึ่งคลอรีนจะมีผลต่อระบบบำบัดแบบชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นผลต่อค่าพารามิเตอร์ทางเคมี หรือปริมาณกลุ่มประชากรของ methanogen (Joseph and Frederick, 1992)

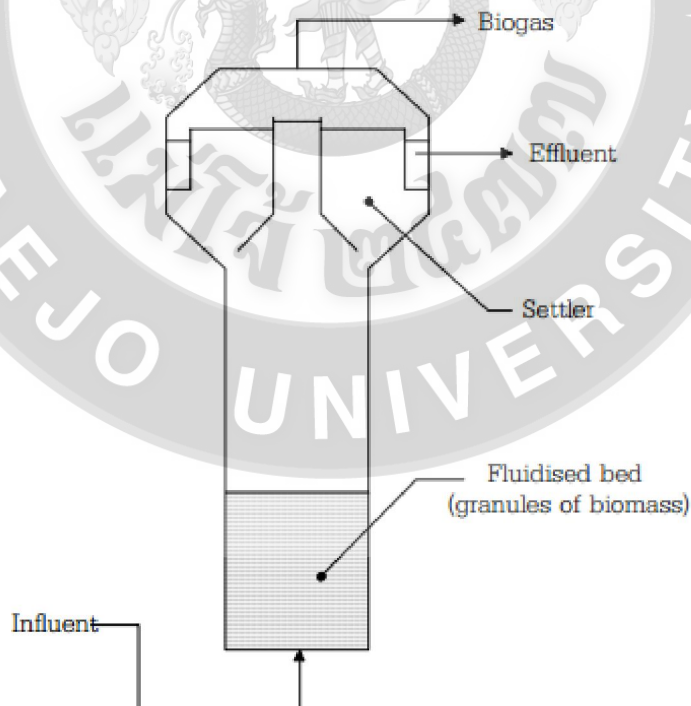
โดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้แบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ปัจจุบันมีทั้งหมด 4 ประเภท (สุบัตินิต, 2548; สุเทพ, 2552) ดังต่อไปนี้ ระบบ UASB; Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor ระบบ Conventional Anaerobic Digester แต่ระบบดังกล่าวไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างมาก จึงต้องการอุณหภูมิที่สูงและคงที่เพื่อทำการย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ระบบ Anaerobic Filter (Packed-bed Reactors) แต่เนื่องจากพื้นที่ผิวสำหรับจุลินทรีย์ยึดเกาะน้อยเกินไป ส่งผลต่อประสิทธิภาพของระบบ และระบบ Anaerobic Fluidized Bed Reactor ซึ่งข้อเสียของระบบก็ต้องการการดูแล และควบคุมอย่างใกล้ชิด ดังนั้นจึงต้องอาศัยบุคลากรที่มีความชำนาญสูงในการควบคุม นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างระบบสูง

5. ระบบบำบัดน้ำเสียและเกณฑ์การออกแบบสำหรับอุตสาหกรรมอาหารทะเล

ระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแห่งหนึ่งส่วนใหญ่ใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเนื่องจากน้ำเสียดังกล่าวมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง ทั้งนี้ทางอุตสาหกรรมอาจเลือกใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) หรือระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic) ในการบำบัดน้ำเสีย หรือใช้ทั้ง 2 ระบบร่วมกัน

5.1 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน Upflow Anaerobic Sludge Blanket; UASB

ระบบ UASB เป็นระบบที่ได้รับความนิยมในการบำบัดน้ำเสียที่มีค่า COD สูง เมื่อเทียบกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอื่นๆ เนื่องจากมีการพัฒนาความหนาแน่นของตะกอน โดยกลไกในการบำบัดคือ น้ำเข้าจะไหลผ่านบริเวณกลุ่มตะกอนที่อยู่ด้านล่างของถัง ซึ่งกลุ่มตะกอนดังกล่าวจะมีจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ก่อนที่จะไหลขึ้นด้านบนของระบบบำบัด และออกจากระบบบำบัด นอกจากนี้การย่อยสลายของแบคทีเรียยังทำให้ระบบบำบัด UASB เกิดก๊าซมีเทนขึ้นด้วยกลไกการย่อยสลายของแบคทีเรีย โดยที่ก๊าซจะถูกกักไว้ด้านบนของระบบบำบัด เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ ต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพ 2 ส่วนประกอบต่างๆ ของระบบ UASB

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2545)

โดยการออกแบบระบบ UASB พิจารณาจากข้อมูลของลักษณะน้ำเสีย, ปริมาณสารอินทรีย์, อัตราการไหลของน้ำ, ปริมาตรของถังปฏิกรณ์, ลักษณะทางกายภาพ และระบบเก็บกักก๊าซ (Tchobanoglous *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังมีค่าพารามิเตอร์ ดังตารางที่ 5 ที่ใช้ในการออกแบบเบื้องต้นของระบบ UASB

ตาราง 5 ค่าการออกแบบถังปฏิกรณ์ UASB เมื่อเริ่มต้นระบบ

พารามิเตอร์	หน่วย	ค่าที่ใช้ในการออกแบบ
pH	-	6.3-7.8
Hydraulic retention time; HRT	ชั่วโมง; hr	4-20
Organic loading rate; OLR	Kg COD/m ³ .d	0.4-3.6
อุณหภูมิ	°C	20-55
COD:N:P	-	600:5:1

ที่มา: คัดแปลงจาก Tchobanoglous *et al.* (2004); Habeeb *et al.* (2010)

ลักษณะของน้ำเสีย

ลักษณะของน้ำเสียที่ใช้ในการบำบัดจะพิจารณาองค์ประกอบของน้ำเสียและค่าของแข็ง การเกิดเม็ดตะกอนจะแตกต่างกันตามการไหลของน้ำเสีย หรือภายใต้การควบคุมระบบบำบัดที่แตกต่างกัน ซึ่งลักษณะสำคัญของระบบ UASB คือ การเก็บกักตะกอนไว้ในถังปฏิกรณ์ได้จำนวนมาก โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เป็นเม็ดตะกอน จนกระทั่งมีขนาดใหญ่ และน้ำหนักมาก มีความเร็วในการจมตัวสูง สามารถตกตะกอนได้ดี การรวมตัวเป็นเม็ดตะกอนขึ้นอยู่กับลักษณะน้ำเสีย เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ตอนเริ่มเดินระบบ และอุปกรณ์แยก 3 สถานะต้องทำงานได้ดี โดยตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอนแยกตัวลงมา ต้องสามารถกลับเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ได้ง่ายไม่มีการสะสมตัวอยู่ในส่วนตกตะกอน และมีการหลุดออกของตะกอนไปกับน้ำทิ้งน้อยที่สุด (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) นอกจากนี้สภาพแวดล้อมก็ยังส่งผลต่อความแตกต่างของลักษณะของจุลินทรีย์ น้ำเสียที่มีปริมาณของโปรตีน และไขมันสูงมีแนวโน้มทำให้เกิดปัญหาต่อเม็ดตะกอน และการเกิดปัญหาสัดจ์เค้ก ซึ่งน้ำเสียของอุตสาหกรรมปลาจะมีโปรตีน และไขมันเป็นส่วนประกอบหลักของน้ำเสีย (Chowdhury *et al.*, 2010) ประสิทธิภาพในการบำบัดของระบบ UASB เป็นการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งควรมีค่า BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 และระบบบำบัดควรมีค่า COD:N:P เท่ากับ 600:5:1 (Tchobanoglous *et al.*, 2004)

ปริมาณสารอินทรีย์

โดยปกติน้ำเสียที่มีค่า COD loading ที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบ UASB แล้ว ระบบดังกล่าว จะมีประสิทธิภาพในการลดค่า COD loading 90 – 95% เมื่อ COD Loading อยู่ในช่วง 12 – 20 kg COD/m³d ที่อุณหภูมิ 30 – 35 °C แต่หากประสิทธิภาพในการบำบัดน้อยกว่า 90% และมีปริมาณ ตะกอนออกมาพร้อมกับน้ำออกมาก ต้องมีการเพิ่มอัตราการไหลให้มากขึ้นเพื่อเป็นการลดความหนาแน่นของเม็ดตะกอน จึงเป็นผลให้ค่า COD loading สูงขึ้น โดยหากต้องการให้มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30°C ค่า COD loading และปัจจัยต่างๆ ควรเป็นไปตามดังตารางที่ 6

ตาราง 6 ค่า COD loading ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30°C

Wastewater COD (mg/L)	Fraction as particulate COD	Volumetric loading, kg COD/m ³ d		
		Flocculent sludge	Granular sludge with high TSS removal	Granular sludge with little TSS removal
1000-2000	0.10-0.30	2-4	2-4	8-12
	0.30-0.60	2-4	2-4	8-14
	0.60-1.00	na	na	na
2000-6000	0.10-0.30	3-5	3-5	12-18
	0.30-0.60	4-8	2-6	12-24
	0.60-1.00	4-8	2-6	na
6000-9000	0.10-0.30	4-6	4-6	15-20
	0.30-0.60	5-7	3-7	15-24
	0.60-1.00	6-8	3-8	na
9000-18,000	0.10-0.30	5-8	4-6	15-24
	0.30-0.60	na	3-7	na
	0.60-1.00	na	3-7	na

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2004)

ความเร็วในการไหลของน้ำ

ความเร็วในการไหลของน้ำจะขึ้นอยู่กับการไหล และพื้นที่ของปฏิกรณ์ ซึ่งเป็นไปตามหลักการการออกแบบ ซึ่งความเร็วน้ำไหลขึ้นที่เหมาะสม ควรจะน้อยกว่า 1 m/hr โดยการออกแบบเป็นไปตามตารางที่ 7 ดังนี้

ตาราง 7 ความเร็วในการไหลของน้ำ และความสูงของถังปฏิกรณ์

ชนิดของน้ำเสีย	อัตราการไหลขึ้น (m/h)		ความสูงของถังปฏิกรณ์ (m)	
	ช่วง	เฉลี่ย	ช่วง	เฉลี่ย
COD nearly 100% soluble	1.0-3.0	1.5	6-10	8
COD partially soluble	1.0-1.25	1.0	3-7	6
Domestic wastewater	0.8-1.0	0.7	3-5	5

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2004)

ปริมาตรของถังปฏิกรณ์

การออกแบบถังปฏิกรณ์จะพิจารณาจาก ปริมาณสารอินทรีย์ อัตราการไหลของน้ำ และประสิทธิภาพของระบบที่ต้องการ โดยที่ประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียสามารถดูได้จากจำนวนของตะกอน และชีวมวลที่ยังมีประสิทธิภาพในการทำงานอยู่ โดยความสูงของถังควรอยู่ระหว่าง 4.0-4.8 m และส่วนตกตะกอนควรสูง 1.5-1.6 m (กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

ปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

แม้ว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเป็นกระบวนการที่ง่ายต่อการควบคุมระบบ แต่ก็ต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆให้เหมาะสมตามที่ระบบต้องการ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสีย โดยสุภณัตติ (2548) กล่าวว่า

อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีอิทธิพลอย่างมากต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสีย โดยแบคทีเรียแต่ละกลุ่มในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะมีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียได้ดังนี้

- 1). Psychrophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 5-15°C

- 2). Mesophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 35-37°C
 3). Thermophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 50-55°C

เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างมีเทนมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายครั้งนี้ซึ่งแบคทีเรียชนิดดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากซึ่งถึงย่อยสลายแบบที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 50-65°C ซึ่งอุณหภูมิ 52°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมมากที่สุดในการย่อยสลาย และถึงย่อยสลายแบบอุณหภูมิปานกลางซึ่งต้องมีอุณหภูมิประมาณ 30-35°C ส่วนในประเทศไทยระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมักถูกควบคุมแบบ Mesophilic ได้เองโดยสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยเอง โดยไม่ต้องเพิ่มอุณหภูมิให้กับน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด หรือถึงปฏิกรณ์ (สันทด, 2549)

พีเอช (pH)

ความเป็นกรด-ด่างเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการย่อยสลายของแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในถึงย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่มีแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน ถ้าค่า pH มีค่าที่ไม่เป็นกลาง การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนจะถูกยับยั้ง ซึ่งสันทด (2549) กล่าวว่า pH ที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียโดยทั่วไปมีค่าอยู่ระหว่าง 5-9 และค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ 6.8-7.2 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยา

อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

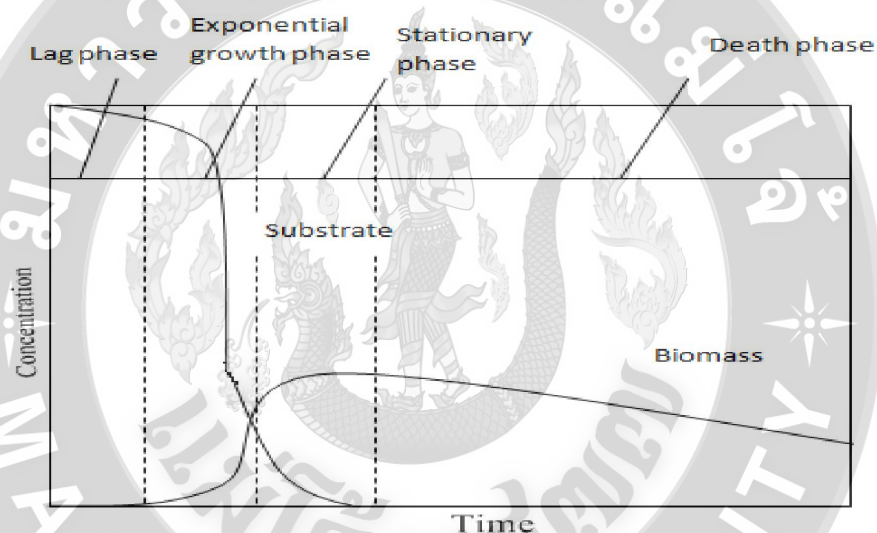
ถ้าสภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมีไม่ขัดต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย อัตราเร่งในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารเท่านั้น (Tchobanoglous *et al.*, 2004) โดย สันทด (2549) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณอาหาร การวัดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียวัดได้โดยการหาปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะสัมพันธ์กับระยะเวลา นั่นคือหากเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือน้ำเสีย จะสามารถแบ่งช่วงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดังนี้

1. ในระยะแรกแบคทีเรียจะมีการปรับตัว และเป็นระยะที่แบคทีเรียได้รับสารอาหารเพื่อนำมาสร้างส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ ดังนั้นจึงยังไม่มี การแบ่งตัว อัตราการเจริญเติบโตต่ำ ระยะนี้เรียกว่า Lag phase
2. เมื่อแบคทีเรียปรับตัวได้จะมีการสะสมอาหาร และแบ่งตัวอย่างรวดเร็วอย่างสม่ำเสมอ บางครั้งเรียกว่า Steady state อัตราการเจริญเติบโตในระยะนี้สูงสุด เรียกว่า Log phase

3. หลังจากนั้นอาหารต่างๆในน้ำเสีย หรืออาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มน้อยลง ของเสียจากแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะถูกจำกัด โดยแบคทีเรียบางส่วนสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และบางส่วนจะตายลง ทำให้แบคทีเรียโดยรวมค่อนข้างคงที่นั่นคือ อัตราการเจริญเติบโตสุทธิเกือบเป็นศูนย์ ระยะนี้เรียกว่า Stationary phase

4. หลังจากระยะ Stationary Phase อาหารจะยิ่งน้อยลง และอัตราการตายจะสูงกว่าอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณแบคทีเรียจึงลดลง เรียกว่า Declined growth

5. Endogenous growth phase เป็นระยะที่อาหารเหลือน้อยลงจนเกือบหมด จะมีการตายมากขึ้น พวกที่ดำรงชีวิตอยู่ได้จำเป็นต้องใช้อาหารที่สะสมภายในเซลล์เพื่อดำรงชีวิตเรียกว่า Auto oxidation ดังแสดงในภาพที่



ภาพ 3 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารตั้งต้นกับมวลของจุลินทรีย์
ที่มา: ดัดแปลงจากสันทิต (2549)

เวลาที่น้ำเสียอยู่ในถังย่อยสลาย (Retention Time)

เวลาที่อยู่ที่อยู่ในถังต้องเป็นเวลาที่เหมาะสม และเพียงพอที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เวลาที่เก็บน้ำเสียอย่างน้อย 4 ชั่วโมง แต่ควรจะมีมากกว่า 6 ชั่วโมง (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) ส่วน กรมควบคุมมลพิษ (2545) ได้แนะนำว่าความเร็วน้ำไหลของน้ำไม่ควรเกิน 4 m/hr

สารพิษ (Toxicants)

เนื่องจากสารบางชนิดมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย อาทิเช่น ซัลไฟด์มีผลต่อการทำงานของกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน โดยเกิดจากหากระบบมีกรดแอซิดเกิดขึ้นปริมาณ

น้อยจะทำให้ขั้นตอนสุดท้ายในถังย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชัน (Sulfate Reduction) ได้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และทำให้ระบบล้นเหลวได้

ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์จะเกิดจากขั้นตอนที่ 2 หรือ Acidogenesis และเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทน ถ้าปริมาณของกรดอินทรีย์มีอยู่ปริมาณสูงกว่าปกติจะทำให้บ่งชี้ได้ว่าขั้นตอนของปฏิกิริยาการสร้างมีเทนถูกยับยั้ง หรือเป็นสัญญาณที่บ่งบอกถึงความไม่สมดุลของกระบวนการย่อยสลายในระบบทำให้ระบบล้นเหลวได้

ไอออน และความเค็ม

Joseph and Frederick (1992) กล่าวว่า ซัลเฟตเป็นตัวควบคุมที่สำคัญในขั้นตอน methanogenesis เพราะมีการทำงานแข่งกันระหว่าง sulfate-reducing bacteria และ methanogen ความเค็มมีผลต่อค่าฟลักซ์ของก๊าซมีเทนเมื่อมีการทดลองกับน้ำทะเล โดยหาก NaCl มีความเข้มข้นมากกว่า 0.2 M จะมีผลกระทบต่อกลุ่มประชากร methanogen นอกจากนี้ไอออนยังส่งผลกระทบต่อปฏิกิริยาทางเคมี และอาจมีผลกระทบต่อการยับยั้งด้านอื่นทางเคมี

5.2 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน

ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบใช้ออกซิเจน มีอยู่หลายรูปแบบด้วยกัน เช่น ระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated sludge, AS) ระบบบำบัดแบบแผ่นจานหมุนชีวภาพ (Rotating biological contactor, RBC) ระบบบำบัดแบบคลองวนเวียน (Oxidation ditch, OD) และระบบบำบัดแบบถังปฏิกรณ์สลับเป็นกะ (Sequencing batch reactor, SBR) (สุเทพ, 2552) โดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งถือเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ในประเทศที่พัฒนาแล้วได้มีการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งให้มีความสามารถในการบำบัดธาตุอาหารได้มากขึ้นนอกเหนือจากการบำบัดสารอินทรีย์คาร์บอนเพียงอย่างเดียว ซึ่งระบบบำบัดแบบตะกอนเร่งสามารถนำมาประยุกต์เพื่อกำจัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสได้ ในที่นี้จะกล่าวถึงระบบบำบัดน้ำเสียแบบ ตะกอนเร่งทั่วไป ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารไนโตรเจน และระบบบำบัด น้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารฟอสฟอรัส ดังนี้

1. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง เป็นระบบที่สามารถบำบัดได้ทั้งน้ำเสียชุมชนและน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยอาศัยการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic bacteria) เป็นหลัก ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งประกอบด้วยถังเติมอากาศ (Aeration

Tank) และถังตกตะกอน (Sedimentation Tank) ขั้นตอนแรกคือการเติมน้ำเสียเข้าถังเดิมอากาศที่มีตะกอนจุลินทรีย์หรือเรียกว่า “สลัดจ์” (Sludge) อยู่เป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำการย่อยสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) น้ำ แอมโมเนีย (NH_4) และเกิดเซลล์ใหม่ของจุลินทรีย์ (Bitton, 2005) หลังจากผ่านถังเดิมอากาศแล้วน้ำเสียจะไหลเข้าสู่ถังตกตะกอนเพื่อเป็นการแยกสลัดจ์ออกจากน้ำเสียโดยการตกตะกอนของสลัดจ์ตัวกันถึง ตะกอนบางส่วนจะถูกสูบกลับเข้าไปในถังเดิมอากาศเพื่อรักษาความเข้มข้นของสลัดจ์ให้ได้ตามที่กำหนด และอีกส่วนจะเป็นสลัดจ์ส่วนเกิน (Excess sludge) ที่ต้องนำไปกำจัดต่อไป ถ้าการออกแบบระบบดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัด บีโอดีได้ถึงร้อยละ 85-95 (Tchobanoglous *et al.*, 2004) วัตถุประสงค์ของการบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งคือ เพื่อให้สามารถลดสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียให้มากที่สุดในช่วงเวลาอันสั้นโดยวิธีทางชีววิทยา ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมระบบให้มีประสิทธิภาพคือ (สุรพล, 2538)

ก. ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

เนื่องจากสารอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่ง ดังนั้นหากมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอินทรีย์มากจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และมีผลทำให้อัตราส่วนของอาหารต่อจุลินทรีย์สูงคือ มีอาหารมากทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและกระจายอยู่ทั่วไปแทนที่จะรวมตัวกันเป็นก้อน (Floc) ทำให้เกิดการตกตะกอนได้ไม่ดี ในขณะที่เดียวกันถ้าอัตราส่วนของอาหารต่อจุลินทรีย์ต่ำ คือมีอาหารน้อยจำนวนจุลินทรีย์น้อยลงเกิดตะกอนจุลินทรีย์และตกตะกอนได้เร็ว แต่ก็ไม่สามารถจับตะกอนเล็กๆตกลงมาได้หมดทำให้น้ำที่ออกจากถังตกตะกอนขุ่น

ข. อาหารเสริม

จุลินทรีย์ในระบบต้องการอาหารเสริม (Nutrient) ซึ่งได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และเหล็ก นอกเหนือจากสารอินทรีย์ต่างๆ ปกติแร่ธาตุเหล่านี้มีอยู่ครบในน้ำเสียชุมชนแต่อาจมีไม่พอในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอุตสาหกรรม ซึ่งการขาดอาหารเสริมเหล่านี้จะทำให้จุลินทรีย์ที่สร้างกลุ่มตะกอนเติบโตได้ไม่ดี จุลินทรีย์ชนิดเส้นใยเจริญได้มากกว่า ตะกอนเกิดการตกตะกอนได้ยากและทำให้เกิดตะกอนอืด ปกติจะควบคุม ค่า BOD: N: P: Fe เท่ากับ 100: 5: 1: 0.5

ค. ออกซิเจนละลายน้ำ

ในถังเดิมอากาศจะต้องมีออกซิเจนละลายน้ำไม่น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเป็นการรักษาความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำ ซึ่งค่าออกซิเจนละลายน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิสูงออกซิเจนจะมีค่าการละลายน้ำอึดตัวต่ำทำให้ต้องมีการเติมออกซิเจนมาก และทำให้เกิด

การเปลี่ยนแปลง ในขณะเดียวกันถ้าอุณหภูมิต่ำออกซิเจนจะมีค่าการละลายน้ำอัมต่ำสูงจึงทำให้การเติมออกซิเจนน้อยกว่าอุณหภูมิสูง

ง. ระยะเวลาในการบำบัด

ระยะเวลาในการบำบัดในบ่อเติมอากาศต้องมีมากเพียงพอที่จุลินทรีย์จะใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ หากใช้ระยะเวลาสั้นเกินไปสารที่ถูกย่อยสลายได้ยากจะไม่ถูกย่อยจนถึงขั้นสุดท้าย ทำให้ค่าบีโอดีเหลืออยู่ในน้ำเสียมาก

จ. ค่าพีเอช

แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีที่ค่าพีเอช 6.5-8.5 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 6.5 ว่าจะเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรีย ทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดต่ำลงและตะกอนเกิดการตกตะกอนได้ไม่ดี ส่วนค่าพีเอชสูงทำให้ฟอสฟอรัสแยกตัวออกจากน้ำ (Precipitate) จุลินทรีย์ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ในขณะเดียวกันถ้าพีเอชสูงหรือต่ำเกินไปจุลินทรีย์ไม่สามารถดำรงชีวิตได้

ฉ. สารพิษ

สารพิษแบ่งออกเป็น 2 จำพวกคือ แบบพิษเฉียบพลัน (Acute Toxicity) ซึ่งจุลินทรีย์จะตายหมดภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วโมงสารจำพวกนี้ได้แก่ ไซยาไนด์ อาร์เซนิก เป็นต้น และแบบพิษออกฤทธิ์ช้า (Chronic Toxicity) ซึ่งใช้เวลานานและค่อยๆตายสารจำพวกนี้ได้แก่ ทองแดง และโลหะหนักต่างๆ เป็นต้น

ช. อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปการเพิ่มอุณหภูมิขึ้นทุกๆ 10 องศาเซลเซียส จะทำให้จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเท่าตัวจนถึงอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิจะสูงเกินไปทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตน้อยลงอย่างรวดเร็ว แต่การควบคุมอุณหภูมิทำได้ยาก ดังนั้นจึงทำการควบคุมความเข้มข้นของตะกอนเร่งในบ่อเติมอากาศหรือ MLSS ให้มีค่าน้อยลงเมื่ออุณหภูมิสูงและเพิ่มให้มากขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำ

ซ. การกวน

ภายในบ่อเติมอากาศต้องมีการกวนผสมอย่างทั่วถึงเพื่อป้องกันไม่ให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกตะกอน และให้จุลินทรีย์สัมผัสกับน้ำเสียเพื่อจะได้ใช้อาหารและลดสารอินทรีย์ในน้ำเสียรวมทั้งจะได้จับตัวเป็นกลุ่มตะกอน (Floc) ที่ดี

ณ. อัตราการไหลของน้ำ

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของน้ำมีผลโดยตรงต่อการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพและในบ่อดกตะกอน กล่าวคือหากอัตราการไหลของน้ำเสียสูง ระยะเวลาในการบำบัดจะน้อยลง ค่าสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น และระยะเวลาตกตะกอนลดลงด้วย ทำให้ประสิทธิภาพใน

การทำงานลดลง ดังนั้นจึงควรมีอัตราการไหลของน้ำอย่างสม่ำเสมอให้ใกล้เคียงกับที่ออกแบบเอาไว้เป็นต้น

2. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่บำบัดสารไนโตรเจน

น้ำเสียบางประเภทมีปริมาณของไนโตรเจนสูง เช่น น้ำเสียจากแหล่งเกษตรกรรม โดยไนโตรเจนที่พบในน้ำเสียมี 4 รูปแบบคือ ก๊าซแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์ และสารอินทรีย์ ไนโตรเจน ดังนั้นในการกำจัดไนโตรเจนในรูปแบบต่างๆ จำเป็นต้องใช้ปฏิกิริยาหลายชนิดร่วมกันเพื่อให้ได้ปริมาณไนโตรเจนตามมาตรฐานน้ำทิ้งที่ได้กำหนดไว้ และเพื่อป้องกันกระบวนการยูโทรฟิเคชันในแหล่งน้ำด้วย ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการกำจัดสารไนโตรเจนให้มีประสิทธิภาพต้องอาศัย 2 กระบวนการประกอบกันคือ ไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชัน (สุบรรณทิศ, 2548)

ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน (Nitrification) คือ กระบวนการย่อยสลายแอมโมเนียออกออนหรือก๊าซแอมโมเนีย ภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนกลายเป็นไนเตรท (Gerardi, 2006)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันคือ พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไตรท์ ความเข้มข้นของออกซิเจน อัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคแอล (BOD₅/TKN ratio) ความเค็ม และสารพิษ (ธงชัย, 2545; Bitton, 2005)

ก. พีเอช แบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิง มีความไวต่อค่าพีเอชมากและทำงานได้ดีในพีเอชก่อนไปทางด่างหรือประมาณ 7.5-9.0 (ธงชัย, 2545)

ข. อุณหภูมิมีผลต่อ *Nitrobacter* มากกว่า *Nitrosomonas* อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันคือช่วง 25-30 องศาเซลเซียส (ธงชัย, 2545; Bitton, 2005)

ค. ความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไตรท์ในถังเดิมอากาศนั้น มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ซึ่งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มนี้เป็นไปตามสมการของโมนอด คือ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอมโมเนีย และไนไตรท์ ตามลำดับ

ง. ความเข้มข้นของออกซิเจนหรือค่าออกซิเจนละลายน้ำมีผลต่อแบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิง ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความไวต่อออกซิเจนความเข้มข้นต่ำ ทั้งนี้ถ้าค่าออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับหรือมากกว่า 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ธงชัย, 2545; Tchobanoglous *et al.*, 2004) ไม่มีผลกระทบต่อปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน แต่ควรให้มีค่าออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. อัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคแอลมีผลต่อไนตริไฟอิงแบคทีเรีย กล่าวคือเมื่ออัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคแอลเพิ่มขึ้นไนตริไฟอิงแบคทีเรียจะลดลง ดังนั้นอัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคแอลที่เหมาะสมต่อกระบวนการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันคือ ไม่เกิน 3 (Tchobanoglous *et al.*, 2004; Bitton, 2005)

นอกจากนี้ยังสามารถแสดงอัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคเอ็นที่มีผลต่อสัดส่วนของไนโตรไฟเอร์ต่อแอมโมเนียในระบบบำบัดน้ำเสีย

จ. ความเค็ม มีผลทางลบต่อไนโตรไฟอิงแบคทีเรีย แต่ก็ยังสามารถปรับตัวเข้ากับ ความเค็มได้ดีพอควร ได้มีการทดลองกับระบบแอมโมเนีย-แอมโมเนีย-ไนโตรไฟอิงแบคทีเรีย ปรับตัวเข้ากับความเค็มได้ดีกว่าเฮเทอโรโทปแบคทีเรียที่กำจัดบีโอดี

ข. สารพิษ มีสารหลากหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาไนโตรฟิเคชันในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งได้

ปฏิกิริยาดีไนโตรฟิเคชัน (Denitrification) คือ ปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไนเตรทให้เป็นก๊าซไนโตรเจน โดยปฏิกิริยาดังกล่าวประกอบด้วย 5 โมเลกุลไนโตรเจน และ 4 ขั้นตอนทางชีวเคมี ซึ่งโมเลกุลทั้ง 5 โมเลกุลประกอบด้วย ไนเตรท (NO_3^-) ไนไตรท์ (NO_2^-) ไนตริกออกไซด์ (NO) ไนตรัส-ออกไซด์ (N_2O) และก๊าซไนโตรเจน (N_2)

ปฏิกิริยาดีไนโตรฟิเคชันมี 2 ขั้นตอนที่ต้องการพลังงานมาช่วยในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งพลังงานที่ต้องการนั้นคือ สารอินทรีย์หรือสับสเตรท (substrate) นั้นเอง ปฏิกิริยาที่กล่าวคือการเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรท์ และการเปลี่ยนไนไตรท์เป็นก๊าซไนโตรเจน โดยมีไนตริกออกไซด์ และไนตรัส-ออกไซด์ เป็นสารประกอบตัวกลาง (Intermediate compound)

ปฏิกิริยาดีไนโตรฟิเคชันเป็นปฏิกิริยาที่สามารถกำจัดไนโตรเจนได้อย่างสมบูรณ์ โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวให้อิเล็กตรอน (สับสเตรท) และจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแอน็อกซิก

3. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่บำบัดสารฟอสฟอรัส

น้ำเสียบางประเภทมีสารฟอสฟอรัสปนเปื้อนอยู่ เช่น น้ำเสียจากอาคารบ้านเรือน โดยฟอสฟอรัสจะอยู่ในรูปของฟอสเฟตหลายรูปแบบ เช่น ออร์โทฟอสเฟต คอนเดนส์ฟอสเฟต และออร์แกนิกฟอสเฟต (ฟอสโฟไลปิด น้ำตาลฟอสเฟตและนิวคลีโอไทด์) เป็นต้น โดยกลุ่มโพลีฟอสเฟต และออร์แกนิกฟอสเฟตจะปนเปื้อนในน้ำเสียสูงถึงร้อยละ 70 ที่มาของสารฟอสเฟตเหล่านี้คือ อุจจาระ ของเสียและสารชำระล้างโดยเฉพาะอย่างยิ่งผงซักฟอก ฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยที่สำคัญของการเกิด ยูโทรฟิเคชันในน้ำ ดังนั้นจึงต้องมีการบำบัดสารฟอสฟอรัสในน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ซึ่งการบำบัดฟอสฟอรัสด้วยวิธีทางชีวภาพต้องอาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน (สุบรรณจิต, 2538) คือ ระบบที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic system) สลับกับระบบที่ใช้ ออกซิเจน (Aerobic system) ซึ่งระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic system) คือ กลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนทำการดูดซึมสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตเข้าไปในเซลล์และย่อย

ให้เปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์ฟอสเฟตก่อนที่จะปล่อยสารอินทรีย์ฟอสเฟตออกนอกเซลล์ และระบบการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic system) คือ กลุ่มแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและสะสมฟอสเฟต เรียก polyphosphate accumulate organisms (POAs) (Sidat *et al.*, 1999; Bitton, 2005) เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่จะทำการดูดซึมสารอินทรีย์ฟอสเฟตเข้าไปภายในเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

ข้อมูลการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนร่งชนิดต่างๆ เช่น อัตราส่วนของอาหารต่อตะกอนของจุลินทรีย์ (F/M) อายุสลัดจ์ ระยะกักเก็บน้ำ และประสิทธิภาพการกำจัดบีโอดี แสดงดังตารางที่ 8

ตาราง 8 ข้อมูลการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนร่งชนิดต่างๆ

ระบบ	F/M (kg BOD/kg MLVSS-d)	อายุสลัดจ์ (วัน)	ระยะ กักเก็บน้ำ (ชั่วโมง)	ประสิทธิภาพ การกำจัดบีโอดี (ร้อยละ)
ระบบทั่วไปแบบไหลตามกัน	0.2-0.4	3-15	4-8	85-95
ระบบทั่วไปแบบกวนสมบูรณ์	0.2-0.6	3-15	3-5	85-95
ระบบปรับเสถียรสัมผัส	0.05-0.1	5-10	3-5	80-90
ระบบคลองวนเวียน	0.05-0.3	15-30	15-30	85-90
ระบบเอสปีอาร์	0.2-0.6	10-30	N/A	85-95
ระบบแบบเติมอากาศยัดเวลา	0.05-0.1	20-30	18-36	75-95

F/M = Food per Microorganism คือ อัตราส่วนของอาหารต่อตะกอนของจุลินทรีย์

N/A = not applicable คือ ไม่สามารถกำหนดค่าที่เหมาะสมได้

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2004)

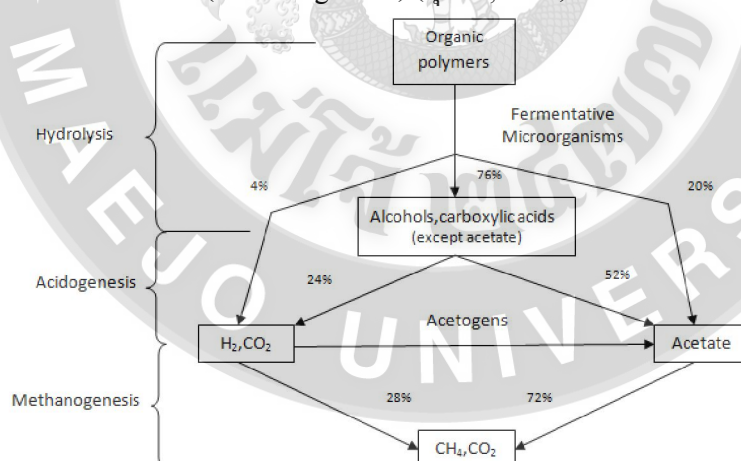
6. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสีย

ทวี (2538) และสุบัณจิต (2548) อธิบายถึงการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา (Biological treatment) ซึ่งเป็นการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกว่าร้อยละ 95 ช่วย

ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ดังนั้นการศึกษาและการทำความเข้าใจถึงชนิดและคุณสมบัติของแบคทีเรียทำให้สามารถควบคุมการบำบัดน้ำเสียได้

1. จุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

กระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนจะประกอบด้วยกลุ่มฟังไจ และ โปรโตซัว จำนวนน้อย ดังนั้นการย่อยสลายส่วนใหญ่เป็นหน้าที่ของแบคทีเรีย (Gerardi, 2006) ชนิดของแบคทีเรียที่พบในระบบบำบัดประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 กลุ่ม คือ ไฮโดรไลติกแบคทีเรีย (Hydrolytic Bacteria) เฟอเม้นต์เททีฟแบคทีเรีย (Fermentative Bacteria) และ เมทาโนจิติกแบคทีเรีย (Methanogenic Bacteria) จากการชนิดของแบคทีเรียพบว่าส่วนใหญ่คือ *Clostridium* spp. และ *Bacteroides* spp. รวมทั้ง *Pseudomonas* spp. และ *Bacillus* spp. แต่แบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนคือกลุ่มแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่วน *Clostridium* spp., *Megasphaera* spp., Streptococci และ Bacilli เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในกลุ่มของ Fermentative Bacteria ทั้งนี้แบคทีเรียทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จนกระทั่งกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซมีเทน โดยหลักจากการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะประกอบไปด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) กระบวนการอะซิโดจีเนซิส (Acidogenesis) และกระบวนการเมทาโนจีเนซิส (Methanogenesis) (สุเทพ, 2552) ดังภาพที่ 4



ภาพ 4 การย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ที่มา: คัดแปลงมาจาก Zehnder *et al.* (1982); สุเทพ (2552)

กรมควบคุมมลพิษ (2546) กล่าวว่า ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) กระบวนการแรกที่เป็นบทบาทของกลุ่ม Hydrolytic bacteria ที่ผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสารโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน, ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเพื่อที่เซลล์สามารถดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ และนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

การย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการ Hydrolysis จะถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ proteases ซึ่งทำให้เกิดเป็นกรดอะมิโน ไคเปปไทด์ หรือโอลิโกเปปไทด์ ส่วนปฏิกิริยา Hydrolysis ของคาร์โบไฮเดรตจะเกิดปฏิกิริยาที่ค่า pH น้อยๆ (Gallert and Winter, 2005) แต่หากเป็นปฏิกิริยา Hydrolysis ของโปรตีนจะมีค่า pH ที่เหมาะสมเท่ากับค่า pH ตามธรรมชาติ หรือมีค่า Alkaline pH น้อยๆปฏิกิริยา Acidogenesis ของน้ำเสียที่มีโปรตีนจะมีค่า pH เท่ากับ 7 หรือมากกว่า (Gallert and Winter, 2005)

Gallert and Winter (2005) กล่าวว่า ไขมันเป็นชีวพอลิเมอร์ที่มีผลต่อค่า COD ในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร การย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ Lipases หรือ Phospholipases ไขมัน และน้ำมันต้องถูกลดแรงตึงผิว การย่อยสลายไขมันในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจน โมเลกุลของน้ำตาล และกลีเซอรอลสามารถถูกย่อยสลายให้กลายเป็นก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์จากปฏิกิริยาของ Fermentative Bacteria และ Methanogenic bacteria หลังจากปฏิกิริยา Hydrolysis Fermentation และ Acetogenesis สารประกอบไขมันที่อยู่ในช่วง Methanogenesis จะเปลี่ยนเป็น acetate, คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ซึ่งเป็นแก๊สชีวภาพ ปฏิกิริยาทั้งหมดจะเกิดภายในเซลล์ที่มีอิทธิพลมาจาก Syntrophic Interaction ที่มีการถ่ายโอนไฮโดรเจน ยกเว้นปฏิกิริยา lipases ที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์

Clostridium butyricum และ *Enterobacter aerogenes* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน อย่างมีประสิทธิภาพ (Nath and Das, 2004) ซึ่งจะอยู่ในกระบวนการ Acidogenesis (Jo et al., 2008) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นกระบวนการที่สองที่แบคทีเรียมีการผลิตกรดอินทรีย์ (Organic acids) และแอลกอฮอล์ (Alcohols) จึงทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้มีชื่อเรียกว่า อะซิโดเจน (Acidogens) ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Clostridium* spp., *Peptococcus anaerobes* *Bifidobacterium* spp., *Desulphovibrio* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Acetonyx*, *Staphylococcus* spp. และ *Escherichia coli* แต่กลุ่มของจุลินทรีย์ระยะนี้เป็นกลุ่มที่ยังไม่สามารถผลิตมีเทนได้จึงเรียกนอนเมทาโนจีนิกแบคทีเรีย (Non-methanogenic bacteria) ซึ่งมีหลากหลายสายพันธุ์เป็นทั้งแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative) และแบคทีเรียที่เจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น (Obligate anaerobic bacteria) โดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่มีบทบาทในการสร้างกรดไขมันระเหยก็คือกลุ่ม *Clostridium* spp. ดังแสดงในตารางที่ 8 จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในถัง UASB พบว่าประชากรส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Methanogen รองลงมา คือ Non-Methanogen แต่เมื่อเดินระบบและมีการรับสารอินทรีย์พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นตามอัตราการป้อนสารอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้พบว่า Suspended bed สักส่วน

ของ Non-methanogen ต่อประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น และเป็นกลุ่มประชากรหลัก ในขณะที่ Packed bed สัดส่วนของ Non-methanogen คงที่ (สมเกียรติ, 2548)

อย่างไรก็ตามพบว่า Hydrolytic bacteria ในกลุ่มแรกบางพวกก็มีความสามารถทำหน้าที่เหมือน แบคทีเรียที่สร้างกรด (Acid formers) ในกลุ่มที่สองบางพวก โดยสร้างกรด และแอลกอฮอล์ ได้จากการหมัก (Fermentation) กรดไขมัน (Fatty acids monosaccharides) และกรดอะมิโน (Amino acids) ไปเป็นพรอปิเนต (Propionate) บิวไทเรต (Butyrate) ซัคซิเนต (Succinate) แลคเตต (Lactate) อะซิเตต (Acetate) แอลกอฮอล์ (Alcohols) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน (H_2) ตามลำดับ บทบาทสำคัญหลักของระยะที่สองคือการเตรียมสารตั้งต้น (Substrates) ต่างๆ โดยกลุ่ม อะซิโตจีนิคแบคทีเรีย (Acetogenic bacteria) เพื่อสร้างมีเทน ได้แก่ ไฮโดรเจน (H_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ฟอร์มेट (Formate) เมทานอล (Methanol) เมทิลลามีน (Methylamines) และอะซิเตต (Acetate) ตามลำดับ

Hydrolytic Bacteria เจริญเติบโตได้ไม่ดีเมื่ออยู่ตามลำพัง เนื่องจากหากมีการสะสมก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นมาจะทำให้ความดันพาร์เซียลสูง (สุบัตติ, 2548) ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกจะสร้างอาหารให้แก่แบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนก็ช่วยทำลายก๊าซไฮโดรเจนให้กับแบคทีเรียที่สร้างกรด

ตาราง 9 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจีส Clostridium

ลักษณะสำคัญ	ผลผลิต และลักษณะอื่น	ชนิด
1. ย่อยคาร์โบไฮเดรต	อะซิเตท, แลคเตท,	<i>C. cellubioarum</i>
- ย่อยเซลลูโลส	ซัสติเนท, ไฮโดรเจน, เอทานอล, คาร์บอนไดออกไซด์	<i>C. thermocellum</i>
- ย่อยน้ำตาล แป้ง และเพคตินบางชนิด	อะเซโตน, บิวทานอล, เอทานอล, ไอโซพรีนอล, บิวทาเรต,	<i>C. butyricum</i> <i>C. acetobutylicum</i>
ตรึงไนโตรเจน	อะซิเตท, พรอฟีโตน, ซัสติเนท, ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์	<i>C. pasteurianum</i> <i>C. perfringens</i> <i>C. thermosulfurogens</i>
- ย่อยน้ำตาลให้เป็น กรดอะซิติก	ผลิตอะซิเตทจากคาร์บอนไดออกไซด์	<i>C. aceticum</i> <i>C. Thermoaceticum</i> <i>C. formicoaceticum</i>
- ย่อยเฉพาะ pentoses หรือ methylpentoses	อะซิเตท, พรอฟีโตน, n-บิวทานอล, ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์	<i>C. methylpentosum</i>
2. ย่อยโปรตีน และกรดอะมิโน	อะซิเตท, กรดไขมันระเหยอื่น, แอมโมเนีย, คาร์บอนไดออกไซด์, อาจ ให้ไฮโดรเจน	<i>C. sporogen</i> <i>C. tetani</i> <i>C. botulinum</i>
- อาจย่อยน้ำตาล	บิวไทเรต และอะซิเตท	<i>C. tetanomorphum</i>
- ย่อยสารประกอบที่มี คาร์บอน 3 อะตอม	อาจผลิตเอกโซทอกซิน พรอฟีโตน, อะซิเตท และ คาร์บอนไดออกไซด์	<i>C. propionicum</i>
3. ย่อยคาร์โบไฮเดรต หรือ กรดอะมิโน	อะซิเตท, ฟอร์มเมท, มีไอโซบิวไทเรต และไอโซวาเลอเรตเล็กน้อย	<i>C. bifementans</i>
4. ย่อยพิวรีน	อะซิเตท, purines, forming acetate, คาร์บอนไดออกไซด์, แอมโมเนีย	<i>C. acidurici</i>
5. ย่อยเอทานอลให้เป็นกรด ไขมัน	ให้อะซิเตทเป็นสารรับอิเล็กตรอน	<i>C. kluyveri</i>

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2546)

เมทาโนจีนิซิส (Methanogenesis; methane formation) เป็นกระบวนการในช่วงที่มีเทนแบคทีเรียจะเปลี่ยนกรดเป็นก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ (Steiner, 2000) ซึ่งแบคทีเรียที่สร้างมีเทน หรือ เมทาโนเจน (Methanogen) เป็นแบคทีเรียที่ไม่อาจทนต่อออกซิเจน และเจริญเติบโตซ้ำ อีกทั้งยังจำเพาะต่อชนิดของอาหารมาก ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาที่เก็บ และภาระบรรทุกสารอินทรีย์คาร์บอน และไนเตรตไนโตรเจนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในระบบ โดยจุลินทรีย์เด่นที่พบในถังปฏิกรณ์คือ *Bacteroidetes*, *Firmicutes* และ *Thermomicrobia* ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มย่อยที่พบคือ *Nitrospira*, *Acidobacteria*, *Acinobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Chlorobi* และ *Betaproteobacteria* ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนทั้งสิ้น (วลัยภรณ์, 2551) ทั้งนี้ Keyser et al. (2007) ศึกษาแบคทีเรียที่อยู่ในตะกอนจากระบบ UASB ของอุตสาหกรรมเครื่องดื่มกระป๋องด้วยวิธี Fingerprint พบว่า unculturable แบคทีเรีย 35 % ส่วนอีก 65 % เป็นแบคทีเรียแบบ culturable ที่ประกอบไปด้วยสกุลต่างๆต่อไปนี้ *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacteroides*, *Enterococcus*, *Alcaligenes*, *Clostridium*, *Shewanella*, *Microbacterium*, *Leuconostoc*, *Sulfurospirillum*, *Acidaminococcus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Nitrospira*, *Synergistes*, *Rhodococcus*, *Rhodocycclus* และ *Syntrophobacter*) โดยศึกษากลุ่มแบคทีเรียของน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนพบว่า มีกลุ่ม *Firmicutes* 33%, *Acidobacteria* 23%, *Proteobacteria* 19%, *Bacteroidetes* 11%, *Nitrospira* 8%, *Chloroflexi* 4% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 2% ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างจากการศึกษาของ Tang et al. (2005) ที่ศึกษากลุ่มแบคทีเรียจากถังเก็บน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนของน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรและพบ *Clostridium* 15%, *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus* subdivision 20%, *Microplasma* 10%, *Flexibacter* *Cytophaga-Bacteroides* 20% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 35% นอกจากนี้ยังแตกต่างกับการศึกษาของ ที่ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรของระบบบำบัดน้ำเสียแบบกรองทางชีวภาพที่พบว่า มีกลุ่ม *Firmicutes* มากกว่า 34%, γ -*Proteobacteria* 23%, α -*Proteobacteria* 17%, β -*Proteobacteria* 18%, *Actinobacteria* 10% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 8%

Pantamas et al. (2003) ศึกษาการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ในการผลิตก๊าซมีเทน ซึ่งการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเทนเป็นการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่มีการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายกลุ่มคือ Hydrolytic fermentative bacteria, Acetogenic bacteria, และ Methanogenic bacteria และศึกษาการทำงานระหว่าง *Bacillus* spp. กับ Enriched methane producing bacteria (Enriched MPB) โดยพบว่า Enriched MPB มีความสามารถในการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเทนได้

ตาราง 10 ชนิดและหน้าที่ของแบคทีเรียอื่นๆที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์

แบคทีเรีย	หน้าที่ในการทำงาน
<i>Bacillus</i> spp.	สามารถออกซิไดซ์ คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ และสารประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน น้ำมัน โปรตีน และแป้ง โดยสามารถทำงานได้ดีในการย่อยสลายตะกอน เนื่องจากสามารถหลั่งเอนไซม์ออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ให้กลายเป็นโมเลกุลเล็ก อีกทั้งสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่กั้นบ่อได้ขณะที่เจริญเติบโต
<i>Pseudomonas</i> spp.	ออกซิไดซ์สารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้
<i>Enterobacter</i> spp.	เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาพไม่มีออกซิเจน และสภาพที่มีออกซิเจน โดยภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนจะออกซิไดซ์สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบง่ายๆ ได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ กลายเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ของพืชน้ำ แต่ในสภาพที่มีออกซิเจนต่ำๆ จะเกิดการหมักของสารประกอบคาร์บอนทำให้เกิดกรดอินทรีย์
<i>Nitrosomonas</i> spp.	ออกซิไดซ์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนให้เป็นไนไตรต์-ไนโตรเจนซึ่งต้องการออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอ การเจริญเติบโตต้องอาศัยสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนที่ละลายน้ำ แต่กระบวนการทำงานจะถูกจำกัดเมื่อมีสารประกอบอินทรีย์มากกว่า 20 ppm

ที่มา: คัดแปลงมาจาก อำพล (2546)

2. จุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งเป็นระบบบำบัดที่มีการนำน้ำเสียมาผสมกับตะกอนของจุลินทรีย์ (Activated Sludge) และมีการเติมอากาศอย่างต่อเนื่องให้กับระบบ โดยน้ำเสียจะผ่านการย่อยสลายสิ่งปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ในระบบ และถูกส่งเข้าสู่ถังตกตะกอน เมื่อมีการตกตะกอน น้ำใสจะไหลออกจากถังในขณะที่ตะกอน (Floc) ที่อยู่ส่วนก้นถังจะถูกปั๊มเข้าถังเติมอากาศ และตะกอนส่วนเกินจะถูกกำจัดออก กลุ่มแบคทีเรียที่สำคัญซึ่งทำให้เกิดกลุ่มตะกอน (Floc) ได้แก่แบคทีเรียในกลุ่ม *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Citromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* และ *Zoogloea* (Bitton, 2005; Gerardi, 2006) เป็นแบคทีเรียที่พบในบ่อเติมอากาศ และแบคทีเรียกลุ่มนี้จะออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำเสียให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ และมีรายงานว่าแบคทีเรีย

กลุ่ม *Zoogloea* มักพบบ่อยในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง ซึ่งเป็นดัชนีบอกว่ามีสารอินทรีย์อยู่ในน้ำเสียค่อนข้างสูง (สาวิตรี, 2552)

นอกจากนี้ Liang *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษา *Zoogloea* spp. โดยนำ *Zoogloea* spp. มาช่วยในการบำบัดน้ำมันหล่อลื่น (Lubricating oil) ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย พบว่า *Zoogloea* spp. สามารถบำบัดน้ำมันหล่อลื่นที่ปนเปื้อนในน้ำเสียได้ และผลที่ได้คือ ที่ระยะเวลากักเก็บ (HRT) 12 ชั่วโมง อัตราการไหล 16.5 ลิตรต่อชั่วโมง สามารถลดน้ำมันหล่อลื่นที่ปนเปื้อนในน้ำเสียได้ร้อยละ 99.3 ภายใน 15 วัน และที่ระยะเวลากักเก็บ 6 ชั่วโมง อัตราการไหล 33 ลิตรต่อชั่วโมง สามารถลดได้ร้อยละ 98.6 ภายใน 12 วัน อีกทั้ง You and Ouyang (2007) ยังได้ทำการศึกษา แบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งพบว่า *Pseudomonas spinosa*, *Zoogloea ramigera* และ *Streptococcus penumoniae* เป็นแบคทีเรียเด่นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง โดยระบบมีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดีและซีโอดีได้ถึงร้อยละ 75.6 และ 75.4 ตามลำดับ และพบเป็นแบคทีเรียเด่นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นหมุนชีวภาพ หรืออาร์บีซี (Rotating Biological Contactor) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดีและซีโอดีได้ถึงร้อยละ 79.0 และ 67.0 ตามลำดับ

3. จุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่บำบัดสารไนโตรเจน

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่บำบัดสารไนโตรเจนเป็นระบบที่ใช้แบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิง (Nitrifying bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟอิง (Denitrifying bacteria) ในการกำจัดไนโตรเจน ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิงแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามปฏิกิริยา คือ แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนเพื่อออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Ammonia Oxidizing Bacteria (AOB) โดยแบคทีเรียกลุ่ม AOB ที่พบในน้ำเสียเป็นแบคทีเรียสกุล *Nitrosomonas* (Gerardi, 2006) เป็นส่วนมาก ส่วนอีกกลุ่มคือแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์ไนไตรท์ไปเป็นไนเตรทเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Nitrite Oxidizing Bacteria (NOB) เช่นแบคทีเรียสกุล *Nitrobacter* และ *Nitrospira* ส่วนแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟอิงเป็นแบคทีเรียกลุ่ม facultative anaerobic bacteria กล่าวคือในสภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่มีไนเตรทแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็สามารถใช้ในเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอน แบคทีเรียกลุ่มนี้คือ *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Alcaligenes* (Arquiaga *et al.*, 1993; Mara and Horan, 2003; Gerardi, 2006)

นอกจากนี้ Arquiaga *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียอีกกลุ่มในน้ำเสียที่มีค่าโซเดียมไนไตรท์สูง พบว่าแบคทีเรียดีไนตริไฟอิงสกุล *Alcaligenes* และ *Pseudomonas* จะพบบ่อย

ในถังแอน็อกซิก (anoxic reactor) ร่วมกับแบคทีเรียดีไนตริฟิเคชันและกลุ่มที่ไม่ใช่แบคทีเรียดีไนตริฟิเคชันอื่น ๆ เช่น *Acinetobacter* และ *Flavobacterium* แต่อย่างไรก็ตามมีเพียงแบคทีเรียสกุล *Alcaligenes* เท่านั้นที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันได้สมบูรณ์ที่สุด สิรินันท์ และคณะ (2552) ได้ศึกษาแบคทีเรียดีไนตริฟิเคชันที่มีประสิทธิภาพบำบัดไนเตรทในน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ข่ายฝั่งพบว่า *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียดีไนตริฟิเคชันที่สามารถบำบัดไนเตรทได้และมีประสิทธิภาพในการลดค่าไนเตรทได้ถึงร้อยละ 53

4. จุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารฟอสฟอรัส

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารฟอสฟอรัสเป็นระบบที่อาศัยกระบวนการ 2 ขั้นตอน (สุบัตินิต, 2538) คือ ระบบที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic system) สลับกับระบบที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic system) โดยระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic system) จะอาศัยแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนทำการดูดซึมสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตเข้าไปในเซลล์และย่อยให้เปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์ฟอสเฟตก่อนที่จะปล่อยสารอินทรีย์ฟอสเฟตออกนอกเซลล์เข้าสู่ระบบการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic system) โดยอาศัยแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนและสะสมฟอสเฟตไว้ในเซลล์ เรียกว่า polyphosphate accumulate organisms (POAs) (Sidat *et al.*, 1999) ได้แก่ *Acinetobacter calcoaceticus* (Bitton, 2005) *Acinetobacter*, *Aerobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* และ *Proteobacter* (Gerardi, 2006) ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่จะทำการดูดซึมสารอินทรีย์ฟอสเฟตเข้าไปภายในเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

ทั้งนี้ Sidat *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียที่สามารถลดโพลีฟอสเฟตในน้ำเสียพบว่า *Acinetobacter calcoaceticus*(lowffi), *Aeromonas hydrophila*, และ *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียเด่นที่สามารถลดปริมาณโพลีฟอสเฟตในน้ำเสียได้โดยการสะสมโพลีฟอสเฟตไว้ในเซลล์ (intracellular) ในสภาวะที่มีอากาศ ต่อมา Sarioglu (2005) ได้ทดลองใช้ *Acinetobacter lowffi* และ *Pseudomonas aeruginosa* บำบัดฟอสฟอรัสในระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor) โดยใช้ น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีค่าซีโอดี ค่าออร์โทฟอสเฟต และค่าแอมโมเนีย เท่ากับ 1,000, 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยใช้ถังปฏิกรณ์ 3 ถัง ถังที่ 1 เติม *Acinetobacter lowffi* ถังที่ 2 เติม *Acinetobacter lowffi* และ *Pseudomonas aeruginosa* ถังที่ 3 เติม *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า ถังที่ 1 สามารถบำบัดหรือลดฟอสฟอรัสได้ทั้งหมด ส่วนถังที่ 2 และ 3 สามารถบำบัดฟอสฟอรัสได้เพียงร้อยละ 25 และ 20 ตามลำดับ และในถัง 3 ถังปฏิกรณ์สามารถลดค่าซีโอดีได้เท่ากันคือ ร้อยละ 90

อีกทั้ง Mongkolthanaruk and Dharmsthiti (2002) ได้ทำการศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่มีค่าบีโอดีต่ำแต่มีไขมันสูงด้วยกลุ่มแบคทีเรียรวมซึ่งประกอบด้วย *Pseudomonas aeruginosa* 6.1 x 10⁸ CFU/ml *Bacillus* sp. 4.8 x 10⁸ CFU/ml และ *Acinetobacter calcoaceticus* 8.9 x 10⁷ CFU/ml ใน 20 มิลลิลิตร พบว่า *Bacillus* sp. มีการสร้างเอนไซม์ protease และ amylase ส่วน *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter calcoaceticus* มีการสร้างเอนไซม์ lipase และสามารถบำบัดน้ำเสียที่มีค่าบีโอดีประมาณ 3,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าไขมัน 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ลดลงน้อยกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ในเวลา 12 วันภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

Gerardi (2006) อธิบายว่าบทบาทของแบคทีเรียในน้ำเสียนั้นแตกต่างกันไป กล่าวคือแบคทีเรียบางกลุ่มมีบทบาทในด้านบวกต่อการบำบัดน้ำเสีย ในขณะที่บางกลุ่มมีบทบาทในด้านลบต่อการบำบัดน้ำเสีย แต่ก็มีแบคทีเรียอีกกลุ่มที่มีบทบาททั้งลบและบวกต่อการบำบัดน้ำเสียด้วยแบคทีเรียที่มีหน้าที่ในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน แสดงดังตารางที่ 11

ตาราง 11 แบคทีเรียที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสีย

ชนิดของแบคทีเรีย	หน้าที่
<i>Pseudomonas</i>	ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต สารปนเปื้อนในน้ำเสีย และผลิตเมือกที่ช่วยในการสร้างฟล็อก (Floc)
<i>Zoogloea</i>	ผลิตเมือกที่ช่วยในการสร้างฟล็อก (Floc)
<i>Bacillus</i>	ย่อยสลายโปรตีน
<i>Arthrobacter</i>	ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต
<i>Microthrix</i>	ย่อยสลายไขมัน
<i>Acinetobacter</i>	ย่อยสลายฟอสฟอรัส
<i>Nitrosomonas</i>	ทำให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ขั้นที่ 1 หรือแอมโมเนียออกซิเดชัน
<i>Nitrobacter</i>	ทำให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ขั้นที่ 2 หรือไนไตรท์ออกซิเดชัน
<i>Achromobacter</i>	ทำให้เกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

ที่มา: สุบัณฑิต (2548)

Bitton (2005) ทำการศึกษาแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งด้วยวิธีการ culture-based technique พบกลุ่มแบคทีเรียเด่นคือ *Zoogloea*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenese*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Comomonas*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*

และ *Bacillus* ในบ่อเดิมอากาศ และทำการศึกษาแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งด้วยวิธีการศึกษา 16S rRNA และ 23S rRNA พบแบคทีเรียกลุ่ม *Comamonas-Pseudomonas* species มากที่สุด ดังตารางที่ 12

ตาราง 12 แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง

กลุ่มแบคทีเรีย	การคัดแยกทั้งหมด (ร้อยละ)
<i>Comamonas-Pseudomonas</i>	50.0
<i>Alcaligenes</i>	5.8
<i>Pseudomonas</i> (Fluorescent group)	1.9
<i>Paracoccus</i>	11.5
Unidentified (gram-negative rods)	1.9
<i>Aeromonas</i>	1.9
<i>Flavobacterium-Cytophaga</i>	13.5
<i>Bacillus</i>	1.9
<i>Micrococcus</i>	1.9
<i>Coryneform</i>	5.8
<i>Arthrobacter</i>	1.9
<i>Aureobacterium-Microbacterium</i>	1.9

ที่มา: Bitton (2005)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง
 - 1.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
 - 1.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow cabinet)
 - 1.3 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)
 - 1.4 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
 - 1.5 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ 20 ± 1 องศาเซลเซียส
 - 1.6 เครื่องจ่ายลม (Air pump)
 - 1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)
 - 1.8 เครื่องอ่างน้ำ (Water bath)
 - 1.9 เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer)
 - 1.10 ตู้อบ (Hot air oven)
 - 1.11 เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum pump)
 - 1.12 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น HANNA HI 3222
 - 1.13 เครื่องมือสำหรับการย่อยสลาย (Digestion apparatus)
 - 1.14 เครื่องมือสำหรับการกลั่นแอมโมเนีย (Distillation apparatus)
 - 1.15 เตาให้ความร้อน (Hot plate)
 - 1.16 ตู้ดูดความชื้น (Desiccators)
 - 1.17 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
 - 1.18 Automatic pipette aid
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี
 - 2.1 กระบอกตวง (Cylinder)
 - 2.2 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
 - 2.3 หลอดทดลอง (Test tube)
 - 2.4 ปีกเกอร์ (Beaker)
 - 2.5 บิวเรต (Burette)

- 2.6 ปิเปต (Pipette)
- 2.7 ขวดปริมาตร (Volumetric flask)
- 2.8 แท่งแก้วคนสาร (Stirrer rod)
- 2.9 ช้อนตักสารเคมี (Spatula)
- 2.10 แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
- 2.11 ลูกยางดูดปิเปต (Bulb)
- 2.12 ปากคีบ (Forceps)
- 2.13 ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminum weighing dishes)
- 2.14 กระจาดกรอง GF/C ขนาด 4.7 เซนติเมตร
- 2.15 ชุดกรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
- 2.16 คิวเวตต์ (Cuvette)
- 2.17 ขวดเคลดาล์ (Kjeldahl flask)
- 2.18 กระจาดกรอง ขนาด 11 เซนติเมตร เบอร์ 40
- 2.19 ถ้วยระเหย (Evaporating disc)
- 2.20 กรวยแยก (Separatory Funnel)
- 2.21 กรวยกรอง (Funnel)
- 2.22 ขาดั่งพร้อมตัวหนีบยึด
- 2.23 ขวดบีโอดี (BOD bottle)
- 2.24 โหลแก้วสำหรับเตรียมน้ำเจือจาง

3. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 สารละลาย/สารเคมี ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ (Geneaid, Taiwan)

- สารละลายเอนไซม์ lysozyme (Biobasic, Canada)/TEN ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ RNase 2 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (Fermentas, USA)

- สารละลาย W1 buffer
- สารละลาย Wash buffer
- สารละลาย Elution buffer
- เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3.2 สารละลาย/สารเคมี ที่ใช้ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง PCR

- PCR Master Mix (Fermentas, USA)

- สารละลาย 16S rDNA primer ตาราง 3 (1st BASE CUSTOM OLIGOS, Malaysia)
- DNA Template
- deionized water (RNase free water) (Fermentas, USA)

3.3 สารละลาย/ สารเคมีที่ใช้ในการทำ electrophoresis

- สารละลาย PCR product
- Loading dye (Fermentas, USA)
- GeneRuler TM100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, USA)
- GeneRuler TM100 bp DNA Ladder (Fermentas, USA)
- GeneRuler TM10 kb DNA Ladder (Fermentas, USA)
- สารละลาย Gel star (Lonza, Switzerland)
- UltraClean TM Agarose gel 3.0 เปอร์เซนต์
- สารละลาย TAE buffer

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ LB (Luria-Bertani medium)

- | | |
|------------------|------|
| - Yeast extract | 10 g |
| - NaCl | 5 g |
| - Peptone casine | 10 g |
| - Agar | 15 g |

ปรับปริมาตร 1000 ml ปรับค่า pH ด้วยการเติม NaOH ~ 0.2 ml

3.5 สารละลายอื่นๆ

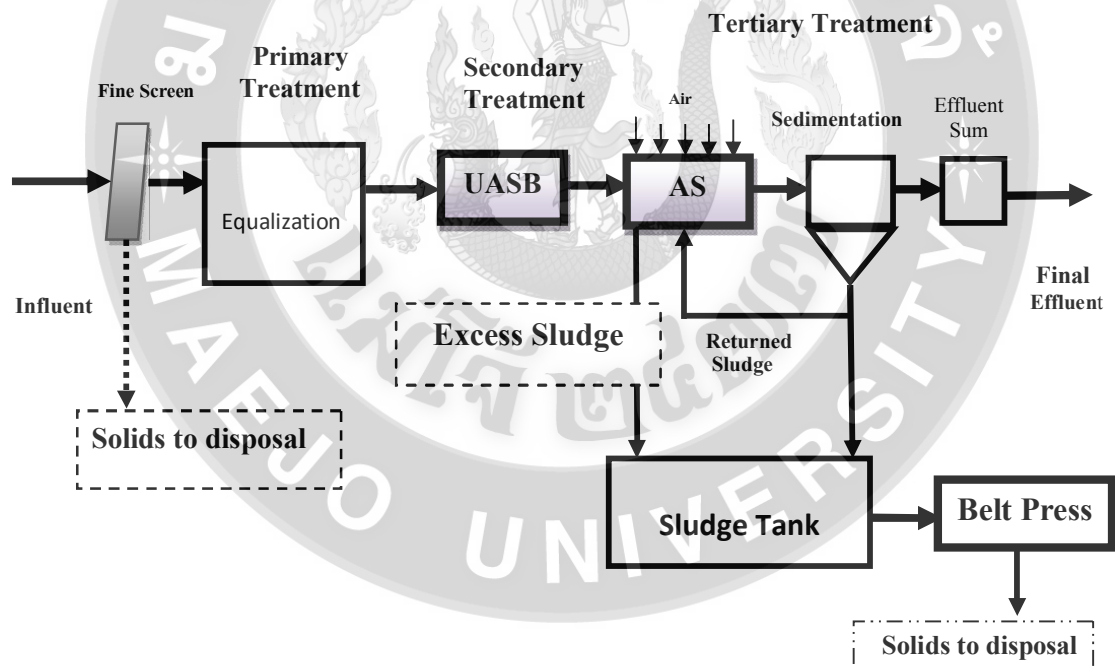
- Alkaline lysis solution I (50 mM glucose, 25 mM Tris-HCL pH 8, 10 mM EDTA)
- Alkaline lysis solution II (0.2 N NaOH, 1% w/v SDS)
- Alkaline lysis solution III (3 M potassium acetate adjust pH to 4.8 with glacial acetic acid)
- Lysis buffer (5 mM EDTA, 10% (w/v) sucrose, 0.25% (w/v) SDS, 100 mM NaOH, 60 mM KCl, 0.05% (w/v) bromophenol blue)
- IPTG (20 mg/ml)
- X-gal (20 mg/ml)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างน้ำเสียและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียทางเคมี

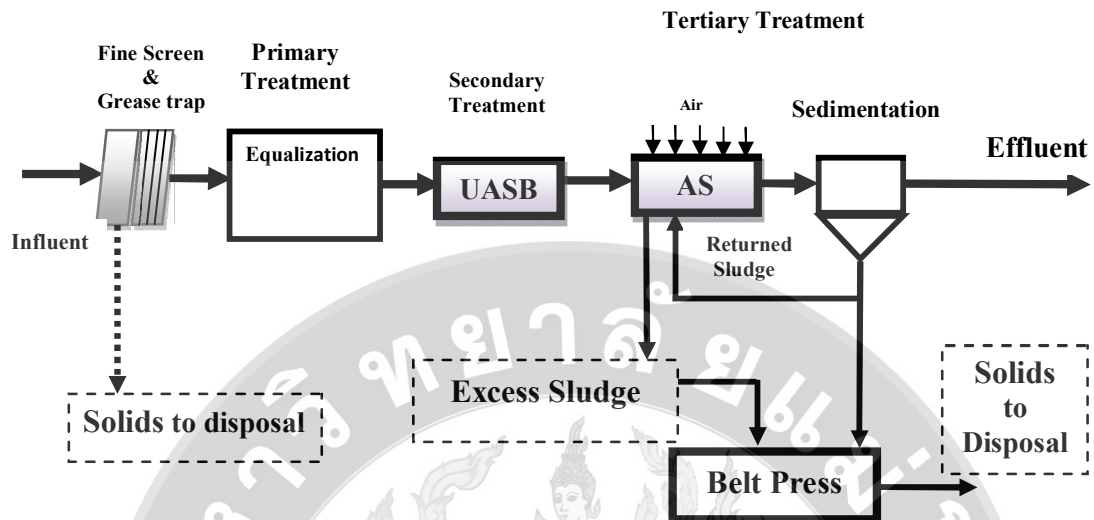
เก็บตัวอย่างน้ำเสียเข้าและออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง จำนวน 3 แห่ง ที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียดังนี้ การบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) ด้วยตะแกรงคัดขยะ/บ่อดักไขมัน และผ่านระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) ก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง ดังภาพที่ 5 6 และ 7

อุตสาหกรรมที่ 1



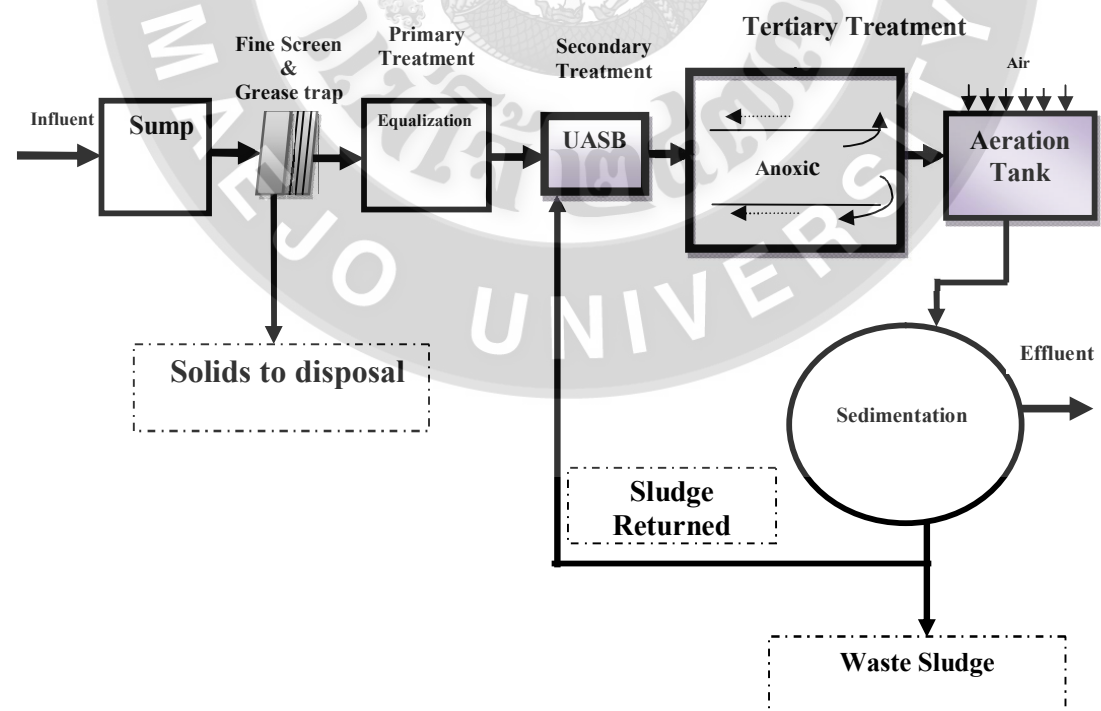
ภาพ 5 แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1

อุตสาหกรรมที่ 2



ภาพ 6 แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2

อุตสาหกรรมที่ 3



ภาพ 7 แสดงขั้นตอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียทั้งแบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge) และระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดของแต่ละส่วนในกระบวนการบำบัดด้วยพารามิเตอร์ที่ใช้ในปัจจุบัน คือ ค่า COD-BOD เปรียบเทียบกับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ศึกษาในแต่ละส่วนของกระบวนการ ค่าพารามิเตอร์ทางเคมี คือ pH, BOD, COD, TKN, TP, TSS และ Oil and Grease โดยใช้วิธีวิเคราะห์ตาม Standard Methods for Examination of water and wastewater, 20th Edition ดังตารางที่ 13

ตาราง 13 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์น้ำเสีย

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
pH	pH Meter ยี่ห้อ Hanna
BOD	Azide Modification Method
COD	Closed Reflux Method
TKN	Macro-Kjeldahl Method
TP	Ascorbic Acid Method
TSS	Gravimetric Method
Grease and Oil	Partition Gravimetric

2. การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล

2.1. การเก็บตัวอย่างและการเตรียมดีเอ็นเอ

2.1.1 การสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย

ตัวอย่างแบคทีเรียจะเก็บจากน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบ่งออกเป็นสองระบบ คือ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) และระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนซึ่งของอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง และน้ำเสียจากบ่อ แอเนอโรบิก และบ่อแอโรบิกของอุตสาหกรรมที่ 3 ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารไนโตรเจน อย่างละ 3 ชั่วโมง นำมาผสมรวมกัน ซึ่งส่วนมากจะเป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ เก็บเซลล์ด้วยการปั่นเหวี่ยงแล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป

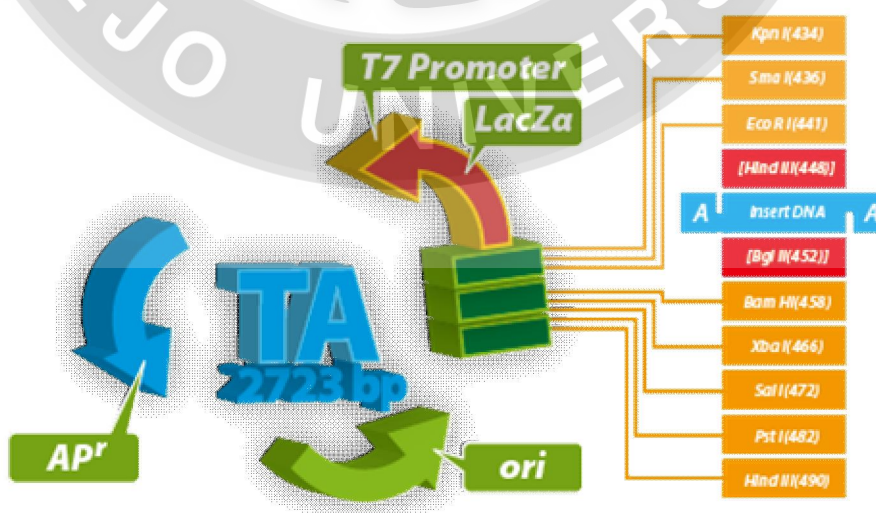
Genomic DNA mini kit (Geneaid Biotech Ltd.) ตามวิธีการของชุดสกัด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย 1% agarose gel electrophoresis

2.1.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerase chain reaction

ใช้ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 2.1.1 เป็นแม่พิมพ์ในการทำ polymerase chain reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') และ 1522R (5'-AAGGAGGTGATCCARCCGCA-3') ที่ออกแบบจากชิ้นส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรีย โดย ใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 5 นาที ทำซ้ำทั้งหมด 25 รอบของ 95 °C นาน 1 นาที 55°C นาน 1 นาที และ 72°C นาน 1 นาที และขึ้นตอนสุดท้าย 72°C นาน 10 นาที จากนั้นวิเคราะห์ผลผลิตจากการทำ PCR ด้วย 1% agarose gel electrophoresis

2.2 การโคลนชิ้นดีเอ็นเอ 16S rRNA

นำผลผลิตจากการทำ PCR มาแยกบริสุทธิ์จากเจลด้วยชุดสำเร็จรูป QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN) ด้วยวิธีการตามชุดสำเร็จรูป จากนั้นวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่แยกบริสุทธิ์ได้ด้วย 1% agarose gel electrophoresis จากนั้นโคลนเข้าดีเอ็นเอพาหะด้วยชุด RBC TA Cloning Vector Kit (RBC Bioscience) (ดังภาพที่ 8) ด้วยวิธีการตามชุดสำเร็จรูป แล้วถ่ายฝากดีเอ็นเอสายผสมเข้าแบคทีเรีย *E. coli* ด้วย Non heat Shock Transformation RBC HIT Competent Cell (RBCBioscience) จากนั้นคัดเลือกโคโลนีที่มีดีเอ็นเอสายผสมด้วยสีของโคโลนี (blue-white screening) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มียาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มี IPTG และ X-gal



ภาพ 8 Map and Sequence reference points of the RBC TA cloning vector

2.3 การคัดเลือคดีเอ็นเอสายผสมด้วยขนาด (Rapid size screening)

- นำโคโลนีสีขาวที่เลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่มีแอมพิซิลินเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิ 37°C
- ดูด culture broth มา 100 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงเก็บเซลล์ด้วยความเร็ว 6,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ไปเปิดส่วนใส่ออกให้หมด
- เติม 50 ไมโครลิตรของ lysis buffer ผสมด้วยการ vortex
- บ่มไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 5 นาที
- เมื่อครบเวลาย้ายไปบ่มในน้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 5 นาที
- เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm เป็นเวลา 4 นาที
- ดูดเฉพาะของเหลวด้านบนมา 20 ไมโครลิตร มาเป็นสารตัวอย่างในการทำ 1 % agarose gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที โดยจะต้องใช้ตัวอย่างจากโคโลนีสีฟ้าเป็นตัวควบคุม

2.4 การอ่านลำดับเบส

เลือกโคโลนีสีขาวมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่มียาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิ 37°C จากนั้นเก็บเซลล์มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการดังนี้

- ใส่ cell culture ปริมาตร 1.5 ml ในหลอด 1.5 ml แล้วปั่นเก็บเซลล์ด้วยเครื่อง microcentrifuge ที่ความเร็วสูงสุด นาน 30 วินาที จากนั้นไปเปิดส่วน supernatant ออกให้หมด เก็บเฉพาะเซลล์ (cell pellet) ไว้
- ละลาย cell pellet ที่ได้ด้วย Alkaline lysis solution I (แช่เย็น) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการ vortex
- เติม Alkaline lysis solution II (ที่เตรียมใหม่) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยการพลิกหลอดไปมา
- ละลาย cell pellet ที่ได้ด้วย Alkaline lysis solution III (แช่เย็น) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยการพลิกหลอดไปมา แช่หลอดในน้ำแข็ง 3-5 นาที
- ปั่นเหวี่ยงหลอดที่ความเร็วสูงสุด (12,000-13,000 rpm) นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นย้ายส่วนใส (supernatant) ใส่หลอดทดลองใหม่
- เติม 95% เอทานอล 2 ปริมาตร ของสารละลาย (ประมาณ 900 ไมโครลิตร) ผสมด้วยการพลิกหลอดกลับไปมา นำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm นาน 5-10 นาที
- ไปเปิดน้ำทิ้งด้วยไมโครไปเปิด (ระวังอย่าให้ DNA pellet ที่อยู่ก้นหลอดหลุด)

- ล้าง DNA pellet โดยเติม 70% เอทานอล 1 ml ผสมด้วยการกลับลอดไปมา แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 rpm 5 นาที จากนั้นดูดน้ำทิ้งด้วยไมโครไปเปต (ระวังอย่าให้ DNA pellet ที่อยู่ก้นหลอดหลุด)

- เปิดฝาหลอดแล้วคว่ำหลอดบนกระดาษซับ จนกระทั่ง DNA pellet แห้ง

- ละลาย DNA กลับด้วย TE buffer ที่มีเอนไซม์ RNase (TE containing 20 μ l/ml DNase-free RNase) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร จากนั้นเก็บดีเอ็นเอไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

- จากนั้นวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะและ 1% agarose gel electrophoresis



ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียทางเคมี

จากผลการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเข้าและน้ำออกจากระบบบำบัด น้ำเสียของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง จำนวน 3 แห่ง ที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียดังนี้ การบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) ด้วยตะแกรงดักขยะ/บ่อดักไขมัน และผ่านระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) ก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งและทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางกายภาพและทางเคมีดังนี้ บีโอดี, ซีโอดี, ฟอสฟอรัสทั้งหมด, ทีเคเอ็น, ไขมันและน้ำมัน, ของแข็งแขวนลอย, พีเอช โดยทำการวิเคราะห์ตาม Standard Method for the Examination of Water and Wastewater 20th (APHA *et al.*, 1998)

ตัวอย่างน้ำจากบ่อรวบรวมน้ำเสีย (Sum) และประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมในขั้นตอนการบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) ทั้ง 3 แห่งแสดงดังตารางที่ 15-17

ตาราง 14 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1

ครั้งที่	ประสิทธิภาพ (%)						
	บีโอดี	ซีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ไขมัน และ น้ำมัน	ของแข็ง แขวนลอย	พีเอช
1	21.90	15.38	-1.46	13.71	91.86	6.17	6.78
2	22.58	57.14	-3.96	18.56	29.63	10.11	7.01
3	27.93	50.00	4.28	30.87	-5.99	44.09	7.27
4	3.03	25.00	-8.40	15.94	43.94	14.13	7.01

จากผลการทดลองตารางที่ 15 พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดของแข็งแขวนลอย (SS) ของครั้งที่ 1, 2 และ 4 มีประสิทธิภาพการบำบัดต่ำคือ 6.17, 10.11 และ 14.13 % ตามลำดับ ยกเว้นในครั้งที่ 3 พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดค่อนข้างดีคือสามารถบำบัดได้สูงถึง 44.09 % สอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดีในครั้งที่ 3 พบว่ามีประสิทธิภาพการบำบัดได้ 27.93 % เป็นไปตาม

เกณฑ์การบำบัดขั้นต้นซึ่งสามารถบำบัดบีโอดีได้ 25-40 % (Tchobanoglous *et al.*, 2004) แต่ครั้งที่ 1, 2 และ 4 พบว่า ค่ากว่าเกณฑ์การบำบัดคือสามารถบำบัดได้เฉลี่ยเพียง 24.14 % เนื่องจากประสิทธิภาพการบำบัดของแ่งแขวนลอยค่อนข้างต่ำ สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดฟอสฟอรัสของครั้งที่ 1, 2 และ 4 พบว่าเป็นลบคือ -1.46 %, -3.96 % และ -8.40 % ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดฟอสฟอรัสได้ 10-20 % (เกรียงศักดิ์, 2536) ส่วนประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีโดยรวมพบว่าค่อนข้างดีคือสามารถบำบัดได้เฉลี่ย 44.05 % ประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนในรูปที่เคเอ็นพบว่าสามารถบำบัดได้เฉลี่ย 19.77 % เป็นไปตามเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดไนโตรเจนได้ 10-20 % (เกรียงศักดิ์, 2536) และประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน (Grease&oil) ในครั้งที่ 1, 2 และ 4 พบว่าค่อนข้างสูงคือสามารถบำบัดได้เฉลี่ยถึง 55.14 % ยกเว้นในครั้งที่ 3 พบว่ามีประสิทธิภาพการบำบัดเป็นลบคือ -5.99 %

ตาราง 15 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2

ครั้งที่	ประสิทธิภาพ (%)						พีเอช
	บีโอดี	ชีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ไขมัน และ น้ำมัน	ของแ่ง แขวนลอย	
1	-13.18	33.34	8.48	-37.00	-4.17	7.23	6.42
2	-6.62	4.53	10.95	6.13	9.09	-4.68	6.63
3	82.79	70.00	5.33	16.92	91.89	65.54	6.49
4	62.65	46.15	15.98	3.92	84.74	62.46	6.30

จากตารางที่ 16 พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดของครั้งที่ 1 และ 2 มีประสิทธิภาพการบำบัดต่ำในทุกพารามิเตอร์ โดยประสิทธิภาพการบำบัดตะกอนแขวนลอยของอุตสาหกรรมพบว่าสามารถบำบัดได้เพียง 7.23 % และ -4.68 % ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์การบำบัดของระบบบำบัดขั้นต้นที่ควรบำบัดตะกอนแขวนลอยได้ประมาณ 50-60 % (เกรียงศักดิ์, 2536) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการบำบัดสำหรับพารามิเตอร์อื่นๆ ต่ำลงด้วยเช่นกัน ดังเช่น ประสิทธิภาพในการบำบัดบีโอดี ครั้งที่ 1 และ 2 พบว่าเป็นลบ คือ -13.18 % และ -6.62 % ตามลำดับ เช่นเดียวกับประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนในรูปที่เคเอ็นพบว่าต่ำเช่นกันคือเฉลี่ย -37.00 และ 6.13 % การบำบัดไขมันในครั้งที่ 1

และ 2 พบว่ามีประสิทธิภาพต่ำคือ -4.17 % และ 9.09 % ตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในครั้งที่ 3 และ 4 พบว่าประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ดีในทุกพารามิเตอร์ ดังเช่นประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดีพบว่าโดยเฉลี่ยสูงถึง 72.72 % เป็นไปตามเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่ควรบำบัดได้ 25-40 % (Tchobanoglous *et al.*, 2003) ประสิทธิภาพการบำบัดของแข็งแขวนลอยพบสูงถึง 64.00 % เป็นไปตามเกณฑ์การบำบัดของระบบบำบัดขั้นต้นที่ควรบำบัดตะกอนแขวนลอยได้ประมาณ 50-60 % (เกรียงศักดิ์, 2536) และทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมที่ 3 ลดลง ประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีโดยเฉลี่ยบำบัดได้สูงถึง 58.08 % ประสิทธิภาพการบำบัดฟอสฟอรัสพบเฉลี่ย 10.66 % อยู่ในเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดฟอสฟอรัสได้ 10-20 % (เกรียงศักดิ์, 2535) ประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็นโดยเฉลี่ยพบ 10.42 % เป็นไปตามเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นคือ 10-20 % (เกรียงศักดิ์, 2536) สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันพบว่าสามารถบำบัดได้สูงถึง 88.32%

ตาราง 16 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3

ครั้งที่	ประสิทธิภาพ (%)						พีเอช
	บีโอดี	ชีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ไขมัน และ น้ำมัน	ตะกอน แขวนลอย	
1	41.33	23.53	42.56	37.69	7.14	71.96	6.42
2	43.19	58.74	31.10	42.07	-20.00	-31.60	6.82
3	34.44	76.93	43.64	36.68	60.92	79.07	6.29
4	50.76	25.00	17.76	31.19	17.13	64.12	6.17

จากผลการทดลองตารางที่ 17 พบว่าระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมที่ 3 มีประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ดีในทุกพารามิเตอร์ สามารถบำบัดบีโอดีเฉลี่ยสูงถึง 42.43 % เป็นไปตามเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่ควรบำบัดได้ 25-40 % (Tchobanoglous *et al.*, 2003) ประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีเฉลี่ย 46.05 % ประสิทธิภาพการบำบัดตะกอนแขวนลอยพบสูงถึง 71.72 % ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์การบำบัดตะกอนแขวนลอยของระบบบำบัดขั้นต้นที่ควรบำบัดได้ 50-60 % (เกรียงศักดิ์, 2536) ประสิทธิภาพการบำบัดฟอสฟอรัสและไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็นสามารถบำบัดได้สูงถึง

33.77 และ 36.91 % ตามลำดับ สูงกว่าเกณฑ์การบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดฟอสฟอรัสและไนโตรเจนได้ประมาณ 10-20 % (เกรียงศักดิ์, 2536) ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันสามารถบำบัดได้เฉลี่ย 28.40 % ยกเว้นในครั้งที่ 2 พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดต่ำลงคือสามารถบำบัดได้เพียง -20.00 %

การศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียก่อนเข้าระบบ UASB และน้ำที่ออกจากระบบ UASB เพื่อศึกษาคุณลักษณะน้ำเสียหลังการบำบัดโดยระบบไม่ใช้ออกซิเจนหรือระบบ UASB พบว่าค่าที่ได้ของแต่ละพารามิเตอร์แตกต่างกันดังตารางที่ 18-21

ตาราง 17 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 1

เดือน	pH	ประสิทธิภาพในการบำบัด (ร้อยละ)					
		BOD	COD	T-P	TKN	O&G	SS
1	6.58	30.5	41.8	0.5	11.9	-257.1	23.4
2	6.81	29.6	-6.7	16.4	0	68.6	10.1
3	6.66	68.3	-2.3	8.9	77.7	78.4	20.5
4	6.49	23.9	10	-6.8	31.4	16.7	29.5

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในอุตสาหกรรมที่ 1 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.64 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 18 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 38.07, 10.7, 4.75, 30.25, -23.35 และ 83.5 ตามลำดับ

ตาราง 18 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 2

เดือน	pH	ประสิทธิภาพในการบำบัด (ร้อยละ)					
		BOD	COD	T-P	TKN	O&G	SS
1	6.81	69.9	60.0	60.6	-18.3	74	67.2
2	6.89	69.7	71.4	60.7	-11.1	45	75.4
3	6.97	-95.2	-411.1	-5.6	90.7	-103.4	-1,281.6
4	6.76	27.4	-114.3	-59.9	-96.4	39.6	-520.8

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในอุตสาหกรรมที่ 2 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.86 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 19 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 17.95, -98.5, 13.95, -8.77, 13.65 และ -414.95 ตามลำดับ

ตาราง 19 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB อุตสาหกรรมที่ 3

เดือน	pH	ประสิทธิภาพในการบำบัด (ร้อยละ)					
		BOD	COD	T-P	TKN	O&G	SS
1	6.53	22.7	20	-90.3	79.51	7.7	-766.7
2	6.75	5.7	-112.4	-109.3	-403.9	-150	-608.1
3	6.39	24.3	-375	-73.5	-162.8	-63.9	-2,074.6
4	6.17	53.4	-77.8	-60.4	-102.9	21.3	-975.6

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในอุตสาหกรรมที่ 3 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.46 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 20 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 26.53, -136.3, -83.37, -147.52, -46.23 และ -1,106.25 ตามลำดับ

จากค่าพารามิเตอร์ในตารางที่ 18-20 พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียบางพารามิเตอร์มีค่าติดลบ ซึ่งหมายถึงระบบไม่มีประสิทธิภาพในการทำงาน แต่ทั้งนี้การติดลบของ

ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียเกิดจากข้อจำกัดในการเก็บน้ำ เนื่องจากระบบบำบัดของอุตสาหกรรมที่ 3 ไม่มีส่วนที่สามารถเก็บน้ำหลังจากที่น้ำออกจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน หรือ UASB ทำให้ต้องเก็บน้ำในระบบ DN/CN ดังภาพที่ 7 ซึ่งเป็นระบบที่ต่อจากระบบ UASB ทำให้ค่าน้ำที่เป็นตัวแทนน้ำที่ได้จากการบำบัดในระบบ DN/CN ไม่สามารถเป็นตัวแทนที่ดีของค่าน้ำที่ออกจากระบบบำบัด UASB ได้ เนื่องจากในระบบ DN/CN เปรียบเสมือนระบบ Anoxic ซึ่งเป็นอีกกระบวนการบำบัดอีกขั้นตอนที่ไม่ได้เกิดจากการบำบัดน้ำเสียจากระบบ UASB

ตาราง 20 ลักษณะน้ำเข้า และน้ำออกเฉลี่ยจากระบบ UASB ของอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง

พารามิเตอร์	หน่วย	ช่วง		ค่าเฉลี่ย		ประสิทธิภาพในการบำบัดเฉลี่ย %
		น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	
pH	-	6.53-7.25	6.37-7.25	6.71	6.79	-
BOD	mg/l	630-1,080	380-1,230	1,359.4	790	41.9
COD	mg/l	1,200-2,800	800-6,133	1,991.6	2,466.6	-23.9
TKN	mg/l	136-378	46-583.8	233.5	212.7	8.9
T-P	mg/l	299.6-459	150.1-531.6	393.5	356.3	7.2
Oil&Grease	mg/l	90-347.1	33.8-250	141.7	86.9	38.7
SS	mg/l	237.2-854.4	213-5,223	463.7	1,507.1	-225

จากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากตารางที่ 18-20 ดังค่าพารามิเตอร์ทางเคมี pH, BOD, COD, TKN, TP, Oil& Grease และ SS พบว่า ค่า pH ไม่มีความแตกต่างกันสำหรับน้ำก่อนเข้าระบบบำบัด UASB และออกจากระบบ UASB โดยช่วงค่า pH ของน้ำเข้าของอุตสาหกรรมดังตารางที่ 21 ที่แสดงลักษณะน้ำเข้า และน้ำออกจากระบบ UASB อยู่ระหว่าง 6.53-7.25 ซึ่งมีแนวโน้มต่ำกว่าค่า pH ที่ใช้ในการออกแบบมีค่าอยู่ระหว่าง 6.3-7.8 Habeeb *et al.* (2010) แต่ Tchobanoglous *et al.* (2004) กล่าวว่า pH ควรมีค่าใกล้เคียง 7 ทั้งนี้ สันทัด (2549) กล่าวว่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด และแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทนมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-7.8 ซึ่งอยู่ในช่วงของ ค่า pH ของน้ำเสียที่เป็นน้ำเข้าของอุตสาหกรรมที่ใช้ในการศึกษา นอกจากนี้ สันทัด (2549) ยังกล่าวอีกว่า ถึงแม้ว่าไม่สามารถควบคุมให้จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มเจริญเติบโต และแสดงประสิทธิภาพได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ แต่ค่า pH ที่อยู่ในช่วงดังกล่าวจะ

สามารถทำให้จุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มเจริญเติบโตอยู่ได้ และทำหน้าที่ในการบำบัดสารอินทรีย์เพื่อให้ได้ก๊าซมีเทน ทั้งนี้หากค่า pH ต่ำกว่าช่วงดังกล่าวจะเป็นผลโดยตรงกับแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน และทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียลดลงได้ สำหรับค่า BOD มีค่าลดลงโดยเฉลี่ยของแต่ละเดือนของแต่ละอุตสาหกรรมประมาณร้อยละ 27 แต่หากพิจารณาประสิทธิภาพโดยเฉลี่ยของแต่ละอุตสาหกรรมพบว่าอุตสาหกรรมที่ 1 มีประสิทธิภาพในการบำบัด BOD มากที่สุดคือ ร้อยละ 37 ลำดับต่อมาคืออุตสาหกรรมที่ 3 ร้อยละ 26 และอุตสาหกรรมที่ 2 ร้อยละ 18 ดังตารางที่ 18-20 ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการบำบัดของระบบ UASB เป็นการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ควรบำบัดได้มากกว่าร้อยละ 80 ซึ่งควรมีค่า BOD:N:P ประมาณ 100:1.1:0.2 ซึ่งพบว่าค่า BOD:N:P ของระบบที่ใช้ในการศึกษามีค่าเท่ากับ 5.82:1:1.69 ซึ่งค่าของฟอสฟอรัสมากเกินไป และมีค่าไนโตรเจนน้อยเกินไป ทั้งนี้การที่ธาตุอาหารไม่สมบูรณ์จะมีผลให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียไม่สมบูรณ์ (สันทนต์, 2549) ซึ่งอาจเป็นผลที่ทำให้เกิดการย่อยสลายของ BOD น้อยลง ส่วนค่า COD ไม่มีค่าลดลง แต่กลับมีค่าเพิ่มขึ้นสำหรับน้ำที่ออกจากระบบ UASB ใน บางเดือน ทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดมีค่าติดลบดังตารางที่ 18-20 อาจมีผลมาจากกระบวนการผลิตที่เพิ่มมากขึ้น เพราะน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัดเป็นน้ำเสียที่มาจากกระบวนการผลิตอาหารทะเล และกรมอุตสาหกรรมอุตสาหกรรม (2551) กล่าวว่า การผลิตอาหารทะเลมีการใช้คลอรีนผสมกับน้ำใช้ในกระบวนการผลิต โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ซึ่งคลอรีนที่เติมลงไปนั้นช่วงแรกจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ หลังจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์และสารประกอบไนโตรเจนเกิดเป็น Combined chloride residual และเหลือเป็น Free chloride residual โดยที่ Free chloride residual จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณคลอรีนที่เติมลงไป ซึ่งทำให้น้ำเสียมีคลอรีนไธด์มากกว่ากระบวนการผลิตในช่วงเดือนปกติ ซึ่งคลอรีนไธด์มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัด (กรมอุตสาหกรรมอุตสาหกรรม, 2551) ของระบบค่าพารามิเตอร์ทางเคมี T-P โดยจะทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสลดลง และยังทำให้ประสิทธิภาพของ COD มีค่าลดลง นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องปรับตัวให้มีความเคยชินกับสภาพที่มีคลอรีนไธด์สูงซึ่งจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถปรับสภาพได้อาจตาย และถูกย่อยสลายไป นอกจากนี้ปริมาณไฮโดรเจนคลอรีนไธด์ที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงมากกว่า 2.0 M จะทำให้กลุ่มประชากร methanogens น้อยลง (Joseph and Frederick, 1992) ซึ่งผลที่ตามมาคือการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นหน้าที่ของแบคทีเรีย methanogens ทั้งนี้ระบบบำบัดควรมีธาตุอาหารเสริมสำหรับแบคทีเรียคือมีค่า COD:N:P ซึ่งเป็นอัตราส่วนอาหารเสริมสร้างที่ต้องเติมให้กับระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน เพราะอัตราส่วนเสริมที่ต่ำมาก สามารถชี้ให้เห็นอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะต่ำมาก เมื่อเทียบกับอัตราการ

เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจน (สันทัด, 2549) โดย Tchobanoglous *et al.* (2004) แนะนำให้มีค่า COD:N:P ตอนเริ่มเดินระบบเท่ากับ 300:5:1 ในขณะที่ หากมีการเดินระบบไปแล้วค่า COD:N:P ควรจะมีค่าเท่ากับ 600:5:1 แต่ค่า COD:N:P ขณะเดิน ระบบกลับมีค่าเท่ากับ 8.53:1:1.69 ซึ่งตรงข้ามกับค่า BOD ที่มีค่าลดลง เนื่องจากในน้ำเสียมี สารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ยากอยู่มาก ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถ และความ ต้องการในการผลิตที่มีลักษณะสูงขึ้นในเดือนนั้นๆ ในส่วนค่า TKN และ T-P มีค่าลดลงแต่ไม่มี ความแตกต่างกันมากระหว่างน้ำก่อนเข้าระบบ UASB และออกจากระบบ UASB โดย Elmitwalli *et al.* (2007) กล่าวว่า เมื่อใช้ระบบ UASB เพื่อบำบัดน้ำที่มาจากการทำมาค้าขายในบ้านเรือน จะสามารถบำบัด TKN และ T-P ได้เพียง 23-36% และ 10-24% ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Terek and Ralf (2007) ที่กล่าวไว้เช่นกันว่าการบำบัด น้ำเสียจากการทำความสะอาดภายในบ้านมี ประสิทธิภาพในการบำบัด TKN และ T-P 22-30% และ 15-21% ตามลำดับ อีกทั้ง สุจินดา และคณะ (2547) พบว่าความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมประมงด้วยระบบ UASB สามารถ บำบัด TKN และ T-P ได้เพียง 17.51% และ 24.64% ตามลำดับ นอกจากนี้ระบบไม่สามารถบำบัด ไชมัน เพราะไขมันควรถูกบำบัดในระบบบำบัดน้ำเสียตั้งแต่ขั้นแรก จากตารางที่ 18-20 มีค่า Oil & Grease ติดลบ อาจเกิดจากการบำบัดในขั้นตอนแรกไม่สามารถบำบัดได้ดีเท่าที่ควร สังเกตได้จาก ตัวอย่างมีคราบไขมันเกิดขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ จึงส่งผลให้มีไขมันผ่านเข้ามาในการบำบัดขั้นที่ 2 ส่วนค่า SS ดังตารางที่ 19 และ 20 มีค่าติดลบเนื่องจากเป็นผลต่อเนื่องของระบบบำบัดที่มีค่า BOD:N:P ไม่ เหมาะสม ทำให้เกิดมวลสารปริมาณมากขึ้นตามมา ประกอบกับเกิดข้อจำกัดในการเก็บน้ำเสีย เนื่องจากไม่มีท่อที่สามารถเก็บน้ำเสียสำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียของระบบ UASB ทำให้ ต้องเก็บน้ำเสียที่อยู่ในระบบ DN/CN ซึ่งทำให้เกิดคลาดเคลื่อนของค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำ เสียที่ออกจากระบบบำบัด UASB

การบำบัดขั้นที่สองพบว่า คุณลักษณะน้ำเข้าและน้ำออกโดยเฉลี่ยจากระบบบำบัด น้ำเสีย แบบตะกอนเร่งของทั้ง 3 อุตสาหกรรม แสดงดังตารางที่ 22

ตาราง 21 คุณลักษณะน้ำเข้า - น้ำออกโดยเฉลี่ยจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งของ
 อุตสาหกรรมที่ทำการศึกษ

พารามิเตอร์	อุตสาหกรรมที่ 1		อุตสาหกรรมที่ 2		อุตสาหกรรมที่ 3	
	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก
pH	6.58	6.85	7.01	7.28	6.64	7.01
BOD (mg/l)	774	40	806	52	949	127
COD (mg/l)	1,487	390	3,447	487	3,990	426
TP (mg/l)	395.9	41.1	316.7	38.1	517.2	14.1
TKN (mg/l)	103	7	322	54	429	111
TSS (mg/l)	261	40	2,753	30	3,163	43
Grease and oil (mg/l)	115	34.4	30.3	24.1	196.3	69.4

น้ำเข้าและน้ำออกโดยเฉลี่ยของทั้ง 3 อุตสาหกรรมซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.58-7.28 ซึ่งมีค่าเท่ากับระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มักควบคุมค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.5-8.5 (สุรพล, 2538) ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีและตะกอนแบคทีเรียของระบบบำบัดน้ำเสียสามารถจมตัวได้ดี (สันทด, 2549) ส่วนค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำเข้าทั้ง 3 อุตสาหกรรม ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสีย หรือบ่งบอกถึงปริมาณสารอาหารของแบคทีเรียมีค่าโดยเฉลี่ยไม่แตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตามอุตสาหกรรมที่ 3 มีค่าสูงที่สุด นอกจากนี้ น้ำเข้าของอุตสาหกรรมที่ 3 พบ ค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด ค่าทีเคเอ็น ค่าของแข็งแขวนลอย และค่าน้ำมันและไขมันมีค่าสูงกว่าอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 เช่นกัน แต่ไม่แตกต่างกันมาก อีกทั้งค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำออกทั้ง 3 อุตสาหกรรม มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับน้ำเข้าในทุกพารามิเตอร์

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมที่ 1 ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.61-7.14 มีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดีโดยเฉลี่ยร้อยละ 96 ลดค่าซีโอดีได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 70 มีเพียงเดือนที่ 4 สามารถลดค่าซีโอดีได้เพียงร้อยละ 59.3 นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการลดค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด ค่าทีเคเอ็น และค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 80 และค่าไขมันและน้ำมันของเดือนที่ 1 สามารถลดได้ร้อยละ 85 ในขณะที่ค่า

ไขมันและน้ำมันของเดือนที่ 2, 3 และ 4 ลดได้เพียงร้อยละ 61.3, 62.3 และ 36.6 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 23

ตาราง 22 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1

เดือนที่	พีเอช	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย (ร้อยละ)					
		บีโอดี	ซีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ของแข็ง แขวนลอย ทั้งหมด	ไขมัน และ น้ำมัน
1	7.14	96.4	93.8	88.8	99.3	82.3	85.0
2	6.90	96.1	78.1	86.3	94.1	87.9	61.3
3	6.75	84.2	73.9	91.2	93.5	92.0	62.8
4	6.61	96.6	59.3	90.8	85.7	79.3	36.6

อุตสาหกรรมที่ 2 ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.11-7.38 มีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดีโดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 90 ส่วนค่าซีโอดีของเดือนที่ 1 และ 2 สามารถลดได้เพียงร้อยละ 43.7 และ 65.0 ตามลำดับ ขณะที่เดือนที่ 3 และ 4 สามารถลดค่าซีโอดีได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 80 นอกจากนี้ อุตสาหกรรมที่ 2 ยังมีประสิทธิภาพในการลดค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ค่าทีเคเอ็น และค่าไขมันและน้ำมันได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 50 แสดงดังตารางที่ 24

ตาราง 23 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 2

เดือนที่	พีเอช	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย (ร้อยละ)					
		บีโอดี	ซีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ของแข็ง แขวนลอย ทั้งหมด	ไขมัน และ น้ำมัน
1	7.38	90.0	43.7	72.7	62.7	85.2	38.5
2	7.25	93.6	65.0	74.0	75.7	97.3	61.3
3	7.36	96.2	91.7	91.4	91.4	99.4	75.4
4	7.11	92.3	88.7	93.4	98.9	99.2	55.6

ส่วนอุตสาหกรรมที่ 3 ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.72-7.34 และมีประสิทธิภาพในการลดค่าบีโอดีโดยเฉลี่ยได้มากกว่าร้อยละ 90 ส่วนค่าซีโอดี ค่าฟอสฟอรัสทั้งหมด และค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด สามารถลดได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 80 ค่าทีเคเอ็นสามารถลดได้โดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 60 ยกเว้นในเดือนที่ 1 ไม่สามารถลดค่าทีเคเอ็นได้ ขณะที่ค่าไขมันและน้ำมันมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันในแต่ละเดือน แสดงดังตารางที่ 25

ตาราง 24 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 3

เดือนที่	พีเอช	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย (ร้อยละ)					
		บีโอดี	ซีโอดี	ฟอสฟอรัส ทั้งหมด	ทีเคเอ็น	ของแข็ง แขวนลอย ทั้งหมด	ไขมัน และ น้ำมัน
1	7.00	68.8	80.2	95.9	-126.2	99.3	43.8
2	7.34	92.5	94.6	97.5	79.8	99.0	74.2
3	6.99	94.1	92.3	96.9	63.1	98.3	61.0
4	6.72	92.8	87.5	98.7	98.1	98.5	91.0

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของทั้ง 3 อุตสาหกรรม พบว่าอุตสาหกรรมที่ 1, 2 และ 3 มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.61-7.38 ซึ่งเป็นช่วงพีเอชที่แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีคืออยู่ในช่วง 6.5-8.5 (สุรพล, 2538) นอกจากนี้ทั้ง 3 อุตสาหกรรม สามารถลดค่าบีโอดีโดยเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 90 ทั้งนี้ประสิทธิภาพดังกล่าวเป็นไปตามค่าการออกแบบของระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่ออกแบบไว้ให้สามารถลดค่าบีโอดีได้ร้อยละ 85-95 (Tchobanoglous *et al.*, 2004) ในขณะที่อุตสาหกรรมที่ 3 สามารถลดค่าซีโอดีได้โดยเฉลี่ยมากที่สุดคือ มากกว่าร้อยละ 90 เป็นส่วนใหญ่

สำหรับค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ค่าทีเคเอ็น และค่าไขมันและน้ำมัน ทั้ง 3 อุตสาหกรรมสามารถลดได้โดยเฉลี่ยในแต่ละเดือนมากกว่าร้อยละ 50 ยกเว้นอุตสาหกรรมที่ 3 ที่ข้อมูลในเดือนที่ 1 ไม่สามารถลดค่าทีเคเอ็นได้ อีกทั้งน้ำออกจากระบบมีค่าทีเคเอ็นเพิ่มขึ้นในขณะที่เดือนอื่นสามารถลดค่าทีเคเอ็นได้มากกว่าร้อยละ 63.1-98.1 ดังตารางที่ 23 เกิดจากน้ำเสียในเดือนที่ 1 มีค่าบีโอดีสูงและค่าทีเคเอ็นต่ำ มีผลทำให้อัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคเอ็น (BOD_5/TKN ratio) สูงเกินไป ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวเป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน กล่าวคือ

หากอัตราส่วนบีโอดีต่อทีเคเอ็นมีค่ามากกว่า 3 ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารไนโตรเจนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันลดลง (Tchobanoglous *et al.*, 2004; Bitton, 2005)

ส่วนค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดเมื่อพิจารณาแล้วพบว่าอุตสาหกรรมที่ 3 สามารถลดค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดได้มากที่สุดถึงร้อยละ 95.9-98.7 เนื่องจากอุตสาหกรรมที่ 3 ใช้ระบบบำบัดแบบตะกอนเร่งที่มีการกำจัดไนโตรเจนซึ่งมีกระบวนการเดินระบบที่คล้ายคลึงกับระบบที่มีการกำจัดสารฟอสฟอรัสคือเป็นระบบที่ไม่ใช้ออกซิเจนต่อเนื่องกับระบบที่ใช้ออกซิเจน (สุบัณจิต, 2548) จึงทำให้เกิดการกำจัดไนโตรเจนควบคู่กับการกำจัดฟอสฟอรัส ด้วยเหตุนี้อุตสาหกรรมที่ 3 จึงสามารถลดค่าฟอสฟอรัสทั้งหมดได้มากกว่าอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 ซึ่งมีคุณลักษณะของน้ำเข้าใกล้เคียงกัน

2. ผลการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบน้ำเสียโดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล

จากการนำตัวอย่างแบคทีเรียที่เก็บจากน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบ่งออกเป็นสองระบบคือ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) และระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนซึ่งของอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง และน้ำเสียจากบ่อ แอ่น็อกซิกและบ่อแอโรบิกของอุตสาหกรรมที่ 3 ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีการบำบัดสารไนโตรเจน อย่างละ 3 ซ้ำ นำมาผสมรวมกัน แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณยีนด้วย 16S rRNA ยีนด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำมาทำการโคลนยีนส่วน 16S rRNA ในเชื้อ *E.coli* จากผลการโคลนและทำการคัดเลือคดีเอ็นเอสายผสมด้วยขนาด (Rapid size screening) พบว่าสามารถโคลนยีนส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) จำนวนทั้งสิ้น 116 โคลน โดยให้เป็นรหัส isolate 3D และจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนจำนวนทั้งสิ้น 56 โคลน โดยให้เป็นรหัส isolate 4E ดังแสดงในตาราง 26

ตาราง 25 ผลการโคลนชิ้นส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบน้ำเสียสองระบบ

ลำดับ	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB)	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบใช้ออกซิเจน
1	3D1-3	4E1-1
2	3D1-8	4E1-5
3	3D1-9	4E1-16
4	3D1-10	4E1-23
5	3D1-14	4E1-26
6	3D1-15	4E1-28
7	3D1-23	4E1-30
8	3D1-26	4E1-33
9	3D1-29	4E1-34
10	3D1-30	4E1-35
11	3D1-31	4E1-36
12	3D1-36	4E1-39
13	3D1-37	4E1-40
14	3D1-38	4E1-42
15	3D1-39	4E1-44
16	3D1-41	4E1-52
17	3D1-43	4E1-57
18	3D1-45	4E1-60
19	3D1-47	4E1-79
29	3D1-49	4E2-4
21	3D1-51	4E2-5
22	3D1-56	4E2-8
23	3D1-57	4E2-9
24	3D1-59	4E2-12
25	3D1-61	4E2-16
26	3D1-68	4E2-27

ตาราง 25 (ต่อ)

ลำดับ	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB)	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบใช้ออกซิเจน
27	3D1-78	4E2-33
28	3D1-82	4E2-35
29	3D1-85	4E2-37
30	3D1-89	4E2-39
31	3D1-104	4E2-41
32	3D1-106	4E2-47
33	3D1-107	4E2-50
34	3D1-108	4E2-51
35	3D1-112	4E2-52
36	3D1-115	4E2-57
37	3D1-124	4E2-61
38	3D1-125	4E2-74
39	3D1-131	4E2-77
40	3D1-132	4E2-78
41	3D2-1	4E2-79
42	3D2-4	4E2-80
43	3D2-8	4E2-83
44	3D2-14	4E2-87
45	3D2-16	4E2-96
46	3D2-19	4E2-97
47	3D2-24	4E2-98
48	3D2-25	4E2-101
49	3D2-27	4E2-105
50	3D2-35	4E2-106
51	3D2-37	4E2-108
52	3D2-40	4E2-111
53	3D2-42	4E2-113

ตาราง 25 (ต่อ)

ลำดับ	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB)	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบใช้ออกซิเจน
54	3D2-45	4E2-122
55	3D2-47	4E2-126
56	3D2-49	4E2-131
57	3D2-54	
58	3D2-55	
59	3D2-57	
60	3D2-59	
61	3D2-60	
62	3D2-64	
63	3D2-65	
64	3D2-76	
65	3D2-77	
66	3D2-81	
67	3D2-82	
68	3D2-84	
69	3D2-86	
70	3D2-92	
71	3D2-93	
72	3D2-96	
73	3D2-97	
74	3D2-99	
75	3D2-103	
76	3D2-108	
77	3D2-109	
78	3D2-110	
79	3D2-112	
80	3D2-116	

ตาราง 25 (ต่อ)

ลำดับ	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB)	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบใช้ออกซิเจน
81	3D2-119	
82	3D2-121	
83	3D2-122	
84	3D2-124	
85	3D2-126	
86	3D2-127	
87	3D2-128	
88	3D2-131	
89	3D2-134	
90	3D2-135	
91	3D2-140	
92	3D2-142	
93	3D2-149	
94	3D2-152	
95	3D2-159	
96	3D2-160	
97	3D2-163	
98	3D2-166	
99	3D2-169	
100	3D2-171	
101	3D2-172	
102	3D2-173	
103	3D2-179	
104	3D2-186	
105	3D2-187	
106	3D2-188	
107	3D2-191	

ตาราง 25 (ต่อ)

ลำดับ	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB)	Isolate ที่โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำ เสียแบบใช้ออกซิเจน
108	3D2-195	
109	3D2-201	
110	3D2-205	
111	3D2-206	
112	3D2-207	
113	3D2-210	
114	3D2-212	
115	3D2-213	
116	3D2-214	
รวม	116	56

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาข้อมูลจากพารามิเตอร์คุณภาพของน้ำเสียบีโอดี ซีโอดี ทีเคเอ็น ฟอสฟอรัส ทั้งหมด ไกมันและน้ำมัน ของแ่งแขวนลอย จากการบำบัดขั้นต้น (Primary treatment) ด้วย ตะแกรงคัดขยะ/บ่อดักไขมัน และผ่านระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) ก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนร่ง ของน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ 1 พบว่า ประสิทธิภาพการบำบัดของแ่งแขวนลอย (SS) มีประสิทธิภาพการบำบัดน้อยมากเฉลี่ย เป็น 10.13 % ยกเว้นในเดือนที่ 3 พบว่าสูงถึง 44.09 % ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดของ พารามิเตอร์ตัวอื่นๆที่สามารถบำบัดได้สูงด้วยเช่นกัน เช่น ประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดีสามารถ บำบัดได้ถึง 27.93% ,ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีบำบัดได้สูงถึง 50.00 % ส่วนประสิทธิภาพการ บำบัดไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น อยู่ในเกณฑ์ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์การบำบัดใน ไตรเจนของ ระบบบำบัดขั้นต้นที่สามารถบำบัดได้ 15 % อุตสาหกรรมที่ 2 จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการ บำบัดของเดือนที่ 1 และ 2 มีประสิทธิภาพการบำบัดต่ำในทุกพารามิเตอร์โดยบำบัดตะกอน แขนวลอยได้เพียง 7.23 % ซึ่งเกณฑ์การบำบัดตะกอนแขวนลอยของระบบบำบัดขั้นต้นนั้นควร บำบัดได้ประมาณ 40-60 % ประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดี ,ไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็นเป็นลบทั้งสอง ครั้ง ยกเว้นครั้งที่ 3และ 4 ประสิทธิภาพการบำบัดในทุกพารามิเตอร์อยู่ในเกณฑ์ที่ดีโดยเฉพาะบีโ อดี สามารถบำบัดได้สูงเฉลี่ยเป็น 72.72% เนื่องจากสามารถบำบัดตะกอนแขวนลอยได้สูงถึง 65.54 % และ 62.46 % จึงทำให้มีปริมาณสารอินทรีย์ลดลงอุตสาหกรรมที่ 3 พบว่าระบบบำบัดของ อุตสาหกรรมมีประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ดี สามารถบำบัดบีโอดี, ซีโอดี, ของแ่งแขวนลอย ,ทีเค เอ็น และ ฟอสเฟตทั้งหมด ได้สูงโดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดเฉลี่ยเป็น 42.43, 46.05, 71.72, 36.90, 39.1% ตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันสามารถบำบัดได้สูงใน ครั้งที่ 3 เป็น 60.92 % ซึ่งจากผลการศึกษาสามารถอธิบายได้ว่า เมื่อประสิทธิภาพการบำบัดของแ่ง แขนวลอยสูงทำให้สามารถบำบัดสารอินทรีย์ประเภทอื่นได้ดีตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากตะกอน แขนวลอย 70 % นั้นเป็นสารอินทรีย์ร่วมกับ ไนโตรเจน ชัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส

จากผลการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียจากน้ำเสียในระบบน้ำเสียโดยการ ใช้ เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลโดยนำตัวอย่างแบคทีเรียที่เก็บจากน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบ่ง ออกเป็นสองระบบคือ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) และระบบบำบัดน้ำเสีย แบบใช้ออกซิเจนซึ่งของอุตสาหกรรมที่ 1 และ 2 เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนร่ง และน้ำเสีย จากบ่อ แอน็อกซิกและบ่อแอโรบิกของอุตสาหกรรมที่ 3 ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนร่ง ที่มีการบำบัดสารไนโตรเจน อย่างละ 3 ชั่วโมงมาผสมรวมกัน แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่ม

ปริมาณยีนด้วย 16S rRNA ยีนด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำมาทำการโคลนยีนส่วน 16S rRNA ในเชื้อ *E.coli* จากผลการโคลนและทำการคัดเลือกดีเอ็นเอสายผสมด้วยขนาด (Rapid size screening) พบว่าสามารถโคลนยีนส่วน 16S rRNA ของแบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) จำนวนทั้งสิ้น 116 โคลน และจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจนจำนวนทั้งสิ้น 56 โคลน



เอกสารอ้างอิง

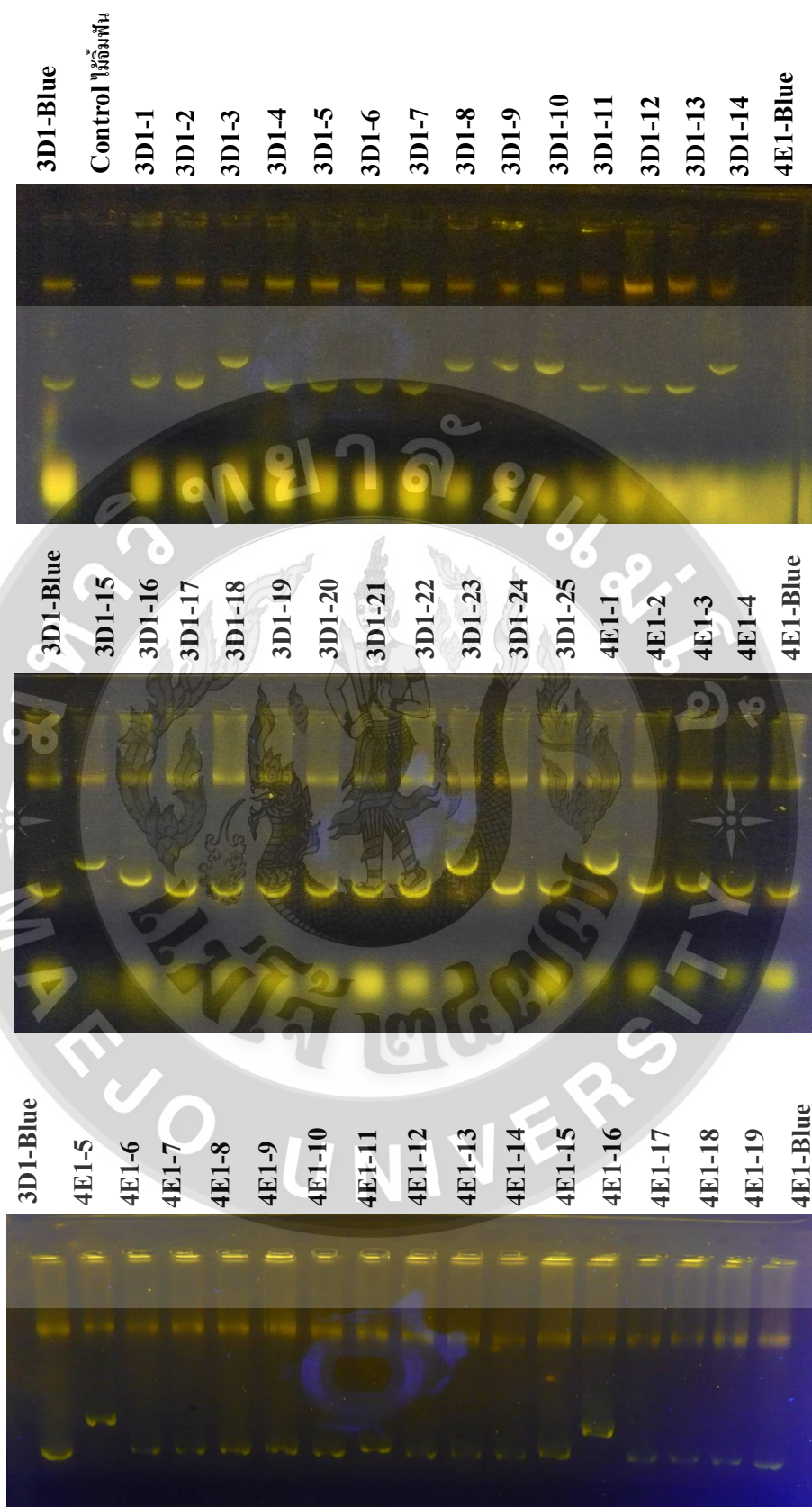
- คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2538. การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. พิมพ์ที่โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 435 น.
- กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2548. แนวทางปฏิบัติที่ดีด้านการป้องกันและลดมลพิษอุตสาหกรรมทะเลเยือกแข็งประเภทปลา. (คู่มือ). กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ.
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2551. หลักปฏิบัติเทคโนโลยีการผลิตที่สะอาดอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง. สุเทพการพิมพ์, เชียงใหม่.
- กระทรวงสาธารณสุข. 2548. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข จ.40. 30 ธันวาคม 2548.
- เกรียงศักดิ์ อุคมสินโรจน์. 2536. วิศวกรรมการกักน้ำเสีย. ครั้งที่ 3. บริษัท มิตรนราการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ทวี จิตไมตรี. 2538. จุลชีววิทยาของระบบบำบัดน้ำเสีย, น. 114-138. ใน เพ็ชรพร เขาวงกตเจริญ, บรรณาธิการ. การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2545. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 2. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- มันสิน ตันกุลเวศม์. 2543. คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. ครั้งที่3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วันเพ็ญ วิโรจนกัญ. 2531. ชีววิทยาสำหรับสิ่งแวดล้อม. 158 น.
- วลัยภรณ์ วุฒิเมธา. 2551. บทบาทของอัตราส่วนซีโอดีต่อในเทรตต่อความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี. วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สถาบันพัฒนาเทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ กรมควบคุมมลพิษ . 2545. การจัดทำแนวทางการออกแบบวิศวกรรมเพื่อปรับปรุงระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมให้มีประสิทธิภาพ และประหยัดพลังงานโดยระบบไม่ใช้ออกซิเจน กันยายน 2545. 174 หน้า.
- สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย. 2548. แนวปฏิบัติที่ดีด้านการป้องกัน และลดมลพิษอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่เยือกแข็ง: ประเภทปลา. สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, นนทบุรี.

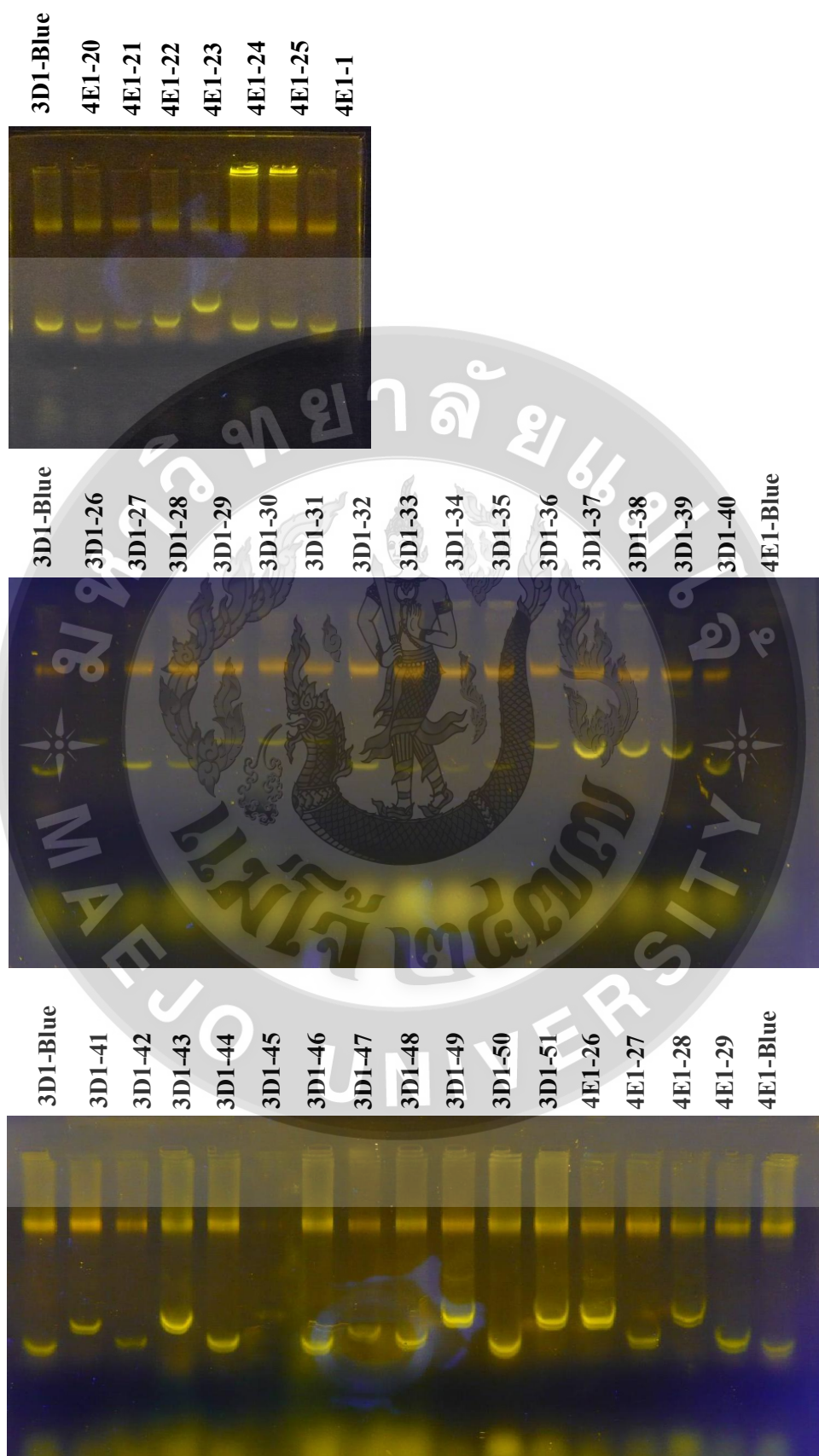
- สมเกียรติ เสงี่ยมงานารักษ์. 2548. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์บำบัดน้ำเสียระบบไม่ใช้อากาศแบบลูกผสม โดยใช้วิธี 16 sRNA Fluorescent In Situ Hybridization. กรุงเทพฯ.
- สันต์ ศิริอนันต์ไพบูลย์. 2549. ระบบบำบัดน้ำเสีย การเลือกใช้ การออกแบบ การควบคุม และแก้ไขปัญหา. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท สำนักพิมพ์ท็อป จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สาวตรี วทัญญูไพศาล. 2552. จุลชีววิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท มิสเตอร์ก๊อปปี (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ.
- สิรินันท์ ศรีดำ, นพดล สุระกาญจน์ และ นุศุล อินทรสังขา. 2552. การคัดเลือกแบคทีเรียดีในรีไฟอิงที่มีประสิทธิภาพเพื่อการบำบัดในเตาหมักน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, ใน การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 19. มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา.
- สุจินดา นาลพินิจ, ปรีชา พลอยภักทรภิญโญ และพิศมัย เจนวนิชปัญจกุล. 2547. การพัฒนาตะกอนจุลินทรีย์ลักษณะเม็ดในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศชนิด UASB สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- สุเทพ สิริวิทยาปกรณ์. 2549. เทคโนโลยีน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. 205 น.
- สุเทพ สิริวิทยาปกรณ์. 2551. เทคโนโลยีน้ำเสีย. ปรับปรุงครั้งที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. 212 น.
- สุเทพ สิริวิทยาปกรณ์. 2552. เทคโนโลยีน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุบันจิต นิมรัตน์. 2548. จุลชีววิทยาของน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- สุรพล สายพานิช. 2538. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Activated Sludge, น. 150-232. ใน เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ, บรรณาธิการ. การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- อำพล มั่นเสกวิทย์. 2546. การศึกษาและการคัดเลือกจุลินทรีย์จากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Amann, R.I., Ludwig, W. and Bryant, M.P. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews** 59: 143-149.
- APHA, AWWA and WPCF. 1995. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 19 ed. APHA Inc, USA.

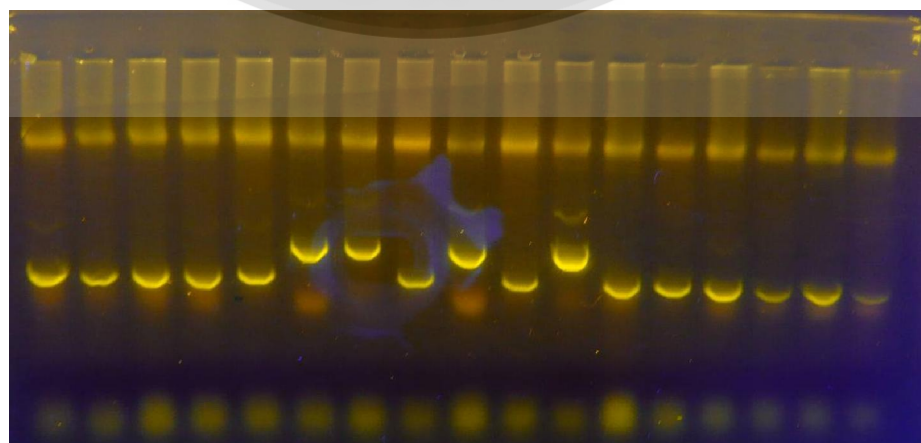
- Arquiaga, M. C., L. W. Canter and D. A. Sabatini. 1993. Microbiology of high sodium nitrite wastewater treatment. **Environmental Pollution** 81: 1-6
- Bitton, G. 2005. **Wastewater Microbiology**. 3th ed. Jonh Wiley & Sons, Inc., Publication. Canada.
- Chowdhury, P., T. Viraraghavan and A. Srinivasan. 2010. Biological treatment processes for fish processing wastewater - A review. **Biosource Technology** (101): 439-449.
- Dan, N.P. 2000. **Special study: Saline wastewater survey and trends of study on biological treatment**. Ph.D. Thesis, AIT.
- Elmitwalli, T.A., M. Shalabi, C. Wendland and R. Otterpohl. 2007. Grey water treatment in UASB reactor at ambient temperature. **Water science & Technology** 7 (55): 173-180.
- Ferder, I., Nietfeld, J.C., Galland, J., Yeary, T., Sargeant, J.M., Oberst, R., Tamplin, M.L. and Luchansky, J.B. 2001. Comparisoin of cultivation and PCR-hybridization for detection of salmonella in Porcine fecal and water samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(7): 2477-2484.
- Gallert, C. and J. Winter. 2005. Bacteria Metabolism in Wastewater Treatment Systems, pp. 1-40. *In* H.-J. Jördening and J. Winter., **Environmental Biotechnology Concept and Application**. Weinheim.
- Gerardi, M. H. 2006. **Wastewater Bacteria**. 1th ed. John Wiley & Sons, Inc., Publication. Canada.
- Jo, J. Hye, D. S. Lee, D. Park and J. M. Park. 2008. Biological hydrogen production by immobilized cells of Clostridium tyrobutyricum JM1 isolated from a food waste treatment process. **ELSEVIER**. 99, 6666-6672.
- Joseph, F. Malina, Jr. Frederick and G. Pohland. 1992. **Design of anaerobic processes fpr the treatment of industrial and municipal wastes**. 7th ed. Technomic Publishing, USA.
- Keyser, M., T.J. Britz and R.C. Witthuhn. 2007. Fingerprinting and Identification of Bateria Present in UASB Granules Used to Treat Winery, Brewery, Distillery or Peach-hye Canning Wastewater. **S.Afr.J.Enol.Vitic** 28 (1): 89-78.
- Liang, J., W. X. Juan, G. Z. Lian, Z. D. Zhi and X. S. Qin. 2006. Biodegradation of Lubricating Oil in Wastewater with Zoogloea sp.. **Soil Science Society of China** 16 (4): 540-544.
- Mara, D and N. Horan. 2003. **Water and Wastewater Microbiology**. Academic Press, UK.

- Mongkolthanaruk, W. and S. Dharmsthiti. 2002. Biodegradation of lipid-rich wastewater by a mixed bacterial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation** 50: 101-105.
- Moreno, Y., Botella, S., Alonso, J.L., Ferrus, M.A., Hernandez, M. and Hernandez, J. 2003. Specific detection of *Acrobacter* and *Campylobacter* strains in water and sewage by PCR and fluorescent in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(2): 1181-1186.
- Nath, K. and Das D. 2004. Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches. **Appl. Microbial. Biotechnol.** 65,520-529.
- Pantamas, P., P. Chaiprasert and M. Tanticharoen. 2003. Glucose utilization and microbial interaction in methanogenesis, pp. 292-297. In **2nd Regional Conference of Energy Technology Towards a Clean Environment**. 12-14 February 2003, Phuket, Thailand.
- Sarioglu, M. 2005. Biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor by using pure Culture. **Process Biochemistry** 40: 1599-1603.
- Sidat, M., F. Bux and H. C. Kasan. 1999. Polyphosphate accumulation by bacteria isolated from Activated sludge. **Water SA** 25(2): 175-179.
- Steiner, C. G. 2000. Understanding Anaerobic Treatment. **Pollution Engineering**. 36-38.
- Tchobanoglous, G., F. L. Burton and H. D. Stensel. 2004. **Wastewater Engineering**, 4th ed. The McGraw-Hill companies, Inc., USA.
- Terek, A. E. and R. Otterophi. 2007. Anaerobic biodegradability and Treatment of grey water in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. **Water research** 6 (44): 1379-1387.
- Xin, J., Mingchao, M., Jun, L., Anhuai, L. and Zuoshen. 2008. Bacterial diversity of active sludge in wastewater treatment plant. *Earth Science Frontiers*. 15(6): 163-168.
- You, S. J. and C. F. Ouyang. 2007. Identification the microbial diversity in a municipal Wastewater treatment plant using non-cultured based methods. **Journal of the Chinese Institute of Engineers** 30(3): 431-440.
- Zehnder, A.J.B., Ingvorsen K., hlarti T. 1982. Microbiology of methane bacteria. In: Hughes DE, Stafford DA, Weatherle, BI, Baader W, Lettinga G, Nyns E J, Verstraete W, Wentworth R L (eds) *Anaerobic digestion*, **Elsevier Biomedical Press**, Amsterdam-Netherlands, pp 45-68.

ภาคผนวก ก
ผลการคัดเลือคดีเอ็นเอสายผสมด้วยขนาด (Rapid size screening) จากโคลนีสีขาวที่
โคลนได้จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) และจากระบบบำบัด
น้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน



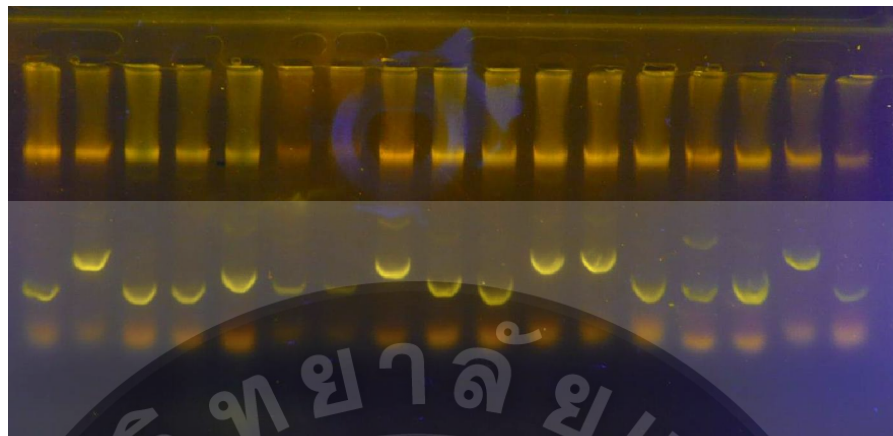




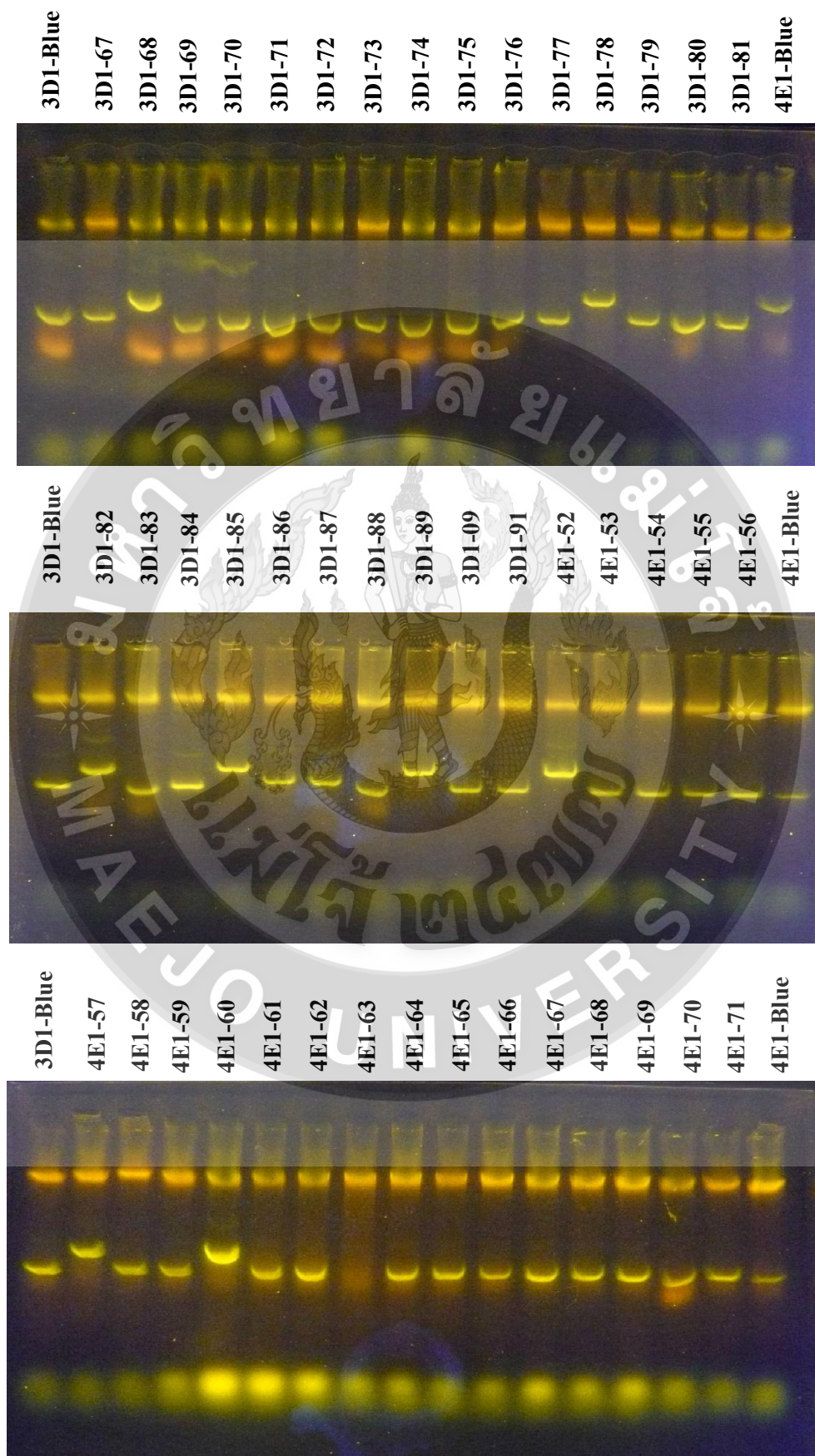
3D1-Blue
3D1-52
3D1-53
3D1-54
3D1-55
3D1-56
3D1-57
3D1-58
3D1-59
3D1-60
3D1-61
3D1-62
3D1-63
3D1-64
3D1-65
3D1-66
4E1-Blue

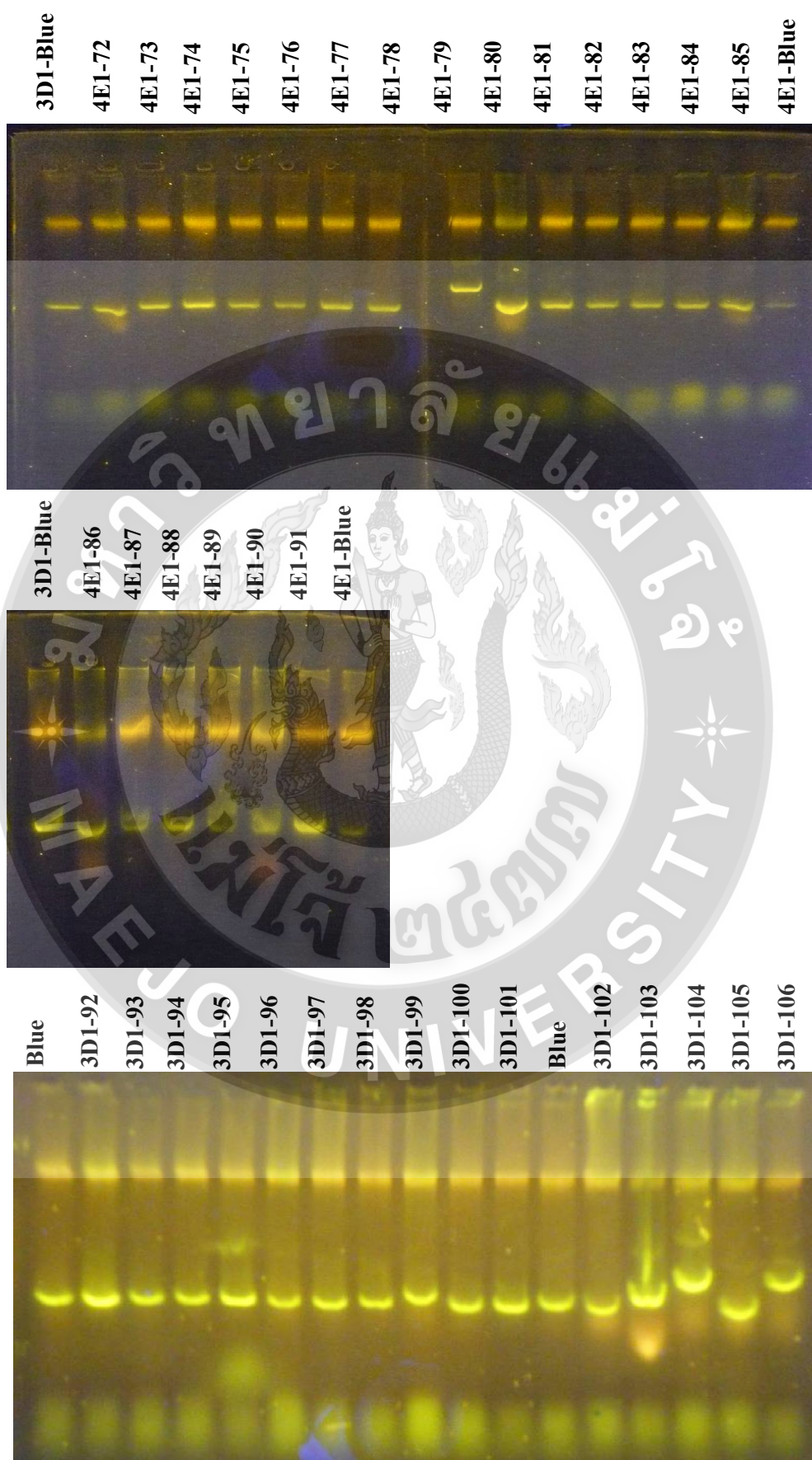


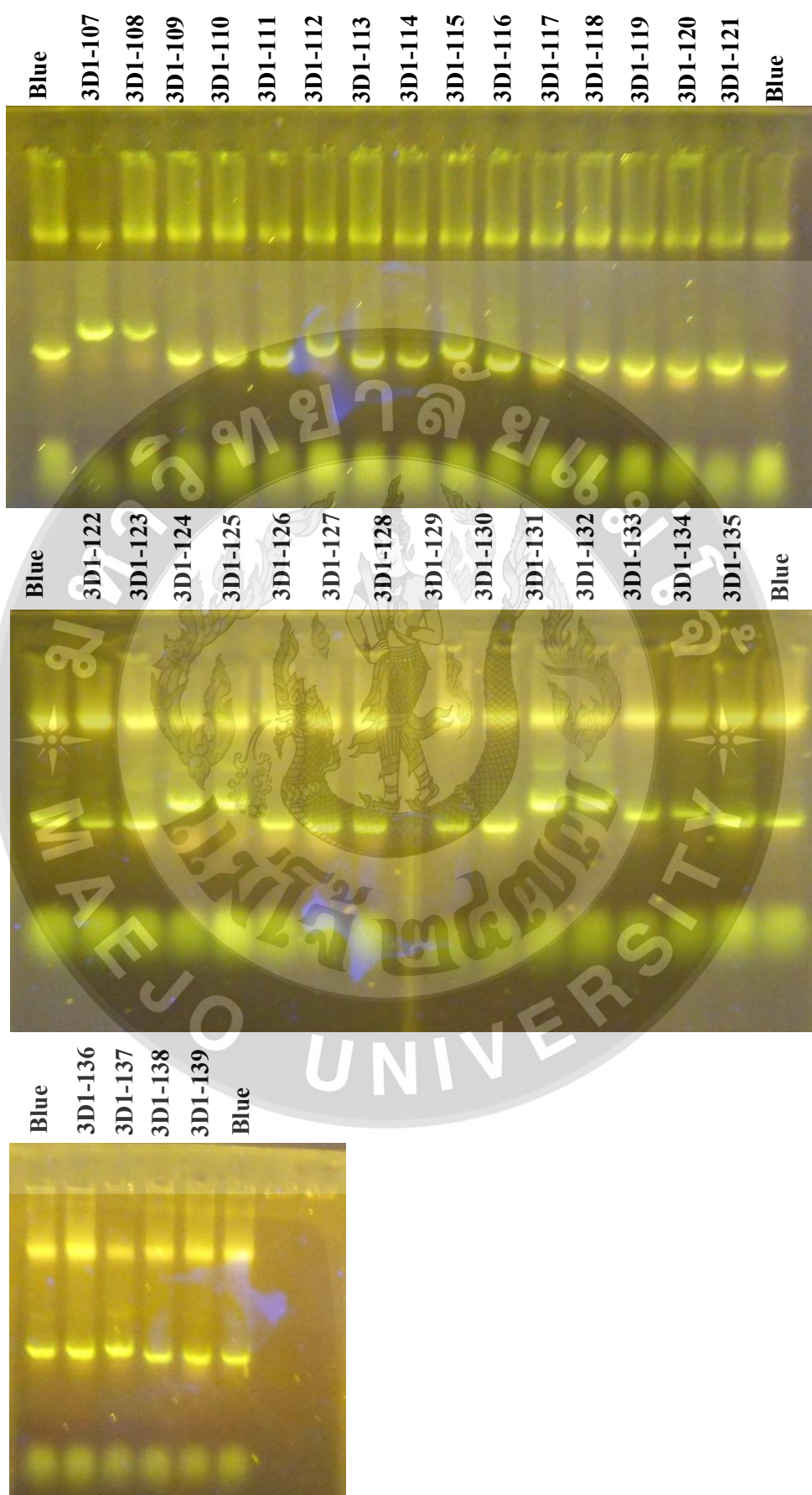
3D1-Blue
4E1-45
4E1-46
4E1-47
4E1-48
4E1-49
4E1-50
4E1-51
4E1-Blue

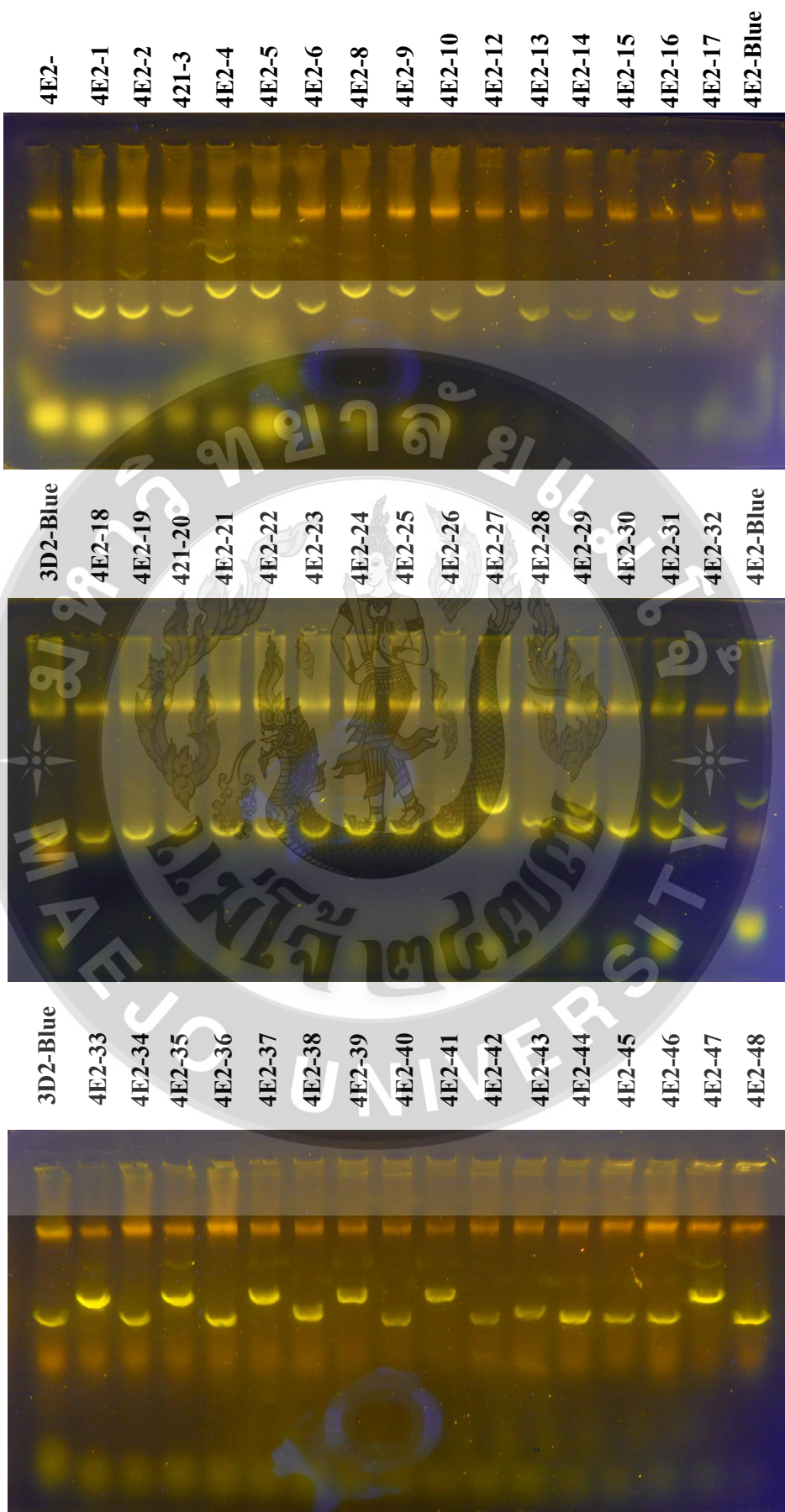


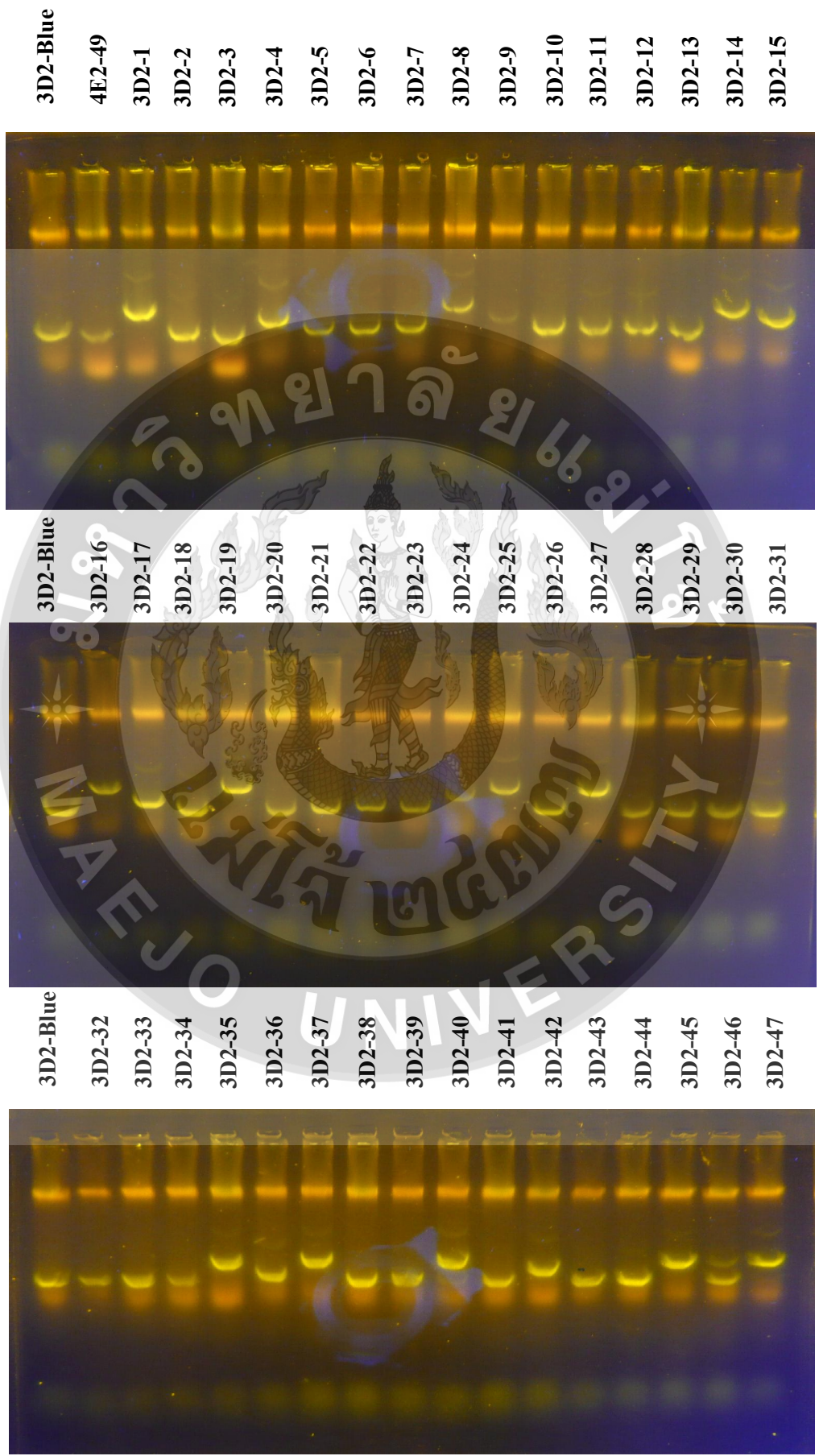
3D1-Blue
4E1-30
4E1-31
4E1-32
4E1-33
4E1-34
4E1-35
4E1-36
4E1-37
4E1-38
4E1-39
4E1-40
4E1-41
4E1-42
4E1-43
4E1-44
4E1-Blue



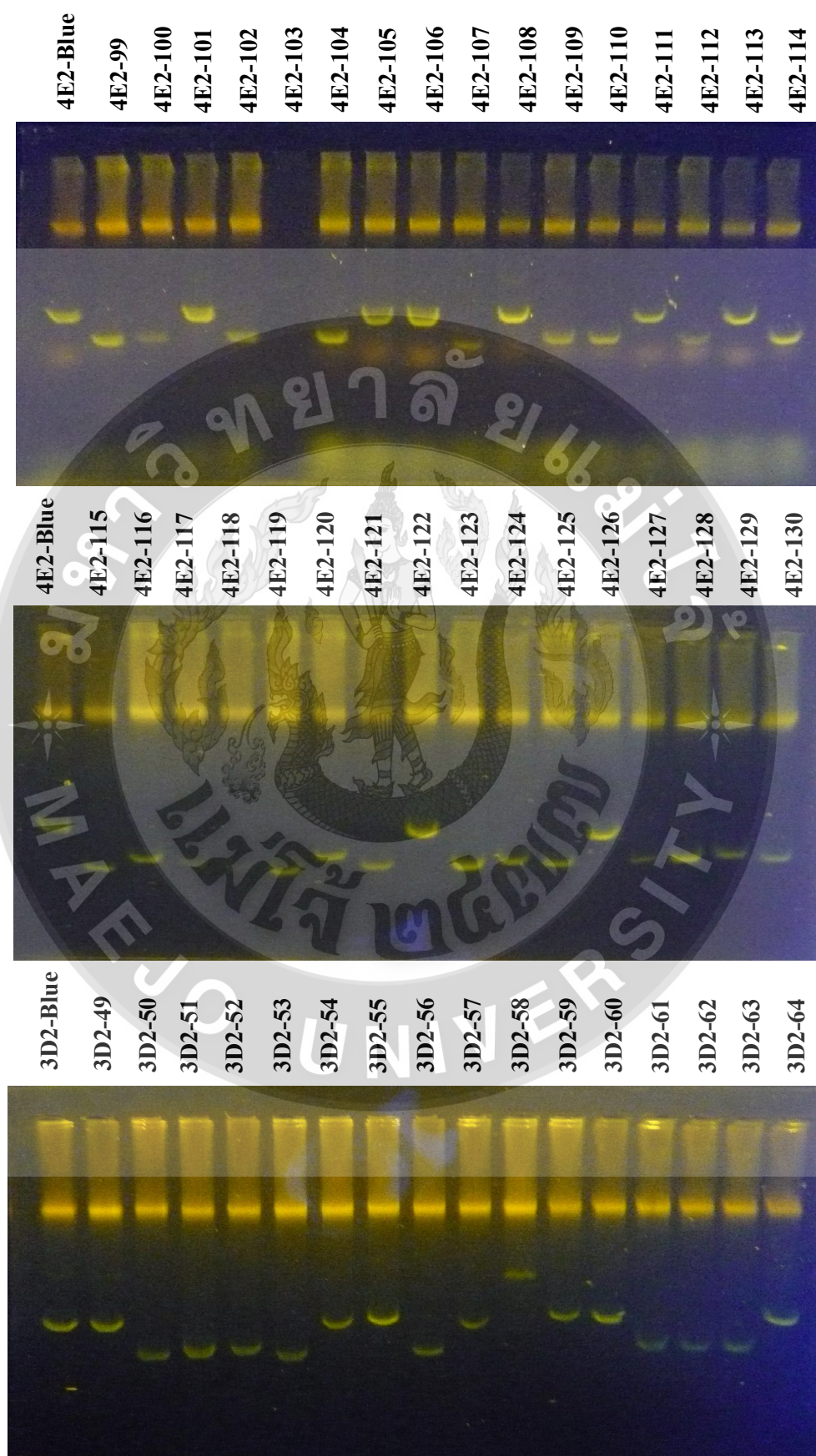


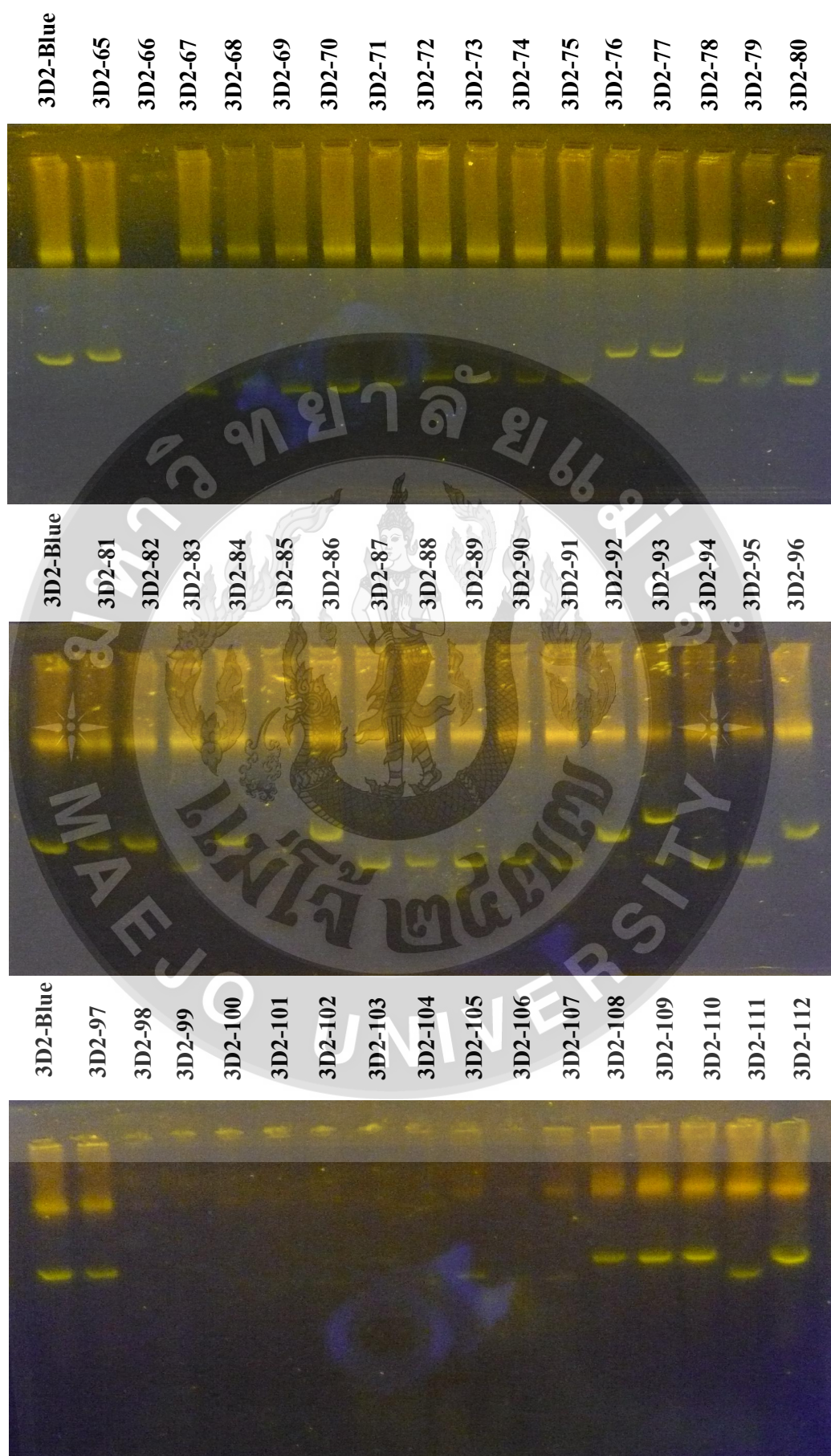


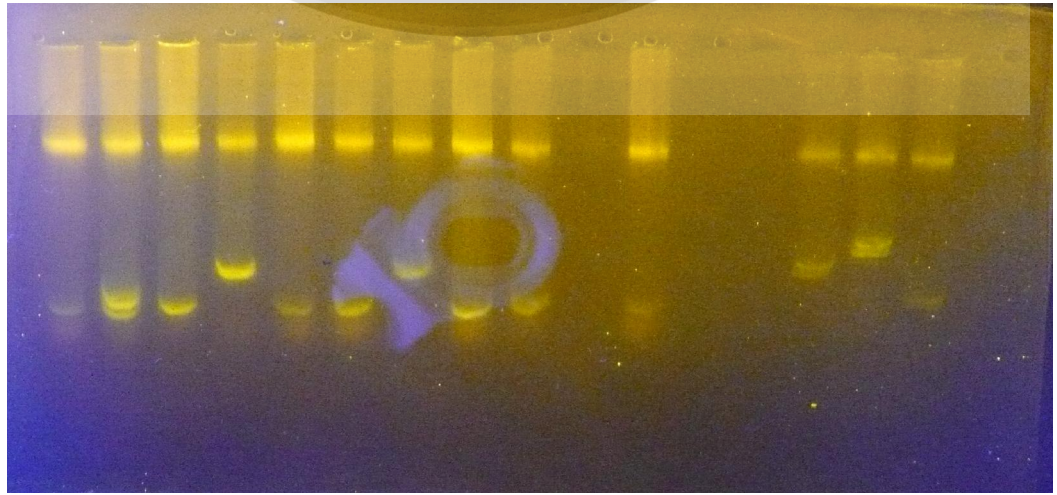




4E2-82	4E2-Blue	4E2-Blue	4E2-Blue
4E2-83	4E2-66	4E2-66	4E2-50
4E2-84	4E2-67	4E2-67	4E2-51
4E2-85	4E2-68	4E2-68	4E2-52
4E2-86	4E2-69	4E2-69	4E2-53
4E2-87	4E2-70	4E2-70	4E2-54
4E2-88	4E2-71	4E2-71	4E2-55
4E2-89	4E2-72	4E2-72	4E2-56
4E2-90	4E2-73	4E2-73	4E2-57
4E2-91	4E2-74	4E2-74	4E2-58
4E2-92	4E2-75	4E2-75	4E2-59
4E2-93	4E2-76	4E2-76	4E2-60
4E2-94	4E2-77	4E2-77	4E2-61
4E2-95	4E2-78	4E2-78	4E2-62
4E2-96	4E2-79	4E2-79	4E2-63
4E2-97	4E2-80	4E2-80	4E2-64
4E2-98	4E2-81	4E2-81	4E2-65



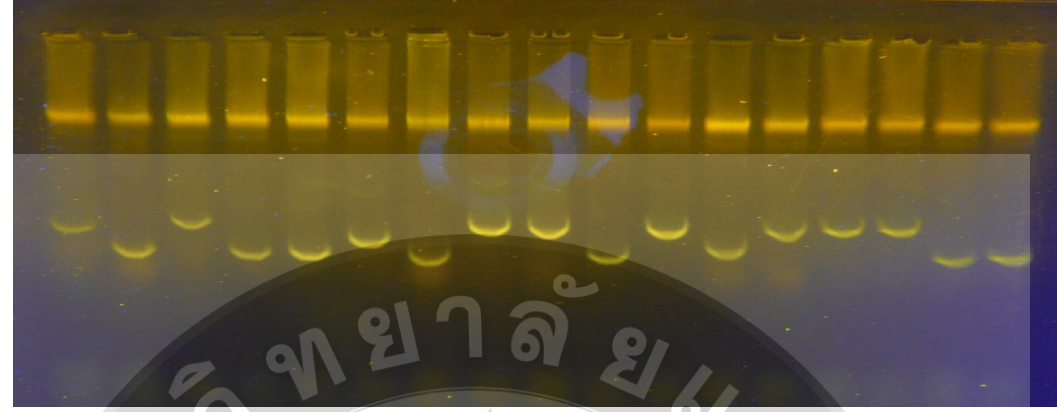




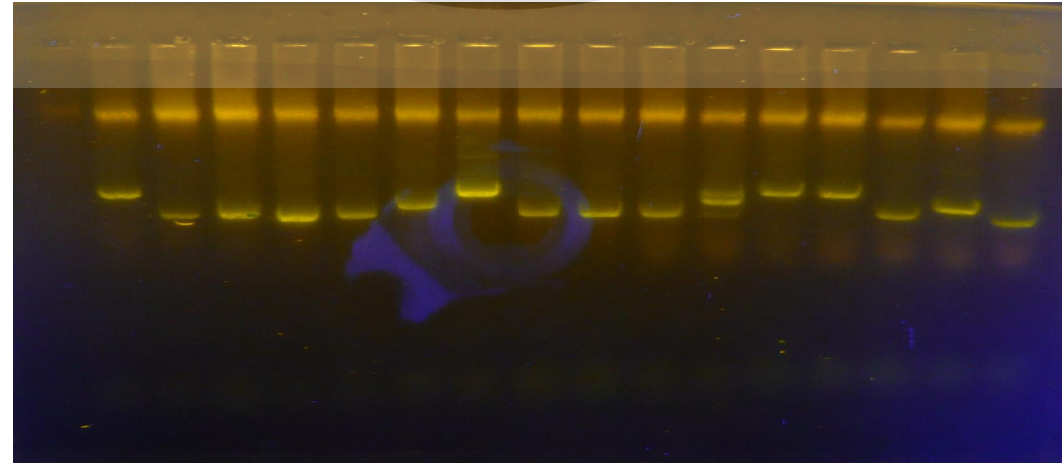
3D2-Blue
3D2-147
3D2-148
3D2-149
3D2-150
3D2-151
3D2-152
3D2-153
3D2-154
3D2-155
3D2-156
3D2-157
3D2-158
3D2-159
3D2-160
3D2-161
3D2-162



3D2-Blue
3D2-131
3D2-132
3D2-133
3D2-134
3D2-135
3D2-136
3D2-137
3D2-138
3D2-139
3D2-140
3D2-141
3D2-142
3D2-143
3D2-144
3D2-145
3D2-146



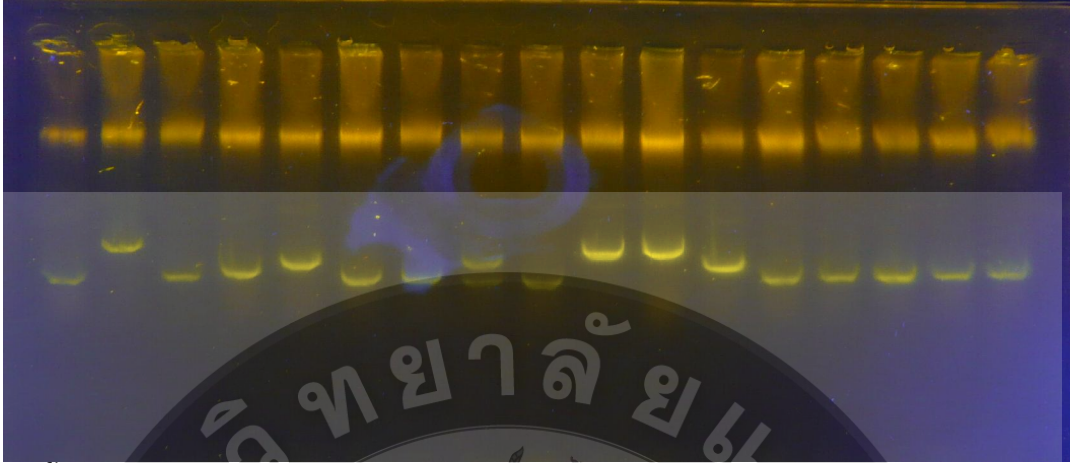
3D2-Blue
3D2-115
3D2-116
3D2-117
3D2-118
3D2-119
3D2-120
3D2-121
3D2-122
3D2-123
3D2-124
3D2-125
3D2-126
3D2-127
3D2-128
3D2-129
3D2-130



3D2-Blue
3D2-195
3D2-196
3D2-197
3D2-198
3D2-199
3D2-200
3D2-201
3D2-202
3D2-203
3D2-204
3D2-205
3D2-206
3D2-207
3D2-209
3D2-210
3D2-211



3D2-Blue
3D2-179
3D2-180
3D2-182
3D2-182
3D2-183
3D2-184
3D2-185
3D2-186
3D2-187
3D2-188
3D2-189
3D2-190
3D2-191
3D2-192
3D2-193
3D2-194



3D2-Blue
3D2-163
3D2-164
3D2-165
3D2-166
3D2-167
3D2-168
3D2-169
3D2-170
3D2-171
3D2-172
3D2-173
3D2-174
3D2-175
3D2-176
3D2-177
3D2-178

3D2-Blue

3D2-212

3D2-213

3D2-214

