



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ปรัชญาคุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
ปริญญา

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
สาขา

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ภาควิชา

เรื่อง การบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพพร้อมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

Treatment of Traditional Thai – Fermented Rice Noodle (Khanomjeen) Plant Wastewater by Effective Microorganism Together with Natural Treatment

นามผู้วิจัย นายชิษณุพงศ์ ประทุม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์นิพนธ์ ตั้งคณาภิรักษ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์สัญญา ลีวิทยาปกรณ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์คณิตา ตั้งคณาภิรักษ์, วท.ม.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุรัตน์ บัวเลิศ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพพร้อมกับ
การบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

Treatment of Traditional Thai – Fermented Rice Noodle (Khanomjeen) Plant Wastewater by
Effective Microorganism Together with Natural Treatment

โดย

นายชิษณุพงศ์ ประทุม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2557

ชัยณพงศ์ ประทุม 2557: การบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ ปรินญาปรัชญาคุณภูมิบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์นิพนธ์ ตั้งกษามรรักษ์, Ph.D. 167 หน้า

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการพัฒนา และหาสภาวะเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจาก โรงงานผลิตขนมจีน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ โดยการศึกษา แบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 คือการบำบัดน้ำเสียขั้นต้นด้วยเชื้อจุลินทรีย์จากการคัดแยกในน้ำเสียโรงงานผลิต ขนมจีน โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต และบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดความจุ 54 ลิตร และส่วนที่ 2 คือการบำบัดน้ำเสียขั้นสุดท้ายด้วยการบำบัดแบบธรรมชาติ โดยทดลองแบบปล่อยผ่านและแบบ ชังแช่ 5 วัน สลับแห้ง 2 วัน ในคอลัมน์แก้วที่บรรจุวัสดุปลูก (กรวด ทรายหยาบ ทรายละเอียด และดินผสมทราย ในสัดส่วน 1:3 โดยเรียงลำดับจากล่างขึ้นบน) และการบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาด เล็กในถังพลาสติกทรงกลมขนาดความจุ 30 ลิตร ร่วมกับการปลูกพืชบำบัด (หญ้าแฝกและกกกล่ม) ผลการศึกษา ในส่วนที่ 1 พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสจำนวน 9 สายพันธุ์ที่ได้จากการคัดแยกและจำแนกชนิดของ เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสีย เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสรหัส KJP3 และรหัส KJP8 จากจำนวน 9 สายพันธุ์ มีความสามารถสูงในการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสรหัส KJP3 และรหัส KJP8 มาทดสอบการบำบัดน้ำเสียในน้ำเสียสังเคราะห์ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม บาซิลลัสรหัส KJP8 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดชีโอดีเท่ากับร้อยละ 67.97 ± 0.02 สุดท้ายทำการพิสูจน์สาย พันธุ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA พบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสรหัส KJP8 มีความคล้ายคลึงกับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต พบว่า ที่ภาวะการปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสเท่ากับ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการ เจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในส่วนของการบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ แสดงให้ เห็นว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดชีโอดีเท่ากับร้อยละ 77.28 ± 3.16 ภายใต้สภาวะการเติมอากาศในอัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที ในส่วนที่ 2 ของการบำบัดน้ำเสีย ผลการศึกษาแสดง ให้เห็นว่า การบำบัดน้ำเสียแบบชังแช่ 5 วัน สลับแห้ง 2 วัน สามารถลดชีโอดีจาก 801.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 40.44 ± 14.44 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด และลดลงถึง 369.97 ± 28.89 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 4 ของการบำบัด นอกจากนี้การบำบัดแบบธรรมชาติร่วมกับการปลูกพืชบำบัด (หญ้าแฝกและกกกล่ม) ในการบำบัด น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพที่มีค่าชีโอดีเท่ากับ $1,082.60 \pm 259.04$ มิลลิกรัมต่อลิตร ผลปรากฏว่า พืชทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิผลการกำจัดชีโอดีใกล้เคียงกัน และมีประสิทธิภาพลดลงตามระยะเวลาของรอบการบำบัด ที่รอบที่ 8 ของการบำบัด (20 ลิตรต่อรอบ) ชีโอดีของน้ำทิ้งเกินกว่า 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าชีโอดีที่ กำหนดตามมาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อเปรียบเทียบกับบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการ บำบัดทางชีวภาพ ยังพบว่า ระบบบำบัดแบบธรรมชาติสามารถบำบัดได้เพียง 2 รอบเท่านั้น ดังนั้นการพัฒนา ระบบบำบัดนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนต่อไปได้

Chitsanuphong Pratum 2014: Treatment of Traditional Thai – Fermented Rice Noodle (Khanomjeen) Plant Wastewater by Effective Microorganism Together with Natural Treatment. Doctor of Philosophy (Environmental Science), Major Field: Environmental Science, Department of Environmental Science.

Thesis Advisor: Associate Professor Nipon Tungkananuruk, Ph.D. 167 pages.

The purpose of this study was to develop and determine an optimum condition of wastewater treatment from traditional Thai – fermented rice noodle plant using isolated effective microorganism together with natural treatment. This study was divided into 2 phases. The 1st phase was primary wastewater treatment using isolated microorganism from traditional Thai – fermented rice noodle plant wastewater by determining an optimum culture condition and biological wastewater treatment in bioreactor size 54 L. The 2nd phase was secondary wastewater treatment using natural treatment by the continuous flow condition and 5-days stagnation and 2-days releasing condition experiments were performed in glass column which packing with growing materials (gravel, coarse sand fine sand, and mixed soil and sand in ratio 1:3 from bottom to top) and the filtrated lysimeter technique was conducted in plastic tank size 30 L with growing treatment plants (vetiver grass and sedge). The results from 1st phase, it was found that nine *Bacillus* strains predominantly outgrown in wastewater were isolated and characterized. The isolated KJP3 and KJP8 from nine *Bacillus* strains were high degradation soluble starch on agar plates. After that, the isolated KJP3 and KJP8 were quantitatively tested for wastewater treatment in the artificial wastewater. The results revealed that the isolated KJP8 had the highest efficiency of COD removal at 67.97 ± 0.02 %. Finally, analysis of 16S rDNA gene sequence revealed that the isolated KJP8 had high homology to *Bacillus subtilis* with 100% similarity. For the optimum culture condition found that at pH 6.0 and monosodium glutamate 0.1 g per 100 ml of wastewater can be stimulated growth of *Bacillus subtilis* KJP8. In case of, wastewater treatment in bioreactor showed that *Bacillus subtilis* KJP8 had the highest efficiency of COD removal at 77.28 ± 3.16 % under aeration condition in flow rate 2 liter/min. The 2nd phase of wastewater treatment, the results revealed that the 5-days stagnation and 2-days releasing could be reduced COD from 801.60 to 40.44 ± 14.44 mg/l at the 1st treatment cycle and decreased to 369.97 ± 28.89 mg/l at the 4th treatment cycle. Furthermore, the natural treatment with growing types of treatment plants (vetiver grass and sedge) were investigated to treat bio-treatment wastewater which COD value $1,082.60 \pm 259.04$ mg/l. The results revealed that both plants gave nearly effective to remove COD and efficiency decreased follow to period of treatment cycles. At the 8th cycle of treatment (20 L/cycle), COD of effluent exceeded 400 mg/l which the limitation COD value of industrial effluent standard. Moreover, the treatment of real traditional Thai – fermented rice noodle plant wastewater by the natural treatment system was performed in order to compare. It was found that this system could treat only 2 cycles. Therefore, this developing treatment could be considered to apply for traditional Thai – fermented rice noodle plant wastewater treatment.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาทางวิชาการของ รองศาสตราจารย์ ดร.นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร.สัญญา สิริวิทยาปกรณ์ และ รองศาสตราจารย์คณิตา ตังคณานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยให้คำปรึกษา แนะนำ แนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ลุล่วงไปได้ ด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์อิทธิพล ราศรีเกียรติ ประธานการสอบ วิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.สมชาย เอื้อพิพัฒน์กุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์แก่วิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องตามหลักวิชาการยิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่อุดหนุนทุน การวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี พ.ศ. 2557 จึงทำให้การวิจัยนี้สำเร็จสมบูรณ์ลงได้ด้วยดี

ในการศึกษาระดับปริญญาเอกนี้ ข้าพเจ้าได้รับโอกาสอันยิ่งใหญ่จากทางคณะ สิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ข้าพเจ้าจึงขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กัมปนาท ภัคดีกุล คณบดี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิพงษ์ ดิลกวนิช ที่ปรึกษาคณบดี รองศาสตราจารย์ ดร.กิติกร จามรดุสิต ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราพร ขำโสภา รองคณบดี รองศาสตราจารย์ ดร.นาฏสุดา ภูมิจางค์ พิสิรินพัชร จามรดุสิต หัวหน้า งาน และพีชดินธร มูลทองน้อย หัวหน้าหน่วยห้องปฏิบัติการ และคลินิกสิ่งแวดล้อม ที่ให้การ สนับสนุนด้านการลาศึกษาต่อ ตลอดจน รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจภรณ์ ประภักดี ที่ช่วยเหลือ ในเรื่องเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการทำวิทยานิพนธ์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในคณะสิ่งแวดล้อม และทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่มีส่วนช่วยในการศึกษาครั้งนี้

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณอำนาจแห่งคุณพระศรีรัตนตรัย คุณบารมีขององค์หลวง พ่อวัดไร่จิง ตลอดจนครอบครัวอันเป็นที่รักยิ่งของข้าพเจ้า ขอมอบคุณความดี และประโยชน์อันพึง มีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้แด่คุณพ่อสถิตย์ ประทุม คุณแม่มาลี ประทุม นางสาวศุภิดา บุญนุช รวมถึง ญาติพี่น้องทุกท่านที่เข้าใจ และได้ให้กำลังใจอันดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

ชิษณุพงศ์ ประทุม

ตุลาคม 2557

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	69
อุปกรณ์	69
วิธีการ	75
ผลและวิจารณ์	90
สรุปและข้อเสนอแนะ	129
สรุป	129
ข้อเสนอแนะ	133
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	134
ภาคผนวก	146
ภาคผนวก ก สารละลายเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	147
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐาน ใช้คำนวณหาปริมาณแบคทีเรียที่เหลือจากการย่อยสลาย ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	152
ภาคผนวก ค ข้อมูลผลการทดลอง	154
ภาคผนวก ง ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA	160
ภาคผนวก จ ข้อมูลทางสถิติ การกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนใน ถึงปฏิบัติการชีวภาพ	162
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	167

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนในจังหวัดต่างๆ	17
2	ความแตกต่างระหว่างเซลล์แบบโปรคาริโอต และยูแคริโอต	19
3	ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมที่มีค่าความชื้นแตกต่างกัน	31
4	ประสิทธิภาพในการบำบัดของเสียโดยอิงตามธรรมชาติ	51
5	กลไกการบำบัดของเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์	55
6	ปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นทั้งหมดในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์	56
7	สารอาหารชนิดต่างๆ ที่ใช้ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	83
8	คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา	93
9	ความกว้างของวงใสรอบโคโลนีที่บ่งชี้ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	98
10	ร้อยละการกำจัดชีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	100
11	ร้อยละการย่อยสลายแป้งของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	108
12	ร้อยละการกำจัดชีโอดีของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	110
13	ร้อยละการกำจัดชีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน	113
14	คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนก่อนและหลังการปล่อยผ่าน	115
15	ผลของชีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง	117
16	pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยการขังแช่สลับแห้ง	119
17	ความเค็มในน้ำเสียที่บำบัดด้วยการขังแช่สลับแห้ง	121
18	ผลของชีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับพืชบำบัดน้ำเสีย	123
19	pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก	125
20	ความเค็มในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก	127

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ค1	การกำจัดชีโอดีของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่คัดแยกได้	155
ค2	ผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	155
ค3	ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	155
ค4	ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	156
ค5	ผลของสารอาหารต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	156
ค6	ค่าการดูดกลืนแสงในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	157
ค7	ค่าการย่อยสลายแป้ง (กรัม) ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	158
ค8	ผลของชีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียสังเคราะห์	158
ค9	ผลของชีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจลิน	159

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของอะไมโลส	7
2	โครงสร้างของอะไมโลเพคติน	8
3	กรรมวิธีการผลิตขนมจีนพร้อมทั้งแสดงปริมาณน้ำทิ้ง และค่าพีเอชใน ขั้นตอนการผลิต	13
4	กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ภายใต้ สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน	14
5	กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	15
6	ลักษณะน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน นิคมขนมจีน จังหวัดฉะเชิงเทรา	16
7	ลักษณะโครงสร้างเซลล์เชื้อจุลินทรีย์	18
8	กระบวนการสร้างแผ่นฟิล์มชีวภาพ	23
9	ลักษณะของแถบเชื้อจุลินทรีย์	24
10	ผลของระดับอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	25
11	ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ตามความต้องการของออกซิเจน	26
12	ลักษณะการเกิด Plasmolysis ของเชื้อจุลินทรีย์	29
13	การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Non – halophile, Halophile และ Extreme halophile	30
14	ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มประชากรเดียวกัน	33
15	ลักษณะความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์	37
16	ผลของสารอินทรีย์ในน้ำเสียต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณออกซิเจน และสารอาหาร	40
17	ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในระบบเลี้ยงตะกอน	46
18	ระดับความลึกของชั้นดิน (ฟุต) ต่อประสิทธิภาพการบำบัดสารมลพิษในน้ำเสีย	48
19	ระบบบำบัดน้ำเสียแบบอัตราการซึมผ่านช้า	49
20	ระบบบำบัดน้ำเสียแบบอัตราการซึมผ่านเร็ว	50
21	ระบบบำบัดน้ำเสียแบบน้ำไหลนอง	50
22	พื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ	52

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ชั้นกรองของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์	53
24	ลักษณะการเกิดสภาพออกซิเจนเป็นฟิล์มบางๆ รอบรากพืชโคล่าพื้นน้ำ	59
25	พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลท่วมผิวชั้นกรองอย่างอิสระ	60
26	พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน	61
27	พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวตั้ง	62
28	อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	64
29	ขั้นตอนการทำงานของระบบบำบัดแบบ micro-aerobic SBR	66
30	การทำงานของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่น้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน	68
31	ลักษณะถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และเครื่องเติมอากาศ	86
32	ลักษณะถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และเครื่องกวนผสม	86
33	ลำดับขั้นการบรรจุวัสดุปลูกลงในคอลัมน์แก้ว	88
34	ถังจำลองระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติในหน่วยทดลองขนาดเล็ก	89
35	ลักษณะการบำบัดน้ำเสียในหน่วยทดลองขนาดเล็ก	89
36	กระบวนการผลิตแป้งหมัก ณ โรงงานที่ทำการศึกษา	90
37	กระบวนการผลิตเส้นขนมจีน ณ โรงงานที่ทำการศึกษา	91
38	ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา	92
39	น้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ไม่มีการบำบัด และถูกปล่อยสู่ลำคลองสาธารณะ	93
40	ลักษณะการงอกของเอนโดสปอร์ในเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	95
41	เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 1	96
42	เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 2	96
43	เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 3	97
44	ลักษณะวงใสรอบโคโลนีที่เกิดจากการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช	98
45	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	100
46	การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ที่ pH ระดับต่างกัน	102
47	การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ที่ความเค็มระดับต่างกัน	103
48	การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ที่อุณหภูมิต่างกัน	104

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
49	การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ที่สารอาหารต่างชนิดกัน	105
50	อัตราการเจริญเติบโต (พิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสง) ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ต่อระยะเวลา (ชั่วโมง)	107
51	ประสิทธิภาพการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ต่อระยะเวลา (ชั่วโมง)	108
52	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8 ต่อระยะเวลา (วัน)	110
53	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยการบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศและแบบไร้อากาศในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต่อระยะเวลา (วัน)	112
54	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียด้วยการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับบ้างต่อระยะเวลา (วัน)	116
55	ผลของ pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยการขังแช่สลับบ้างต่อระยะเวลา (วัน)	118
56	ผลของความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดแบบขังแช่สลับบ้างต่อระยะเวลา (วัน)	120
57	ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)	122
58	ผลของ pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)	124
59	ผลของความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)	126
60	การตอบสนองของพืชบำบัดที่ใช้ในการทดลอง	128

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ข1	กราฟมาตรฐานใช้กำหนดหาปริมาณแป้งที่เหลือจากการย่อยสลายของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	153
ง1	ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	161

การบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับ การบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

Treatment of Traditional Thai – Fermented Rice Noodle (Khanomjeen) Plant Wastewater by Effective Microorganism Together with Natural Treatment

คำนำ

ปัจจุบันปัญหาหลักของปล่อยน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดของโรงงานผลิตอาหารอยู่ในภาวะที่รุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงงานผลิตอาหารขนาดเล็ก เนื่องจากขาดการบำบัดน้ำเสียอย่างถูกต้อง ขาดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสีย และขาดผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางในการควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย ตลอดจนขาดเงินทุนในการจัดการระบบบำบัด จึงทำให้โรงงานผลิตอาหารใช้วิธีการลักลอบปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ จนกลายเป็นปัญหาความขัดแย้งระหว่างผู้ประกอบการโรงงานผลิตอาหารกับชุมชนที่อาศัยอยู่ใกล้เคียง ซึ่งต้องการการแก้ไขอย่างเร่งด่วน วิธีการบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้กันในปัจจุบันมีอยู่หลากหลายวิธี ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสีย อาทิเช่น ระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง (activated sludge) แบบสระเติมอากาศ (aerated lagoon) และแบบคลองเวียน (oxidation pond) เป็นต้น แต่ส่วนใหญ่ระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าว ต้องใช้เงินทุนในการก่อสร้าง และการจัดการระบบบำบัด ตลอดจนยังพบปัญหาเรื่องพื้นที่ในการก่อสร้างระบบบำบัดน้ำเสียนั้นๆ ซึ่งต้องใช้พื้นที่มากพอสมควรจึงทำให้การบำบัดน้ำเสียเกิดประสิทธิภาพสูงสุดอย่างที่เราควรจะเป็น จึงเป็นการยากที่โรงงานผลิตอาหารขนาดเล็กจะปฏิบัติตามได้ ทำให้ปัญหาการลักลอบปล่อยน้ำเสียยังคงดำเนินอยู่ และนับวันยิ่งทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ ถึงแม้มีการออกกฎหมายเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำจากน้ำเสียที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะของภาครัฐเข้ามากำกับดูแลก็ตาม

โรงงานผลิตขนมจีน ถือเป็นโรงงานผลิตอาหารประเภทหนึ่งที่ ณ ปัจจุบันมีทั้งโรงงานขนาดเล็กจนถึงโรงงานขนาดใหญ่กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย เนื่องจากขนมจีนเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย รสชาติถูกปากคนไทย อีกทั้งการผลิตไม่มีความยุ่งยากซับซ้อน (พจนีย์, 2550) ในส่วนของกระบวนการผลิต พบว่า โรงงานผลิตขนมจีน มีการใช้น้ำเป็นจำนวนมากโดยอยู่ระหว่าง 9.85 ถึง 47.08 ลูกบาศก์เมตรต่อตันผลิตภัณฑ์ สำหรับขั้นตอนที่มีการใช้น้ำมากเกินความจำเป็น คือ ขั้นตอนการล้างเส้นขนมจีน ซึ่งอยู่ระหว่าง 3.42 ถึง 37.22 ลูกบาศก์เมตร

ต่อต้านผลิตภัณฑ์ หรือคิดเป็นร้อยละ 32.97 ถึง 56.32 ของการใช้น้ำทั้งหมด (กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2549) จากปริมาณการใช้น้ำของกระบวนการผลิตขนมเงินข้างต้น ก่อให้เกิดปริมาณน้ำเสียเป็นจำนวนมากตามมาอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ซึ่งน้ำเสียถือเป็นปัญหามลพิษหลักของโรงงานผลิตขนมเงิน โดยลักษณะน้ำเสียมีบีโอดีสูงถึง 23,200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Siripattanakul – Ratpukdi, 2012) และยังพบว่า โรงงานผลิตขนมเงิน เป็นโรงงานที่ก่อให้เกิดปัญหาด้านกลิ่นรบกวน ปัญหาความเน่าเสียของน้ำอย่างรุนแรง และปัญหาด้านสุขาภิบาล (วรพจน์, 2550)

การทำให้งานผลิตขนมเงิน โดยเฉพาะ โรงงานผลิตขนาดเล็กที่อยู่ร่วมกับชุมชนใกล้เคียง ได้อย่างไม่มีปัญหานั้น น้ำเสียที่เกิดจากโรงงานจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสียอย่างถูกต้อง และเหมาะสมก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ผู้วิจัยจึงต้องการพัฒนา และหาสถานะเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมเงิน ด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพบำบัดน้ำเสียร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ ซึ่งส่งผลให้การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมเงินมีประสิทธิภาพเทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับระบบบำบัดน้ำเสียทั่วไปที่มีใช้กันในปัจจุบัน แนวทางในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพบำบัดน้ำเสีย คือ การค้นหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโต และย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมเงิน โดยศึกษา ชนิด และสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมเงิน คัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสีย ตลอดจนศึกษาสถานะที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย ทั้งยังมุ่งเน้นการเพิ่มคุณภาพน้ำทิ้งของโรงงานผลิตขนมเงินให้สามารถปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะได้อย่างปลอดภัยมากยิ่งขึ้น โดยทำการบำบัดน้ำเสียร่วมกับการบำบัดแบบธรรมชาติ ซึ่งแบ่งศึกษาออกเป็น การบำบัดแบบปล่อยน้ำเสียผ่านชั้นวัสดุปลูก และการขังน้ำเสียในวัสดุปลูกเป็นเวลา 5 วัน สลับกับการปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 2 วัน ในคอลัมน์แก้ว และการบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับการปลูกพืชบำบัด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการบำบัดน้ำเสียขั้นต้นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจากการคัดแยกจากน้ำเสียโรงงานผลิตขมจีน
2. เพื่อศึกษาการบำบัดน้ำเสียขั้นสุดท้ายด้วยการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ
3. เพื่อศึกษาการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

การตรวจเอกสาร

1. ขนมหุ้น

1.1 ประวัติความเป็นมา

ขนมหุ้น หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้งข้าวเจ้า หรือข้าวเจ้ากลึงที่ผ่านการหมัก หรือไม่หมักก็ได้ และยังสามารถทำได้จากแป้งขนมหุ้นสำเร็จรูป โดยอาจมีการผสมส่วนประกอบอื่น เช่น ไข่ขาว คอกอัญชัน จากนั้นนำไปนวด โรยเป็นเส้นในน้ำเดือด ช้อนเส้นที่สุกแล้วใส่ในน้ำเย็น นำขึ้น แล้วจับเรียงหรือทำเป็นรูปร่างตามต้องการ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547)

การผลิตขนมหุ้นในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่เมื่อใดไม่มีหลักฐานแน่ชัด แต่ปรากฏหลักฐานเกี่ยวกับขนมหุ้นได้เริ่มมีมาตั้งแต่สมัยกรุงรัตนโกสินทร์ตอนต้นในแผ่นดินสมเด็จพระพุทธยอดฟ้าจุฬาโลก ซึ่งมีการทำขนมหุ้นเลี้ยงเป็นงานใหญ่ ต่อมาในแผ่นดินสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัวก็มีการกล่าวถึงขนมหุ้นกันอีก โดยพระบาทสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัวรับสั่งว่าขนมหุ้นมิใช่เป็นของชาวจีนเพียงแต่ชื่อเป็นจีนเท่านั้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แน่ใจว่าเป็นของคนไทยทำ (ณรงค์, 2528)

คำว่า จีน ที่ต่อท้ายขนมนี้สันนิษฐานกันว่าน่าจะมาจากมอญ ซึ่งเรียกขนมหุ้นว่า คนอมจีน หมายถึง สุก 2 ครั้ง คนมอญหรือรามัญ เรียกขนมหุ้นว่า คนอมจีน คนอม หมายถึงความว่าการจับกันเป็นกลุ่มเป็นก้อน จีน แปลว่าทำให้สุก นอกจากนี้คำว่า คนอม นั้นสันนิษฐานว่า น่าจะใกล้เคียงกับคำไทย คือ เข้าหนม แปลว่า ข้าวที่นำมานวดให้เป็นแป้งเสียก่อน ซึ่งภายหลังกร่อนเป็นคำว่า ขนม ซึ่งความหมายดั้งเดิมไม่ใช่ของหวานอย่างที่เข้าใจในปัจจุบัน คำว่า ขนม หรือ หนม ในภาษาเขมร หรือคำว่า คนอม ในภาษามอญ หมายถึง อาหารที่ทำจากแป้ง ดังนั้น ขนมหุ้น จึงน่าจะเพี้ยนมาจาก คนอมจีน ซึ่งทำให้เกิดสมมุติฐานตามมามากกว่า ดั้งเดิมขนมหุ้นเป็นอาหารมอญ แล้วแพร่หลายไปสู่ชนชาติอื่นๆ ในสุวรรณภูมิตั้งแต่โบราณกาล (นิรนาม, 2555)

1.2 ชนิดของขนมจีน

คลินิกเทคโนโลยีราชวมงคลสุรินทร์ (2552) ได้แบ่งประเภทของขนมจีนตามชนิดของแป้งที่ใช้ในการผลิต โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

1.2.1 ขนมจีนแป้งหมัก

ผลิตจากแป้งขนมจีนที่ได้จากการหมักข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า โดยทำการหมัก 2 ถึง 3 วัน ก่อนนำมาโม่แล้วทำเป็นขนมจีน ขนมจีนชนิดนี้มีความเหนียว สีคล้ำเล็กน้อย มีกลิ่นหมัก และสามารถเก็บไว้ได้นาน นิยมบริโภคในทางภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1.2.2 ขนมจีนแป้งสด

ผลิตจากแป้งขนมจีนที่ไม่ผ่านกระบวนการหมักข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า ซึ่งในการผลิตจะทำการแช่น้ำหรือล้างข้าวเจ้า ก่อนนำมาโม่แล้วทำเป็นขนมจีน โดยขนมจีนชนิดนี้ไม่มีความเหนียวของเส้น และเก็บไว้ไม่ได้นาน นิยมบริโภคทางภาคใต้ ส่วนทางภาคอื่นๆ นิยมบ้างแต่น้อยกว่าขนมจีนแป้งหมัก

1.3 วัตถุดิบในการผลิตขนมจีน

สิ่งที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของเส้นขนมจีน คือ วัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิต ซึ่งมีผลต่อคุณภาพทางด้านลักษณะทางกายภาพของเส้นขนมจีน แบ่งออกได้ดังนี้

1.3.1 ข้าว

นิยมใช้ข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า ที่มีอายุเก็บมากกว่า 6 เดือน แต่ไม่เกิน 1 ปี หรือที่เรียกกันว่าข้าวเก่า ถ้าใช้ข้าวใหม่ที่มีอายุเก็บไม่ถึง 6 เดือน เมื่อนำมาผลิตเป็นขนมจีนจะทำให้เส้นขนมจีนมีลักษณะนิ่มและ เส้นเกาะติดกันมาก และได้ปริมาณน้อยกว่าการใช้ข้าวเก่าในการผลิต แต่ถ้าใช้ข้าวที่มีอายุมากกว่า 1 ปี จะได้เส้นขนมจีนที่แข็งกระด้างร่วน ไม่มีความเงามัน ข้าวที่นิยมใช้ผลิตเป็นเส้นขนมจีน คือ ข้าวเหลืองอ่อน ข้าวนางพระยา ข้าวปิ่นแก้ว และควรเป็นข้าวที่ปลูกบนที่ดอน ซึ่งเป็นดินทรายจะให้ผลิตภัณฑ์ขนมจีนที่มีคุณภาพดีกว่าข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม (ณรงค์, 2528) ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวโดยทั่วไป มีดังนี้

ก. เปลือกนอกหรือแกลบ (Hull) เป็นส่วนที่หุ้มอยู่ภายนอก ช่วยป้องกันเมล็ดจากการทำลายภายนอก

ข. ส่วนที่บริโภคได้หรือข้าวกล้อง (Calyopsis, Brown Rice, Dehulled Rice, Husked Rice หรือ Cargo Rice) สามารถแบ่งออกเป็นชั้นต่างๆ ดังนี้

1. เยื่อหุ้มผล (Pericarp) เป็นผิวนอกของข้าวกล้องพัฒนาจากผนังรังไข่ของดอกข้าว หนาประมาณ 10 ไมครอน และมีท่ออาหารอยู่ทางด้านหลัง (dorsal) ของเมล็ด อาจมีสารสี เช่น ข้าวแดง หรือ ข้าวเหนียวดำ

2. เยื่อหุ้มเมล็ด (Seed Coat หรือ Tegment) เป็นเซลล์ชั้นเดียวหนาประมาณ 0.5 ไมครอน ส่วนนี้อุดมด้วยโปรตีน ไขมัน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส

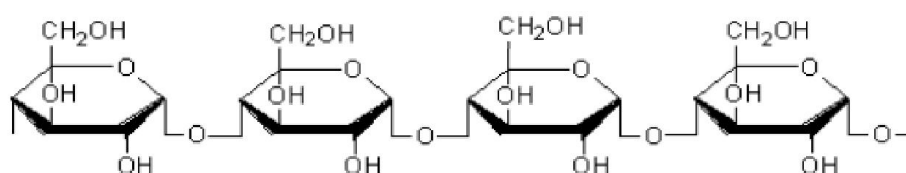
3. ชั้นแอลูโรน (Aleurone Layer) ประกอบด้วยเซลล์ 1 ถึง 7 ชั้น ข้าวเมล็ดสั้นและป้อม มักมีจำนวนชั้นแอลูโรนมากกว่าเมล็ดเรียวยาว และภายในเมล็ดเดียวกัน ด้านหลังของเมล็ดที่ตรงข้ามกับคัพภะ (embryo หรือ germ) มักมีจำนวนชั้นของแอลูโรนมากกว่าด้านท้องของเมล็ด ภายในเซลล์แอลูโรนอุดมด้วยโปรตีน และไขมัน ผนังเซลล์ประกอบด้วยโปรตีน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นเมื่อบริโภคข้าวกล้องจึงรู้สึกระคายกว่าข้าวสารขัดสี

4. คัพภะ (Embryo) มีขนาดเล็กมากอยู่ตรงปลายของเมล็ดด้านข้าง ส่วนนี้จะเจริญเป็นต้นอ่อนต่อไป ภายในคัพภะอุดมไปด้วย โปรตีน ไขมัน ในส่วนเยื่อแอลูโรนและคัพภะซึ่งอุดมไปด้วย วิตามิน เช่น ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไทอะมิน (thiamin) และไนอะซิน (niacin)

5. เอนโดสเปิร์ม (Endosperm) คือ ส่วนที่เป็นข้าวสาร เป็นส่วนคาร์โบไฮเดรต มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบหลัก เม็ดสตาร์ชมีลักษณะเป็นทรงหลายเหลี่ยม ขนาด 3 ถึง 9 ไมครอน อยู่รวมกันเป็นกลุ่มสตาร์ช ระหว่างเมล็ดสตาร์ชจะมีกลุ่มโปรตีนแทรกอยู่ ส่วนประกอบของสตาร์ชจากข้าวประกอบด้วยกลูโคส โพลีเมอร์ต่อกัน โดยสูญเสียโมเลกุลน้ำซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

- อะไมโลส (Amylose) เป็นโครงสร้างกลูโคสที่ต่อกันเป็นสายยาว ประมาณ 1,000 ถึง 6,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α - 1, 4 - glycosidic linkage ที่อะตอม

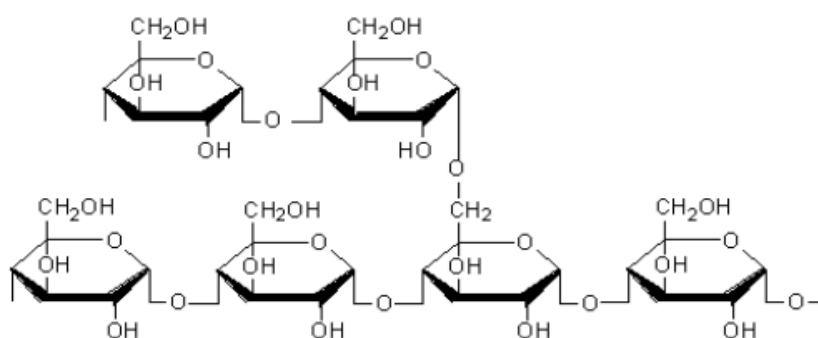
ออกซิเจนบน C1 และ C4 ดังภาพที่ 1 อาจพบกิ่งก้านสาขาในโมเลกุลของอะไมโลสได้บ้างในปริมาณเล็กน้อย อะไมโลสเมื่อเชื่อมต่อกับไอโอดีนจะมีสีน้ำเงิน เมื่อต้มสุกในน้ำเดือดและทำให้เย็น จะเกิดกระบวนการคืนตัวเป็นของแข็ง (retrogradation) ขึ้น ทำให้ละลายน้ำได้ลดลง มีผลทำให้ข้าวสุกร่วน และกระด้างมากขึ้น แป้งที่มีสายของอะไมโลส ยาวมากจะมีแนวโน้มในการคืนตัวเป็นของแข็ง (retrogradation) ลดลง (Hizukuri, 1988) ในข้าวเจ้าจะประกอบด้วยส่วนอะไมโลสประมาณร้อยละ 8 ถึง 30 ของปริมาณสตาร์ชทั้งหมด ส่วนที่เหลือจะเป็นส่วนของอะไมโลเพกติน



ภาพที่ 1 โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา: Juliano (1978)

- อะไมโลเพกติน (Amylopectin) เป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วย พันธะ α - 1, 4 - glycosidic linkage และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นโพลิเมอร์กลูโคสสายสั้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α - 1, 6-glycosidic linkage ดังภาพที่ 2 หน่วยกลูโคสที่มีพันธะ α -1, 6 glycosidic linkage มีอยู่ประมาณร้อยละ 5 ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพกตินทั้งหมด อะไมโลเพกตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลส คือ ประมาณ 107 ถึง 109 คาลตัน และมีการคืนตัวต่ำ เนื่องจากอะไมโลเพกตินมีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่ง อะไมโลเพกตินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของเม็ดแป้ง ดังนั้นเมื่อมีอะไมโลเพกตินเพียงอย่างเดียว จึงยังสามารถรวมตัวเป็นเม็ดแป้งได้ เมื่อเชื่อมต่อกับไอโอดีนจะมีสีน้ำตาลแดง อะไมโลเพกตินจะเป็นส่วนที่ทำให้เกิดความเหนียวเมื่อทำให้ข้าวสุก



ภาพที่ 2 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน

ที่มา: Juliano (1978)

1.3.2 น้ำ

ในการผลิตขนมจีนควรใช้น้ำที่สะอาดปราศจากสารแขวนลอยมีความกระด้างต่ำ ถ้าใช้น้ำบาดาลในการผลิตควรพักไว้เพื่อให้ไอออนของเหล็กตกตะกอนก่อนจึงนำไปกรองผ่านทรายแล้วผ่านเครื่องกำจัดน้ำกระด้าง ถ้าใช้น้ำประปาไม่ควรมีคลอรีนมากเกินไป ซึ่งคลอรีนในน้ำประปาจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นผิดปกติ และความขุ่นที่เกิดจากการแขวนลอยยังจะทำให้ผลิตภัณฑ์ขนมจีนมีสีคล้ำได้อีกด้วย (ณรงค์, 2528)

1.3.3 pH ของน้ำ

เป็นส่วนที่สำคัญที่มีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์ขนมจีน คือ น้ำที่มี pH 6.4 จะทำให้ขนมจีนที่ได้มีสีปกติขาวออกเหลือง แต่ถ้า pH ของน้ำอยู่ที่ 7.4 สีของขนมจีนที่ได้จะเป็นสีออกเขียวปน และถ้ามี pH อยู่ที่ 5.5 จะได้สีขนมจีนออกสีแดงปน (คลินิกเทคโนโลยีราชวมงคลสุรินทร์, 2552)

1.3.4 เกลือ

การใช้เกลือป่นหรือเกลือเม็ดใส่ขณะไม่แป้ง หรือนอนแป้งจะช่วยป้องกันการบูดของแป้ง ซึ่งปริมาณเกลือที่ใช้จะอยู่ที่ 7 กิโลกรัม ต่อข้าว 100 กิโลกรัม (สุรางรัตน์, 2526) นอกจากนี้ ยังพบว่า การล้างข้าวด้วยน้ำเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 ถึง 8 จะช่วยกำจัดกลิ่นหมักที่

ก่อนข้างรุนแรงได้ด้วยการล้างสัก 2 ครั้ง โดยใช้ น้ำเกลือ 2 เท่า ของปริมาณข้าวหรือแป้งแล้วล้างเกลือออกด้วยน้ำเปล่า (คลินิกเทคโนโลยีราชมงคลสุรินทร์, 2552)

1.4 ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

กระบวนการผลิตขนมจีนจากแป้งหมัก สามารถแบ่งได้ 9 ขั้นตอน (บุศรารวรรณ, 2547 และคลินิกเทคโนโลยีราชมงคลสุรินทร์, 2552)

1.4.1 การหมักข้าว

โดยนำปลายข้าวมาล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อให้ปราศจากฝุ่น และสิ่งเจือปน จากนั้นใส่ข้าวในภาชนะสำหรับหมักซึ่งทำด้วยไม้ไผ่สาน เช่น กระบุง หรือ เข่ง หรืออาจใส่ภาชนะอื่น เช่น โอ่ง หรือถังซีเมนต์ ใช้ น้ำปริมาณพอสมควรผสมบนข้าวทั้งเช้าและเย็น และคลุมด้วยใบตองหรือไม้กั้นได้ การหมักข้าวอาจตั้งไว้ในที่ร่ม ถ้าหมักกลางแดดข้าวจะมีสีขาว แต่ถ้าหมักในที่ร่มข้าวจะมีสีเหลืองอมส้ม โดยทั่วไปการผลิตระดับอุตสาหกรรมนิยมหมักปลายข้าวเป็นเวลา 2 วัน และในระหว่างการหมักจะล้างทุกวัน ส่วนการผลิตแบบพื้นบ้านจะหมักปลายข้าวจะกระทั่งปลายข้าวเปื่อยยุ่ยสามารถนวดแป้งได้ด้วยมือโดยไม่ต้องโม่ การที่ปลายข้าวมีลักษณะเปื่อยยุ่ย เนื่องจากโมเมกุลของแป้งถูกไฮโดรไลซ์ให้สารประกอบน้ำตาลเดกซ์ทริน (dextrin) และน้ำตาลมอลโทส (maltose) โดยเอนไซม์อะไมเลสซึ่งอยู่ในแป้งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ณรงค์ และอัญชนีย์, 2528) โดยเอนไซม์อะไมเลสถูกสร้างขึ้นขณะที่มีน้ำเข้าไปในเมล็ดข้าว ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งของการเจริญเติบโตของเมล็ดข้าว (นงนุช, 2555)

อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มีความสำคัญอย่างยิ่ง ต่อการหมักทุกชนิด โดยมีหลักการว่า การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการหมักจะต้องเจริญเติบโตได้ดี และมีอัตราสูงกว่าการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย รวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ ดังนั้นการควบคุมสภาพการหมักต่างๆ จึงนับเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างยิ่ง การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไปต้องการสารอาหารหลักจำพวก โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่ การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะสูงหรือต่ำนั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณพลังงานที่เชื้อจุลินทรีย์จะได้รับจากสารอาหาร ซึ่งถ้าได้พลังงานสูงก็จะทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์สูง ในการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ยังต้องการ น้ำ พลังงาน ในโตรเจน คาร์บอน และสารอนินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความ

ต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน (คลินิกเทคโนโลยีราชวมงคลสุรินทร์, 2552) ข้าวที่ผ่านการหมัก 2 ถึง 3 วัน ข้าวหมักจะเปื่อยมีสีคล้ำและมีกลิ่นแรง เนื่องจากมีเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus spp.* และ *Streptococcus spp.* ซึ่งเชื่อว่าการหมักจะทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำ และแตกตัวได้ดีเมื่อสัมผัสกับความชื้น เนื่องจากโปรตีนที่มีอยู่รอบเม็ดแป้งสลายตัวไปร้อยละ 2 ถึง 3 แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าหมักนานเกินไปผลิตภัณฑ์ขนมจีนอาจไม่เหนียว เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในข้าว การแตกตัวทำให้เอนไซม์อะไมโลสของเมล็ดข้าวหลุดออกมามากด้วย นอกจากนี้การที่โปรตีนในแป้งต่ำลง ทำให้เจลหรือขนมจีนที่ได้มีความนุ่ม ไม่กระด้างเหมือนเส้นหมี่ (ณรงค์, 2528)

1.4.2 การโม่ หรือการบดปลายข้าวหมัก

เมื่อหมักปลายข้าวครบ 2 วัน แล้วล้างปลายข้าวด้วยน้ำสะอาด นำไปบดด้วยโม่หินที่หมุนด้วยมอเตอร์ไฟฟ้า หรือนำไปยี่ผ่านขาวบางซึ่งผูกขึงไว้ที่ปากโอ่ง ในขณะที่โม่หรือบดปลายข้าวหมักนั้นจะต้องใส่เกลือลงไปด้วยในปริมาณร้อยละ 7 ของน้ำหนักข้าว ถ้าปลายข้าวที่ใช้เป็นข้าวแข็งหรือข้าวเก่า จะใช้เกลือประมาณร้อยละ 4 ของน้ำหนักข้าว เกลือที่เติมลงไปนั้นจะช่วยป้องกันมิให้แป้งเกิดการหมักเมื่อตั้งทิ้งไว้ในระหว่างการนอนน้ำแป้ง

1.4.3 การนอนน้ำแป้ง

เป็นการปล่อยทิ้งไว้ให้แป้งตกตะกอนนาน 1 ถึง 2 วัน แล้วดูดน้ำส่วนบนซึ่งมีสีออกเหลืองและมีกลิ่นจนถึง 2 ถึง 3 ครั้ง ขั้นตอนนี้มีผลให้แป้งมีสีขาวและมีกลิ่นหมักน้อยลง โดยดูดน้ำทิ้งทุกวันพร้อมกับใส่เกลือทุกครั้งที่เปลี่ยนน้ำ ในการผลิตในระดับพื้นบ้านบางรายอาจนอนน้ำแป้งนานถึง 1 เดือน แต่จะต้องเปลี่ยนน้ำทุกวันพร้อมกับใส่เกลือ นำแป้งที่ได้จากการตกตะกอนไปผลิตเส้นขนมจีนในขั้นตอนต่อไป

1.4.4 การทับน้ำแป้ง

เป็นการกำจัดน้ำส่วนเกินออกไปโดยน้ำแป้งที่ได้จากการนอนแป้งใส่ในถุงผ้า ค้ายดิบ แล้วผูกปากถุงด้วยเชือกให้แน่นทับด้วยของหนักนาน 1 คืน แป้งที่ได้จากขั้นตอนนี้จะมีความชื้นประมาณร้อยละ 42 ถึง 44 แป้งที่ผ่านการทับน้ำแล้วจะเป็นก้อนแข็งเนื้อแป้งเกาะติดกันแน่น

1.4.5 การนึ่งแป้ง

นำก้อนแป้งที่ได้จากการทับน้ำแป้ง ไปต้ม หรือนึ่งให้แป้งสุกเฉพาะผิวรอบนอก เมื่อไม่แป้งและผ่านการทับน้ำแป้งแล้ว การนำมาทำให้เป็นแป้งสุกเป็นบางส่วนนั้นแป้งจะสุกลึกจากผิวเข้าไปประมาณครึ่งนิ้ว ในขั้นตอนนี้จะมีผลต่อความเหนียวของเส้นขนมจีน ถ้าแป้งสุกมากหรือน้อยเกินไป ผลิตภัณฑ์ขนมจีนที่ได้จะขาดง่ายไม่สามารถทำเส้นขนมจีนให้เป็นจับได้

1.4.6 การนวดแป้ง

เป็นการผสมแป้งดิบและแป้งสุกที่ผ่านขั้นตอนการทำให้สุกเป็นบางส่วนเข้าด้วยกัน นอกจากนี้ยังทำให้เม็ดแป้งแตก ทำให้แป้งมีความเหนียวเพิ่มขึ้น การนวดแป้งอาจนวดด้วยมือ หรือนวดด้วยเครื่องจักร ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณการผลิต การนวดแบบชาวบ้านมักใช้ครกตำด้วยสากมีอจนแป้งเหนียวเข้ากันดี ถ้าแป้งแห้งเกินไปอาจมีการเติมน้ำร้อนและนวดให้เข้ากันจนได้แป้งขึ้นตามต้องการ ขั้นตอนนี้อาจเรียกว่า การ โน้มแป้ง แป้งจะมีความชื้นประมาณร้อยละ 70 ถึง 75 กล่าวคือ ข้าว 1 กิโลกรัม จะได้แป้งที่นวดแล้วประมาณ 3.0 ถึง 3.5 กิโลกรัม

1.4.7 การกรองแป้ง

ทำเนื่องจากการนวดแป้งไม่สามารถทำให้แป้งแตกออกได้หมด บางส่วนยังเป็นเม็ดแป้งสุกๆ ปะปนอยู่ จะต้องกรองแป้งด้วยผ้าขาวบางเพื่อให้แป้งที่ผ่านการกรองมีความละเอียด สม่ำเสมอ ไรยเส้นได้สะดวก ผลิตภัณฑ์ขนมจีนที่ได้จะมีเส้นเรียบสม่ำเสมอ

1.4.8 การโรยเส้นขนมจีน

อาจทำโดยหลายวิธี ถ้าเป็นการผลิตแบบพื้นบ้านมักใช้แวนหรือเฟือน แวนจะมีลักษณะเป็นแผ่นโลหะกลม เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว เจาะรูเล็กๆ ตามขนาดที่ต้องการเติมผิวหน้าแผ่นโลหะ วางแผ่นโลหะกลมตรงกลางผืนผ้าซึ่ง เข้าเป็นวงกลมขนาดเดียวกับแผ่นโลหะ เย็บตรึงขอบแผ่นโลหะติดกับผ้า เมื่อใส่แป้งลงในแวนแล้วรวบชายผ้าเข้าหากัน ใช้อีกมือหนึ่งบีบเพื่อให้แป้งผ่านรูเล็กๆ ลงไปในน้ำร้อนในกระทะเคลื่อนมือไปรอบๆ กระทะให้เป็นวงกลม พยายามรักษาระยะระหว่างแวนกับน้ำร้อนให้คงที่และระวังอย่าให้เส้นขาด ขณะโรยเส้นควรรักษาอุณหภูมิน้ำไว้ที่ 90 ถึง 95 องศาเซลเซียส (degree celsius; C°) ภาชนะที่ใช้ต้มน้ำร้อนเพื่อโรย

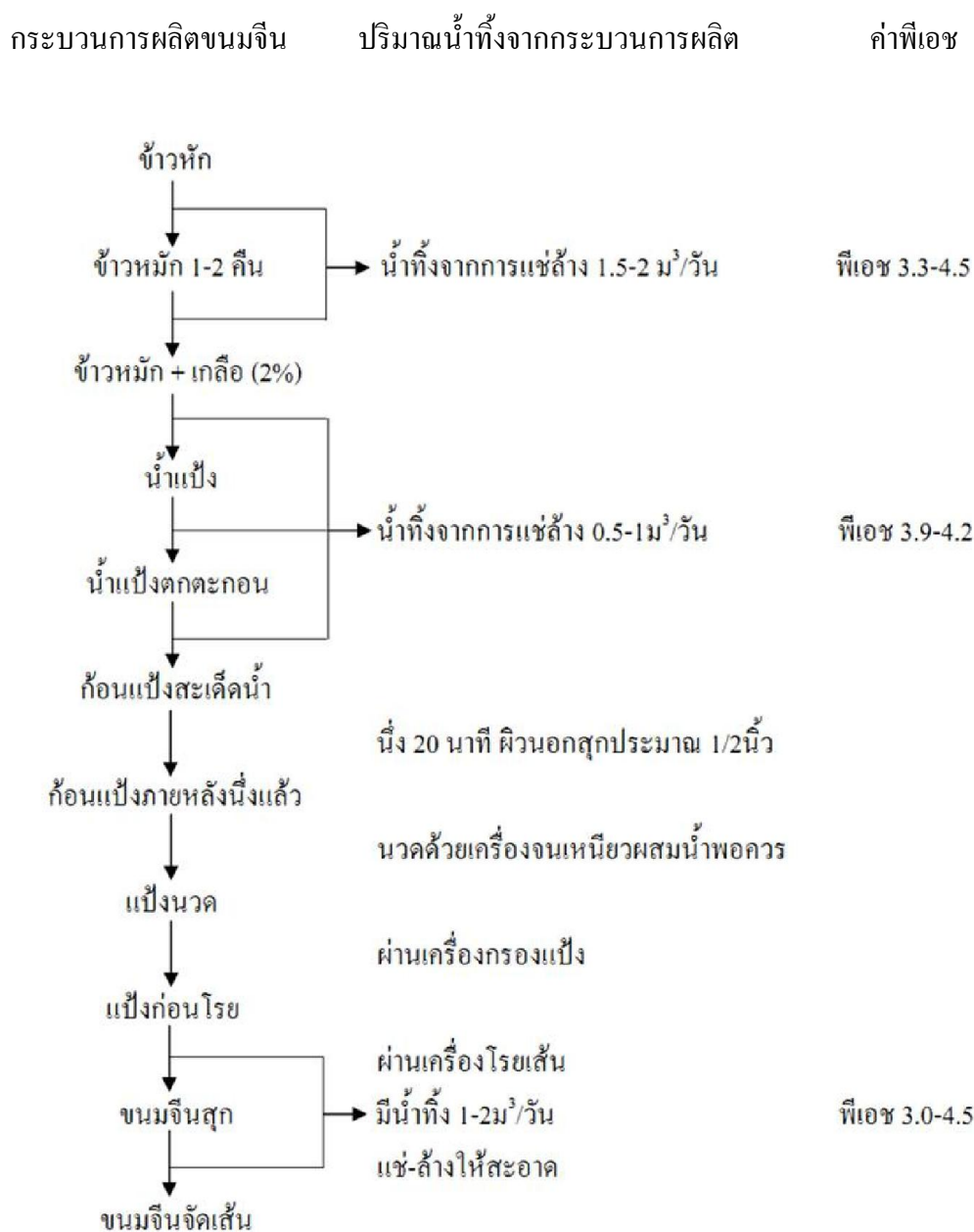
เส้นขนมจีนต้องมีขนาดใหญ่มากพอ มิฉะนั้น น้ำร้อนที่ใช้ลวกจะลดอุณหภูมิเร็วเกินไปทำให้เส้นขนมจีนไม่สุกและไม่เหนียว อีกประการหนึ่งคือไม่ควรโรยเส้นให้มากเกินไป เพราะอาจเกิดปัญหาเส้นไม่สุกและไม่เหนียวเช่นกัน สำหรับเพื่อนนั้นเป็นภาชนะรูปกระบอก ทำด้วยโลหะอาจเป็นสังกะสีหรือเหล็กปลอดสนิมเจาะรูเล็กๆ ที่ก้น สำหรับยึดในขณะที่ทำการกด มีภาชนะอีกใบหนึ่งมีลักษณะคล้ายกันแต่มีขนาดเล็กกว่าเล็กน้อย สามารถสวมลงไปใ้ในภาชนะใบแรกได้พอดี ภาชนะใบนี้ ก้นเรียบไม่เจาะรูใช้สำหรับกดให้แป้งออกจากภาชนะใบแรก

1.4.9 การทำขนมจีนให้เป็นจับ

วิธีจับเส้นขนมจีนทำโดยใช้มือจับขนมจีนขึ้นมาจากน้ำ เรียงเส้นขนมจีนให้เป็นเส้นซ้อนกันโดยให้เรียงกันประมาณ 7 ถึง 8 เส้น แล้วพันเส้นขนมจีนที่นิ้วหรือนิ้วหัวแม่มือ ให้เส้นขนมจีนห้อยลงมาตามขนาดของจับที่ต้องการวางขนมจีนในลักษณะคว่ำมือลงในภาชนะ ทิ้งให้สะเด็ดน้ำแล้วนำมารับประทานได้

2. น้ำเสียจากกระบวนการผลิตขนมจีน

จากขั้นตอนการผลิตของขนมจีนนั้น จะต้องมีการใช้น้ำเป็นจำนวนมากในกระบวนการผลิต คือ ใช้น้ำในการล้างทำความสะอาด การแช่ข้าว การโม่เปียก การต้มน้ำ การนึ่ง และการล้างเครื่องอุปกรณ์ในการผลิต จึงเกิดน้ำเสียเป็นปริมาณมากเช่นเดียวกัน โดยปริมาณน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตขนมจีน ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กรรมวิธีการผลิตขมจีนพร้อมทั้งแสดงปริมาณน้ำทิ้ง และค่าพีเอชในขั้นตอนการผลิต

ที่มา: วรพจน์ (2542)

ภาพที่ 3 เป็นการสำรวจกรรมวิธีการผลิตขมจีนของโรงงานในเทศบาลนครขอนแก่น ซึ่งมีอัตราการผลิตขมจีนวันละ 200 ถึง 300 กิโลกรัมต่อโรงงาน โดยพบว่า มีปริมาณน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอยู่ระหว่าง 3 ถึง 5 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน โดยเกิดจากน้ำแช่ข้าวประมาณ 1.5 ถึง 2

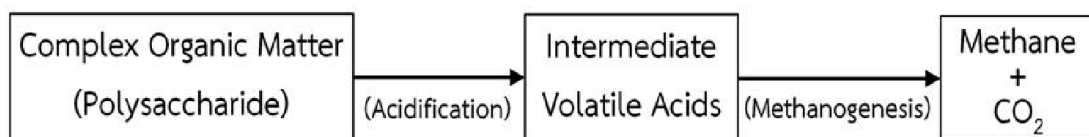
ลูกบาศก์เมตรต่อวัน น้ำล้างโม้ประมาณ 0.5 ถึง 1 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน ส่วนอีกประมาณ 1 ถึง 2 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน มาจากการล้างและการจับเส้น

2.1 ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตขนมจีน

ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตขนมจีนนั้นมีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ประเภทพอลิแซกคาไรด์ค่อนข้างสูง ซึ่งทำให้น้ำเสียมีลักษณะสีขาวขุ่น และมีกลิ่นเหม็น (วรพจน์, 2550) โดยลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตขนมจีนสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ ดังนี้

2.1.1 กลิ่นเหม็น

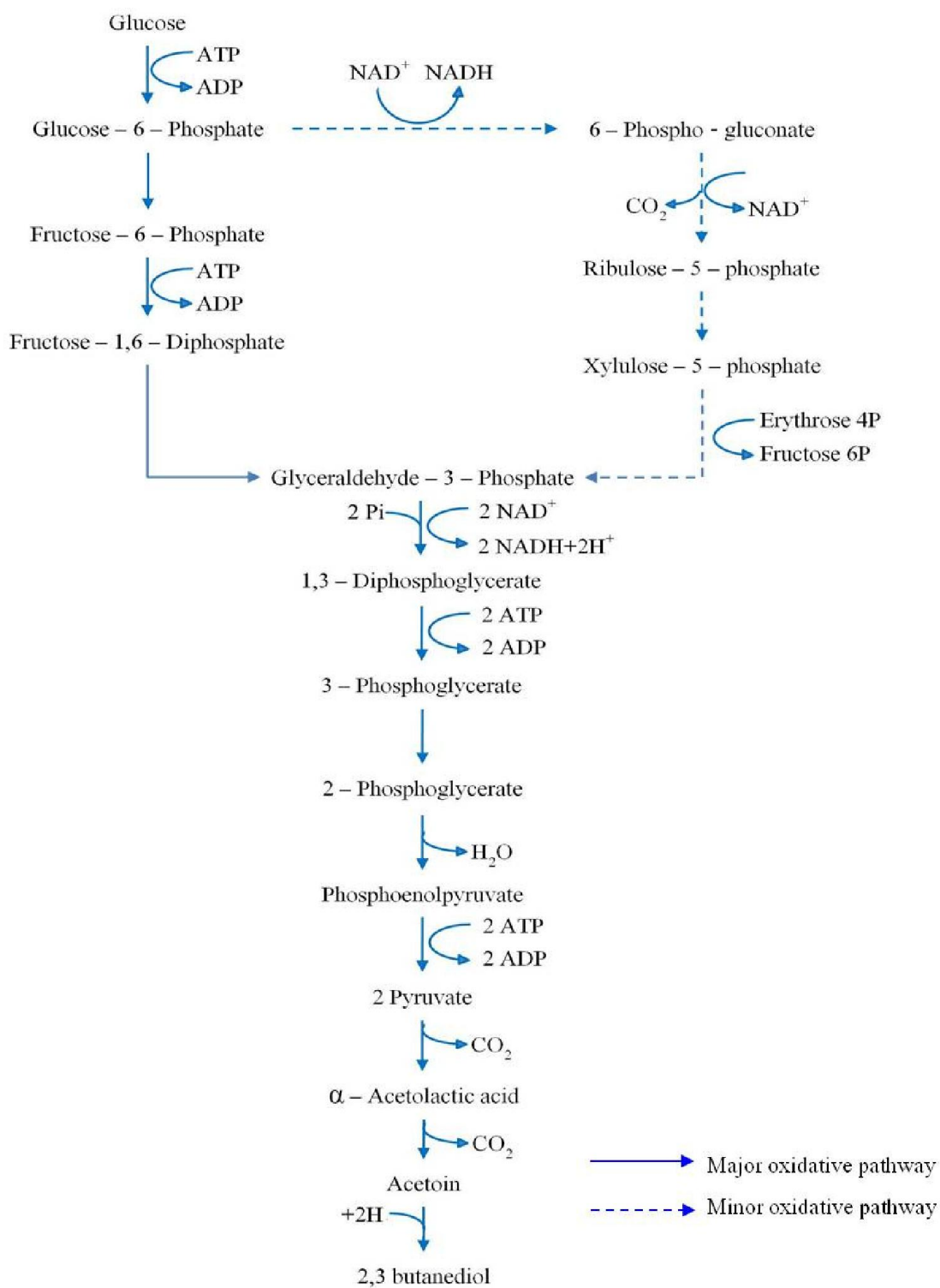
กลิ่นเหม็นจากน้ำเสียเกิดขึ้นระหว่างช่วง Intermediate Volatile Acids ซึ่งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Fermentative Bacteria หรือ Acidogens ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทพอลิแซกคาไรด์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Wilkie, 2005) กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทพอลิแซกคาไรด์ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทพอลิแซกคาไรด์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ที่มา: คัดแปลงจาก Wilkie (2005)

จากภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่า กระบวนการเกิดกลิ่นเหม็นในน้ำเสียเกิดอยู่ในช่วงระหว่าง Acidification หรือ Acid phase กับช่วง Methanogenic หรือ Methane phase โดยจะเป็นกลุ่มของ Phenols Indoles และกลุ่มสารระเหย (volatile organic compound) ชนิดต่างๆ อาทิเช่น Acetate Proionate, Butyrate และ 2, 3 Butanediol เป็นต้น ตัวอย่างกลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

ที่มา: คัดแปลงจาก Verhees *et al.* (2003); Toder (2012); Noorhisham and Mohd (1999)

2.1.2 ลักษณะปรากฏ หรือลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน พบว่า มีลักษณะสีขาวขุ่น ดังภาพที่ 6 อันเกิดจากแป้งในกระบวนการผลิตไหลปนเปื้อนมากับน้ำทิ้ง ทำให้คุณภาพน้ำเสียของโรงงานผลิตขนมจีนมีบีโอดี (biochemical oxygen demand; BOD) ซีโอดี (chemical oxygen demand; COD) และของแข็งละลายน้ำ (total dissolved solids; TDS) มีในปริมาณสูง โดยผลการศึกษาคูณภาพน้ำของน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนในจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย พบว่า มีบีโอดี และซีโอดีสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานน้ำของกรมโรงงานอุตสาหกรรมกำหนด ดังตารางที่ 1



ภาพที่ 6 ลักษณะน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน นิคมขนมจีน จังหวัดฉะเชิงเทรา

ที่มา: ประมวล (2548)

ตารางที่ 1 คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนในจังหวัดต่างๆ

พารามิเตอร์	โรงงานผลิตขนมจีนในจังหวัดต่างๆ			ค่ามาตรฐาน ⁴
	ฉะเชิงเทรา ¹	ราชบุรี ²	ขอนแก่น ³	
pH	4.2	5.5	4.0	5.5 – 9.0
บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	28,300	8,398	3,060	≤ 60
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	33,969	11,791	5,568	≤ 400

¹ คัดแปลงจาก ประมวล (2548)

² คัดแปลงจาก Sirianuntapiboon *et al.* (2008)

³ คัดแปลงจาก วรพจน์ (2550)

⁴ ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 (2539)

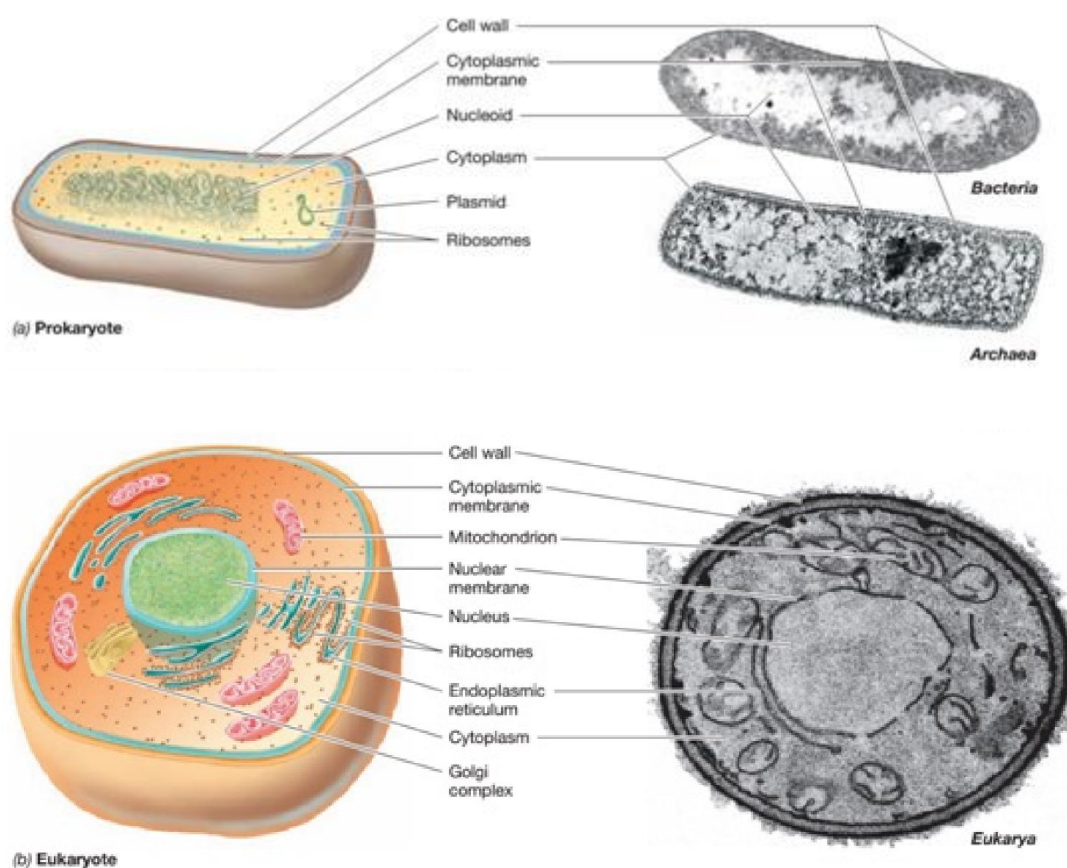
3. เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ (Microbes หรือ Microorganisms) หมายถึง สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนมากมีเซลล์เดียว (ราชบัณฑิตยสถาน, 2542) เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวนสมาชิกมากมายประกอบด้วย เชื้อแบคทีเรีย ฟังไจ สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส เชื้อจุลินทรีย์ยังมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งน้ำ อากาศ หรือแม้กระทั่งอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่มีความสำคัญหรือเกี่ยวข้องกับมนุษย์ สัตว์ และพืช

3.1 โครงสร้างของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์

เซลล์เชื้อจุลินทรีย์มีการแบ่งประเภทออกเป็น 2 แบบ คือ เซลล์แบบโปรคาริโอต (Prokaryotes) และ ยูแคริโอต (Eucaryotes) โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีโครงสร้างเซลล์แบบโปรคาริโอต คือ เชื้อแบคทีเรีย (true bacteria และ archaeans) และเชื้อไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่มีโครงสร้างเซลล์เป็นแบบยูแคริโอต คือ ฟังไจ สาหร่าย และโปรโตซัว แต่สำหรับไวรัส และไวรอย ไม่มีลักษณะเป็นทั้งเซลล์แบบโปรคาริโอต และยูแคริโอต เพราะไวรัสไม่เป็นเซลล์ (acellular) จึงเรียกไวรัส หรือไวรอยว่าเป็นอนุภาค (virion) ซึ่งเซลล์โปรคาริโอต และยูแคริโอต มีองค์ประกอบทางเคมีที่มีเหมือนกัน คือ ประกอบด้วยโปรตีน

กรดนิวคลีอิก ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต แต่เซลล์ทั้งสองแบบนี้มีขนาด ความซับซ้อนโครงสร้าง และตำแหน่งที่อยู่ของสารพันธุกรรมแตกต่างกัน โดยเซลล์โปรคาริโอตมีลักษณะโครงสร้างแบบง่ายๆ ไม่ซับซ้อนเท่ากับเซลล์ยูแคริโอต และเซลล์ยูแคริโอต ส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์โปรคาริโอต สำหรับลักษณะเซลล์ทั้ง 2 แบบ ดังภาพที่ 7 และแสดงความแตกต่างของเซลล์ทั้งสองแบบใน ดังตารางที่ 2



ภาพที่ 7 ลักษณะโครงสร้างเซลล์เชื้อจุลินทรีย์แบบ (a) โปรคาริโอต และ (b) ยูแคริโอต

ที่มา: Madigan *et al.* (2014)

ตารางที่ 2 ความแตกต่างระหว่างเซลล์แบบโปรคาริโอต และยูแคริโอต

ลักษณะ	โปรคาริโอต	ยูแคริโอต
1. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์	0.2 – 2 μm	10 – 100 μm
2. โครงสร้างพันธุกรรม		
สารพันธุกรรม (DNA)	ส่วนใหญ่เป็นวงกลม	เป็นเส้นและอยู่เป็นคู่
ตำแหน่งของสารพันธุกรรม	Nucleoid	ในนิวเคลียส
เยื่อหุ้มนิวเคลียสและนิวคลีโอลัส	ไม่มี	มี
โปรตีนในสาย DNA	ไม่มี	มี (histone)
DNA นอกโครโมโซม	พลาสมิด	ไมโทครอนเดรีย คลอโรพลาสต์ และพลาสมิด
3. โครงสร้างภายในเซลล์		
Miotic spindle	ไม่มี	มี ในช่วงการแบ่งเซลล์
Plasma (Cytoplasmic) membrane	ไม่มีคาร์โบไฮเดรตและSterols	มีคาร์โบไฮเดรตและ Sterols
Lysosome	ไม่มี	มี
Endoplasmic reticulum	ไม่มี	มี
Ribosome	ขนาดเล็ก 70s	ขนาดใหญ่80S, ขนาดเล็ก70S
Chloroplast	ไม่มี	มี เฉพาะเซลล์พืช
Golgi apparatus	ไม่มี	มี
Chromatophore	มีในแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสง	ไม่มี
Respiratory enzyme	พบที่เยื่อหุ้มเซลล์	พบที่ไมโทครอนเดรีย
Peroxisome	ไม่มี	มี
Cytoskeleton	ไม่มี	มี
4. โครงสร้างภายนอกเซลล์		
ผนังเซลล์	โครงสร้างทางเคมีซับซ้อน Peptidoglycan	โครงสร้างทางเคมีไม่ซับซ้อน Chitin, Cellulose, Glucan
Flagella	โปรตีน Flagellin	Microtubules; Tubulin
Cilia	ไม่มี	มี แต่ขนาดสั้นกว่า Flagella
Pilli	มี	ไม่มี
Glycocalyx	มี; แคปซูล, Slime layer	มี เฉพาะเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ลักษณะ	โปรคาริโอต	ยูแคริโอต
5. กระบวนการสืบพันธุ์		
การแบ่งเซลล์	Binary fission	Mitosis
การสืบพันธุ์แบบมีเพศ	ไม่มี; มีแต่การถ่ายทอด DNA	Meiosis

ที่มา: เบญจกรณ์ (2551)

3.2 ถิ่นอาศัยของเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์สามารถอาศัยได้ทุกที่ในชีวลัย (Biosphere) สำหรับขอบเขตพื้นที่ของชีวลัยประกอบด้วย Lithosphere, Hydrosphere และ Atmosphere อีกทั้งยังพบเชื้อจุลินทรีย์อาศัยในพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมที่รุนแรง (extreme environment) เช่น น้ำพุร้อน กระแสน้ำร้อนใต้ทะเลลึก ใต้พื้นน้ำแข็งขั้วโลก และใต้ดินลึก เป็นต้น ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมแตกต่างจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากต้องมีการปรับตัวให้สามารถเจริญเติบโตอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงได้

เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถอาศัยได้มากกว่าหนึ่งถิ่นอาศัย นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถอยู่ได้ในทุกพื้นที่ของชีวลัย เนื่องจากมีขนาดเล็กจึงแพร่กระจายไปที่ต่างๆ ได้ง่าย และมีกระบวนการเมแทบอลิซึมหลากหลาย จึงทำให้ใช้สารอาหารได้หลายประเภท เช่น การตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศ รวมทั้งมีปัจจัยในการเจริญที่หลากหลาย เช่น การเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจน หรือไม่มีออกซิเจนได้

ดินเป็นถิ่นอาศัยที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด เนื่องจากมีสารอินทรีย์ในปริมาณสูง จึงทำให้พบทั้งชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากในดิน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด在地 คือ เชื้อแบคทีเรีย โดยดินในสวน 1 กรัม มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียมากถึง 10^8 เซลล์ และอาจมีจำนวนสปอร์มากถึง 10^4 ถึง 10^6 สปอร์ ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ได้ คือ จีโนสบาซิลัส และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีจำนวนรองลงมา คือ เชื้อแอกติโนมัยซีท

และฟังใจ โดยมีจำนวนเชื้อแอกติโนมัยซีท 10^6 ถึง 10^7 เซลล์ในดินหนึ่งกรัม และฟังใจ 10^4 ถึง 10^6 เซลล์ในดินหนึ่งกรัม ฟังใจยังจัดเป็นชีวมวลเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ (microbial biomass) ที่มีปริมาณมากที่สุดดินอีกด้วย โดยพบฟังใจจำนวนมากในบริเวณผิวดินที่มีความลึกไม่เกิน 10 เซนติเมตร เนื่องจากเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ แต่ในดินทั่วไปพบเชื้อไซยาโนแบคทีเรีย สาหร่าย และโปรโตซัวในปริมาณน้อยเพราะในดินมีความชื้นน้อย

น้ำทุกประเภทในระบบนิเวศน้ำจืด น้ำทะเล น้ำกร่อย หรือแม้แต่ น้ำใน จัดเป็นถิ่นอาศัยที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ โดยพบเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากในแหล่งน้ำจืด เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในแหล่งน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ pH ของแหล่งน้ำ ปริมาณสารอาหารที่ละลายอยู่ในน้ำ และความลึกของแสงที่ส่องถึง

อากาศจัดเป็นถิ่นอาศัยชั่วคราวของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากอากาศมีปริมาณสารอาหารจำเป็นต่อการกระบวนการเมแทบอลิซึมน้อยและมีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงพบเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศในปริมาณน้อย และไม่สามารถเจริญเติบโตในอากาศได้ โดยปกติเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในอากาศเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เคลื่อนที่มาจากถิ่นอาศัยอื่น โดยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดอยู่ในอากาศได้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ เช่น ลม ฝน พายุ และความต้านทานต่อปัจจัยแวดล้อมในอากาศ เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต ความชื้น และอุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่แพร่กระจายในอากาศมักมีโครงสร้างพิเศษที่ป้องกันเซลล์จากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (resistant form) เช่น สปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย สปอร์ของเชื้อรา ส่วนเซลล์ปกติของเชื้อจุลินทรีย์ (vegetative cell) จะเกาะอยู่กับอนุภาคฝุ่นหรือละอองน้ำในอากาศ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในอากาศ คือ สปอร์ของเชื้อรา โดยเฉพาะราในจีนัส *Cladosporium*

ความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial diversity) ในสิ่งแวดล้อมเป็นตัวบ่งบอกถึงปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้น ในถิ่นอาศัยที่มีสารอาหารมาก และมีปัจจัยแวดล้อมเหมาะสมจะมีความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์มาก ในทางกลับกันถิ่นอาศัยที่ไม่เหมาะสมหรือมีสิ่งรบกวน (stress) จะพบความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์น้อยตามลงไปด้วย ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ตามการพบในถิ่นอาศัยของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Microcosm) ออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยหรือพบเป็นประจำในถิ่นอาศัยหรือสิ่งแวดล้อมนั้นๆ (Indigenous หรือ Autochthonous microorganism) ส่วนใหญ่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้อาหารแบบง่ายๆ และมีอัตราการเมแทบอลิซึมสารอาหารในสิ่งแวดล้อมอย่างช้าๆ ทำให้สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน นอกจากนี้ เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ยังสามารถปรับตัวให้เข้ากับปริมาณสารอาหารและสภาพแวดล้อมที่อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ดี โดยทั่วไปสภาพแวดล้อมในถิ่นอาศัยจะช่วยสนับสนุนการเจริญของกลุ่มนี้ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบในดินและน้ำ เป็น Autochthonous microorganism

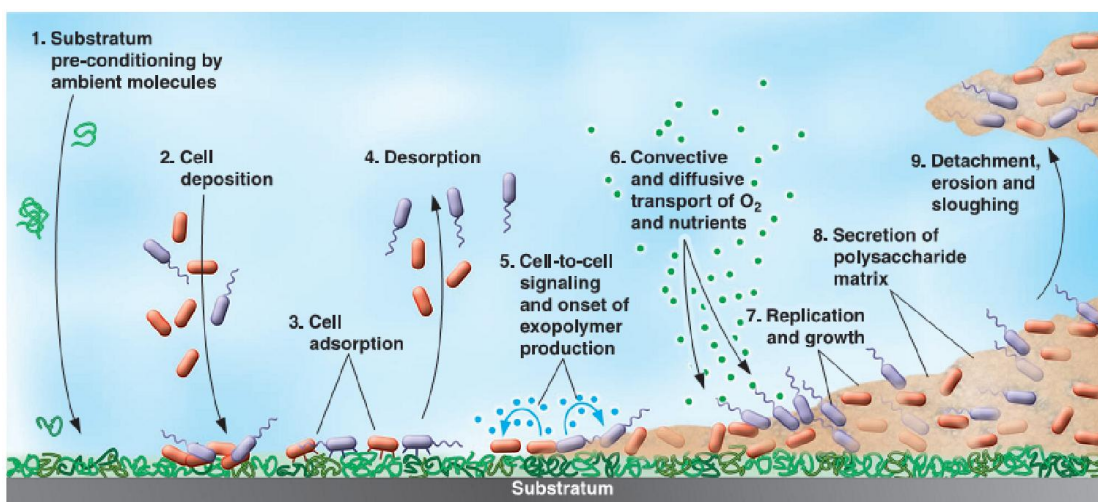
3.2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ชั่วคราวในถิ่นอาศัยนั้นๆ (Non-indigenous หรือ Allochthonous microorganism) เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เมื่อถิ่นอาศัยนั้นมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมและเชื้อจุลินทรีย์จะมีชีวิตรอดอยู่ในช่วงเวลาสั้นๆ เมื่อสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมเปลี่ยนแปลงไป เชื้อจุลินทรีย์จะตายลง นอกจากนี้ ยังรวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยในถิ่นอาศัยอื่น แต่ถูกเคลื่อนย้ายมายังถิ่นอาศัยนี้ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ในดินถูกพัดพาขึ้นไปในอากาศ

3.3 การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม

การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม นอกจากขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารที่มีอยู่แล้ว ยังขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อจุลินทรีย์ต่อปัจจัยสภาพแวดล้อมในบริเวณที่เชื้อจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในเวลานั้นๆ เช่น อุณหภูมิ pH ออกซิเจน ความเค็ม ความดัน เป็นต้น นอกจากนี้ ในสิ่งแวดล้อมยังมีสารบางอย่างที่อาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยสารเหล่านั้นอาจเป็นสารที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรืออาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาในระหว่างการเจริญเติบโต เช่น Tannin, Ammonia, Ethylene และ Volatile sulfur compound เป็นต้น โดยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีขีดความสามารถในการทนทานต่อปัจจัยสภาพแวดล้อม หรือปริมาณสารพิษในสิ่งแวดล้อมได้แตกต่างกัน โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อม จะมีการเจริญเติบโตอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มประชากรเชื้อจุลินทรีย์ (consortium) เป็นองค์ประกอบในชุมชนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial community) ที่มีความหลากหลาย การเจริญเติบโตอยู่ร่วมกันของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์จะช่วยป้องกันเซลล์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และช่วยในการแข่งขันให้ได้รับสารอาหารได้ดีขึ้น โดยลักษณะการเจริญเติบโตอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มประชากรเชื้อจุลินทรีย์ อาจแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ดังนี้

3.3.1 แผ่นฟิล์มชีวภาพ

เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ที่เกาะอยู่รวมกันอย่างเหนียวแน่นบนพื้นผิวของสิ่งแวดล้อมจนเกิดลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) ซึ่งแผ่นฟิล์มชีวภาพพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น พื้นผิวของหินในน้ำ ในท่อน้ำ และอ่างน้ำ เป็นต้น การสร้างแผ่นฟิล์มชีวภาพเริ่มจากกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์เข้ามาเกาะยึดติดกับผิวที่ถูกปรับสภาพแล้ว และหลั่ง Extracellular polymeric substance (EPS), DNA และโปรตีนออกมารอบๆ เซลล์ โดยเฉพาะ EPS จะช่วยให้เซลล์เชื้อจุลินทรีย์ยึดติดแน่นกับพื้นผิวของวัตถุได้ดีขึ้น หลังจากนั้นเชื้อจุลินทรีย์จะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน รวมทั้งหลั่งสารโพลีเมอร์ออกมาเพิ่มขึ้น ทำให้ชั้นแผ่นฟิล์มชีวภาพหนาขึ้นจนพัฒนาเป็นกลุ่มหรือชุมชนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความซับซ้อน แผ่นฟิล์มชีวภาพยังช่วยในการดูดซับสารอาหารให้กับกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ และช่วยป้องกันเซลล์เชื้อจุลินทรีย์จากสารหรือสภาวะที่เป็นอันตรายได้ กระบวนการสร้างแผ่นฟิล์มชีวภาพ ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 กระบวนการสร้างแผ่นฟิล์มชีวภาพ

ที่มา: Bryers and Ratner (2004)

3.3.1 แถบเชื้อจุลินทรีย์

แถบเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial mat) เป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ที่มาอาศัยอยู่รวมกัน โดยมีลักษณะเป็นแผ่นหนาที่บดแสง มีโครงสร้างที่ซับซ้อน โดยทั่วไปแถบเชื้อจุลินทรีย์

มีสีเขียว ชมพู และดำ ซึ่งชั้นสีเขียวบริเวณบนสุดประกอบด้วยสปิชีส์ต่างๆ ของไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างรงควัตถุสีเขียว เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง ส่วนชั้นสีชมพูด้านล่างเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Purple sulfur bacteria ซึ่งจัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Anoxygenic phototrophs ที่สามารถสังเคราะห์แสงได้และไม่ต้องการออกซิเจน โดยใช้ความยาวคลื่นแสงช่วงอื่นที่ไม่ใช่ความยาวคลื่นแสงช่วงเดียวกับที่ไซยาโนแบคทีเรียใช้ในการสังเคราะห์แสง ส่วนชั้นสีดำด้านล่างสุดเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Sulfate reducer ซึ่งเป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน และใช้สารอินทรีย์ที่สร้างมาจากกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงได้ โดยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์นี้สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งสามารถพบแถบเชื้อจุลินทรีย์ได้ในบริเวณทั่วไป รวมถึงบริเวณที่สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมได้ด้วย ลักษณะของแถบเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดจากการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ลักษณะของแถบเชื้อจุลินทรีย์

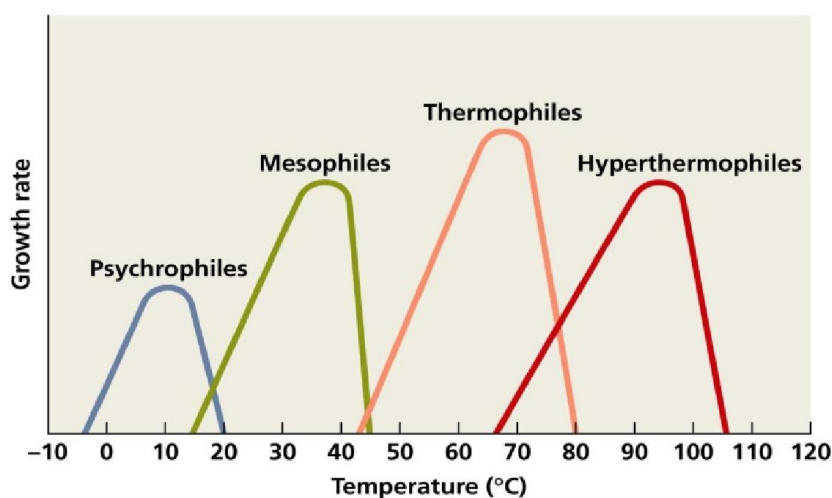
ที่มา: Willey *et al.* (2008)

3.4 ปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีขีดจำกัดในการทนทาน (Tolerance limit) ที่แตกต่างกัน สำหรับปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มีดังนี้

3.4.1 อุณหภูมิ

เชื้อจุลินทรีย์ต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสม (Optimal temperature) ในการเจริญเติบโต เพื่อให้มีการเจริญเติบโตและอัตราการเพิ่มจำนวนสูงสุด โดยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน รวมทั้งยังมีช่วงอุณหภูมิต่ำสุดถึงสูงสุด (cardinal temperature) ในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 ผลของระดับอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

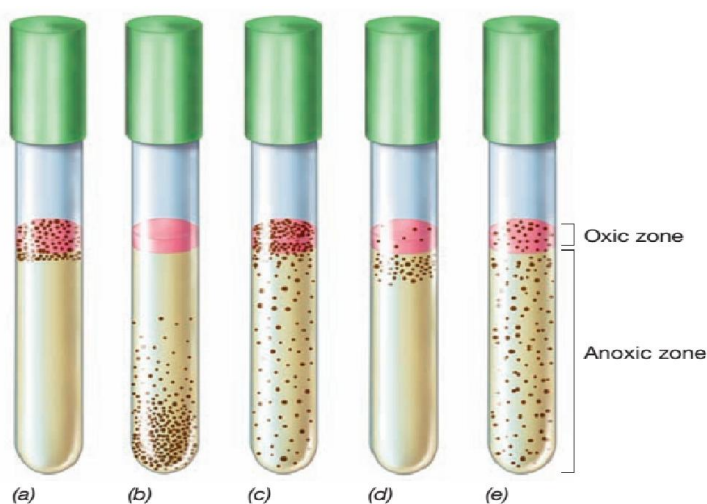
ที่มา: Willey *et al.* (2008)

อุณหภูมิจะมีผลโดยตรงต่อการผลิตเอนไซม์และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ โดยอุณหภูมิสามารถใช้แบ่งประเภทของเชื้อจุลินทรีย์ได้ออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตที่มีอุณหภูมิต่ำ (psychrophiles) ซึ่งอยู่ในช่วง 0 ถึง 20 องศาเซลเซียส และยังพบเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญเติบโตที่ได้ัอุณหภูมิ - 10 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มนี้ คือ 15 ถึง 20 องศาเซลเซียส กลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตที่มีอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) จะอยู่ในช่วงประมาณ 20 ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่ไม่เกิน 43 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ คือ 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส กลุ่มที่ 3 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่สูง (thermophiles) ตั้งแต่ 45 องศาเซลเซียส ขึ้นไป ส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตระหว่างอุณหภูมิ 50 ถึง 55 องศาเซลเซียส แต่ยังพบเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถ

เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 65 ถึง 85 องศาเซลเซียส และสุดท้ายกลุ่มที่ 4 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่สูงมาก (hyperthermophiles หรือ extreme thermophiles) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 80 ถึง 110 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติองค์ประกอบของโปรตีน เยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์ DNA polymerase และ DNA ให้มีเบส Guanine และ Cytosine จำนวนมาก เพื่อให้มีความทนทานต่อความร้อนสูงได้ดีขึ้น เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวก Archaea ที่พบมากบริเวณภูเขาไฟ ได้แก่ *Sulfolobus*, *Pyrococcus*, *Pyrodictium* (Pelczar *et al.*, 1993; Willey *et al.*, 2008)

3.4.2 ออกซิเจน

ออกซิเจนเป็นก๊าซที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่ม โดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งสามารถจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ออกเป็น 5 กลุ่ม ดังภาพที่ 11 ตามความต้องการออกซิเจน ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ตามความต้องการออกซิเจนดังต่อไปนี้



ภาพที่ 11 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ตามความต้องการของออกซิเจน

(a) Obligate aerobes, (b) Obligate anaerobes, (c) Facultative anaerobes

(c) Microaerophiles, (e) Aerotolerant anaerobes

ที่มา: Madigan *et al.* (2014)

ก. เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Obligate aerobes) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจเพื่อสร้างพลังงานของเซลล์ ตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Micrococcus luteus* และ *Mycobacterium*

ข. เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Obligate anaerobes) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อสร้างพลังงาน แต่ใช้กระบวนการหมักในการสร้างพลังงานแทน ซึ่งโมเลกุลของออกซิเจนเป็นพิษกับเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ เนื่องจากโมเลกุลของออกซิเจนเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ได้แก่ Superoxide (O_2^-), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), Hydroxyl radicals ($OH\cdot$) ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ได้แก่ *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium* และ *Methanococcus*

ค. เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่เจริญเติบโตได้ดีถ้ามีออกซิเจน (Facultative anaerobes) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจเพื่อสร้างพลังงาน แต่ถ้าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเชื้อจุลินทรีย์ใช้กระบวนการหมักในการสร้างพลังงาน ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus*

ง. เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนปริมาณในการเจริญเติบโต (Microaerophiles) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจเพื่อสร้างพลังงานเพียงประมาณร้อยละ 2 ถึง 10 ซึ่งในปริมาณออกซิเจนในบรรยากาศมีประมาณร้อยละ 2 และต้องการก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเจริญ ดังนั้น จึงเรียกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่า Capnophiles ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ได้แก่ *Campylobacter* และ *Treponema pallidum*

จ. เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerotolerant anaerobes) ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ได้แก่ *Streptococcus pyrogenes* และ *Lactobacillus*

3.4.3 รังสี

แสงแดดถือเป็นแหล่งสำคัญของรังสีที่ส่องมายังโลก โดยแสงสว่างประกอบด้วย แสงที่มองเห็น (visible light) รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet; UV) แสงอินฟราเรด

(infrared) และคลื่นวิทยุ แสงที่มองเห็นจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สังเคราะห์แสงได้ (phototrophes) โดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ใช้ Chlorophyll, Bacteriochlorophyll, Cytochrome และ Flavins ในการดูดซับพลังงานจากแสงในการสร้างอาหารของเซลล์ ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้แก่ Green sulfur bacteria และ Purple sulfur bacteria ในส่วนของรังสีที่สามารถทำลายเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ และยังทำให้เชื้อจุลินทรีย์เกิดการผ่าเหล่า (mutation) ได้ คือ รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร

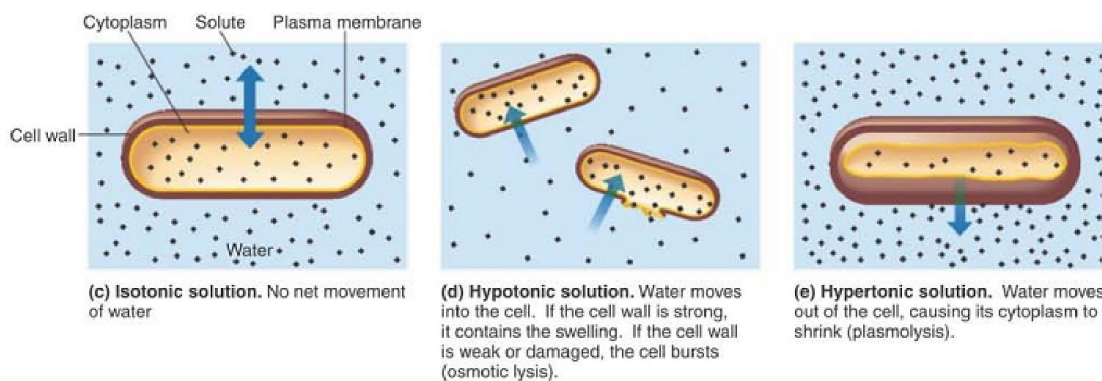
3.4.4 ความดัน

เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามพื้นดินหรือผิวน้ำจะอยู่ภายใต้ความดัน 1 บรรยากาศ (atmospheric; atm) โดยทั่วไป การเปลี่ยนแปลงความดันของบรรยากาศไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แต่ถ้าความดันบรรยากาศต่ำมากๆ เช่น บริเวณในพื้นที่สูงๆ จะมีปริมาณน้ำและออกซิเจนจำกัด ทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีกระบวนการเมแทบอลิซึมลดลง ความดันที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

ก. ความดันของน้ำ (Hydrostatic pressure) มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ ความกดดันของน้ำจะเพิ่มขึ้น 1 บรรยากาศ ทุกๆ ความลึก 10 เมตร และน้ำทะเลมีความกดดันของน้ำสูงกว่าน้ำจืดที่ความลึกระดับเดียวกัน ซึ่งความดันของน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญเติบโตที่ความดันประมาณ 300 บรรยากาศ แต่ไม่เจริญเติบโตในความดันที่สูงกว่า 500 บรรยากาศ ซึ่งเรียกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ว่า Barotolerant แต่มีเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่ที่มีความกดดันน้อยกว่า 500 บรรยากาศ ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่อาศัยในใต้ทะเลลึกถึง 4,000 ถึง 6,000 เมตร โดยมีความกดดันที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตประมาณ 400 บรรยากาศ ซึ่งเรียกว่า Barophiles ตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่ *Photobacterium profundum* และ *Shewanella banthica* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มที่สามารถอาศัยอยู่ที่ความลึกของน้ำทะเลถึง 10,000 เมตร ซึ่งเรียกว่า Extreme barophiles ตัวอย่างของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ เช่น *Moritella* โดยอาศัยที่บริเวณ Mariana Trench ของมหาสมุทรแปซิฟิก ซึ่งเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในความดัน 700 ถึง 800 บรรยากาศ

ข. ความดันออสโมติก (Osmotic pressure) เกิดจากความเข้มข้นที่แตกต่างของสารละลายภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ซึ่งในสภาวะที่ความดันออสโมติกสูง (hypertonic) โดย

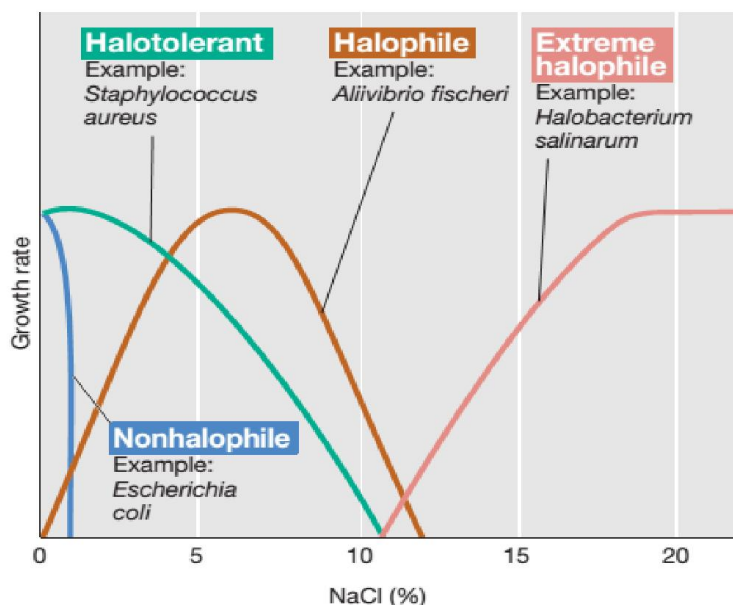
ความเข้มข้นของสารภายนอกเซลล์มากกว่าสารภายในเซลล์ ทำให้น้ำภายในเซลล์ไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) ออกมาภายนอกเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์หดตัวและแยกออกจากผนังเซลล์ และเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เหี่ยว ซึ่งเรียกว่า Plasmolysis ซึ่งในสภาวะนี้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ถูกยับยั้ง ลักษณะการเกิด Plasmolysis ของเชื้อจุลินทรีย์ ดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 ลักษณะการเกิด Plasmolysis ของเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: Tortora *et al.* (2010)

นอกจากนี้ ในสภาวะที่ความดันออสโมติกต่ำ (hypotonic) หรือความเข้มข้นของสารภายนอกเซลล์น้อยกว่าภายในเซลล์ เช่น ในน้ำกลั่น ทำให้น้ำจากภายนอกไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่เซลล์ และทำให้เซลล์เต่งพองหรือแตกออกได้ ในส่วนของสภาพที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลหรือเกลือสูงจะเป็นการเพิ่มความดันออสโมติก ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ จึงนำวิธีนี้มาใช้ในการถนอมอาหาร แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีความดันออสโมติกช่วงกว้าง หรือที่มีค่าความดันออสโมติกสูง เรียกว่า Osmotolerant นอกจากนี้ ยังพบเชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มที่เจริญในที่ที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงได้ เรียกว่า Halophile ซึ่งประกอบด้วย Facultative halophile ที่ไม่ต้องการความเข้มข้นของเกลือสูง และเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 2 ขึ้นไป โดยพบมากมากในทะเล (มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 3.5) และกลุ่ม Extreme halophile ซึ่งจัดเป็น Obligate halophile คือต้องการความเข้มข้นของเกลือสูงในการเจริญประมาณร้อยละ 20 – 30 การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Non – halophile, Halophile และ Extreme halophile ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Non – halophile, Halophile และ Extreme halophile

ที่มา: Madigan *et al.* (2014)

3.4.5 ความชื้น และปริมาณน้ำที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ได้

ความชื้น และปริมาณน้ำที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ได้ (Water activity; a_w) เป็นสิ่งจำเป็นต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ โดยปริมาณน้ำที่สิ่งมีชีวิตนำไปใช้ได้สามารถบอกได้จากค่าความชื้นซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างความดันไอของอากาศกับความดันไอน้ำบริสุทธิ์ โดยค่าความชื้นในสิ่งแวดล้อมมีค่าระหว่าง 0 ถึง 1.0 ตัวอย่างเช่น ดินส่วนมีค่าความชื้นที่ 0.9 ถึง 1.0 นอกจากนี้ค่าความชื้นยังเกี่ยวข้องกับความดันออสโมติกในสารละลาย เนื่องจากในสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงหรือมีความดันออสโมติกสูงจะมีค่าความชื้นต่ำ เช่น น้ำเชื่อมหรือน้ำเกลือเข้มข้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีค่าความชื้น หรือ ความดันออสโมติกช่วงกว้าง เรียกว่า Osmotolerant ซึ่งฟังใจส่วนใหญ่จัดเป็นพวก Osmotolerant และเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารแห้งหรืออาหารดองเค็มเน่าเสีย เชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มสามารถเจริญเติบโตในที่มีค่าความชื้นได้แตกต่าง ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมที่มีค่าความชื้นแตกต่างกัน

ความชื้น	สิ่งแวดล้อม/วัตถุ	ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์
1.000	น้ำบริสุทธิ์	<i>Caulobacter, Spirillum</i>
0.995	เลือดมนุษย์	<i>Streptococcus, Escherichia</i>
0.980	น้ำทะเล	<i>Pseudomonas, Vibrio</i>
0.950	ขนมปัง	ส่วนใหญ่ของแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน
0.900	น้ำเชื่อม, แสม	เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เช่น <i>Staphylococcus</i>
0.850	ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว	<i>Saccharomyces rouxii</i>
0.800	เค้กผลไม้และแยม	<i>Saccharomyces bailii, Penicillium</i>
0.750	ทะเลสาบน้ำเค็มและปลาเค็ม	<i>Halobacterium, Halococcus</i>
0.700	ธัญญาพืชแห้งและผลไม้แห้ง	<i>Xeromyces bisporus</i> และ xerophilic fungi

ที่มา: Madigan *et al.* (2014)

3.4.5 pH

pH หมายถึง ค่าความเป็นกรด เป็นด่าง ในสารละลาย ซึ่ง pH มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม และการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ โดยทั่วไปการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดการผลิตรวด ทำให้ค่า pH ของอาหารเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นจึงต้องมีบัฟเฟอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อปรับสภาพความเป็นกรด เช่น กลีโอฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีพิษกับเซลล์ และกลีโอฟอสเฟตยังเป็นธาตุอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งสามารถแบ่งเชื้อจุลินทรีย์ออกเป็น 3 กลุ่มตาม ความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาพที่มี pH ต่างกัน ดังนี้

ก. จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในที่ pH 0 ถึง 5.5 (Acidophiles) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Archaea รวมทั้งยีสต์ และราส่วนใหญ่ มี pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตที่ pH 5 ถึง 6 นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตในที่ที่มี pH ต่ำมากๆ เช่น *Helicobacter pylori* สามารถเจริญเติบโตในกระเพาะอาหารได้ โดยเป็นสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหาร

ซึ่ง *Helicobacter pylori* สร้างเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ไปย่อยสลายยูเรีย (urea) ในกระเพาะอาหาร ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย โดยแอมโมเนียไปปรับสภาพ pH ในกระเพาะอาหารให้เป็นกลาง

ข. เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญใน pH 5.5 ถึง 8 (Neutrophiles) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตอยู่ที่ pH 7 โดยเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้พบมากในพวกแบคทีเรียและโปรโตซัว

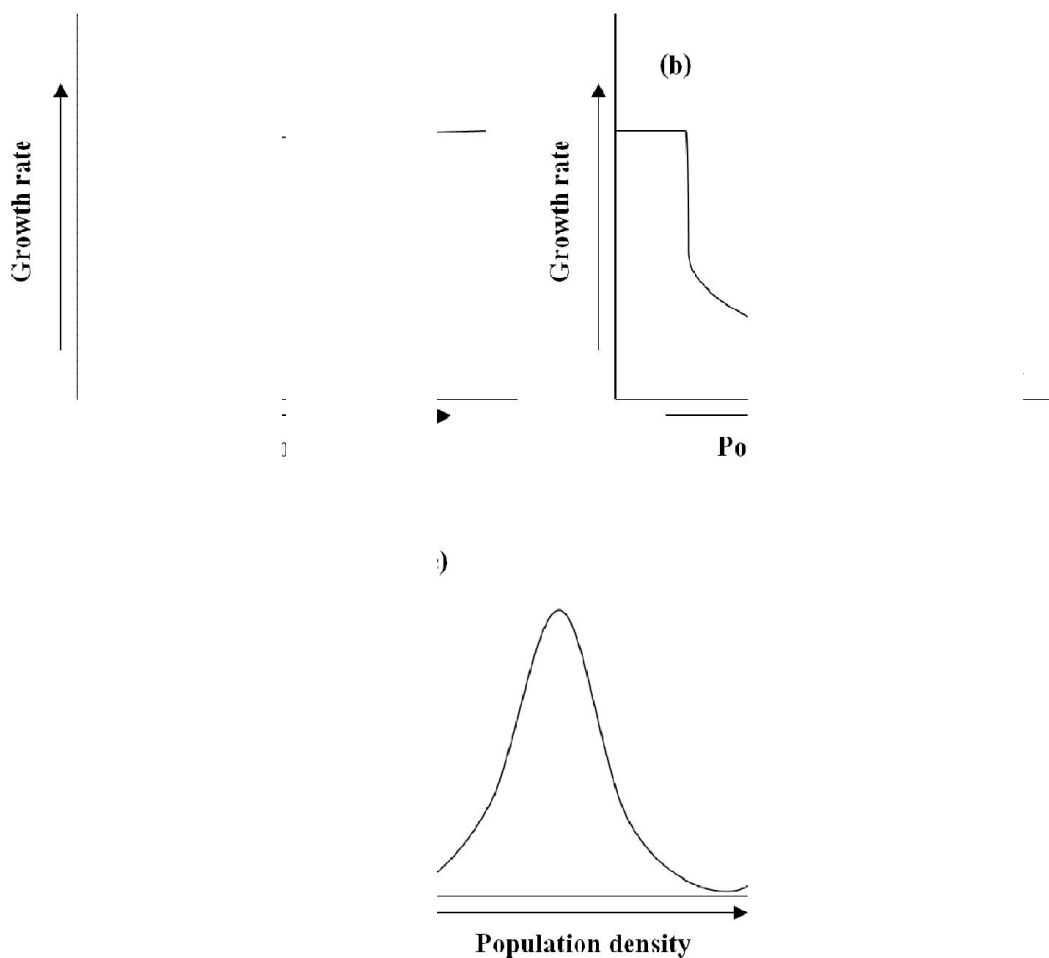
ค. เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญใน pH 8 ถึง 11.5 (Alkalophiles) ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ เช่น *Bacillus alcalophilus*

3.5 ลักษณะความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์

ปกติจะไม่พบเชื้อจุลินทรีย์อยู่แยกเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เนื่องจากในระบบนิเวศของเชื้อจุลินทรีย์ต้องการการแข่งขัน เพื่อให้เข้าถึงสารอาหาร และการรอดชีวิต ดังนั้น เชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มจึงต้องมีความสัมพันธ์ทางด้านกายภาพทั้งทางตรง และทางอ้อมกับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกันเอง หรือกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยเชื้อจุลินทรีย์สามารถอาศัยบน หรือภายนอกสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (ectosymbiont) หรืออาศัยอยู่ภายในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้ (endosymbiont) ลักษณะความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

3.5.1 ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มเดียวกัน

ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มเดียวกัน (Intrapopulation) เป็นความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มเดียวกัน ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มประชากรเดียวกัน (a) ความสัมพันธ์ในเชิงบวก (b) ความสัมพันธ์ในเชิงลบ และ(c) ผลรวมของความสัมพันธ์เชิงบวกและลบ

ที่มา: Altas and Bartha (1993)

ก. ความสัมพันธ์ในเชิงบวก (Positive interaction) เป็นความสัมพันธ์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเพิ่มความสามารถด้านกายภาพ และกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ใช้ทรัพยากรในระบบนิเวศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งพบความสัมพันธ์ลักษณะนี้เมื่อความหนาแน่นของประชากรต่ำ

ข. ความสัมพันธ์ในเชิงลบ (Negative interaction) เป็นความสัมพันธ์ที่เกี่ยวกับการลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนที่มากเกินไปและลด

ความหนาแน่นของประชากรเชื้อจุลินทรีย์ในถิ่นอาศัยนั้น เพราะถ้าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มีมากเกินไป อาจมีผลไปทำลายถิ่นอาศัยของเชื้อจุลินทรีย์ และทำให้เชื้อจุลินทรีย์สูญพันธุ์ โดยพบความสัมพันธ์ ลักษณะนี้ เมื่อความหนาแน่นของประชากรสูง ดังนั้น อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์ คือ ช่วงที่มีความหนาแน่นของประชากรเหมาะสม โดยความสัมพันธ์เชิงบวกจะมีผลต่อกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อความหนาแน่นของประชากรต่ำ และความสัมพันธ์เชิงลบจะมีผลต่อกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อความหนาแน่นของประชากรสูง

3.5.2 ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ต่างกลุ่มกัน

ความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ต่างกลุ่มกัน (Intrepopulation) เป็นความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ต่างกลุ่มกัน หรือความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์กับสิ่งมีชีวิตกลุ่มอื่นๆ ที่อาศัยในระบบนิเวศมีลักษณะต่างๆ ดังภาพที่ 15

ก. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์สองกลุ่มได้รับประโยชน์ทั้งสองฝ่ายหรือเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Mutualism หรือ Symbiosis) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มต้องอยู่ร่วมกันแบบใกล้ชิด โดยไม่สามารถแทนที่ด้วยเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่นได้ (highly specific) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มไม่สามารถอาศัยอยู่ได้ตามลำพังในถิ่นอาศัยประจำแต่อาจแยกกันอยู่ในถิ่นอาศัยอื่นๆ ได้ ความสัมพันธ์แบบที่เป็น Endosymbiosis มีบทบาทสำคัญต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง เช่น คลอโรพลาสต์ในเซลล์พืช และ ไมโทคอนเดรียในเซลล์สัตว์ ตัวอย่างความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันของเชื้อจุลินทรีย์ คือ ไลเคน (lichen) ซึ่งเป็นการอยู่ร่วมกันระหว่างสาหร่ายหรือไซยาโนแบคทีเรีย (phycobiont) กับรา (mycobiont)

ข. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มได้รับประโยชน์จากการอยู่ร่วมกัน แต่ไม่จำเป็นต้องอยู่ร่วมกันตลอดเวลา (Cooperation หรือ Synergism) ซึ่งความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์จะมีลักษณะคล้ายกับ Symbiosis โดยแต่ละกลุ่มอาจอยู่อย่างอิสระได้ หรือมีเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่นมาแทนที่ได้ โดยลักษณะความสัมพันธ์แบบ Cooperation เกี่ยวข้องกับการสร้างสารชนิดหนึ่งที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มใดกลุ่มหนึ่งไม่สามารถสร้างเองได้ตามลำพัง แต่ต้องอาศัยกระบวนการเมแทบอลิซึมร่วมกัน (syntrophism) เช่น เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ 1 เปลี่ยนสารตั้งต้น (A) ไปเป็นสาร B แต่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ 1 ไม่สามารถเปลี่ยนสาร B ไปเป็นสารต่อได้ อาจเนื่องจากขาดเอนไซม์ที่จำเป็น จึงต้องเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ 2 ในการเปลี่ยนสาร B ไปเป็นสาร C ก่อนที่เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองจะช่วยกันเปลี่ยนสาร C ไปเป็นพลังงานและผลผลิตสุดท้าย (end product)

เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งสองกลุ่ม ซึ่งความสัมพันธ์แบบ Syntrophism ที่พบบ่อยเกี่ยวข้องกับ Syntrophism กับความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่สร้าง Growth factors ให้แก่เชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่ม ตัวอย่างความสัมพันธ์แบบ Cooperation ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ภายนอกเซลล์สาหร่าย (epiphytic bacteria) กับสาหร่าย โดยสาหร่ายทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง ผลิตสารอินทรีย์ และออกซิเจน ให้กับเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเชื้อแบคทีเรียทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่สาหร่ายปล่อย (excretion) ออกมาและผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ให้แก่สาหร่าย และบางครั้งยังผลิต Growth factors ที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

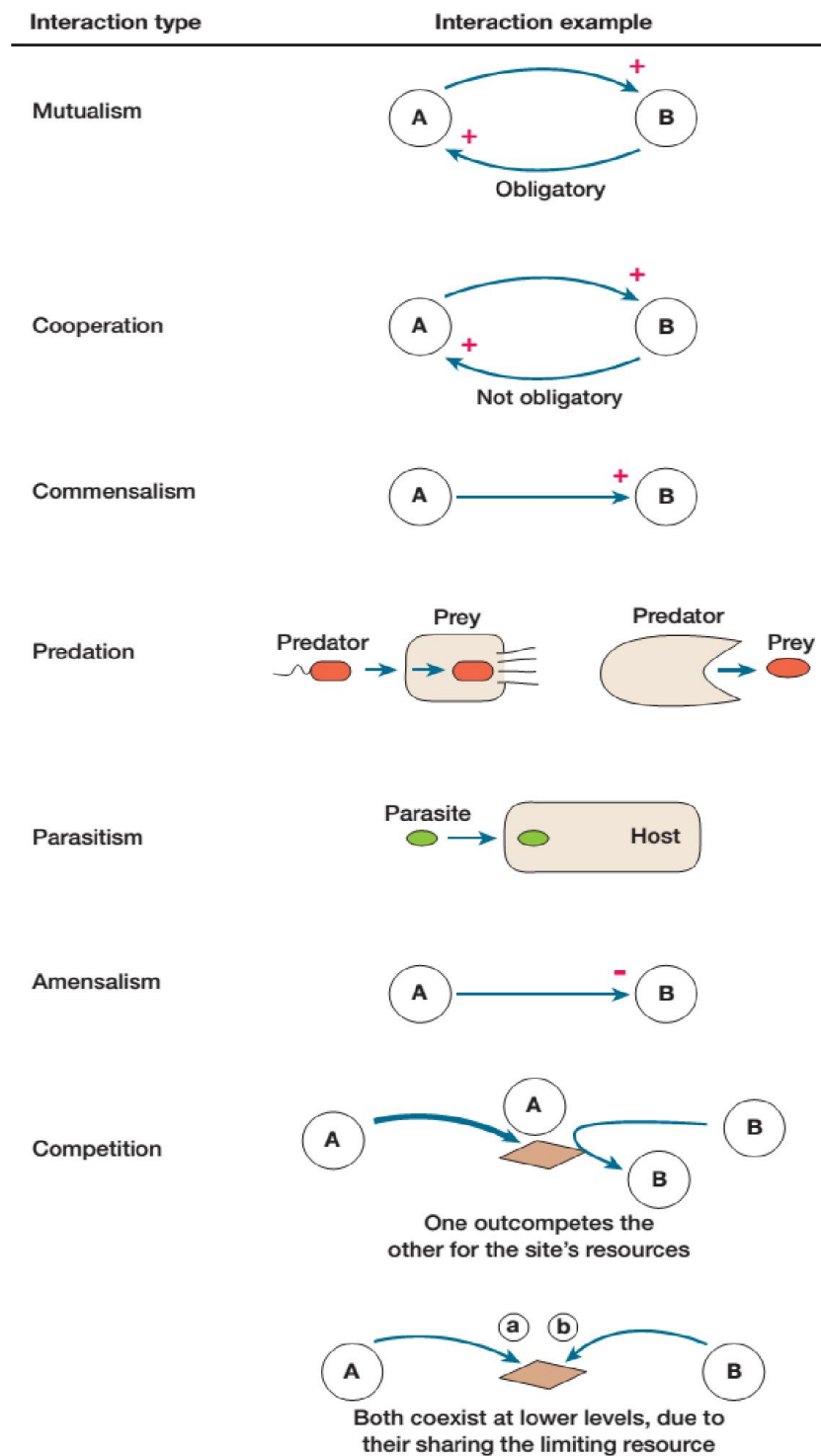
ค. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งได้ประโยชน์ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งไม่ได้และไม่เสียประโยชน์ (Commensalism) ซึ่งเป็นความสัมพันธ์แบบทางอ้อม เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ได้รับผลกระทบยังคงมีการเจริญเติบโตและกระบวนการเมแทบอลิซึมตามปกติ แต่ไปช่วยในการปรับสภาพแวดล้อมทางด้านกายภาพหรือทางเคมีของถิ่นอาศัยให้เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มที่ได้รับประโยชน์ เช่น เชื้อจุลินทรีย์ Facultative anaerobes ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต จึงทำให้ปริมาณออกซิเจนในสิ่งแวดล้อมลดลงอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจน (obligate anaerobes) ตัวอย่างเช่น กระบวนการ Nitrification ซึ่งเกิดการออกซิเดชันของแอมโมเนียโดย *Nitrosomonas* ไปเป็นไนไตรต์ และไนไตรต์ถูกออกซิเดชันต่อไปเป็นไนเตรตโดย *Nitrobacter* ซึ่ง *Nitrobacter* ได้รับประโยชน์จากความสัมพันธ์กับ *Nitrosomonas* เพราะได้ใช้ไนไนไตรต์เป็นแหล่งของพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต

ง. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งเป็นผู้ล่า ส่วนเชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มเป็นเหยื่อ (Predation) ซึ่งเป็นการกินโดยตรงแบบกลืนกิน (engulfment) และการย่อย (digestion) ความสัมพันธ์ โดยผู้ล่า (predator) อาจมีขนาดใหญ่กว่าเหยื่อ (prey) หรือเล็กกว่าก็ได้ นอกจากนี้โครงสร้างของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดทนต่อผู้ล่า เช่น สปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่ทนต่อการถูกจับกินจากอะมีบาในดิน และการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของจำนวนประชากรของผู้ล่าและเหยื่อมีลักษณะเป็นวัฏจักร คือ เมื่อจำนวนประชากรผู้ล่ามีมาก จำนวนประชากรของเหยื่อจะน้อยลง แต่ถ้าจำนวนประชากรของผู้ล่าน้อยลง จำนวนประชากรของเหยื่อจะเพิ่มขึ้น โดยเป็นการควบคุมจำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งช่วยรักษาความสมดุลของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ร่วมกันในระบบนิเวศ ตัวอย่างความสัมพันธ์แบบผู้ล่ากับเหยื่อ ได้แก่ ฟังไจบางชนิดมีทักษะในการล่าโปรโตซัว โดยใช้เส้นใย (Hyphae) เหนียวๆ หรือปุ่มจับโปรโตซัว และเส้นใยจะเข้าไปเจริญเติบโตในเซลล์โปรโตซัว โดยใช้สารในไซโทพลาสซึมเป็นแหล่งอาหาร

จ. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งได้ประโยชน์ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งเสียประโยชน์ (Parasitism) โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ประโยชน์หรือปรสิต (parasite) ได้รับสารอาหารจากเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ที่เสียประโยชน์หรือโฮสต์ (host) และโฮสต์ได้รับอันตรายจากปรสิต ซึ่งความสัมพันธ์แบบปรสิติกกับเซลล์โฮสต์ต้องอาศัยเวลาในการอยู่ร่วมกัน โดยปรสิตจะมีขนาดเล็กกว่าเซลล์โฮสต์ ปรสิตบางชนิดอาศัยนอกเซลล์โฮสต์ (ectoparasite) ส่วนบางชนิดอาศัยในเซลล์โฮสต์ (endoparasite) โดยทั่วไปความสัมพันธ์แบบนี้ปรสิตและเซลล์โฮสต์ต้องมีความเฉพาะเจาะจงต่อกัน

ฉ. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งสร้างสารไปยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่ง (Amensalism หรือ Antagonism) โดยส่วนใหญ่สารเหล่านี้จะมีความเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น หรือการสร้างสารบางอย่าง เพื่อไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมไม่ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ หรือป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น สารยับยั้ง (inhibitory substance) มีหลายชนิดขึ้นกับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ยาปฏิชีวนะ กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดซัลฟูริก และแอลกอฮอล์

ช. ความสัมพันธ์ที่เชื้อจุลินทรีย์สองกลุ่มที่ต้องมาอยู่ร่วมกัน เพื่อการเจริญเติบโตและมีชีวิตรอด โดยต่างฝ่ายต่างสูญเสียประโยชน์ (Competition) ถือว่าเป็นความสัมพันธ์เชิงลบที่ทำให้ความหนาแน่นของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง ความสัมพันธ์ลักษณะนี้เกิดขึ้นเมื่อการอยู่ร่วมกันของเชื้อจุลินทรีย์สองกลุ่มที่ต้องการพื้นที่หรือปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต หรือสารอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัดเหมือนกัน เมื่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งชนะ (dominant species) เชื้อจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งจะลดจำนวนลง แต่ถ้าเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่แพ้สามารถปรับตัวไปใช้สารอาหารอื่นแทนได้จะสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ สำหรับคุณสมบัติของผู้ชนะในการอยู่ร่วมกันแบบแข่งขันต้องมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี เช่น ความร้อน แสง อุณหภูมิ และ pH เป็นต้น มีความสามารถสูงในการเพิ่มจำนวนในอาหารที่มีอยู่จำกัด มีความสามารถที่เปลี่ยนสารอาหารที่มีอยู่จำกัดไปใช้ให้ได้ประโยชน์สูงสุด มีความสามารถในการสังเคราะห์อาหารและสะสมอาหาร และมีความสามารถในการเคลื่อนที่



ภาพที่ 15 ลักษณะความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์

ที่มา: Willey *et al.* (2008)

4. เชื้อจุลินทรีย์ทางน้ำ

การศึกษาด้านเชื้อจุลินทรีย์ทางน้ำ (Aquatic Microbiology) เป็นการศึกษาชุมชนเชื้อจุลินทรีย์ (microbial community) และกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบนิเวศแหล่งน้ำต่างๆ ได้แก่ ทะเลสาบ สระน้ำ แม่น้ำ ปากแม่น้ำ และทะเลหรือมหาสมุทร ซึ่งสามารถพบเชื้อจุลินทรีย์ได้ในระบบนิเวศแหล่งน้ำทุกประเภท รวมทั้งยังพบเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำฝนอีกด้วย เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดต้องการน้ำในการเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวน ถึงแม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดอาศัยบนบก นอกจากนี้ การทิ้งน้ำเสียชุมชนหรือน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมลงไปในแหล่งน้ำธรรมชาติส่งผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยในแหล่งน้ำ

4.1 การแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ

แหล่งน้ำแต่ละประเภทมีปัจจัยทางกายภาพ และทางเคมีที่แตกต่างกัน ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ในแหล่งน้ำแตกต่างกันแบ่งออกได้ ดังนี้

4.1.1 การแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำจืด

กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำจืดส่วนใหญ่เป็นเชื้อจุลินทรีย์แบบเซลล์เดียว (unicellular) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศน้ำจืด โดยเกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนสารอาหาร การผลิตสารอาหาร และการย่อยสลายสารอินทรีย์ แพลงก์ตอนเป็นกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ (microbial planktonic community) ที่แขวนลอยในน้ำและพบจำนวนมากในแหล่งน้ำ

ก. แพลงก์ตอนพืช (Phytoplankton) ได้แก่ สาหร่ายเซลล์และไซยาโนแบคทีเรีย ตัวอย่างกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียในน้ำจืด ได้แก่ *Microcystis*, *Anabaena* และ *Aphanizomenon* ซึ่งแพลงก์ตอนพืชเป็นกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างอาหารได้โดยการสังเคราะห์แสง (photoautotrophs) จึงจัดเป็นผู้ผลิตขั้นต้น (primary producer) ในห่วงโซ่อาหาร สำหรับสารอินทรีย์ที่แพลงก์ตอนพืชสร้างมี 2 ประเภท คือ

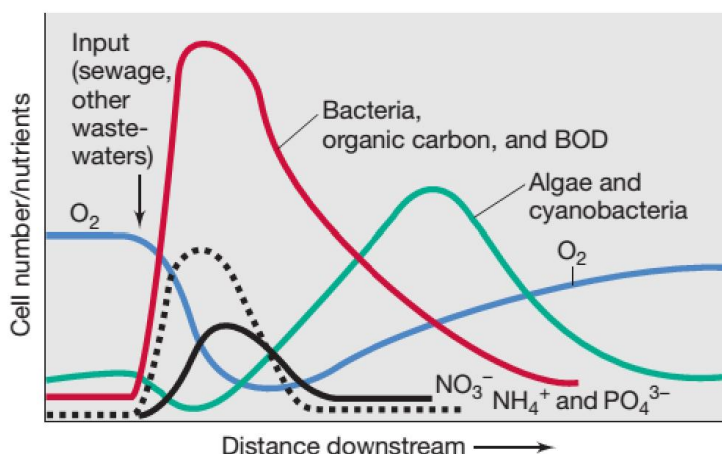
1. Particulate organic matter (POM) เป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่ใช้เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างเซลล์ เช่น ผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์

2. Dissolved organic matter (DOM) เป็นสารโมเลกุลเล็ก เช่น กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ และกรดนิวคลีอิก ที่ถูกนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็วโดยเชื้อจุลินทรีย์ และมีการหมุนเวียนในระบบนิเวศ

ข. แพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton) เป็นกลุ่มโปรโตซัวที่สร้างอาหารเองไม่ได้ (heterotrophs)

ค. เชื้อแบคทีเรียที่เรียกกลุ่มที่สร้างอาหารเองไม่ได้แขวงลอยในน้ำ เรียกว่า Bacterioplankton

เชื้อจุลินทรีย์หลายกลุ่มที่อยู่ในน้ำสามารถเจริญเติบโตเกาะกับวัตถุที่มีผิวแข็งในน้ำเป็นลักษณะแผ่นฟิล์มชีวภาพ ซึ่งกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ทั่วไป ได้แก่ *Flavobacteriu*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Cytophaga*, *Spirillum* และ *Vibrio* การแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ในทะเลสาบต่างจากการแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ในแม่น้ำ เนื่องจากลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำในแม่น้ำ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ ความเร็ว และปริมาณสารต่างๆ ในน้ำขึ้นกับลักษณะทางภูมิประเทศ และสภาพอากาศบริเวณที่แม่น้ำไหลผ่าน นอกจากนี้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในแม่น้ำส่วนใหญ่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มาจากแหล่งอื่นๆ เนื่องจากแม่น้ำเป็นแหล่งรองรับน้ำจากอื่นๆ ด้วย ทั้งจากชุมชนพื้นที่เกษตรกรรมหรือพื้นที่อุตสาหกรรม ดังนั้น แหล่งของสารอินทรีย์ในแม่น้ำไม่ได้มาจากการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงได้เพียงอย่างเดียว แต่ยังได้รับจากน้ำทิ้งและน้ำชะหน้าดินหรือตะกอน (run - off) ที่ไหลมาจากแหล่งต่างๆ อีกด้วย ผลของการได้รับสารอินทรีย์จากน้ำเสียต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ ออกซิเจน และสารอาหารในแม่น้ำ ดังภาพที่ 16 นอกจากนี้ การปล่อยน้ำเสียที่มีสารมลพิษต่างๆ ปนเปื้อนอยู่จะมีผลยังยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำอีกด้วย



ภาพที่ 16 ผลของสารอินทรีย์ในน้ำเสียต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณออกซิเจน และสารอาหาร

ที่มา: Madigan *et al.* (2014)

4.1.2 การแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำเค็ม

ในน้ำทะเลมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่แน่นอน โดยปกติมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่าในน้ำจืด ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ความเค็ม สารอาหาร แสงสว่าง อุณหภูมิ และความดัน เป็นต้น โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในน้ำทะเลต้องเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ชอบความเค็มหรือทนในสภาพที่มีความเค็มได้ (halophile หรือ halotolerant) นอกจากนี้ บริเวณทะเลลึกยังมีความกดดันของน้ำสูง เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ต้องเป็นกลุ่มที่ชอบหรือทนต่อความกดดันน้ำได้ดี (barophile หรือ barotolerant)

บริเวณชายฝั่งใกล้กับปากแม่น้ำ ถือเป็นพื้นที่หนึ่งที่มีลักษณะแตกต่างจากระบบนิเวศน้ำเค็มทั่วไป ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำกร่อย (estuaries หรือ brackish water) โดยน้ำทะเลที่มีความหนาแน่นมากกว่าน้ำจืดจะแทรกตัวอยู่ด้านล่างของชั้นน้ำจืด (salt wedge) และบริเวณชายฝั่งใกล้กับปากแม่น้ำยังมีการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมมาก ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม pH และสารอินทรีย์ เป็นต้น เนื่องจากอิทธิพลของน้ำขึ้นน้ำลง และช่วงฤดูกาล ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยในบริเวณนี้ต้องมีการปรับตัวเป็นอย่างดี เชื้อจุลินทรีย์ที่พบบ่อยในบริเวณน้ำกร่อย คือ เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ทนต่อความเค็มได้ดี

5. เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสีย

เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียมิชนิตและปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิด และแหล่งกำเนิดของน้ำเสีย ซึ่งน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์เป็นจำนวนมากด้วยโดยทั่วไปพบทั้ง ฟังไจ โปรโตซัว สาหร่าย เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้จากแหล่งต่างๆ เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้จากแหล่งต่างๆ เช่น ดิน อากาศ น้ำที่ผ่านการชะล้าง สิ่งขับถ่ายของมนุษย์ และสัตว์ และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ฯลฯ

5.1 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสีย

ชนิด และจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียแต่ละประเภทมีไม่แน่นอน และอาจมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบหรือคุณลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพของน้ำเสีย รวมทั้งสภาพแวดล้อมของน้ำเสีย โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสียมีทั้ง เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และไม่ก่อโรค ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคส่วนใหญ่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ในสิ่งขับถ่ายของมนุษย์ หรือสัตว์แล้วแพร่กระจายลงมาสู่แหล่งน้ำ นอกจากนี้ สำหรับกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค หรือปรสิตที่พบได้ทั่วไปในน้ำเสีย และน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสีย สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

5.1.1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Bacteria Pathogen) บางชนิดเป็นเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์เลือดอุ่น แต่บางชนิดเป็นเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในน้ำ โดยเชื้อแบคทีเรียที่มีจำนวนมากถึงร้อยละ 74 ในอุจจาระของมนุษย์ คือ *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium*, *Clostridium coccooides* และ *Prevotella* สำหรับเชื้อแบคทีเรียในน้ำเสีย มีดังนี้

ก. เชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่เป็น Facultative anaerobes ได้แก่ *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Enterobacoter*, *Echerichia*, *Klebsiella* และ *Shigella*

ข. เชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่เป็น Aerobes ได้แก่ *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* และ *Acinetobacter*

ค. เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ ได้แก่ *Bacillus*

ง. เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่สร้างสปอร์ ได้แก่ *Arthrobater*, *Rhodococcus* และ *Corynebacterium*

5.1.2 ไวรัสก่อโรค

น้ำเสียมีการปนเปื้อนไวรัส (Viral Pathogen) ที่อยู่ในระบบทางเดินททางอาหารมากถึง 140 ชนิด และเป็นสาเหตุทำให้เกิดการติดเชื้อในกระเพาะอาหารและลำไส้

5.1.3 โปรโตซัว

โปรโตซัว (Protozoan Parasites) กลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถสร้างซีสต์ (cyst) ได้ ซึ่งทำให้โปรโตซัวสามารถมีชีวิตอยู่นอกโฮสต์ได้ และเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (trophozoite) หรือเซลล์ปกติของโปรโตซัวจะหลุดออกจากซีสต์ โดยเรียกว่ากระบวนการ Excystment

บางครั้งอาจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ได้เป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค แต่อาจทำให้เกิดผลกระทบด้านอื่นๆ ในแหล่งน้ำ หรือเรียกว่า Nuisance Microorganism ตัวอย่างเช่น

5.1.4 เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเมือก

เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเมือก (Slime – Forming Bacteria) จะสร้างและปล่อยสารเคลือบเมือก (slime layer) ออกมาในน้ำทำให้เห็นเป็นลักษณะฝ้าลอยอยู่ที่ผิวน้ำ หรือเป็นเมือกกั้นเคลือบบนผิววัตถุที่แช่อยู่ในน้ำ

5.1.5 เชื้อไอออนแบคทีเรีย

เชื้อไอออนแบคทีเรีย (Iron Bacteria) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เปลี่ยนสารประกอบเหล็กที่ละลายน้ำไปเป็นสารประกอบเหล็กที่ไม่ละลายน้ำ ($Fe(OH)_3$) ทำให้ท่ออุดตัน นอกจากนี้ยังทำให้น้ำมีสีและกลิ่นเหล็ก และมีความขุ่นเพิ่มขึ้น

5.1.6 เชื้อซัลเฟอร์แบคทีเรีย

เชื้อซัลเฟอร์แบคทีเรีย (Sulfur Bacteria) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เปลี่ยนกำมะถันไปเป็นกรดกำมะถัน (H_2SO_4) ทำให้น้ำมีฤทธิ์เป็นกรด และกัดกร่อนท่อโลหะ ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Thiobacillus* หรือ *Desulfovibrio* ซึ่งทำหน้าที่รีดิวซ์ซัลเฟตเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้น้ำมีกลิ่น มีความขุ่นเพิ่มขึ้น

5.1.7 สาหร่าย

สาหร่าย (Algae) ทำให้น้ำขุ่น เปลี่ยนสี มีกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงปรารถนา

6. การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพ

การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพ (Biological Wastewater Treatment) เป็นกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ โดยการลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพของวิธีการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งสามารถตรวจวัดปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ในน้ำเสียได้โดยการตรวจวัดบีโอดี ซีโอดี หรือปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (total organic carbon; TOC) ทำให้ทราบถึงปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้น และสารอินทรีย์ที่ถูกกำจัดออกจากน้ำเสียในระหว่างกระบวนการบำบัดน้ำเสีย

6.1 กระบวนการบำบัดทางชีวภาพ

กระบวนการบำบัดทางชีวภาพ (Biological Treatment Process) สามารถจำแนกออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่

6.1.1 กระบวนการบำบัดแบบใช้อากาศ

กระบวนการบำบัดแบบใช้อากาศ (Aerobic Process) เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องอาศัยออกซิเจนละลายน้ำ หรือออกซิเจนอิสระ ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้อากาศ (aerobic bacteria) สามารถจำแนกได้เป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ก. ขั้นตอนที่ 1 เป็นกระบวนการนำสารอินทรีย์หรือสารอาหารเข้าไปในเซลล์ โดยเชื้อจุลินทรีย์จะปล่อยเอนไซม์ (exoenzyme หรือ extracellular enzyme) ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มาเกาะติดที่ผนังเซลล์เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารโมเลกุลเล็กที่จะสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ได้

ข. ขั้นตอนที่ 2 เป็นกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ เพื่อที่จะผลิตพลังงานไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ และการสร้างเซลล์ใหม่ เมื่อสารอินทรีย์ในน้ำเสียถูกเปลี่ยนรูปจะรวมตัวเป็นฟล็อก (biological flocculation) ก็จะมีน้ำหนักมากขึ้นและแยกออกจากน้ำเสียได้ง่ายด้วยการตกตะกอน

6.1.2 กระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

กระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Process) เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องอาศัยสารประกอบอื่นเป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจน ละลายน้ำ หรือออกซิเจนอิสระ กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน สามารถแบ่งได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ก. ขั้นตอนที่ 1 เป็นกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis หรือ Liquefaction Stage) ขั้นตอนนี้จะประกอบไปด้วยการย่อยสลายโครงสร้างสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน (complex organic matter) ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ ลิพิด โดยเปลี่ยนไปเป็นโครงสร้างอย่างง่าย เช่น น้ำตาล กรดไขมัน อะมิโนแอซิด และไกลเซอรอล โดยอาศัยเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจากเซลล์เชื้อจุลินทรีย์

ข. ขั้นตอนที่ 2 เป็นกระบวนการสร้างกรด (Acidogenic Stage) โดยเชื้อแบคทีเรียสร้างกรด (hydrogen-producing acetogenic bacteria) ย่อยสลายสายที่เกิดจากขั้นตอนที่ 1 ให้กลายเป็นสารประกอบตัวกลาง (intermediate compounds) เช่น สารละลายกรดอินทรีย์ (organic acids) แอลกอฮอล์ (alcohol) และยังรวมไปถึง กรดไขมันระเหย (volatile fatty acids; VFA) ซึ่งกรดไขมันระเหยกับเอทานอล (ethanol) สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ก๊าซไฮโดรเจน (hydrogen) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbondioxide)

ค. ขั้นตอนที่ 3 เป็นกระบวนการสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic Stage) โดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนิก (acetogenic bacteria) จะเปลี่ยนกรดไขมันระเหยไปเป็นผลผลิตสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ ก๊าซไฮโดรเจน

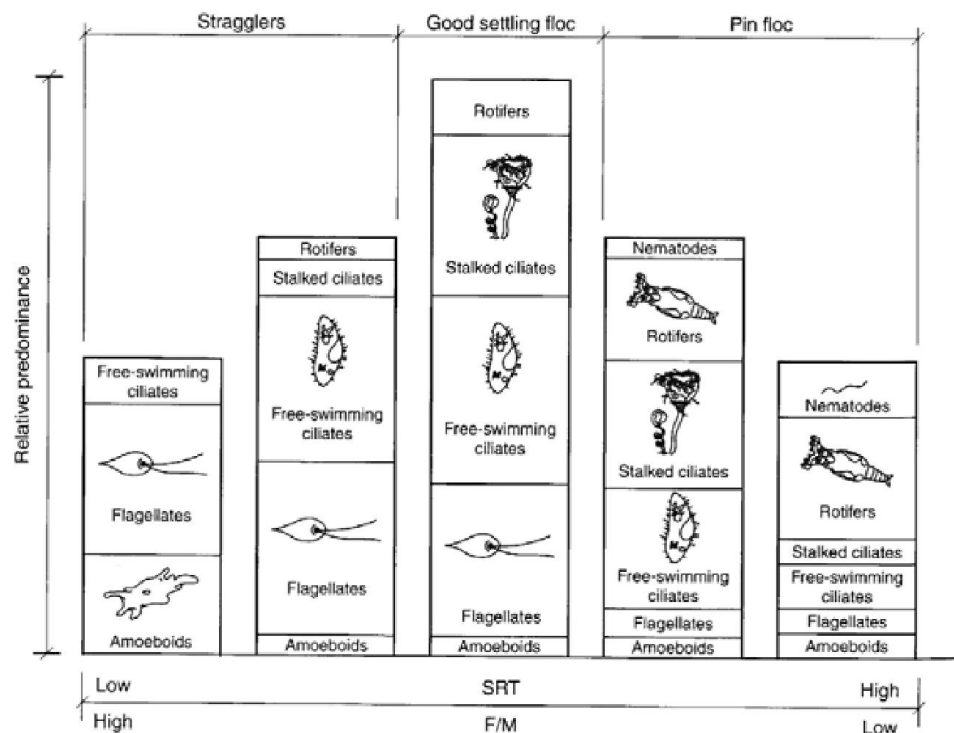
ง. ขั้นตอนที่ 4 เป็นกระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenic stage) โดยผลผลิตที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนิกจะถูกเปลี่ยนไปเป็นก๊าซมีเทน โดยแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทน (methanogenic bacteria)

6.2 ระบบบำบัดทางชีวภาพ

ระบบการบำบัดทางชีวภาพ (Biological Treatment Technique) ที่ใช้กันทั่วไป แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ตามลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่

6.2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตแบบแขวนลอย

เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตแบบแขวนลอย (Suspended Growth) เป็นเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อแบคทีเรียที่กระจายอยู่ทั่วไปในน้ำเสีย เช่น ระบบเลี้ยงตะกอน (activated sludge) แบ่งต่างๆ บ่อเติมอากาศ (aerated lagoon) บ่อปรับเสถียร (stabilization pond) และบ่อเกรอะ (septic tank) ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตระบบเลี้ยงตะกอน ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในระบบเลี้ยงตะกอน

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2003)

6.2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตแบบเกาะติดกับตัวกลาง

เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตแบบเกาะติดกับตัวกลาง (Fixed Film หรือ Attached Growth) สามารถแบ่งลักษณะการเกาะติดตัวกลาง (media) ออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

ก. เกาะติดตัวกลางที่อยู่กับที่ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่กับตัวกลางจะย่อยสลายสารอินทรีย์เมื่อน้ำเสียไหลผ่าน เช่น ระบบโปรยกรอง (trickling filter) และระบบถังกรองไร้อากาศ (anaerobic filter) เป็นต้น

ข. เกาะติดตัวกลางที่เคลื่อนที่ เช่น ระบบจานหมุนชีวภาพ (rotating biological contractor; RBC)

6.2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตทั้งแบบแวนลอย และแบบเกาะติดกับตัวกลาง

เป็นการให้เชื้อจุลินทรีย์อยู่ในทั้งสองลักษณะ เช่น ระบบถังเกรอะ – ถังกรองใโรอากาศ (septic anaerobic filter)

7. การบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

การบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ (Natural Wastewater Treatment) เป็นระบบการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยกระบวนการทางธรรมชาติร่วมกันทั้งกายภาพ เคมี และชีวภาพ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ กระบวนการที่ร่วมกันของทั้งสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิต ภายใต้สภาพแวดล้อมหนึ่งๆ ในการบำบัดน้ำเสียให้เป็นน้ำดี โดยการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติไม่ต้องอาศัยอุปกรณ์ และเครื่องจักรกลต่างๆ มาช่วยในการบำบัด ดังนั้นจึงทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดมากกว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบอื่นๆ ประเภทของระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ดังนี้

7.1 การบำบัดน้ำเสียโดยการกรองผ่านชั้นดิน

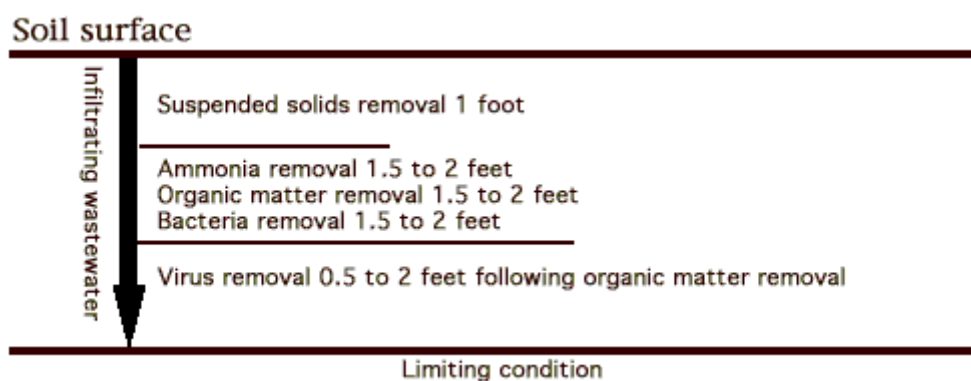
การบำบัดน้ำเสียโดยการไหลผ่านชั้นดิน (Land Treatment) เป็นการให้น้ำเสียผ่านชั้นดิน ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดเป็นอย่างมาก เพราะไม่ได้เสียค่าใช้จ่ายใดๆ เพียงแต่ต้องใช้พื้นที่ในการกระจายน้ำเสียมากพอสมควร การเลือกพื้นที่ในการบำบัดควรเป็นพื้นที่ว่างเปล่าไม่มีการใช้ประโยชน์หรือประกอบกิจกรรมใดๆ

7.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียโดยการไหลผ่านชั้นดินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

ก. ระดับความลึกของชั้นดิน โดยพบว่า ของแข็งแขวนลอย (suspended solids) ซึ่งเป็นตัวการหนึ่งที่ทำให้เกิดความขุ่นในน้ำเสีย สามารถถูกกรองได้ด้วยชั้นของดิน ที่ไม่อิ่มตัวด้วยน้ำ หลังจากให้น้ำเสียไหลผ่านไปอย่างน้อย 1 ฟุต โดยน้ำเสียจะมีลักษณะที่ใสขึ้น แต่ในความลึกดังกล่าวยังไม่สามารถกำจัดสารพิษที่สามารถละลายน้ำได้ (dissolved pollutants) ตลอดจนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (disease-causing organisms) แต่เมื่อน้ำเสียนั้นไหลผ่านถึงระยะความลึก 2 ฟุต

สารอินทรีย์ (organic matter) แอมโมเนีย (ammonia) และ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะถูกกำจัดออกไป ในส่วนของไวรัสซึ่งมีขนาดเล็กกว่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สามารถถูกกำจัดได้ที่ความลึกของชั้นดิน ตั้งแต่ 0.5 ถึง 2 ฟุต โดยจะขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของดินในการกำจัดสารอินทรีย์ ระดับความลึกของชั้นดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดสารมลพิษในน้ำเสีย ดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 ระดับความลึกของชั้นดิน (ฟุต) ต่อประสิทธิภาพการบำบัดสารมลพิษในน้ำเสีย

ที่มา: Karen and Brian (2002)

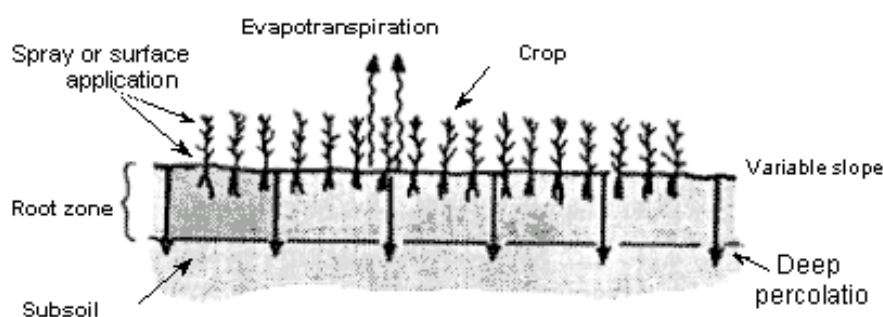
ข. ลักษณะของเนื้อดิน โดยงานวิจัยของ Akber *et al* (2008) รายงานว่า เนื้อดินที่มีสภาพความเหนียวต่ำ (low clay content) จะมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย (tertiary treated wastewater) ซึ่งสามารถลดแอมโมเนียได้มากกว่าร้อยละ 90 เหล็กได้มากกว่าร้อยละ 80 สารอินทรีย์คาร์บอนได้มากกว่าร้อยละ 90 บีโอดีได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

การบำบัดน้ำเสียโดยการไหลผ่านชั้นดินยังสามารถใช้ได้เป็นเวลานาน อย่างไรก็ตาม น้ำทิ้งที่ผ่านการกรองด้วยดินจะมีแนวโน้มของปริมาณของแข็งละลายน้ำ (total dissolved solids) และไนเตรทของกระบวนการ nitrification เพิ่มสูงขึ้น

7.1.2 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยการไหลผ่านชั้นดิน

ระบบบำบัดน้ำเสียโดยการไหลผ่านชั้นดิน สามารถแบ่งออกเป็น 3 แบบ ดังนี้

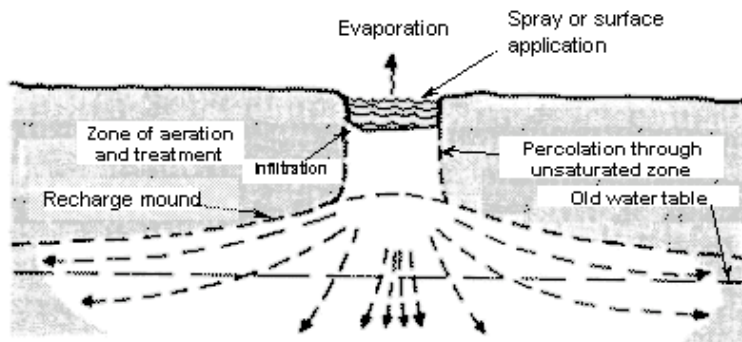
ก. แบบอัตราการซึมผ่านช้า (Slow – Rate System) เป็นระบบบำบัดที่มีการปล่อยให้ น้ำไหลซึมผ่านชั้นดิน (percolation) อย่างช้าๆ และปล่อยให้เกิดการคายน้ำ (evaporation) ออกจากระบบบำบัด ซึ่งภายในพื้นที่ของระบบดังกล่าว อาจเป็นพื้นที่ใช้ในการทำเกษตร หรือมีพันธุ์ไม้ต่างๆ ขึ้นอยู่ด้วยก็ได้ ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบอัตราการซึมผ่านช้า

ที่มา: United Nations Environment Programme (2014)

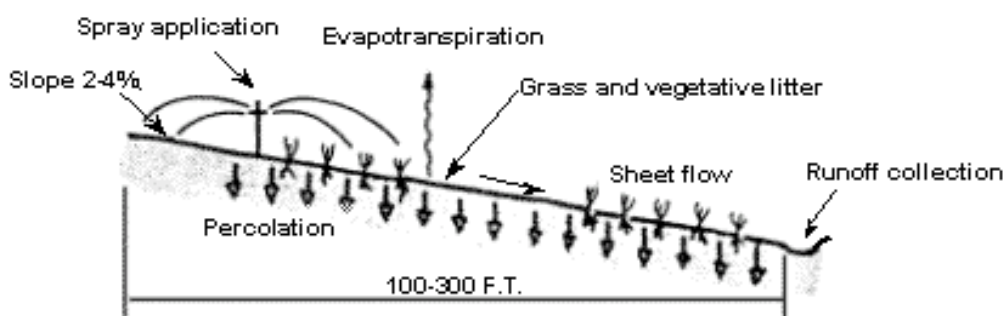
ข. แบบอัตราแบบซึมผ่านเร็ว (Rapid – Infiltration System) เป็นระบบบำบัดที่มีการปล่อยให้ น้ำเสียให้ไหลเข้ามาภายในพื้นที่ระบบซึ่งมีลักษณะท้องร่อง หรือร่องรองรับน้ำเสียอย่างรวดเร็ว จากนั้นก็ปล่อยให้ น้ำเสียนั้นระเหยไปในอากาศ หรือไหลซึมผ่านชั้นดินลงไปเอง ดังนั้นพื้นที่ในการใช้ทำระบบบำบัดน้ำเสียดังกล่าวนี้ ก็ไม่จำเป็นที่จะต้องปลูกพืชคลุมดิน หรือมีต้นไม้จำนวนมากขึ้นอยู่แต่อย่างใด ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบอัตรการซึมผ่านเร็ว

ที่มา: United Nations Environment Programme (2014)

ค. แบบน้ำไหลนอง (Overflow – Flow System) เป็นระบบบำบัดที่มีการปล่อยให้น้ำเสียผ่านท่อที่มีการเจาะรู หรือผ่านหัวกระจายน้ำ (sprinkler system) ที่ตั้งอยู่สูงกว่าพื้นที่ให้น้ำเสียนั้น ไหลผ่านพืชต่างๆ ที่ปกคลุมพื้นที่ของระบบผ่านมาจนกระทั่งถึงรางหรือท้องร่องรองรับน้ำเสีย ซึ่งในขณะที่น้ำเสียไหลผ่านพืชต่างๆ เหล่านี้ จะมีทั้งกระบวนการคายน้ำออกจากพืช และอีกส่วนหนึ่งก็จะเกิดการไหลซึมผ่านลงไปในดินด้วย ดังนั้น พื้นที่ที่เหมาะสมในการใช้ระบบดังกล่าวนี้ ควรเป็นพื้นที่ที่มีความลาดเอียง หรือมีความชัน (slope) ที่จะทำให้น้ำเสียสามารถไหลผ่านมาเรื่อยๆ โดยปราศจากการใช้เครื่องจักรกลช่วย ดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบน้ำไหลนอง

ที่มา: United Nations Environment Programme (2014)

7.2 การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำ (Wetland System)

การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำ เป็นการทำให้พื้นที่ชุ่มน้ำทำหน้าที่ในการรองรับน้ำเสีย ซึ่งในที่นี้ พื้นที่ชุ่มน้ำ หมายถึง พื้นที่ที่มีท่วมน้ำถึงที่มีความลึกน้อยกว่า 60 เซนติเมตร มีพืชน้ำบางชนิดทั้งที่มีรากลอยน้ำ เช่น บัว จอก แหน ผักตบชวา และพืชจำพวกที่มีรากอยู่พื้นดินใต้น้ำ เช่น ฐปถาญี และต้นกก เป็นต้น โดยพืชเหล่านี้จะใช้ทั้ง ส่วนของใบ ลำต้น และราก ทำหน้าที่ในการเป็นตัวกรองและตัวดูดซับสารที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียนั้น การบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่

7.2.1 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ

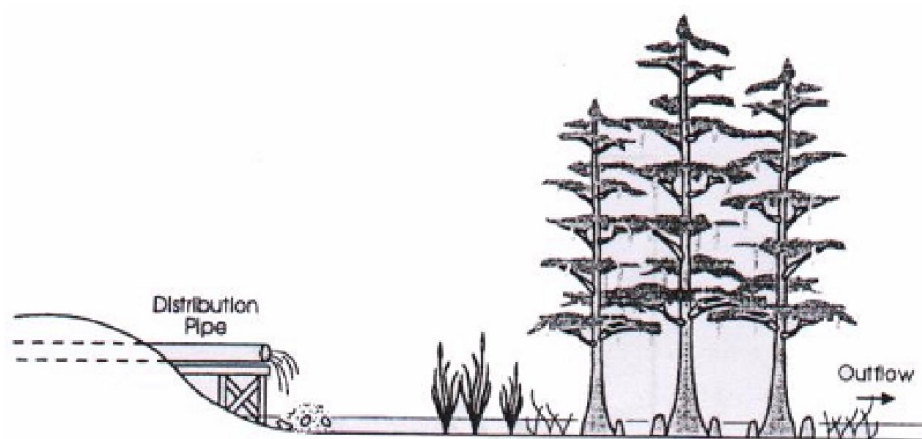
ระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ (natural wetland system) เป็นระบบบำบัดที่ใช้พื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ เช่น ห้วย หนอง บึง และ ป่าชายเลน เป็นต้น เป็นแหล่งรองรับน้ำเสีย โดยพื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติจะสามารถบำบัดของเสียได้ด้วยกระบวนการกรอง การตกตะกอน การย่อยสลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ และการดูดซับสารอาหารของพืช ซึ่งประสิทธิภาพในการบำบัดของเสียโดยระบบบึงตามธรรมชาติ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพในการบำบัดของเสียโดยบึงตามธรรมชาติ

พารามิเตอร์	ประสิทธิภาพในการบำบัด (ร้อยละ)
สารอินทรีย์	70 – 96
ของแข็งแขวนลอย	60 – 90
ไนโตรเจน	40 – 90

ที่มา: Kootatep *et al.* (2002)

จากตารางที่ 4 ทำให้ทราบว่าระบบบึงตามธรรมชาติ สามารถใช้เป็นแหล่งรองรับและบำบัดของเสียได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตาม แหล่งกำเนิดของเสียที่ต้องการบำบัดควรตั้งอยู่ใกล้กับบึงธรรมชาติ มิเช่นนั้นจะต้องมีค่าใช้จ่ายในการรวบรวม และขนถ่ายของเสียมาสู่บึงธรรมชาติเพิ่มขึ้น โดยการบำบัดน้ำเสียด้วยพื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ ดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 พื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ

ที่มา: Kadlec and Knight (1996)

7.2.2 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

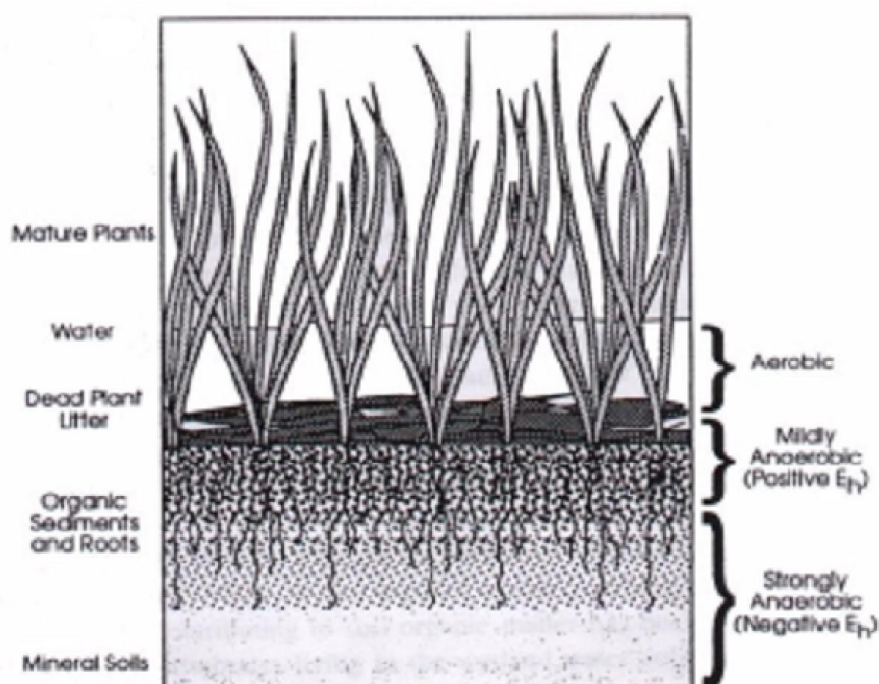
ระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิธีการใช้พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ หรือพื้นที่ชุ่มน้ำเทียม (constructed wetland system) เป็นพื้นที่ชุ่มน้ำที่มีการสร้างขึ้นเพื่อเลียนแบบพื้นที่ชุ่มน้ำตามธรรมชาติ หรืออาจใช้พื้นที่ชุ่มน้ำธรรมชาติที่มีอยู่เดิม แต่ได้มีการปรับปรุงในบางส่วน เช่น มีการปูรองพื้นบ่อด้วยแผ่นพลาสติกชนิด polyethylene (PE) เพื่อป้องกันการซึมผ่านของน้ำเสียลงไปในชั้นดินส่วนล่าง ซึ่งส่วนล่างของบ่ออาจมีการปรับระดับความลาดเอียง ซึ่งส่วนลักษณะของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์จะเป็นแนวยาว และมีหลายๆ บ่อเรียงขนานกัน เพื่อเป็นการเพิ่มระยะเวลาในการบำบัด ตลอดจนส่วนท้ายของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์มีการวางระบบท่อเพื่อทำหน้าที่ในการรับน้ำเสียออกจากพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

ก. องค์ประกอบของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

องค์ประกอบของระบบบำบัดแบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์สำหรับบำบัดน้ำเสีย และสิ่งปฏิกูล สามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. ชั้นกรอง (Substrate) ชั้นกรองที่เลือกนำมาใช้ในพื้นพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์มักเป็นวัสดุที่มีในธรรมชาติ เช่น กรวด หิน และทราย เป็นต้น ซึ่งสามารถหาได้ทั่วไปโดยใช้เพียงชนิด

โคชนิดหนึ่ง หรือใช้รวมกันก็ได้ ช่องว่างในชั้นกรองเหล่านี้ ใช้เป็นช่องทางการไหลของน้ำในระบบ นอกจากนี้เป็นที่อยู่ของพืช และที่ยึดเกาะสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ อีกทั้งชั้นกรองยังเป็นพื้นที่ในการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบต่างๆ ด้วย ลักษณะทางกายภาพของชั้นกรองก็มีความสำคัญในการบำบัดน้ำเสียอีกด้วย เช่น ชั้นกรองที่เป็นทราย หรือกรวดนิยมนำมาใช้สำหรับบำบัดน้ำเสีย เพราะมีอนุภาคขนาดใหญ่ซึ่งจะไม่ก่อให้เกิดปัญหาการอุดตันขึ้นกับระบบและพืชสามารถยึดเกาะได้ง่าย ชั้นกรองของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระดับ ตามปริมาณของออกซิเจน ดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 ชั้นกรองของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

ที่มา: Kadlec and Knight (1996)

- บริเวณที่มีออกซิเจน (Aerobic) เป็นบริเวณผิวน้ำของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ บริเวณนี้ น้ำเสียสามารถแลกเปลี่ยนออกซิเจนกับอากาศได้
- บริเวณที่มีออกซิเจนน้อย (Mildly Anaerobic) เป็นบริเวณที่อยู่ถัดจากชั้นที่มีออกซิเจน ชั้นนี้เป็นชั้นที่มีปริมาณออกซิเจนค่อนข้างน้อยเนื่องจากเป็นบริเวณที่มีซากพืช

สะสมอยู่ อย่างไรก็ตาม ระบบรากของพืชที่ยึดเกาะอยู่ในชั้นนี้ สามารถปล่อยออกซิเจนออกมาสู่ชั้นกรองได้บางส่วน

- บริเวณที่ไม่มีออกซิเจน (Strongly Anaerobic) เป็นบริเวณที่อยู่ชั้นสุดท้ายหรือล่างสุดของชั้นกรอง และในบริเวณนี้จะอยู่ในสภาพไม่มีอากาศ

2. เชื้อจุลินทรีย์ (Microbial Organisms) ในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ มีอยู่มากมายหลายชนิด เช่น เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย และโพรโตซัว เป็นต้น โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ จะทำหน้าที่ เปลี่ยนสารปนเปื้อนในน้ำเสียให้เป็นอาหาร และพลังงานสำหรับการดำรงชีวิต ซึ่งแหล่งพลังงานหลักของเชื้อจุลินทรีย์ คือ สารอินทรีย์ และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยจะใช้สารอินทรีย์ในการสร้างเซลล์ ในระบบบำบัดแบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์จะมีการจัดสภาวะแวดล้อมใหม่ให้มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดของเสีย เชื้อจุลินทรีย์ในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

- เชื้อแบคทีเรียชนิดแขวนลอย คือ เชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตและอาศัยอยู่บริเวณผิวน้ำของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต

- เชื้อแบคทีเรียชนิดเกาะติด คือ เชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตและอาศัยอยู่ในส่วนที่จมอยู่ในน้ำของพืช (ราก, ลำต้น) ในดิน ทราข หรือเกาะบนตัวกลางโดยตรงสำหรับพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลได้ผิวดิน นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ยังสะสมอยู่ในชั้นตะกอนบริเวณด้านล่างของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ด้วย

ข. กลไกการบำบัดน้ำเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

กลไกในการกำจัดของเสียต่างๆ ในน้ำเสียของระบบพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ มีทั้งกระบวนการทางกายภาพ ได้แก่ การตกตะกอน กระบวนการทางชีวภาพ ได้แก่ การย่อยสลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ในระบบ และกระบวนการทางเคมี เช่น การเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันโดยเชื้อจุลินทรีย์เพื่อกำจัดไนโตรเจน กลไกการบำบัดของเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ ดังตารางที่ 5 และปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นทั้งหมดในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 กลไกการบำบัดของเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

พารามิเตอร์	กลไกการบำบัด
ของแข็งแขวนลอย	- การตกตะกอน - การกรอง
บีโอดี	- การย่อยสลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ - การตกตะกอน
ไนโตรเจน	- ปฏิกริยาไนตริฟเคชันและดีไนตริฟเคชัน โดยเชื้อจุลินทรีย์ - พืชนำไปใช้ประโยชน์ - การระเหยของแอมโมเนีย
ฟอสฟอรัส	- ดูดซับโดยดิน (ปฏิกริยาการดูดซับ – ตกตะกอน โดย อลูมิเนียม เหล็ก แคลเซียม และแร่ธาตุต่างๆ ในดิน) - พืชนำไปใช้ประโยชน์
เชื้อโรค	- การตกตะกอน - การกรอง - การตายตามธรรมชาติ - รังสี UV - โดยสารปฏิชีวนะจากพืชน้ำ

ที่มา: กลอยกาญจน์ (2544)

ตารางที่ 6 ปฏิกริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นทั้งหมดในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

ลำดับที่	ปฏิกริยาทางเคมี	สูตรสมการทางเคมี
1	Aerobic respiration	$(\text{CH}_2\text{ON}_x\text{P}_y\text{S}_z\text{K}_y)_n + n\text{O}_2 + n\text{H}_2\text{O} = n\text{CO}_2 + 2n\text{H}_2\text{O} + \text{mineral (N,P,S,K) + energy}$
2	Ammonium oxidation	$1\text{NH}_4^+ + 1.32\text{NO}_2^- + 0.066\text{HCO}_3^- + 0.13\text{H}^+ \rightarrow 1.02\text{N}_2 + 0.26\text{NO}_3^- + 0.066\text{CH}_2\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.13} + 2.03\text{H}_2\text{O}$ $n\text{CO}_2 + 2n\text{H}_2\text{O} + \text{minerals (N,P,S,K) + sunlight =$ $[\text{CH}_2\text{ON}_x\text{P}_y\text{S}_z\text{K}_y]_n + n\text{O}_2 + n\text{H}_2\text{O}$
3	Photosynthesis	เมื่อ $x = 0.16 - 0.016$; $y = 0.01 - 0.01$; $z = 0.02 - 0.002$; ค่าที่ต่ำใช้กับพืชบกและค่าที่สูงใช้กับพืชน้ำ
4	Nitrogen fixation	$\text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{energy} = \text{NH}_3 + \text{O}_2$
5		$\text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{light} = \text{NH}_3 + \text{O}_2$
6	Acidogenesis	$4\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{NS} + 8\text{H}_2\text{O} = 4\text{CH}_3\text{COOH} + 4\text{CO}_2 + 4\text{NH}_3 + 4\text{H}_2\text{S} + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^-$
7	Methanogenesis	$8\text{H}^+ + 8\text{e}^- + 3\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 = 4\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
8	ปฏิกริยาทางเคมีที่ (6) + (7)	$4\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{NS} + 6\text{H}_2\text{O} = \text{CH}_3\text{COOH} + 6\text{CO}_2 + 4\text{CH}_4 + 4\text{NH}_3 + 4\text{H}_2\text{S}$ (เป็นกระบวนการผลิตก๊าซมีเทนทั้งหมด)
9		$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$
10	Mineral weathering	Primary mineral + $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{M}^{n+} + n\text{HCO}_3^- + \text{soil/clay/sand}$
11	Nitrification	$\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + 1.5\text{O}_2 = \text{Nitrosomonas} + \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$
12		$\text{NO}_2^- + \text{CO}_2 + 0.5\text{O}_2 = \text{Nitrobacter} + \text{NO}_3^-$
13	Denitrification	$4\text{NO}_3^- + 2\text{H}_2\text{O} + \text{energy} = 2\text{N}_2 + 5\text{O}_2 + 4\text{OH}^-$

ที่มา: Nemade *et al.* (2009)

เมื่อพิจารณาปฏิกริยาทางเคมีทั้งหมดในตารางที่ 6 พบว่า ปฏิกริยาทางเคมีที่ 1 จะเกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน ซึ่งสามารถลดสารอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว แต่จะเกิดขึ้นในช่วงแรกของการขังน้ำเสีย เมื่อออกซิเจนในวัสดุปลูกหมดลงเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนจะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่อไป ตามปฏิกริยาที่

2, 8, 11, 12 และ 13 แต่จะเป็นการย่อยสลายอย่างช้าๆ จากนั้นพืชบำบัดน้ำเสียจะใช้สารอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโตตามปฏิกิริยาทางเคมีที่ 3 พืชบำบัดน้ำเสียเหล่านี้จะมีเนื้อเยื่อพิเศษภายในลำต้น (Aerenchuma) สำหรับเป็นทางผ่านของออกซิเจนจากบรรยากาศลงสู่ราก จึงมีออกซิเจนอย่างต่อเนื่องเพียงพอสำหรับใช้ในการหายใจอยู่เสมอ และยังแพร่กระจายลงสู่บริเวณรอบๆ รากของพืช (Jackson and Armstrong, 1999) ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนยังคงสามารถเจริญเติบโต และย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ต่อไป เนื้อเยื่อ Aerenchuma ยังเป็นส่วนสำคัญในลดปริมาณก๊าซมีเทนตามปฏิกิริยาที่ 8 ในวัสดุปลูก โดยการปลดปล่อยออกมาสู่ชั้นบรรยากาศ (Jackson and Armstrong, 1999; Thomas *et al.*, 1996) ซึ่งก๊าซมีเทนจะเป็นพิษกับเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ใช้ออกซิเจน ในส่วนของปฏิกิริยาทางเคมีที่ 4, 9 และ 10 จะเกิดขึ้นในวัสดุปลูก และปฏิกิริยาทางเคมีที่ 5 จะเกิดขึ้นในน้ำเสีย ซึ่งปฏิกิริยาทางเคมีทั้งหมดจะเกิดพร้อมกันในการบำบัดน้ำเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

ก. ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการบำบัดน้ำเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการบำบัดน้ำเสียในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. อุทกวิทยาพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ (Wetland Hydrology) น้ำในพื้นที่ชุ่มน้ำจะมีผลต่อดินและสารอาหาร ซึ่งจะมีผลต่อเนื่องไปยังสิ่งมีชีวิตอื่นๆ อัตราการไหล ปริมาณน้ำ และเวลากักเก็บน้ำ มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต่างๆ ในที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ สิ่งสำคัญที่ต้องทราบเกี่ยวกับอุทกวิทยาในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ ได้แก่

- อัตราการระลอกศาสตร์ (Hydraulic Loading Rate; HLR) หน่วยเป็น cm/d, m/d, m/y)

$$HLR = \frac{Q}{A} \quad (1)$$

โดยที่ A = พื้นที่ของพื้นที่ชุ่มน้ำ (m²)

Q = อัตราการไหลของน้ำ (m³/d)

- เวลากักเก็บน้ำ (Detention Time; t) หน่วยเป็น วัน

$$t = \frac{V}{Q} \quad (2)$$

โดยที่ V = ปริมาณน้ำในพื้นที่ชุ่มน้ำ (m^3)

Q = อัตราการไหลของน้ำ (m^3/d)

- ความลึกของน้ำ (Water Depth; h) หน่วยเป็น m, cm

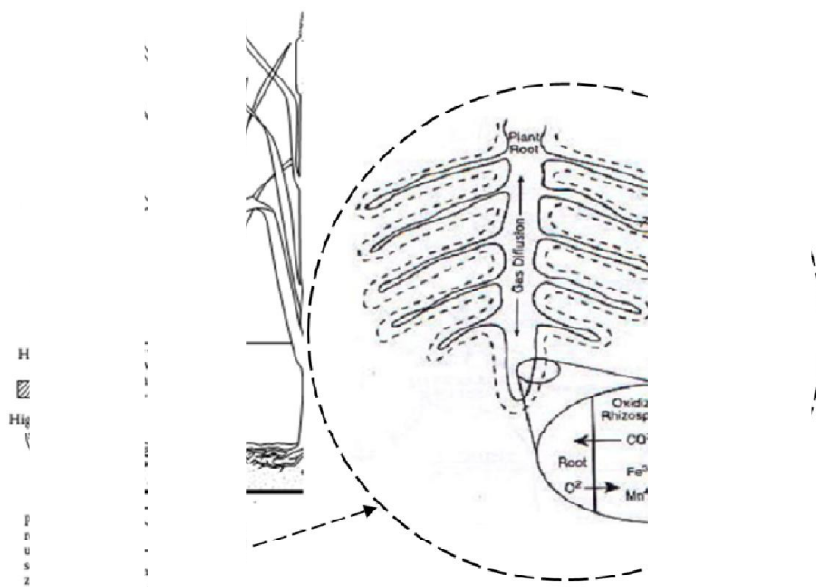
$$h = H - G \quad (3)$$

โดยที่ H = ความสูงของระดับน้ำ (m)

G = ความสูงของระดับดิน (m)

2. ดินในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ (Wetland Soil) ดินในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์เป็นดินที่มึนตัวด้วยน้ำ และเป็นดินที่มีการสะสมของสารอินทรีย์ ลักษณะทางกายภาพของดินมีความสำคัญในการบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากจะบ่งบอกถึงประสิทธิภาพและความสามารถในการกำจัด หรือลดสารปนเปื้อนในน้ำเสีย ดินทราย หรือดินเม็ดใหญ่ ระยะเวลาสัมผัสระหว่างน้ำกับดินจะน้อย และมีสารอาหารในดินน้อย ส่วนดินเหนียวแม้ว่าระยะเวลาสัมผัสจะนานแต่พืชจะเจริญเติบโต หรือแทรกรากผ่านได้ยาก จึงไม่เหมาะสมในการใช้บำบัดน้ำเสีย สำหรับทรายและกรวดจะใช้ได้ เมื่อน้ำเสียมีสารอาหารสูง (Davis *et al.*, 1997)

3. พืชน้ำ (Wetland Plant) ปัจจุบันพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์นิยมใช้พืชโผล่พ้นน้ำ (emergent plant) เช่น พืชจำพวก ออ (*Phragmites* spp.) กก (*Scirpus* spp.) และธูปฤาษี (*Typha* spp.) ในการบำบัดน้ำเสียมากกว่าการใช้พืชลอยน้ำ (floating plant) เนื่องจากพืชลอยน้ำไม่สามารถทนกับอากาศหนาว และศัตรูพืชได้ นอกจากนี้ รากของพืชโผล่พ้นน้ำยังช่วยเพิ่มพื้นผิวสำหรับการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยเคลื่อนย้ายแก๊สต่างๆ รวมถึงออกซิเจนจากยอดลงสู่ราก ทำให้เกิดสภาพออกซิเจนเป็นฟิล์มบางๆ (rhizosphere) รอบๆ ราก ดังภาพที่ 24 ซึ่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนรูปสารอาหาร ไอออนของโลหะ และสารประกอบอื่นๆ ได้มีทำให้คุณภาพน้ำดี



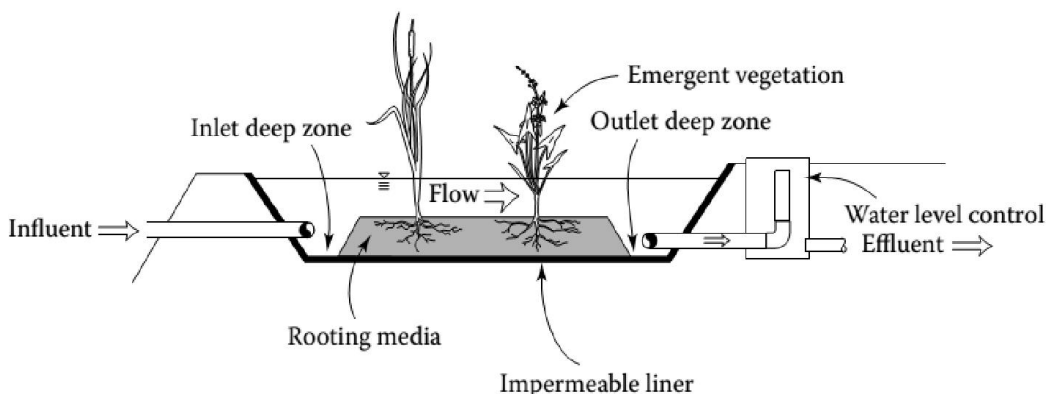
ภาพที่ 24 ลักษณะการเกิดสภาพออกซิเจนเป็นฟิล์มบางๆ รอบรากพืชโผล่พ้นน้ำ

ที่มา: คัดแปลงจาก Kadlec and Wallace (2008)

ง) ชนิดของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์

พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์สามารถแบ่งเป็น 3 ชนิด ดังนี้

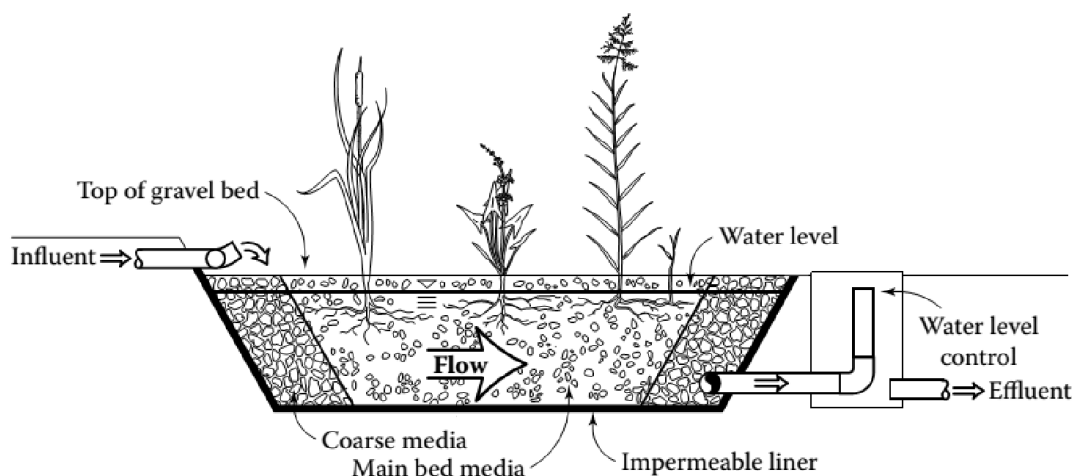
1) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่น้ำไหลท่วมผิวชั้นกรองอย่างอิสระ (Free Water Surface Systems; FWS) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์นี้ โดยทั่วไปจะประกอบด้วยแอ่ง หรือร่องน้ำ ที่มีการเคลือบ หรือฉาบวัสดุกันน้ำที่ทำจากดินเหนียว หรือจากวัสดุทางด้านธรณีวิทยาอื่นๆ ทั้งที่สร้างขึ้นหรือมีอยู่ตามธรรมชาติบนพื้นบ่อเพื่อป้องกันการรั่วซึมของน้ำ และประกอบไปด้วยดิน และวัสดุตัวกรองต่างๆ ที่จะช่วยให้รากพืชสามารถยึดเกาะอยู่ได้ โดยน้ำที่ความลึกระดับหนึ่งจะไหลอยู่เหนือผิวดินหรือชั้นกรอง ถ้าการกระจายน้ำเข้าสู่ระบบเป็นไปอย่างสม่ำเสมอโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่มีพื้นที่แคบ ยาว และมีระดับความลึกของน้ำในบ่อไม่มากนักประกอบกับน้ำมีการไหลอย่างช้าๆ ผ่านกึ่งก้านของพืชที่แผ่กระจายอยู่ทั่วไปในระบบ จะทำให้เกิดการไหลของน้ำแบบไหลตามกัน (plug - flow) ขึ้นซึ่งจะช่วยทำให้ปัญหาการไหลล้นตัวของระบบลดลงได้ พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบนี้ เหมาะกับน้ำเสียที่มีค่าภาระบีโอดีอยู่ในช่วง 5 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลท่วมผิวชั้นกรองอย่างอิสระ ดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลท่วมผิวชั้นกรองอย่างอิสระ

ที่มา: Kadlec and Wallace (2008)

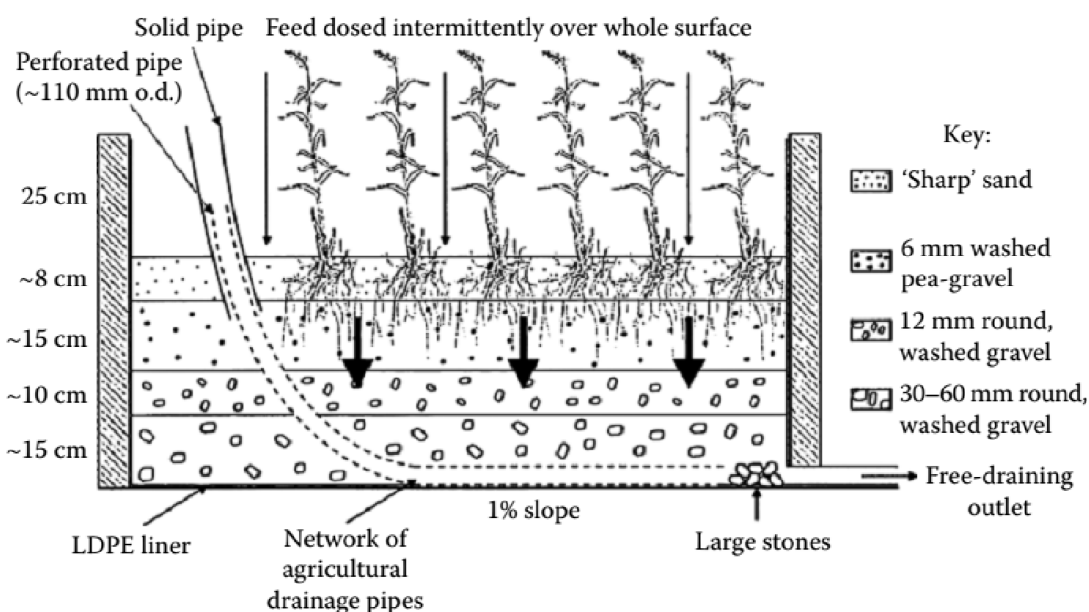
2) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน (Subsurface Flow Systems; SF) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบนี้ โดยทั่วไปประกอบด้วยร่องยาวหรือพื้นดินที่เคลือบหรือฉาบด้วยวัสดุกันน้ำไว้ด้านล่างเพื่อป้องกันการรั่วซึมของน้ำ ส่วนตัวกรองเพื่อช่วยให้พืชสามารถยึดเกาะ และเจริญเติบโตได้ ตัวกรองที่ใช้อาจเป็นหิน หรือหินบด กรวด และดินชนิดต่างๆ อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างรวมกัน (Reed *et al.*, 1988) การที่น้ำเสียไหลผ่านด้านข้างของตัวกรองจะทำให้ น้ำเสียถูกบำบัดในระหว่างสัมผัสกับผิวหน้าของตัวกรอง และส่วนรากของพืชบริเวณใต้ชั้นกรองจะอ้อมตัวควยน้ำอยู่ตลอดเวลา ซึ่งจะทำให้เกิดสภาวะไร้อากาศ อย่างไรก็ตาม พืชยังสามารถดึงออกซิเจนเข้าไปยังส่วนราก ซึ่งทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใช้อากาศสามารถเจริญเติบโตในส่วนราก และไรโซมของพืชได้ พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบนี้เหมาะกับน้ำเสียที่ภาระสารอินทรีย์ (organic loading) ปานกลาง โดยมีความเข้มข้นของบีโอดีอยู่ในช่วงระหว่าง 30 ถึง 175 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่น้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน ดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน

ที่มา: Kadlec and Wallace (2008)

3) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวตั้ง (Vertical Flow Systems; VF) พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบนี้ จะมีลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกันกับพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ประเภทที่ 1 และ 2 ซึ่งประกอบไปด้วยตัวกรองเพื่อช่วยให้พืชสามารถยึดเกาะ และเจริญเติบโตได้ ตัวกรองที่ใช้อาจเป็นหิน กรวด และทราย อย่างไรก็ตามหนึ่งหรือหลายอย่างรวมกัน น้ำเสียจะไหลผ่านชั้นกรองในแนวตั้งโดยมีระบบการระบายน้ำอยู่ที่ชั้นกรอง (underdrain system) และพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ประเภทนี้ ยังมีระบบระบายอากาศ (ventilation system) เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้มีสถานะไร้อากาศเกิดขึ้นในสวนรากของพืช และพื้นที่ว่างเหนือจากบริเวณผิวหน้าชั้นกรองขึ้นไปจะใช้เป็นที่สะสมกาคตะกอนของเสียที่ถูกรีดน้ำออกแล้ว พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบนี้สามารถบำบัดน้ำเสียที่มีภาระสารอินทรีย์สูงๆ เช่น สิ่งปฏิกูลได้โดยมีความเข้มข้นของบีโอดีที่เข้าระบบอยู่ในช่วง 500 ถึง 70,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่น้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวตั้ง ดังภาพที่ 27



ภาพที่ 27 พื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวน้ำกรองในแนวตั้ง

ที่มา: Kadlec and Wallace (2008)

8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อจุลินทรีย์

Priest (1993) ได้ศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสในการเจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่เหมาะสม พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus pasteurii* และ *Bacillus psychrophilus* สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่มียูเรียในปริมาณสูง และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus acidocaldarius* สามารถเจริญเติบโตในน้ำพุร้อนที่เป็นกรด อีกทั้งยังมีการตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus insolitus* ในอาหารแช่แข็งที่มีอุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส

Noorhisham and Mohd (1999) ได้ทำการศึกษาผลของ pH และปริมาณอากาศโดยวิธีการเติมอากาศแบบเขย่าต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ซึ่งทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2 ชนิด คือ complex medium (CM) และ well defined medium (WDM3) พบว่า ที่ pH 6.5 และการเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ CM เชื้อแบคทีเรีย

Bacillus subtilis สามารถเจริญเติบโตได้เท่ากับ 2.87 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) และในอาหารเลี้ยงเชื้อ WDM3 สามารถเจริญเติบโตได้เท่ากับ 3.33 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

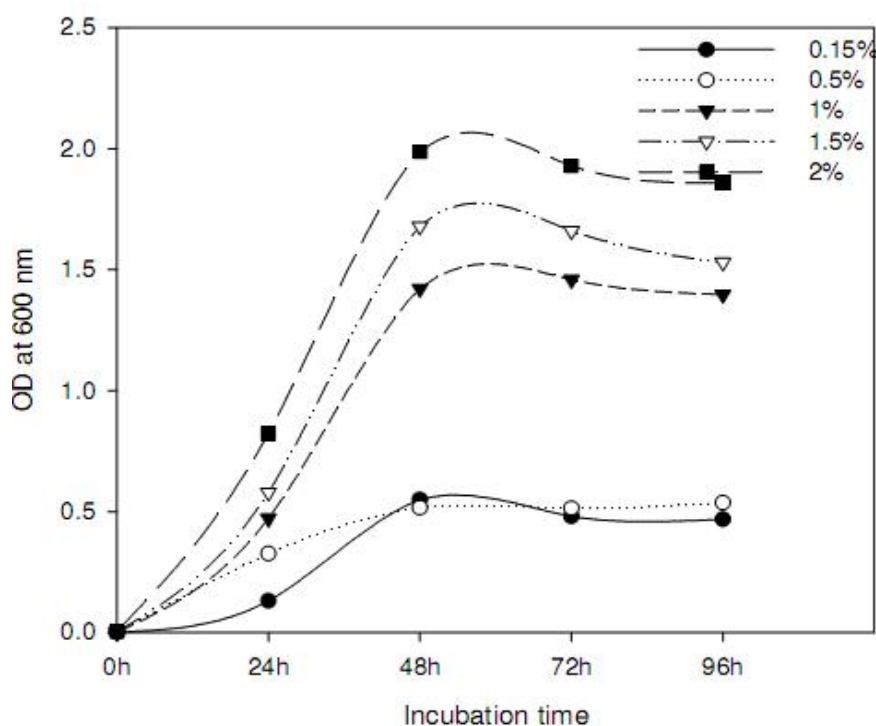
Shaheen *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาระดับความเค็มต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอส (Protease) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส BS1 ที่คัดแยกจากกากน้ำตาลจากโรงผลิตน้ำตาล โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส BS1 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดเท่ากับ 126 โปรตีนยูนิตต่อมิลลิกรัม (PU/mg) ที่สภาวะความเค็มประมาณ 15,00 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อศึกษาผลของไอออนโลหะ (metal ion) ที่มีต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส พบว่าไอออนโลหะ Na^+ ที่จับกับไอออน Cl^- ในเกลือ NaCl มีผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งนั่นอาจหมายความว่า สภาพแวดล้อมที่มีเกลือ NaCl ปริมาณสูงจะมีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส ตลอดจนการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส BS1

Graumann *et al.* (1996) ได้ศึกษาอุณหภูมิต่ำสุดที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถเจริญเติบโตได้ โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rich medium สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 8 ถึง 9 องศาเซลเซียสและที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Minimal medium สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 12 ถึง 13 องศาเซลเซียส

Amutha and Priya (2011) ได้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ α - amylase ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส KCX 006 ซึ่งพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส KCX006 สามารถผลิตเอนไซม์ α - amylase ได้ปริมาณสูงสุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ต่างจากงานวิจัยของ Mohsen (2005) ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส AX20 สามารถผลิตเอนไซม์ α - amylase ได้ปริมาณสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และงานวิจัยของ Christopher (1997) ; Konsula and Liakopoulou-Kyriakides (2004) ยังพบว่า เอนไซม์ α - amylase จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มีประสิทธิภาพการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดในสภาวะที่แป้งเป็นคินตัวจากการผ่านความร้อน (gelatinization)

Mishra and Behera (2008) ได้ศึกษาผลของปริมาณแป้งต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp ที่คัดแยกจากดินในบริเวณที่ทิ้งขยะชุมชน โดยเติมแป้งปริมาณเท่ากับ 0.15, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 กรัมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว 100 มิลลิลิตร พบว่า ที่ความเข้มข้นของแป้งเท่ากับ 0.15 และ 0.5 กรัม ไม่สามารถกระตุ้นการจากเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ได้ดี

เท่าที่ควร และเมื่อเพิ่มปริมาณแป้งมากขึ้นเท่ากับ 1.0, 1.5 และ 2 กรัม เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. กลับมีความเจริญเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยสามารถเจริญเติบโตได้สูงที่สุดที่ความเข้มข้นของแป้งเท่ากับ 2.0 กรัม และยังทำให้ระยะเวลาเจริญเติบโตในช่วงเริ่มต้นการเจริญเติบโต (lag phase) แคลบลง และในช่วงระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ (exponential phase) ยืดยาวขึ้น ดังภาพที่ 28



ภาพที่ 28 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ความเข้มข้นแป้งต่างกัน

ที่มา: Mishra and Behera (2008)

8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องการใช้เชื้อจุลินทรีย์บำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตอาหาร

Dongyai *et al.* (2011) ได้ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้บำบัดบีโอดี ในระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง โดยทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จาก 4 แหล่งในกรุงเทพฯ ได้แก่ คลองสามเสน คลองลำลูกกา คลองรอบบริเวณอนุเสาวรีย์ชัย และ น้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เมื่อนำมาบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง สามารถบำบัดได้ถึงร้อยละ 48 เมื่อเทียบกับหน่วยทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ซึ่งบำบัดได้เพียงร้อยละ 20

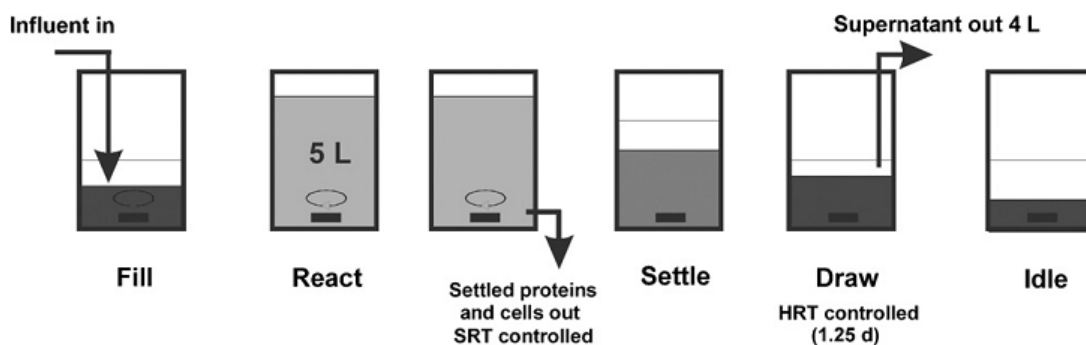
Bunnag *et al.* (2010) ได้นำสาหร่าย *Spirulina platensis* มาลดไนเตรต-ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสรวม ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน ซึ่งในการทดลองได้นำน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนมาผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายซารูก์ (Zarrouk's) พบว่า สาหร่าย *Spirulina platensis* สามารถลดไนเตรต-ไนโตรเจน จาก 16.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 5.50 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 25 ของการลดไนเตรต-ไนโตรเจน ส่วนการลดฟอสฟอรัสรวม พบว่า สามารถลดได้ 100 เปอร์เซ็นต์จาก 19.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลดลงไปถึง 5.80 มิลลิกรัมต่อลิตร

วรพจน์ (2550) ได้ทำการศึกษาสภาวะการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกคอนแทค โดยทดลองในห้องปฏิบัติการซึ่งได้มีการควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) จากการศึกษา พบว่า ระบบแอนแอโรบิกคอนแทค สามารถกำจัดซีโอดีได้ถึงร้อยละ 89

Siripattanakul-Ratpukdi (2012) ได้ทำการศึกษาวิธีการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนโดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับวิธีการบำบัดแบบ sequencing batch reactor (SBR) ตลอดจนศึกษาความเป็นไปได้ในการหมักน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนเพื่อผลิตเป็นเอทานอล พบว่า สามารถลดซีโอดีได้ระหว่างร้อยละ 33 ถึง 46 ในหน่วยทดลองที่นำเชื้อยีสต์มาห่อหุ้มเซลล์ด้วยสาร calcium alginate (CA) ในขณะที่หน่วยทดลองที่ไม่มีการห่อหุ้มเซลล์ พบว่าไม่สามารถลดซีโอดีได้เลย ส่วนความเป็นไปได้ในการผลิตเอทานอลจากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ซึ่งเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วย CA สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดได้ 801 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเซลล์ที่ไม่ห่อหุ้มด้วย CA สามารถผลิตเอทานอลสูงสุดได้ 717 มิลลิกรัมต่อลิตร

Phisit *et al.* (2009) ได้ใช้เทคโนโลยีการหมักกรดแลคติกจากน้ำตาลแลคโตสในน้ำทิ้งโรงงานมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดสารอินทรีย์ในขั้นต้น แล้วในขณะเดียวกันก็มีการตกตะกอนโปรตีนในน้ำทิ้งโรงงานในระบบเปิดที่ไม่ต้องมีการฆ่าเชื้อ โดยใช้แบคทีเรียกลุ่มแลคติก *Lactobacillus casei* TISTR 1500 โดยกระบวนการบำบัดน้ำเสียดังกล่าวรวมเรียกว่า micro-aerobic Sequencing Batch Reactor (micro-aerobic SBR) ซึ่งใช้ cylindrical reactor ขนาด 5 ลิตร ทำการใส่น้ำเสียโรงงานจำนวน 5 ลิตรจากนั้นเติม 5 กรัม (น้ำหนักเปียก) ของ *L. casei* TISTR 1500 ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อวินาที เป็น 5 นาที แล้วจึงเปลี่ยนเป็นการกวนผสมอย่างช้าๆ ด้วยความเร็วรอบ 50 รอบต่อวินาที ทำแบบนี้จนจบการทดลอง โดยระบบ micro-aerobic SBR ดังภาพที่ 29 ผลจากการศึกษา พบว่า ระบบ micro-aerobic SBR มีประสิทธิภาพในการลดซีโอดี

อยู่ที่ร้อยละ 74 ปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 90 และปริมาณน้ำตาลที่ไม่มีการเติมสารตกตะกอน (coagulant และ flocculant) อยู่ที่ร้อยละ 86 ซึ่งระบบบำบัดสามารถทำงานต่อเนื่องถึง 15 วัน



ภาพที่ 29 ขั้นตอนการทำงานของระบบบำบัดแบบ micro-aerobic SBR

ที่มา: Phisit *et al.* (2009)

8.3 การบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

Akber *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาลักษณะเนื้อดินต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย พบว่า เนื้อดินที่มีสภาพความเหนียวต่ำ (low clay content) จะมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย (tertiary treated wastewater) ซึ่งสามารถลดแอมโมเนียได้มากกว่าร้อยละ 90 เหล็กได้มากกว่าร้อยละ 80 สารอินทรีย์คาร์บอนได้มากกว่าร้อยละ 90 บีโอดีได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียอยู่ระหว่างร้อยละ 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

Mosse *et al.* (2012) ได้ทำการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตไวน์ด้วยเทคนิคการกรองผ่านชั้นดิน พบว่า น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นจะมีผลกระทบอย่างมากกับสภาพการแลกเปลี่ยนก๊าซของดิน (soil respiration) การหมุนเวียนธาตุไนโตรเจน (nitrogen cycling) และรวมจำนวนจุลินทรีย์ในดิน (microbial community structure) ซึ่งในทางกลับกันน้ำเสียที่มีการบำบัดเบื้องต้นจะไม่มีกระทบใดๆ ต่อดิน

Loomis (1999) ทำการศึกษา ความสามารถของดินในการกำจัดหรือยับยั้งสารมลพิษที่เกิดขึ้นในน้ำเสีย โดยพบว่า ลักษณะทางกายภาพของเนื้อดิน สามารถบอกถึงความสามารถใน

การบำบัดน้ำเสียที่เกิดขึ้น โดยอนุภาคของดินเหนียว (clay content) และอนุภาคของดินทรายแป้ง (silt content) จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารมลพิษได้มากกว่าเม็ดทราย (sand content) และกรวด (gravelly) ในชั้นดินเนื่องจากจะมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากกว่าในการเข้าไปสัมผัสกับสารมลพิษในน้ำเสีย แต่ชั้นดินที่มีอนุภาคของดินเหนียวเป็นจำนวนมาก ช่องว่างระหว่างดิน (pore space) จะมีจำนวนน้อย ซึ่งทำให้น้ำเสียไหลผ่านได้น้อย และเกิดสถานะน้ำขังแช่ในชั้นดินนานเกินไป (ponded condition) ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียลดลงเป็นอย่างมาก ในทางกลับกัน ดินที่มีทรายหรือกรวดผสมอยู่มากเกินไป น้ำเสียจะมีการไหลผ่านอย่างรวดเร็วไม่เกิดการขังแช่ในชั้นดินจนทำให้กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพไม่เกิดขึ้นได้ ลักษณะช่องว่างในดินควรเป็นช่องขนาดเล็ก (soil micropores) เพื่อที่จะให้น้ำเสียไหลและสัมผัสกับดินได้อย่างทั่วถึง และนานพอที่จะเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ

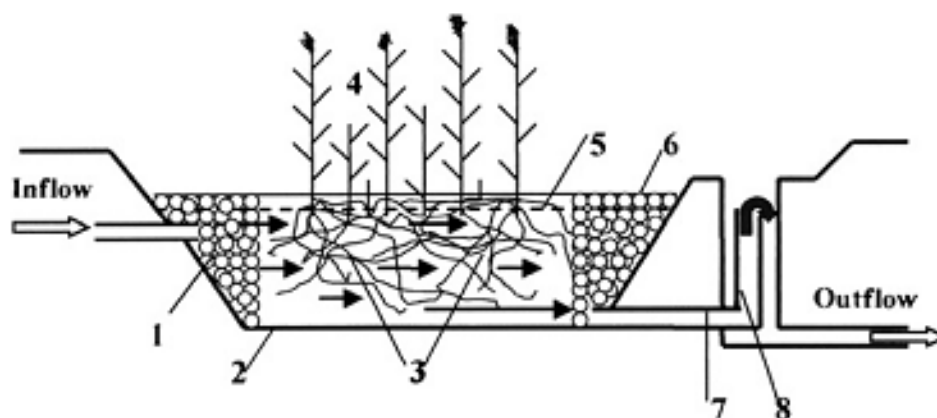
Christen *et al.* (2010) ได้ศึกษาการบำบัดสารอินทรีย์แบบไหลผ่านชั้นดิน พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ในดินมีความสำคัญมากต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ (biological activity) ซึ่งเกิดกลไกการบำบัดสารอินทรีย์ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน โดยจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีน้ำขังแช่ เมื่อออกซิเจนหมดลงเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนจะเริ่มทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยใช้สารอนินทรีย์ และสารอินทรีย์มาเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการเจริญเติบโตแทน จึงเกิดการบำบัดอย่างต่อเนื่องนั่นเอง ซึ่งจะต้องมีช่วงการพักการขังแช่น้ำเสีย เพื่อการอัดแน่นของชั้นดิน และลดการอุดตัน ส่งผลให้เกิดการถ่ายเทอากาศภายในชั้นดิน

Stottmeister *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของพืชน้ำและเชื้อจุลินทรีย์ในพื้นที่ชุ่มน้ำเทียมในการบำบัดน้ำเสีย พบว่า บริเวณรากพืชน้ำ (root zone หรือ rhizosphere) เป็นบริเวณที่มีการบำบัดน้ำเสียมากที่สุด โดยเกิดทั้งกลไกทางเคมี กายภาพ และทางชีวภาพทำงานร่วมกัน แต่กลไกทางชีวภาพจะเกิดขึ้นเป็นส่วนใหญ่

Boyd (2010) ได้ศึกษาพืชน้ำต่อการกำจัดสารมลพิษในน้ำเสีย โดยพบว่า ฐูปถามิ สามารถกำจัด ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ได้ค่อนข้างสูง ทั้งยังสามารถดูดซับ โลหะหนักได้ เช่น ตะกั่ว และแคดเมียมเป็นต้น

Vymazal (2009) ได้ทำการอธิบายในเรื่อง ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์หรือแบบพื้นที่ชุ่มน้ำเทียมที่มีการวางท่อน้ำเข้า (inflow) และท่อน้ำออก (outflow) ไว้ใต้ดิน ดังภาพที่ 30 ได้มีการใช้งานเพื่อการบำบัดน้ำเสียมามากกว่า 30 ปี โดยส่วนใหญ่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ

บึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ถูกออกแบบมาเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากเทศบาลหรือน้ำเสียจากชุมชน แต่ทุกวันนี้ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ดินไม่ได้ใช้เพียงบำบัดสารมลพิษธรรมชาติที่มาจากเทศบาลหรือชุมชนแต่ยังสามารถใช้บำบัดสารมลพิษจากแหล่งอื่นได้อีกด้วย อาทิเช่น Pharmaceuticals, Endocrine, Disruptive Chemicals หรือ Linear Alkylbenzen Sulfonates (LAS) เป็นต้น ในปัจจุบันระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ดินได้ถูกใช้ในการบำบัดน้ำเสียหลากหลายประเภท ตั้งแต่ น้ำเสียจากโรงงานกลั่นน้ำมัน โรงงานสารเคมี โรงงานกระดาษ โรงงานฟอกหนังฟอกย้อมผ้า โรงฆ่าสัตว์ และ โรงผลิตสุรา บางส่วนยังใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ บึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ดินในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหาร อาทิ โรงนม โรงผลิตชีส โรงงานแปรรูปมันฝรั่ง และ โรงงานผลิตน้ำตาล เป็นต้น อีกทั้งยังประสบความสำเร็จในการบำบัดน้ำเสียจากการเกษตรกรรม อาทิ ฟาร์มหมู ฟาร์มโคนม และบ่อเลี้ยงปลา เป็นต้น ตลอดจนยังสามารถนำไปใช้บำบัดน้ำเสียที่ไหลออกจาก สนามบิน ทางด่วน เรือนกระจกสำหรับปลูกต้นไม้ และเรือนเพาะชำต้นกล้า เป็นต้น ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ยังมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำชะขยะ (leachate) จะหลุมฝังกลบขยะ ระบบบำบัดน้ำเสียแบบบึงประดิษฐ์แบบวางท่อใต้ดินยังสามารถทำงานเชื่อมต่อกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบอื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้อีกด้วย



ภาพที่ 30 การทำงานของพื้นที่ชุ่มน้ำประดิษฐ์ที่น้ำไหลใต้ผิวชั้นกรองในแนวนอน (1) โชนที่เต็มไปด้วยก้อนหินขนาดใหญ่ (2) แผ่นป้องกันการซึมผ่าน (3) Medium (เช่นกรวด หินบด) (4) พืชบำบัด (5) ระดับน้ำในที่เหมาะสมในบึง (6) โชนที่เต็มไปด้วยก้อนหินขนาดใหญ่ (7) ท่อระบายน้ำที่ผ่านการบำบัด และ (8) ท่อที่ใช้สำหรับรักษาระดับน้ำในบึงประดิษฐ์

ที่มา: Vymazal (2001)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.1 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer)
- 1.2 กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (Stereoscopic Microscope)
- 1.3 กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดา (Compound Light Microscope)
- 1.4 เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH Meter)
- 1.5 เครื่องวัดการนำไฟฟ้า (Conductivity Meter)
- 1.6 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
- 1.7 ตู้บ่มเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (Incubator)
- 1.8 ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven)
- 1.9 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอน้ำ (Autoclave)
- 1.10 เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate)
- 1.11 ตู้เย็น (Refrigerator)
- 1.12 โถดูดความชื้น (Desiccator)

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ (ต่อ)

- 1.13 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet)
- 1.14 เครื่องเขย่าสารละลาย (Orbital Shaker)
- 1.15 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance 4 Digits)
- 1.16 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 2 ตำแหน่ง (Analytical Balance 2 Digits)
- 1.17 ชุดคอลัมน์แก้วพร้อมมือจับและขาตั้ง (Glass Column, Grip and Stand)
- 1.18 เครื่องนับเชื้อจุลินทรีย์ (Colony counter)
- 1.19 โถบ่มเชื้อจุลินทรีย์แบบไร้อากาศ (Anaerobic jar)
- 1.20 หัวจิ้มเชื้อ (Inoculating Loop)
- 1.21 เข็มจิ้มเชื้อ (and Needle)
- 1.22 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)
- 1.23 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)
- 1.24 หลอดเลี้ยงเชื้อ (Culture Tube)
- 1.25 ปิเปต (Pipette)
- 1.26 ขวดเลี้ยงเชื้อ (Universal Bottle)
- 1.27 ชุดย้อมแกรมเชื้อแบคทีเรีย (Gram's Staining Set)

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ (ต่อ)

1.28 เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์ (Scientific Glasswares)

1.29 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาดความจุ 54 ลิตร (Bioreactor)

1.30 ถังจำลองการทดลองด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ขนาดความจุ 30 ลิตร (Filtrated Lysimeter Tank)

2. สารเคมี

2.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4)

2.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide; NaOH)

2.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium Dihydrogen Phosphate; KH_2PO_4)

2.4 ดี – กลูโคส (D – Glucose; $C_6H_{12}O_6$)

2.5 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride; NaCl)

2.6 โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium Dichromate; $K_2Cr_2O_7$)

2.7 เมอร์คิวรีซัลเฟต (Mercury Sulphate; $HgSO_4$)

2.8 ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver Sulphate; Ag_2SO_4)

2.9 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen phthalate; KHP)

2.10 เฟอรัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Ferrous (II) Sulfate Heptahydrate; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$)

2. สารเคมี (ต่อ)

- 2.11 1,10-ฟีแนนโทรลีน โมโนไฮเดรต (1, 10-Phenanthroline Monohydrate; $C_{12}H_{10}N_2O$)
- 2.12 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium Iodide; KI)
- 2.13 ไอโอดีน (Iodine; I)
- 2.14 บรอมโมครีซอลกรีน (Bromocresol Green; $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$)
- 2.15 แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (Calcium Chloride Dihydrate; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$)
- 2.16 แมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต (Manganese (II) Chloride Tetrahydrate; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$)
- 2.17 เฟอรัสคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Ferrous (III) Chloride Hexahydrate; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
- 2.18 แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Magnesium Sulfate Heptahydrate; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- 2.19 แอมโมเนียมไนเตรท (Ammonium Nitrate; NH_4NO_3)
- 2.20 แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium Chloride; NH_4Cl)
- 2.21 แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Sulphate; NH_4SO_4)
- 2.22 ปุ๋ยเคมี สูตร 46 – 0 – 0 (Chemical Fertilizer; formular 46 – 0 – 0)
- 2.23 ปุ๋ยเคมี สูตร 15 – 15 – 15 (Chemical Fertilizer; formular 15 – 15 – 15)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- 3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเพลดเคานต์ (Plate Count Agar; PCA)
- 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโพเตโตเดกซ์โทรส (Potato Dextrose Agar; PDA)
- 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งยีสต์ มอลต์ (Yeast Extract - Malt Extract Agar; YM Agar)
- 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเทรียนต์ (Nutrient Agar; NA)
- 3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวนิวเทรียนต์ (Nutrient Broth; NB)
- 3.6 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งกลูโคส ยีสต์ เอกซแทรกต์ เพปโตน (Glucose Yeast Extract Peptone Agar; GYP Agar Base)
- 3.7 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa and Sharpe Media; MRS Agar)
- 3.8 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa and Sharpe Media; MRS Broth)
- 3.9 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเฮชเอชดี (Homofermentative – Heterofermentative Differential Agar; HHD Agar)
- 3.10 อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช (Starch Agar)

4. น้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

4.1 น้ำเสียสังเคราะห์

น้ำเสียสังเคราะห์ เตรียมตามส่วนประกอบในภาคผนวก ก ข้อที่ 1

4. น้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง (ต่อ)

4.2 น้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

น้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน เป็นน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการทำหมักแป้ง และกระบวนการผลิตเส้น จากโรงงานผลิตขนมจีน จังหวัดปทุมธานี จากนั้นทำการศึกษาคุณภาพน้ำเสียทางกายภาพ และทางเคมี ได้แก่ pH บีโอดี ซีโอดี ความเค็ม และแข็งละลายน้ำ โดยวิธีวิเคราะห์ ตาม APHA, AWWA and WEF (2005)

5. พืชกรองน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

5.1 กกกลมหรือกกจันทบูรณ์ (*Cyperus Corymbosus* Rottb.)

5.2 หญ้าแฝกพันธุ์อินโดนีเซีย (*Vertiveria zizanioides* (L.) Nash.)

6. วัสดุปลูก

6.1 ดินผสมทราย (อัตราส่วน 3:1)

6.2 ทรายละเอียด

6.3 ทรายหยาบ

6.4 กรวด

วิธีการ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง ซึ่งเน้นการบำบัดน้ำเสียโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ สามารถแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ระยะ ดังต่อไปนี้

ระยะที่ 1: การคัดแยก และจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

ระยะที่ 2: การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ และศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

ระยะที่ 3: การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับการบำบัดแบบธรรมชาติ

1. การคัดแยก และจำแนกเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

1.1 การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

1.1.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่างน้ำเสียมาเจือจางแบบ 10 เท่า (ten fold serial dilution) ในหลอดทดลอง (culture tube) ให้ได้ความเข้มข้นในช่วง 10^{-4} ถึง 10^{-7} เท่า (Cappuccino and Sherman, 2008) จากนั้นทำการวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด ด้วยวิธี Pour Plate Technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเพคตอแลนต์ แสดงไว้ในภาศผนวก ก ข้อที่ 4 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะของโคโลนี (colony) แตกต่างกันในจานเพาะเชื้อ (Petri dish) ลงในขวดเลี้ยงเชื้อ (universal bottle) ที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเทรียนต์ แสดงไว้ในภาศผนวก ก ข้อที่ 5 ด้วยวิธีขีดเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (streak technique)

1.1.2 การตรวจนับปริมาณเชื้อรา

นำตัวอย่างน้ำเสียมาเจือจางแบบ 10 เท่า ในหลอดทดลองให้ได้ความเข้มข้นตามข้อที่ 1.1.1 จากนั้นทำการวิเคราะห์หาเชื้อรากับวิธี Spread Plate Technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โฟเตโต เดกซ์โทรส แสดงไว้ในภาศผนวก ก ข้อที่ 7 บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อรา และเก็บตัวอย่างเชื้อราที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกันใน

งานเพาะเชื้อลงในขวดเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโปเตโต เดคซ์โทรส ด้วยวิธีเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (stab technique)

1.1.3 การตรวจนับปริมาณเชื้อยีสต์

นำตัวอย่างน้ำเสียนมาเจือจางแบบ 10 เท่า ในหลอดทดลองให้ได้ความเข้มข้นตามข้อที่ 1.1.1 จากนั้นทำการวิเคราะห์หาเชื้อยีสต์ด้วยวิธี Spread Plate Technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งยีสต์ มอลต์ แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 8 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อยีสต์ และเก็บตัวอย่างเชื้อยีสต์ที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกันในงานเพาะเชื้อลงในขวดเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งยีสต์ มอลต์ ด้วยวิธีขีดเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.4 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

นำตัวอย่างน้ำเสียนมาเจือจางแบบ 10 เท่า ในหลอดทดลองให้ได้ความเข้มข้นตามข้อที่ 1.1.1 จากนั้นนำไปต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็น 3 นาที แล้วทำให้เย็นทันที ทำการวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสด้วยวิธี Spread Plate Technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส และเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกันในงานเพาะเชื้อลงในขวดเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนต์ ด้วยวิธีขีดเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.5 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก

นำตัวอย่างน้ำเสียนมาเจือจางแบบ 10 เท่า ในหลอดทดลองให้ได้ความเข้มข้นตามข้อที่ 1.1.1 จากนั้นทำการวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติกด้วยวิธี Pour Plate Technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งกลูโคส ยีสต์ เอกซแทรกต์ เพปโตน แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 9 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการตรวจนับเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติกโดยพิจารณาจากวงใส (clear zone) รอบโคโลนี และเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกันในงานเพาะเชื้อลงใน

ขวดเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งกลูโคส ยีสต์ เอกซแทรกต์ เพปโตน ด้วยวิธีขีดเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1.6 การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัส

ทำการดูตัวอย่างน้ำเสียจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่งในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็มอาร์เอส แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 10 จำนวน 5 มิลลิลิตร ที่เติมสารละลายบรมมโมครีซอลกรีน แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 3 เป็นอินดิเคเตอร์ จำนวน 0.02 ถึง 0.04 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เลือกลอดทดลองที่อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองมาขีดเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็มอาร์เอส แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 11 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่บริเวณรอบโคโลนีมีการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัสในขวดเลี้ยงเชื้อที่ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็มอาร์เอส ด้วยวิธีขีดเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2 การคัดแยก และจำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

1.2.1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บตัวอย่างได้ทั้งหมดในข้อ 1.1 มาทำการเลี้ยงซ้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกับที่ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆ โดยใช้วิธีการแยกเชื้อบริสุทธิ์ ดังนี้

ก. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส และเชื้อยีสต์ ให้ใช้วิธีการขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อแบบตัดกัน (cross streak plate technique) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำซ้ำจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ข. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก ให้ใช้วิธีการขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อแบบตัดกัน บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ค. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัส ให้ใช้วิธีการขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อแบบตัดกัน บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำ

ชี้แจงกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการทดสอบแยกกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัส ระหว่าง Homofermentation กับ Heterofermentation โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาเกลี่ยให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอชเอสดี แสดงไว้ในภาชนะนวก ก ข้อที่ 12 แล้วเททับผิวหน้าด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิม บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สังเกตสีของโคโลนีถ้าเป็นสีฟ้าหรือเขียวแสดงว่าเป็นกลุ่ม Homofermentation แต่ถ้าโคโลนีเป็นสีขาวแสดงว่าเป็นกลุ่ม Heterofermentation (McDonald *et al.*, 1987) สุดท้ายทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ง. เชื้อรา ให้ใช้วิธีแยกสปอร์เดี่ยว (single spore isolation) โดยเลี้ยงเชื้อราในงานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (stereoscopic microscope) ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (inoculating loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยกลุ่มสปอร์ของเชื้อราในงานเพาะเชื้อถ่ายลงบนแผ่นสไลด์ (slide) ตรวจดูบริเวณที่โคนิเดีย (conidia) มีการกระจายตัวมากที่สุดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดา (compound light microscope) ที่กำลังขยาย 100 เท่า จากนั้นใช้หลอดดูดปากแคบ (calibrated pasteur pipette) ที่ทำให้บริเวณปลายเป็นปุ่มขนาดเล็ก (knob) และโคนิเดียย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งโพเตโตเดกซ์โทรส จำนวน 4 จุด บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สุดท้ายทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการส่องกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดา ผ่านการย้อมสีเซลล์เชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีการดังต่อไปนี้

ก. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบสไลด์สด (wet mount) ย้อมสีเซลล์เชื้อแบคทีเรียแบบแกรม (gram stain technique) และย้อมสปอร์ (endospore stain technique)

ข. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก และกลุ่มแลคโตบาซิลลัส ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบสไลด์สด และย้อมสีเซลล์เชื้อแบคทีเรียแบบแกรม

ค. เชื้อรา ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบกล่องชื้น (moist chamber) และเชื้อยีสต์ ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบสไลด์สด โดยย้อมสีเซลล์เชื้อราและเซลล์เชื้อยีสต์แบบสีเดียว (simple stain technique)

1.2.3 การจำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์

การจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

ก. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส จำแนกโดยลักษณะต่างๆ ตามวิธีการของ Joo *et al.*, (2007) และใน Practical Handbook of Microbiology Second Edition ของ Goldman and Green (2009)

ข. เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก และกลุ่มแลคโตบาซิลลัส จำแนกจากโดยลักษณะต่างๆ ตามวิธีการของ Tannock (1999) และใน Practical Handbook of Microbiology Second Edition ของ Goldman and Green (2009)

ค. เชื้อรา จำแนกโดยลักษณะต่างๆ ตามวิธีการใน Applied Mycology ของ Rai and Bridge (2009)

ง. เชื้อยีสต์ จำแนกโดยลักษณะต่างๆ ตามวิธีการของ Eric (2011) และใน Handbook of Food Spoilage Yeasts Second Edition ของ Deák (2007)

2. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ และศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

2.1 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้ง

การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน โดยนำเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 1.2.3 มาเพาะเชื้อเป็นแบบจุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 13 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเติมสารละลายไอโอดีน แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 2) จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร

เลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ 30 วินาที แล้วจึงเทออก (Castro *et al.*, 1993; Hesseltine and Bradie, 1963) ทำการตรวจวัดวงใสรอบโคโลนี ซึ่งแสดงว่า มีการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ สุดท้ายทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายแป้ง

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากข้อที่ 2.1 ในการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เลียนแบบน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน โดยการศึกษาครั้งนี้

2.2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ (vegetative cell suspensions) โดยนำเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.1 เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวชนิดเตรียนด์ แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อที่ 6 เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที (Pratum *et al.*, 2011) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้ววัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600nm}) ให้เท่ากับ 1.0 ซึ่งจะมีระดับความเข้มข้นของสารละลายเชื้อจุลินทรีย์อยู่ที่ 1×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (คัดแปลงจาก Demain, 1957; พรพรรณ, 2550)

2.2.2 การกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์

การกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้ น้ำเสียสังเคราะห์ที่ทำการอบฆ่าเชื้อในอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (erlenmayer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อที่ 2.2.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร (คัดแปลงจาก Harris and Adkins, 1999) เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อวิเคราะห์หาซีโอดี ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดซีโอดี

2.2.3 พิสูจน์สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์

การพิสูจน์สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดซีโอดีจากข้อ 2.2.2 ด้วยวิธีการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA (16S ribosomal DNA)

2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.2.3 ทำการศึกษา ดังนี้

2.3.1 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์

โดยนำเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.2.3 มาทำการเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีในข้อ 2.2.1

2.3.2 pH ที่เหมาะสม

การศึกษา pH ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการปรับ pH น้ำเลี้ยงสังเคราะห์ที่ทำการอบฆ่าเชื้อในอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ให้อยู่ที่ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 จากนั้นเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สูดถ่ายทำการนับจำนวนเซลล์เชื้อจุลินทรีย์แบบที่มีชีวิต ดังนี้

ก. นำน้ำเลี้ยงสังเคราะห์มาเจือจางแบบ 10 เท่า ในหลอดทดลองให้ได้ความเข้มข้นในช่วง 10^{-4} ถึง 10^{-7} เท่า จากนั้นทำการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Pour Plate Technique สูดถ่ายทำการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละค่า pH เพื่อหา pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.3.3 ความเค็ม

การศึกษาคความเค็ม (salinity) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเติมโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 2.2, 2.8 และ 4.2 กรัม ต่อน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ทำการอบฆ่าเชื้อในอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่

อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์เชื้อจุลินทรีย์แบบที่มีชีวิต และหาความเค็มที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ตามวิธีในข้อ 2.3.2 (ก)

2.3.4 อุณหภูมิที่เหมาะสม

การศึกษาอุณหภูมิ (temperature) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียสังเคราะห์ที่ทำการอบฆ่าเชื้อในอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 15, 30, 37, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์แบบที่มีชีวิต และหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ตามวิธีในข้อ 2.3.2 (ก)

2.3.5 สารอาหารที่เหมาะสม

การศึกษาชนิดของสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการเติมสารอาหาร ดังตารางที่ 7 ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัม ต่อน้ำเสียสังเคราะห์จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่ทำการอบฆ่าเชื้อในอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์เชื้อจุลินทรีย์แบบที่มีชีวิต และหาชนิดของสารอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ตามวิธีในข้อ 2.3.2 (ก)

ตารางที่ 7 สารอาหารชนิดต่างๆ ที่ใช้ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

หน่วยทดลอง	สารอาหารที่ใช้ทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	
	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน
1 *	-	-
2	กากน้ำตาล	-
3	-	แอมโมเนียมไนเตรด
4	-	แอมโมเนียมคลอไรด์
5	-	แอมโมเนียมซัลเฟต
6	-	ผงชูรส
7	-	ปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0
8	-	ปุ๋ยเคมี สูตร 15 - 15 - 15

* หน่วยควบคุม

2.4 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (growth curve) ของเชื้อจุลินทรีย์ทำการเปรียบเทียบระหว่างน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ที่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ตามข้อที่ 2.3 กับน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ที่ไม่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต โดยเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร (อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) ทำการเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการวัดความขุ่น (turbidimetric method) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ณ ช่วงเวลาต่างๆ สุดท้ายทำการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ที่เพาะเลี้ยงในน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ที่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโตกับหน่วยทดลองควบคุม

2.5 การทดสอบความสามารถย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์

การทดสอบความสามารถย่อยสลายแป้งของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ตามข้อที่ 2.3 กับน้ำเสียสังเคราะห์ที่ไม่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ซึ่งมีการเติมแป้งจำนวน 1 กรัมลงในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร (อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลายไอโอดีนจำนวน 1 มิลลิลิตร ก่อนทำการวัดความสามารถย่อยสลายแป้งของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการวัดความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD_{660nm}) (ดัดแปลงจาก Bassinello *et al.*, 2002 ; Najafi *et al.*, 2005) ณ ช่วงเวลาต่างกัน สุดท้ายทำการเทียบค่าการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์กับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ชี้บอกความขุ่นของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์กับเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายแป้งของเชื้อจุลินทรีย์

2.6 การทดสอบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

การทดสอบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน เป็นการบำบัดน้ำเสียในระดับห้องปฏิบัติการ (lab scale) โดยศึกษาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดซีโอดีจากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน เปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดระหว่างน้ำเสียที่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ตามข้อที่ 2.3 กับน้ำเสียที่ไม่มีการปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต น้ำเสียที่ใช้ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น (pre-treatment) และไม่อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการศึกษาโดยเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์จากข้อ 2.3.1 จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเสียปริมาณ 100 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อวิเคราะห์หาซีโอดีต่อเนื่องเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

3. การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับระบบบำบัดแบบธรรมชาติ

3.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ เป็นการศึกษาการบำบัดน้ำเสียในหน่วยทดลองขนาดเล็ก (pilot scale) โดยทำการศึกษาดังนี้

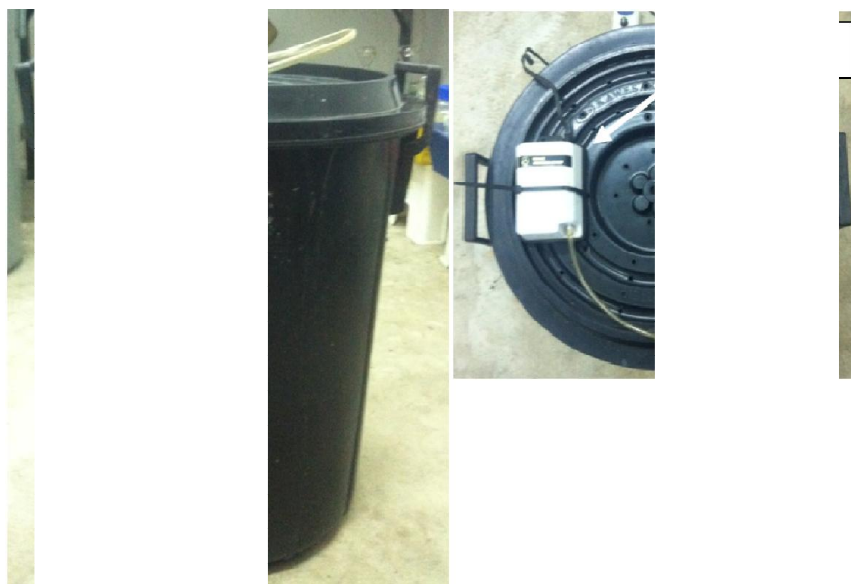
3.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ (starter culture) เป็นการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพขึ้นเพื่อใช้เป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการบำบัดน้ำเสีย โดยทำการเติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจากข้อที่ 2 จำนวน 4 มิลลิลิตร ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ปรับสภาวะให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ตามข้อที่ 2.3 และอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.1.2 การบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor) โดยทำการทดลองในถังพลาสติกทรงกลมขนาดความจุ 54 ลิตร แบ่งออกศึกษาออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

ก. การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ (aerobic treatment) คือ การเติมอากาศที่ไม่ผ่านการกรองมาเชื้อ ลงในน้ำเสียโดยทำการปรับอัตราการไหลของอากาศให้อยู่ที่ 2 ลิตรต่อนาที ดังภาพที่ 31



ภาพที่ 31 ลักษณะถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และเครื่องเติมอากาศ

ข) การบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ (anoxic treatment) คือ การกวนผสมน้ำเสียอยู่ตลอดเวลา แบ่งการกวนผสมออกเป็น 2 ระยะ คือ การกวนผสมอย่างรวดเร็วที่ 150 รอบต่อนาที ใช้เวลา 5 นาที และการกวนผสมอย่างช้าที่ 50 รอบต่อนาที จนสิ้นสุดการทดลอง ดังภาพที่ 32



ภาพที่ 32 ลักษณะถังปฏิกรณ์ชีวภาพ และเครื่องกวนผสม

การบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 แบบจะทำการเติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในข้อที่ 3.1.1 จำนวน 2 ลิตร ลงในน้ำเสีย ที่ปรับสภาพให้เหมาะสมในการเจริญเติบโต ตามข้อที่ 2.3 ปริมาณ 20 ลิตร ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อวิเคราะห์หาซีโอดี ต่อเนื่องเป็นเวลา 6 วัน จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ระบบ

3.2 การบำบัดน้ำเสียด้วยการบำบัดแบบธรรมชาติ

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยระบบบำบัดแบบธรรมชาติ (natural treatment) สามารถแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

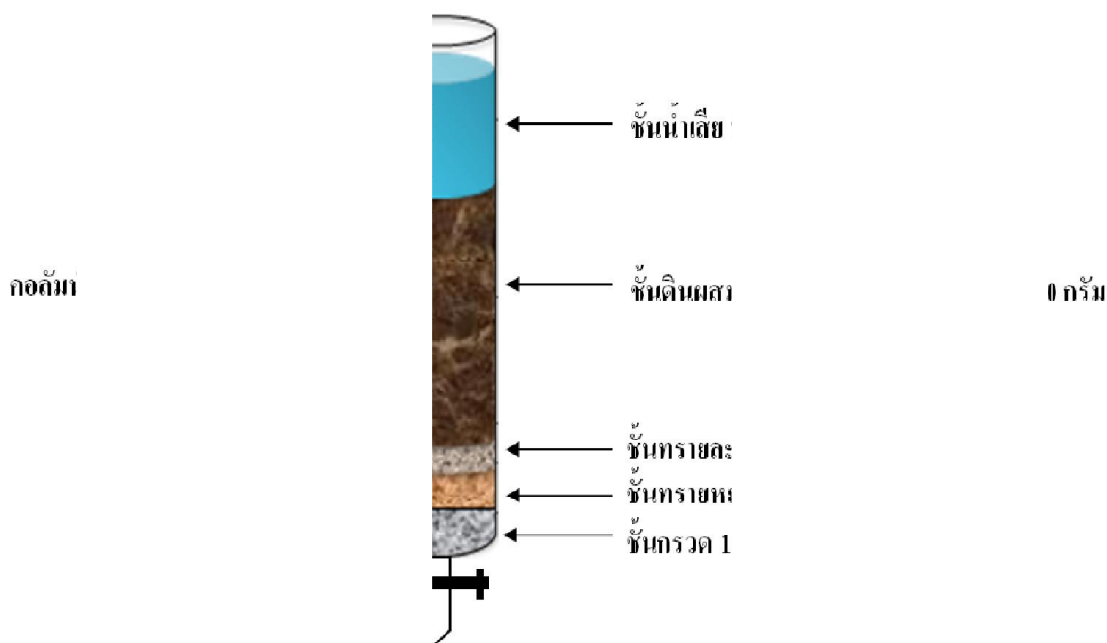
3.2.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการ

การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการ เป็นการทดลอง ในคอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร คุณ ยาว 45 เซนติเมตร ที่บรรจุชั้นวัสดุปลูก ดังนี้ ดินผสมทรายในอัตราส่วน 1:3 จำนวน 620 กรัม ทรายละเอียด จำนวน 35 กรัม ทรายหยาบ จำนวน 130 กรัม และชั้นกรวดจำนวน 155 กรัม ดังภาพที่ 33 จากนั้นเติมน้ำเสียลงคอลัมน์ปริมาณ 200 มิลลิลิตร (สูงเหนือชั้นดิน 10 เซนติเมตร) สุดท้ายทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัด ระหว่างน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นจากข้อที่ 3.1.2 กับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ซึ่งการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

ก. การบำบัดน้ำเสียแบบปล่อยผ่าน คือ การปล่อยน้ำเสียออกจากคอลัมน์อย่างต่อเนื่องโดยปรับอัตราการไหลอยู่ที่ 10 มิลลิลิตรต่อนาที

ข. การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง คือ การนำน้ำเสียขังแช่ในคอลัมน์เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นปล่อยน้ำเสียออกจากคอลัมน์จนหมด และทิ้งวัสดุปลูกให้แห้ง เป็นเวลา 2 วัน ก่อนทำการทดลองครั้งต่อไป

น้ำที่ผ่านจากคอลัมน์ของการบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 แบบ ทำการวิเคราะห์หา pH ความเค็ม และซีโอดี จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 แบบ



ภาพที่ 33 ลำดับชั้นการบรรจุวัสดุปลูกลงในคอลัมน์แก้ว

3.2.2 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก (filtrated lysimeter technique) เป็นการทดลองในถังพลาสติกทรงกลมขนาดความจุ 30 ลิตร ดังภาพที่ 34 โดยภายในบรรจุชั้นวัสดุปลูก ซึ่งปรับอัตราส่วนตามความเหมาะสมกับความจุของถังพลาสติกทรงกลม โดยคำนวณจากข้อที่ 3.2.1 จากนั้นปลูกพืชบำบัดน้ำเสีย 2 ชนิด คือ กกกลม และหญ้าแฝก ดังภาพที่ 35 ในแต่ละถังเติมน้ำเสียสูงเหนือชั้นดิน 10 เซนติเมตร ทำการจั่งแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นปล่อยน้ำเสียออกจากถังจนหมดแล้วทิ้งให้แห้ง เป็นเวลา 2 วัน ก่อนทำการทดลองครั้งต่อไป น้ำเสียที่ถูกปล่อยออกจากถัง นำมาวิเคราะห์หา pH ความเค็ม และซีโอดี สุดท้ายทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดระหว่างหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดเบื้องต้นจากข้อที่ 3.1.2 กับหน่วยทดลองที่น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น

ผลและวิจารณ์

1. กระบวนการผลิต และน้ำเสียที่เกิดจากการโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา

โรงงานผลิตขนมจีนที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็น โรงงานผลิตขนาดเล็กตั้งอยู่ที่ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอกลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยแบ่งกระบวนการผลิตออกเป็น 2 ส่วนหลัก ดังนี้

ส่วนที่ 1 กระบวนการผลิตแป้งหมัก โดยนำปลายข้าวเจ้าหักมาแช่น้ำแล้วเคี้ยวที่อัตราส่วน เกลือ 20 กรัมต่อปลายข้าวเจ้าหัก 1 กิโลกรัม หมักเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาโม่ให้ได้เป็นน้ำแป้งหมัก ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ น้ำแป้งเกิดการตกตะกอน และทำการสะเด็ดน้ำเพื่อแยกให้เหลือแต่แป้งหมัก แล้วจึงนำแป้งหมักที่ได้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเส้นขนมจีนต่อไป ดังภาพที่ 36



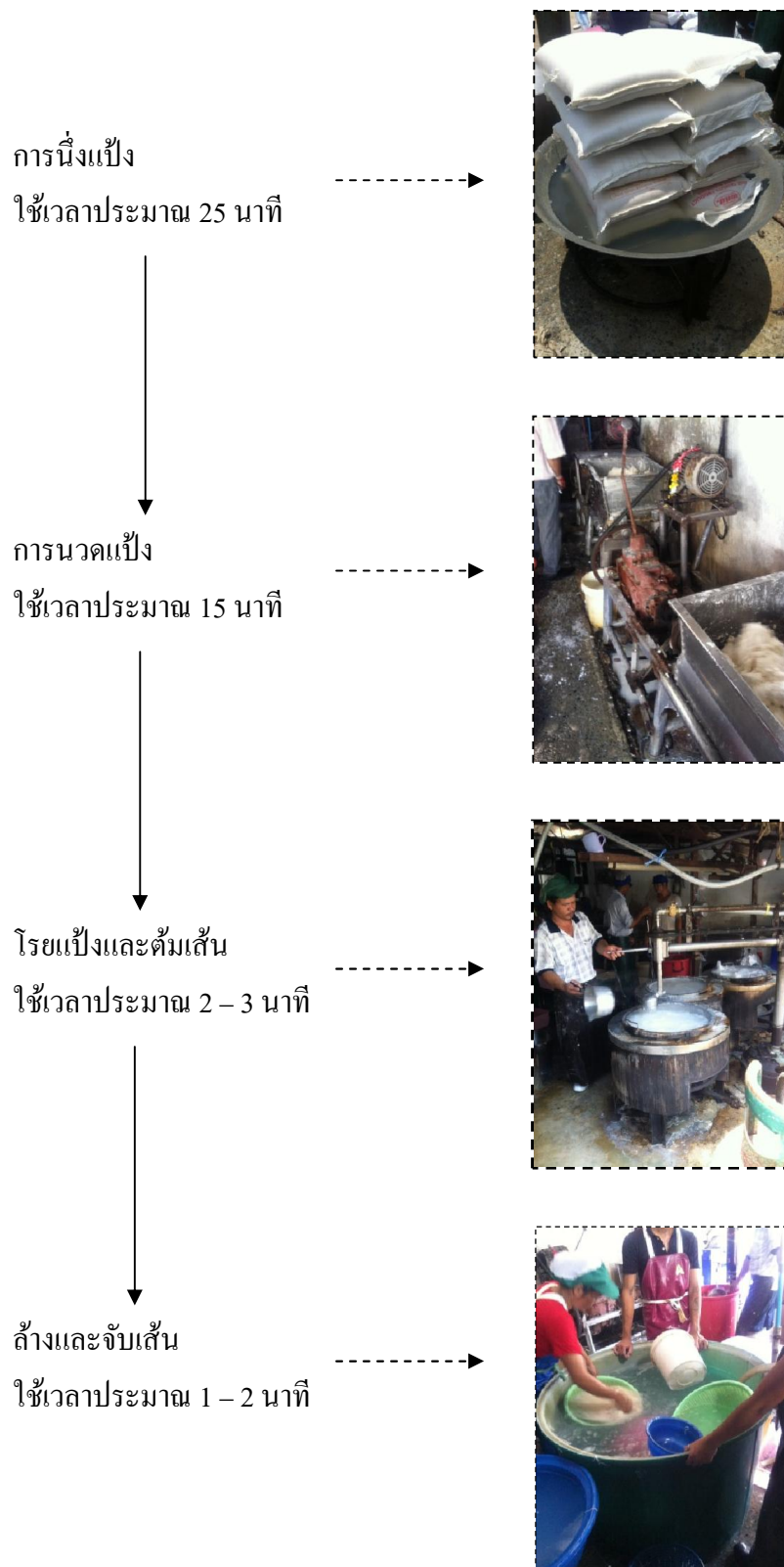
(ก)



(ข)

ภาพที่ 36 กระบวนการผลิตแป้งหมัก ณ โรงงานที่ทำการศึกษา (ก) การหมักข้าวในถังพลาสติก และ(ข) การโม่แป้งหมัก

ส่วนที่ 2 กระบวนการผลิตเส้นขนมจีน ดังภาพที่ 37 ซึ่ง โรงงานที่ทำศึกษามีกำลังการผลิตเส้นขนมจีนเฉลี่ย 3,500 กิโลกรัมต่อวัน โดยมีการใช้ทั้งแป้งหมักที่ผลิตเอง และแป้งหมักสำเร็จรูปในการผลิตเส้นขนมจีน



ภาพที่ 37 กระบวนการผลิตเส้นขนมจีน ณ โรงงานที่ทำการศึกษา

ลักษณะของน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา ทั้งกระบวนการผลิตแป้งหมัก และกระบวนการผลิตเส้นขนมจีน พบว่า มีแป้งปะปนอยู่ในน้ำเสียเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะน้ำเสียที่ออกมาจากกระบวนการผลิตแป้งหมัก ดังภาพที่ 38 (ก) แต่ในส่วนของปริมาณน้ำเสีย พบว่า กระบวนการผลิตเส้นขนมจีนก่อให้เกิดน้ำเสียได้มากกว่าร้อยละ 90 ของกระบวนการผลิตเส้นขนมจีนทั้งหมด ดังภาพที่ 38 (ข) ซึ่งน้ำเสียทั้งหมดจะถูกปล่อยลงลำคลองสาธารณะด้านหลังโรงงานโดยไม่ได้รับการบำบัดน้ำเสีย ดังภาพที่ 39 อาจเนื่องจากผู้ผลิตยังไม่ได้ตระหนักถึงปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่จะเกิดขึ้น และไม่มีความรู้ในการนำเทคโนโลยีใดมาบำบัดน้ำเสีย ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษา และพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อใช้กับโรงงานผลิตขนมจีน โดยเฉพาะโรงงานขนาดเล็ก ซึ่งมุ่งเน้นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียร่วมกับการบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ เพื่อให้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนสามารถปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะได้เป็นไปตามประกาศของกระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดไว้



(ก)

(ข)

ภาพที่ 38 ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา (ก) น้ำเสียที่ออกมาจากกระบวนการผลิตแป้งหมัก และ(ข) น้ำเสียที่ออกมาจากกระบวนการผลิตเส้นขนมจีน



ภาพที่ 39 น้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ไม่มีการบำบัด และถูกปล่อยสู่ลำคลองสาธารณะ

เมื่อนำน้ำเสียที่เก็บได้จากโรงงานที่ทำการศึกษามาวิเคราะห์คุณภาพน้ำของน้ำเสีย พบว่ามีค่าพารามิเตอร์เกินกว่าค่ามาตรฐานกำหนดในเกือบทุกพารามิเตอร์ ดังตารางที่ 8 สอดคล้องกับงานวิจัยของ ประมวล (2548); Sirianuntapiboon *et al.* (2008); วรพจน์ (2542) ที่พบว่า น้ำเสียที่ออกจากโรงงานผลิตขนมจีนมีค่าพารามิเตอร์ทุกค่าที่ทำการศึกษากินกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด จึงควรได้รับการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ

ตารางที่ 8 คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ทำการศึกษา

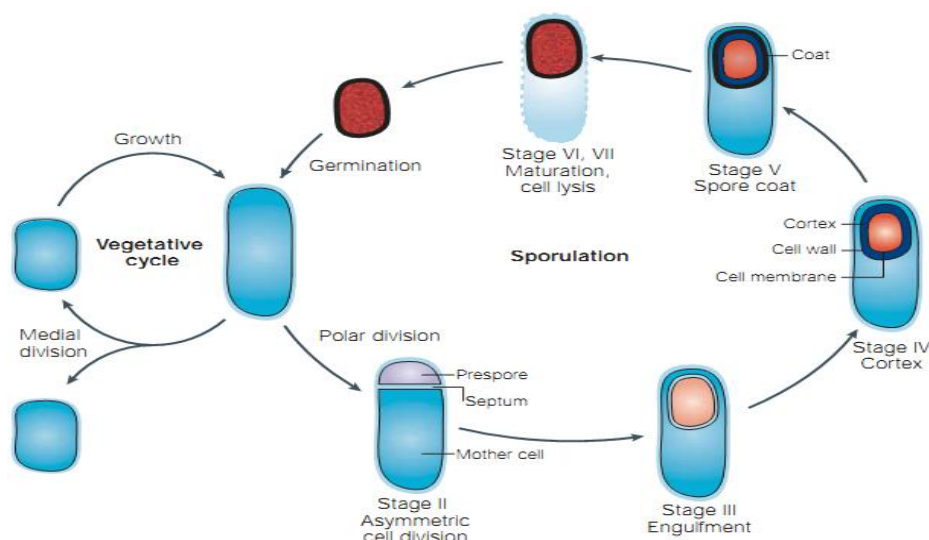
พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากการตรวจวัด	ค่ามาตรฐาน *
pH	3.58	5.5 – 9.0
บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3,784.94	≤ 60
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	4,278.30	≤ 400
ของแข็งแขวงลอย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2,807.69	≤ 5,000
สี	ขาวขุ่น	ต้องไม่เป็นที่พึงรังเกียจ
กลิ่น	กลิ่นเหม็นรุนแรง	ต้องไม่เป็นที่พึงรังเกียจ
ความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2,240.00	≤ 5,000

* ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 (2539)

2. การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน แบ่งเทคนิคการศึกษาออกเป็น 2 เทคนิค คือ Pour Plate Technique และ Spread Plate Technique โดยพบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดมีปริมาณเท่ากับ 3.0×10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (colony forming unit/ml; CFU/ml) และเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสมีปริมาณเท่ากับ 2.9×10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และตรวจไม่พบ เชื้อรา เชื้อยีสต์ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก และกลุ่มแลคโตบาซิลลัส

การที่เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน แต่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ได้แก่ เชื้อรา เชื้อยีสต์ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติก และเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัส ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ในที่นี้คือ น้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน ไปกระตุ้นให้เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสผลิตสาร Compatible solutes ซึ่งช่วยในการปรับสมดุลของสารละลายภายในเซลล์กับภายนอกเซลล์ ทำให้เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Galinski (1995) พบว่า เชื้อแบคทีเรียบางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จะสามารถผลิตสาร Compatible solutes เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดกลูตามิก อะลานีน และ โพรลีน เป็นต้น เพื่อปรับสมดุลของสารละลายภายในเซลล์กับภายนอกเซลล์ โดย Compatible solutes คุณสมบัติเป็นสารป้องกันเซลล์ได้รับอันตราย (stress protectants) จากสภาวะที่มีเกลือสูง ความร้อน ความเย็น และรังสี รวมทั้งเป็นสารที่ทำหน้าที่รักษาความเสถียรให้กับเอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และเยื่อหุ้มเซลล์ แต่เมื่อสภาพแวดล้อมมีความรุนแรงมากขึ้นจนเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสจะทำการสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) เพื่อป้องกันเซลล์จากสภาพแวดล้อมนั้นๆ โดยเอนโดสปอร์สามารถทนต่อความร้อน ความแห้งแล้ง สารเคมี รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet; UV) และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ ได้ดี (Rosovitz *et al.*, 1998; Earl *et al.*, 2008) ซึ่งเมื่อสภาพแวดล้อมกลับมา มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสอีกครั้ง เอนโดสปอร์จะงอกกลายเป็นเซลล์ใหม่ ดังภาพที่ 40



ภาพที่ 40 ลักษณะการงอกของเอนโดสปอร์ในเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

ที่มา: Errington (2003)

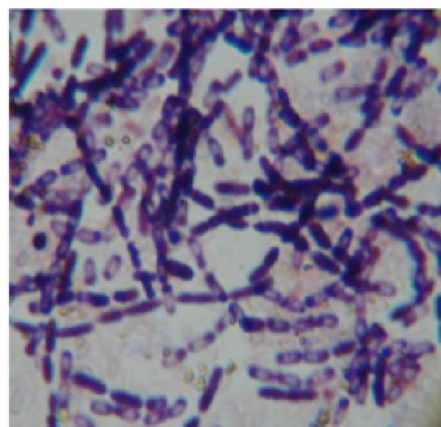
3. การคัดแยก และจำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน

จากผลการศึกษาในข้อที่ 2 ทำให้ทราบว่า มีเชื้อจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวที่ตรวจพบในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน คือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส จึงนำมาถ่ายเชื้อ (subculture) จนได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ด้วยวิธีฉีดเชื้อในงานเพาะเชื้อแบบตัดกัน จากนั้นทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบธรรมดาที่กำลังขยาย 1,000 เท่า ผ่านการย้อมสีเซลล์แบบแกรม และย้อมสีสปอร์ พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รวมทั้งสิ้น 9 สายพันธุ์ แยกตามความแตกต่างกันของลักษณะโคโลนีได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ รหัส KJP1 และ KJP7 มีลักษณะโคโลนีแผ่ลามแนบไปตามผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ขอบโคโลนีไม่เรียบเป็นหยัก และสีของโคโลนีออกขาวขุ่นไม่มันวาว ดังภาพที่ 41



(ก)



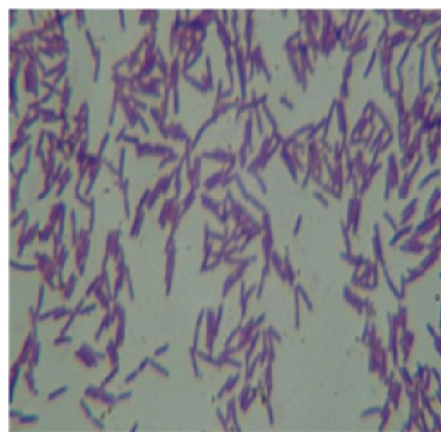
(ข)

ภาพที่ 41 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 1 (ก) ลักษณะโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ และ(ข) ลักษณะเซลล์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

กลุ่มที่ 2 จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ รหัส KJP3, KJP4 และ KJP5 มีลักษณะโคโลนีกลมมน ไม่แผ่ลามไปตามผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ขอบโคโลนีเรียบ และสีของโคโลนีขาวขุ่นคล้ายครีมเป็นเม็ดขนาดเล็ก ดังภาพที่ 42



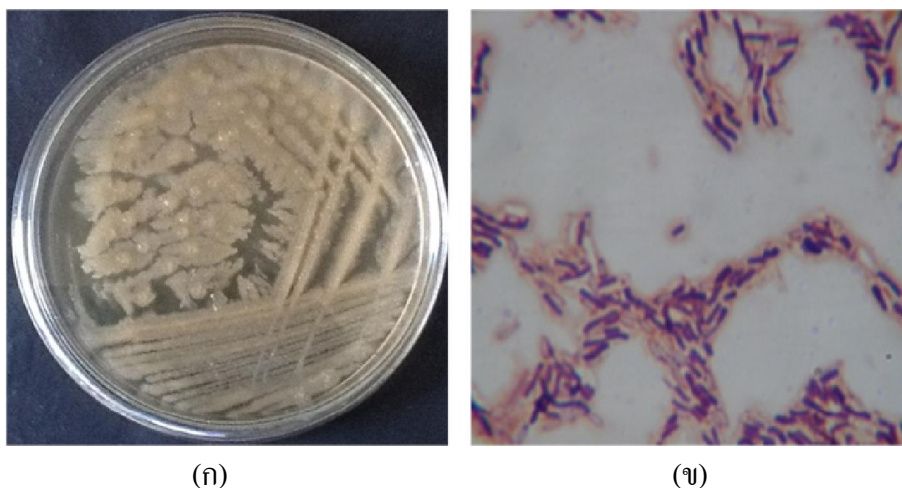
(ก)



(ข)

ภาพที่ 42 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 2 (ก) ลักษณะโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ และ(ข) ลักษณะเซลล์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

กลุ่มที่ 3 จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ รหัส KJP2, KJP6, KJP8 และ KJP9 มีลักษณะโคโลนีกลมมน แผลลามไปตามผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ขอบโคโลนีเรียบ และสีของโคโลนีออกเหลืองอ่อน ใสมันวาวเป็นเมือก ดังภาพที่ 43

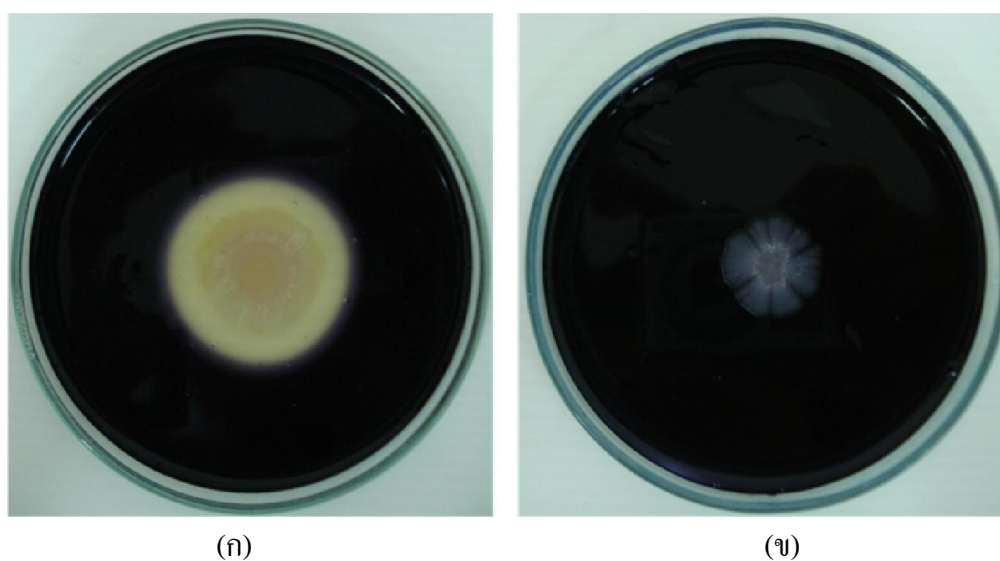


ภาพที่ 43 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส กลุ่มที่ 3 (ก) ลักษณะโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ และ(ข) ลักษณะเซลล์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

4. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ และศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย

4.1 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้ง

จากผลการศึกษาในข้อที่ 3 ทำให้ทราบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่คัดแยกได้ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน มีทั้งสิ้น 9 สายพันธุ์ จึงนำมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้ง โดยเฉพาะเชื้อเป็นจุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเติมสารละลายไอโอดีน จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ 30 วินาที แล้วเทออก ทำการตรวจด้วยวิธีรอบโคโลนี พบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP2, KJP3, KJP5, KJP8 และ KJP9 สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนีที่เกิดจากการย่อยสลายแป้ง ดังภาพที่ 44 (ก) ส่วนเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP1, KJP4, KJP6 และ KJP7 ไม่มีการย่อยสลายแป้ง ดังภาพที่ 44 (ข) เห็นได้ว่าไม่มีวงใสรอบโคโลนีเกิดขึ้น และความสามารถของการย่อยสลายแป้งของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่คัดแยกได้จากน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน ดังตารางที่ 9



ภาพที่ 44 ลักษณะวงใสรอบโคโลนีที่เกิดจากการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช
 (ก) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 ที่สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนี
 (ข) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP6 ที่ไม่สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนี

ตารางที่ 9 ความกว้างของวงใสรอบโคโลนีที่บ่งชี้ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของ
 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

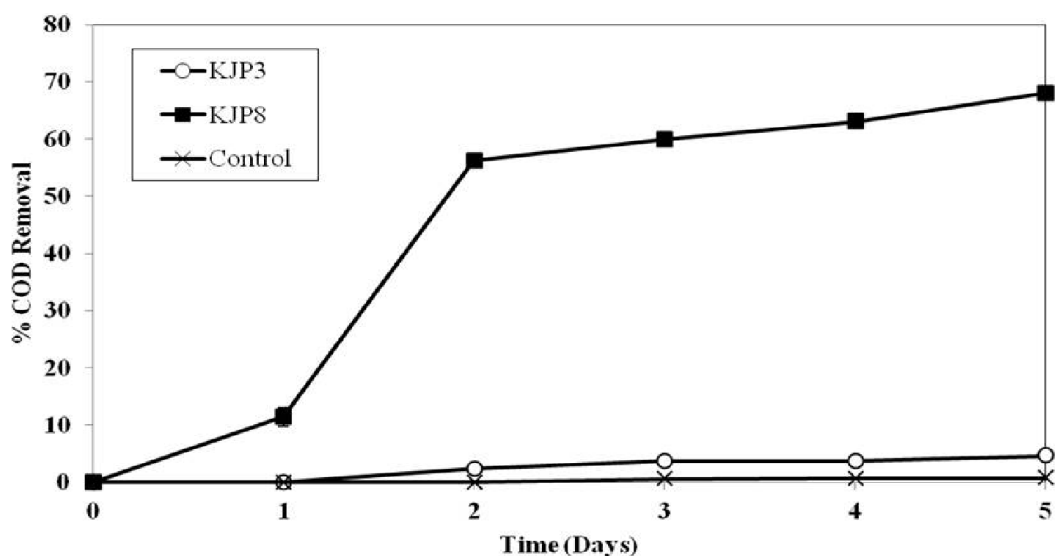
รหัสเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส	ความกว้างของวงใสรอบโคโลนี (มิลลิเมตร)*
KJP1	ไม่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี
KJP2	5.33 ± 0.47
KJP3	9.00 ± 1.40
KJP4	ไม่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี
KJP5	7.67 ± 1.07
KJP6	ไม่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี
KJP7	ไม่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี
KJP8	8.89 ± 0.87
KJP9	5.48 ± 3.08

* ความสามารถในการย่อยแป้งคำนวณจากความกว้างของวงใสรอบโคโลนีเป็นมิลลิเมตร

จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP3 และ KJP8 มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งดีที่สุด โดยความกว้างของวงใสรอบโคโลนีเท่ากับ 9.00 ± 1.40 และ 8.89 ± 0.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งกลไกสำคัญในการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช คือ เอนไซม์ที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส เข้าไปย่อยโครงสร้างของแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลสายสั้น (simple sugars) และเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucose) จึงไม่ทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนแล้วเห็นเป็นวงใสรอบโคโลนี (Castro *et al.*, 1993) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Arikani (2008) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่คัดแยกจากปุ๋ยขี้ไก่ มีการสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช จึงเกิดเป็นวงใสรอบโคโลนีมีความกว้างเท่ากับ 8.0 มิลลิเมตร และจากงานวิจัยของ Pandey *et al.* (2000) ยังพบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดที่สามารถย่อยสลายแป้งได้หรือที่เรียกว่า เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase)

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

จากการศึกษาในข้อที่ 4.1 ทำให้ทราบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP3 และรหัส KJP8 มีความสามารถย่อยสลายแป้งดีที่สุด จึงนำมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เลียนแบบน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน พบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 มีความสามารถในการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับร้อยละ 67.99 ± 0.02 ในวันสุดท้ายของการทดลอง ดังภาพที่ 45 โดยร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP3 และรหัส KJP8 แสดงในตารางที่ 10 ในส่วนของการกำจัดซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียสังเคราะห์ แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค1



ภาพที่ 45 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

- คือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP3
- คือ เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8
- × คือ หน่วยทดลองควบคุม

ตารางที่ 10 ร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส

วันที่	ร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์		
	หน่วยทดลองควบคุม	รหัส KJP3	รหัส KJP8
0	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	11.43 ± 1.54
2	0.00	2.32 ± 0.77	56.23 ± 0.00
3	0.62 ± 0.00	3.71 ± 0.62	59.94 ± 0.00
4	0.71 ± 0.09	3.71 ± 0.62	63.05 ± 0.02
5	0.77 ± 0.15	4.63 ± 0.93	67.99 ± 0.02

จากตารางที่ 10 แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยวันที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 ของการทดลอง มีร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 11.43 ± 1.54 , 56.23 ± 0.00 , 59.94 ± 0.00 , 63.05

± 0.02 และ 67.99 ± 0.02 ตามลำดับ การทดลองนี้ปริมาณซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์เริ่มต้นเท่ากับ 4,737.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเกิดจากการเติมน้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก โดยน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมสามารถทำให้เกิดปริมาณซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ประมาณ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Mazumder, 2010) ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้น้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 4,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงไว้ในในภาคผนวก ก ข้อที่ 1 อาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP3 มากกว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 จึงทำให้ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้ไปในกระบวนการเจริญเติบโตได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pantamas *et al.* (2003) ที่พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส ซึ่งทำการทดลองกับเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสสายพันธุ์ *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus coagulans* โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในน้ำเสียสังเคราะห์จาก 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม ทำให้อัตราการเจริญเติบโตในช่วงระยะเริ่มต้น (lag phase) ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสทั้ง 2 สายพันธุ์ ช้าลงเป็นอย่างมาก ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นมีความเป็นพิษต่อเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสสายพันธุ์ *Bacillus coagulans* มากกว่า *Bacillus licheniformis*

4.3 การพิสูจน์สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์

จากการศึกษาในข้อที่ 4.2 ทำให้ทราบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ จึงนำเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 ส่งตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA ผลรายงานการพิสูจน์สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ปรากฏว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในระดับความถูกต้อง และแม่นยำที่ 100 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้ คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และผลรายงานการพิสูจน์สายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์แสดงไว้ในภาคผนวก ง1

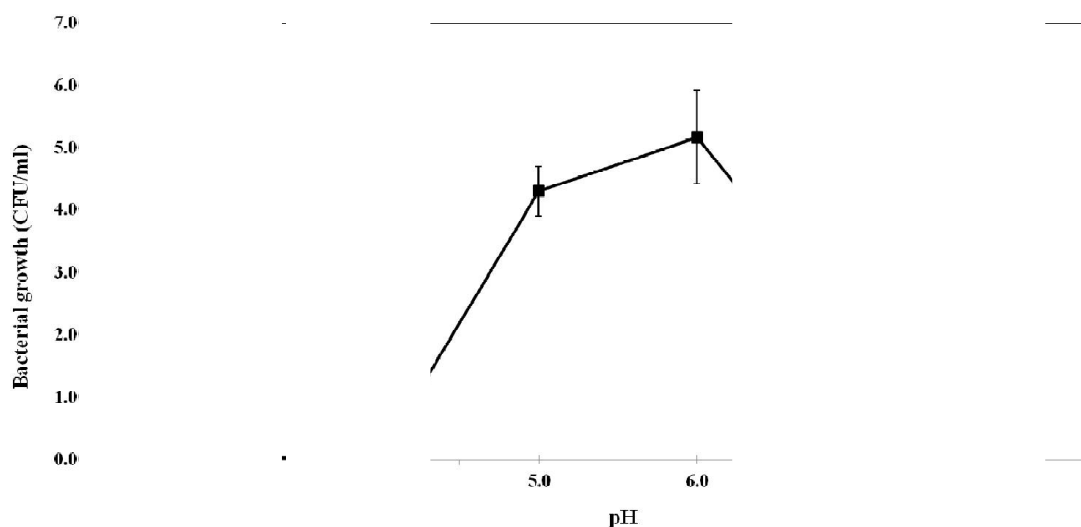
4.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต

จากการศึกษาในข้อที่ 4.3 ทำให้ทราบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่คัดแยกได้จากน้ำเสียของโรงงานผลิตขนมจีน

จึงนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆ ในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ซึ่งส่งผลโดยตรงในการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน โดยแบ่งการศึกษาออกเป็นดังนี้

4.4.1 pH ที่เหมาะสม

การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 โดยทำการปรับ pH ของน้ำเสียเสียสังเคราะห์ให้เท่ากับ 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 และ 8.0 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า ที่การปรับ pH ในน้ำเสียสังเคราะห์ให้เท่ากับ 6.0 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ $5.17 \times 10^9 \pm 7.55 \times 10^8$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และ ที่การปรับ pH ในน้ำเสียสังเคราะห์ให้เท่ากับ 3.0 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้น้อยที่สุดเท่ากับ $3.17 \times 10^7 \pm 3.51 \times 10^5$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 46 และผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ pH ระดับต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค2



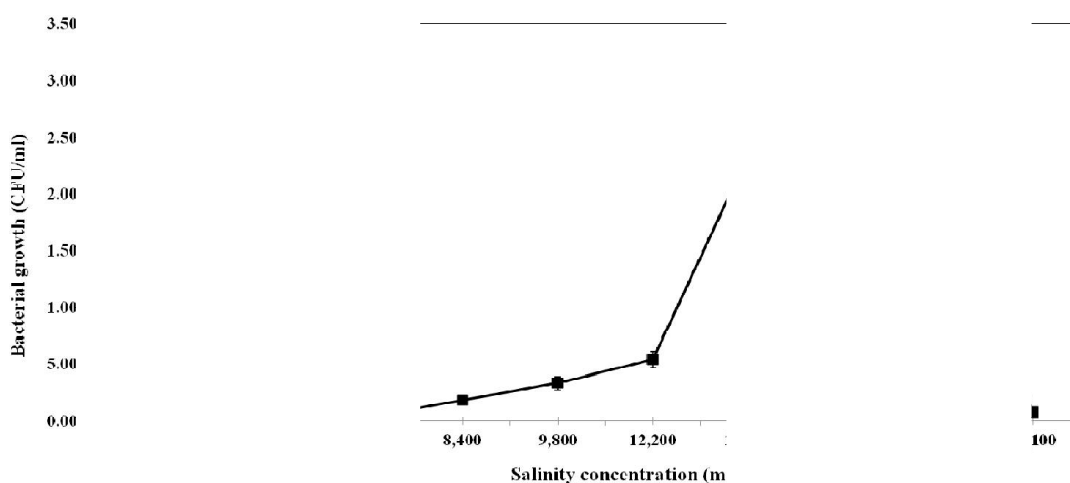
ภาพที่ 46 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ pH ระดับต่างกัน

จากภาพที่ 46 แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีการปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Noorhisham and Mohd (1999) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีความเป็นกรดเล็กน้อยที่ pH เท่ากับ 6.5 ซึ่งต่างจากงานวิจัยของ Dongyai *et al.* (2011) ที่พบว่า

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่คัดแยกได้ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่ pH เป็นกลางเท่ากับ 7.0

4.4.2 ความเค็ม

การศึกษาคความเค็มที่มีผลในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 โดยทำการเติมโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 2.2, 2.8 และ 4.2 กรัมต่อน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ซึ่งได้ให้ความเค็มเท่ากับ 2,700, 4,900, 6,500, 8,400, 9,800, 12,200, 14,100, 22,400, 28,000 และ 41,100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษพบว่าที่ความเค็ม 22,400 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ $2.97 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และที่ความเค็ม 2,700 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้น้อยที่สุดเท่ากับ $1.00 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^4$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 47 และผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ความเค็มระดับต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค3



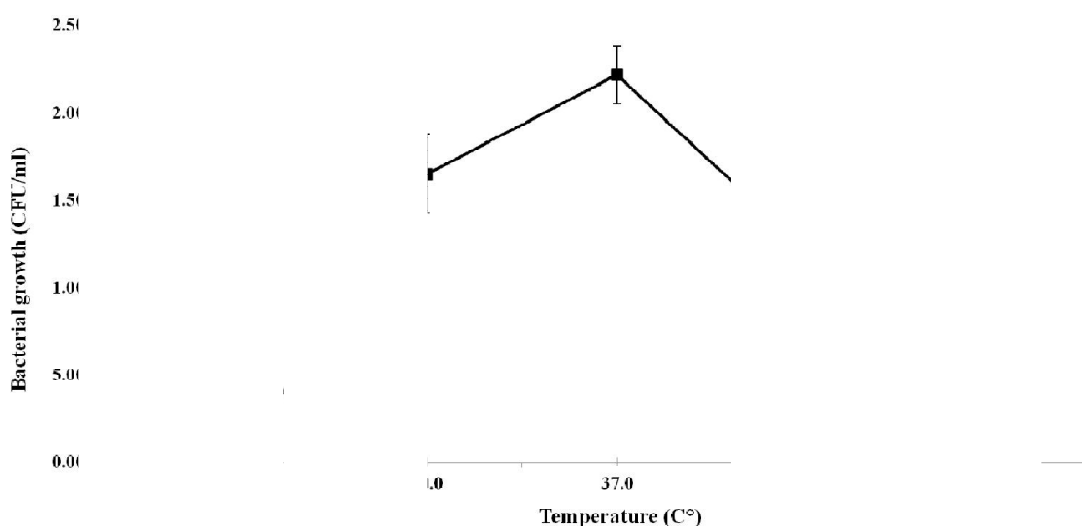
ภาพที่ 47 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ความเค็มระดับต่างกัน

จากภาพที่ 47 แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเค็มต่ำสุดเท่ากับ 2,700 มิลลิกรัมต่อลิตร จนถึงสภาวะที่มีความเค็มสูงสุดเท่ากับ 41,100 มิลลิกรัมต่อลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ventosa *et al.* (1998); Holt *et al.* (1998); Csonka and Hanson (1991); Najafi *et al.* (2005); Dongyai *et al.* (2011); Jadhav *et al.*

(2010); Ravikumar *et al.* (2010); Vijayalakshmi *et al.* (2012) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถปรับตัว และอาศัยอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มเล็กน้อยจนถึงสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูง ถือได้ว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม (halotolerant bacteria) โดยพบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ยังพบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูงถึง 100,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.4.3 อุณหภูมิที่เหมาะสม

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่อุณหภูมิ 15, 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ $2.22 \times 10^8 \pm 1.65 \times 10^7$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และไม่พบการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 15.0 องศาเซลเซียส ในส่วนของอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีเท่ากับ $2.67 \times 10^4 \pm 1.53 \times 10^4$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 48 และผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่อุณหภูมิต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ก4



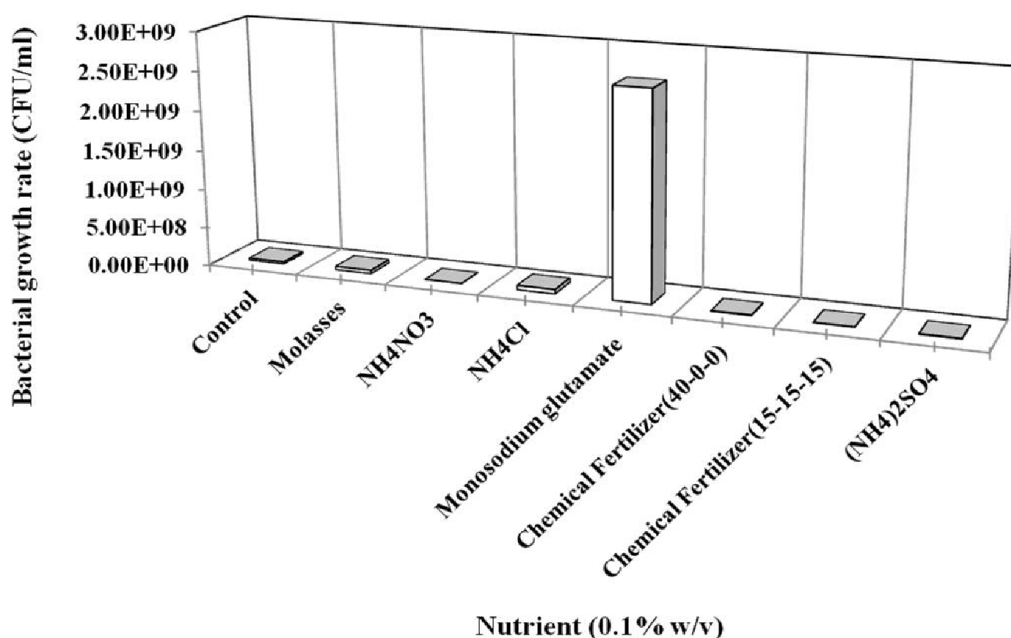
ภาพที่ 48 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่อุณหภูมิต่างกัน

จากภาพที่ 48 แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีมีตั้งแต่อุณหภูมิมากกว่า 15 องศาเซลเซียส จนถึงอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส

โดยอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Korsten and Cook (1996) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิที่ 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เจริญเติบโตได้น้อยที่สุด ส่วนอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้ คือ 43 องศาเซลเซียส

4.4.4 สารอาหารที่เหมาะสม

การศึกษานี้ของสารอาหารที่มีผลในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 โดยทำการเติมสารอาหารตามตารางที่ 7 ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปริมาณ 0.1 กรัมต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มิลลิลิตร ผลการศึกษพบว่า การเติมผงชูรสทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เพิ่มสูงที่สุดเท่ากับ $2.63 \times 10^9 \pm 8.77 \times 10^8$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร และการเติมแอมโมเนียไนเตรดทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ลดลงน้อยที่สุดเท่ากับ $5.53 \times 10^4 \pm 1.86 \times 10^4$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ดังภาพที่ 49 และผลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่สารอาหารชนิดต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค5

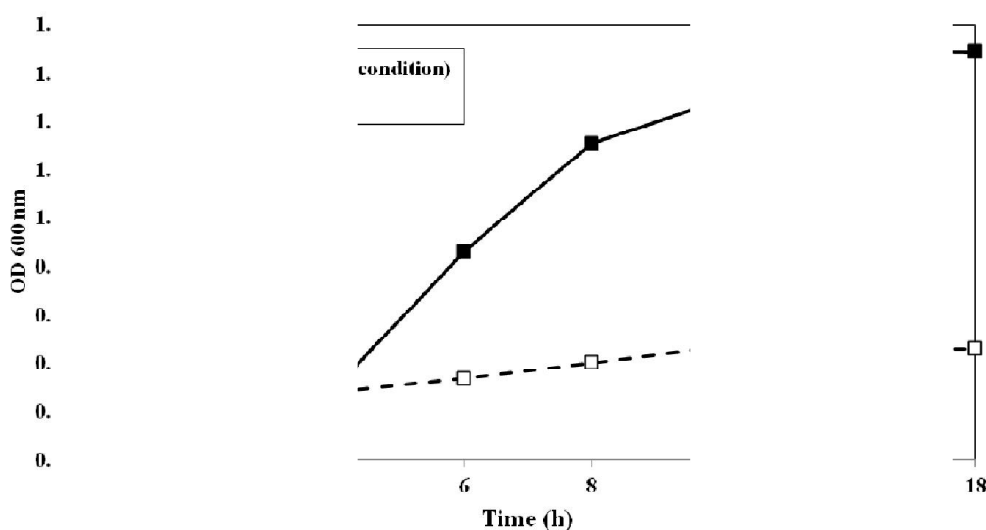


ภาพที่ 49 การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่สารอาหารต่างชนิดกัน

จากภาพที่ 49 แสดงให้เห็นว่า ผงชูรสหรือโมโนโซเดียมกลูตาเมต (monosodium glutamate) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ได้เป็นอย่างดี อาจเนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถย่อยสลายโครงสร้างของ ผงชูรสได้ดีกว่าสารอาหารชนิดอื่นๆ ซึ่งผงชูรสเป็นสารอินทรีย์ในโตรเจน (organic nitrogen source) ชนิดหนึ่งที่เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ง่าย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gary and Bard (1952) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถย่อยสลาย สารอินทรีย์ในโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสารอนินทรีย์ในโตรเจน (inorganic nitrogen source) ในกรณีของแหล่งไนโตรเจนชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3) แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) และปุ๋ยเคมี สูตร 15 - 15 - 15 พบว่า เมื่อละลายในน้ำเสียสังเคราะห์แล้วทำให้น้ำเกิดสภาพเป็นกรดสูงมากจนไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และในส่วนของปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0 ที่เมื่อละลายในน้ำเสียสังเคราะห์แล้วทำให้น้ำเกิดสภาพเป็นด่างสูง ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 เช่นเดียวกัน

4.5 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต

การศึกษ้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 โดยทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 จำนวน 2 มิลลิลิตร ในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส จำนวน 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ด้วยวิธีวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับหน่วยทดลองควบคุม ผลการศึกษาพบว่า หน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส จำนวน 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร (selected culture condition) มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สูงขึ้นอย่างชัดเจนตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ของการทดลอง โดยอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 16 ในส่วนของหน่วยทดลองที่ 1 (T1) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในชั่วโมงที่ 10 ดังภาพที่ 50 และผลการเจริญเติบโต (พิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสง) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ชั่วโมงต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ 6



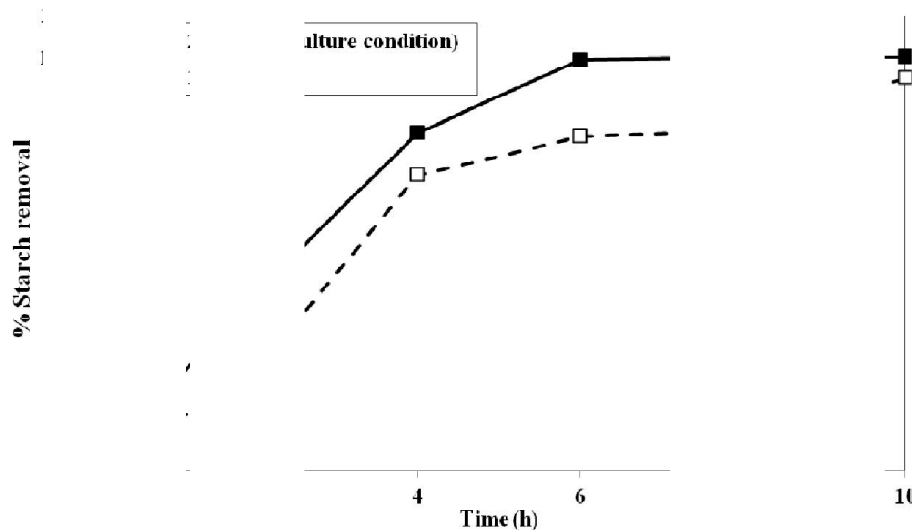
ภาพที่ 50 อัตราการเจริญเติบโต (พิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสง) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ต่อระยะเวลา (ชั่วโมง)

จากภาพที่ 50 แสดงให้เห็นว่า การปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในช่วงระยะแบ่งตัวทวีคูณ (exponential หรือ log phase) สูงขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับหน่วยทดลองควบคุม โดยเริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 16 ของการทดลอง

4.6 การทดสอบความสามารถย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์

การศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 จำนวน 4 มิลลิลิตร ในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 เติมผงชูรส จำนวน 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมแป้งจำนวน 1 กรัม ทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ด้วยวิธีวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ผลการศึกษาพบว่า หน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถย่อยสลายแป้งสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 ของการทดลอง โดยแป้งถูกย่อยสลาย 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ชั่วโมงที่ 8 ของการทดลอง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ 1 (T1) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถย่อยสลายแป้งสูงสุดเท่ากับร้อยละ 94.86 ที่ชั่วโมงสุดท้ายของการทดลอง ดังภาพที่ 51 และร้อยละการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์ของ

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ชั่วโมงต่างกัน ดังตารางที่ 11 ในส่วนของปริมาณแป้งที่ลดลงจากการย่อยสลายของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่ชั่วโมงต่างกัน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค7



ภาพที่ 51 ประสิทธิภาพการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ต่อระยะเวลา (ชั่วโมง)

ตารางที่ 11 ร้อยละการย่อยสลายแป้งของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ชั่วโมงที่	ร้อยละการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)*	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)**
0	0.00	0.00
2	23.69	42.71
4	71.41	81.51
6	80.74	99.26
8	82.13	100.00
10	94.86	100.00

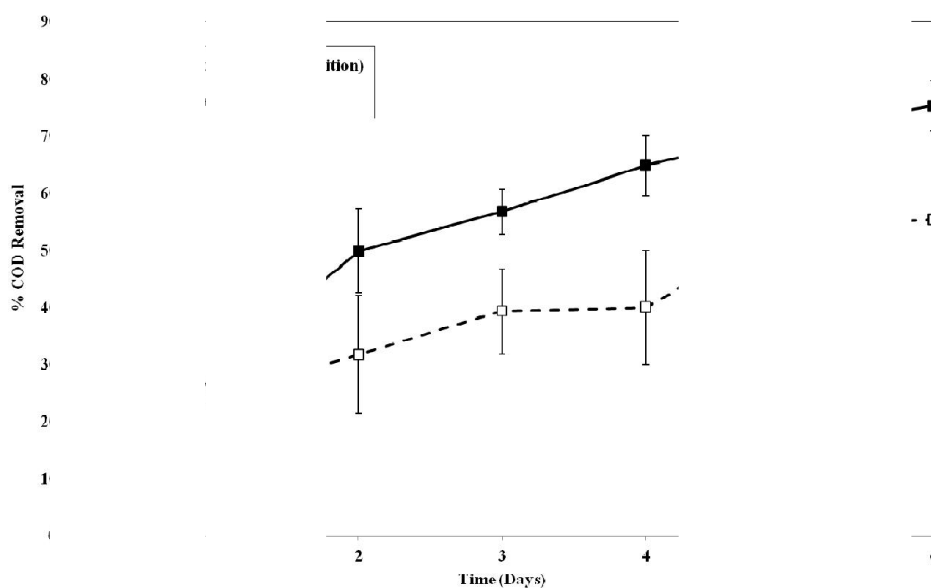
* (T1) คือ หน่วยทดลองควบคุม

** (T2) คือ หน่วยทดลองที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร

จากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่า หน่วยทดลอง T2 ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุด โดยชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8, และ 10 ของการทดลอง มีร้อยละการย่อยสลายแป้งเท่ากับ 42.71, 81.51, 99.26, 100 และ 100 ตามลำดับ โดยผลการทดลองทั้งหมดทำให้ทราบว่า การปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร มีแนวโน้มที่จะทำให้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีความสามารถย่อยสลายแป้งในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนได้ดีมากยิ่งขึ้น

4.7 การทดสอบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

การทดสอบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ตั้งอยู่ ณ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอกลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยทำการปรับ pH ให้เท่ากับ pH 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน 100 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับหน่วยทดลองควบคุม ผลการศึกษาพบว่า หน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถกำจัดชีโอดีสูงขึ้นอย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 2 ของการทดลอง โดยร้อยละการกำจัดชีโอดีสูงสุดเท่ากับ 75.29 ± 4.42 วันสุดท้ายของการทดลอง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ 1 (T1) ร้อยละการกำจัดชีโอดีสูงสุดเท่ากับ 55.31 ± 0.63 ในวันสุดท้ายของการทดลอง ดังภาพที่ 52 และร้อยละการบำบัดชีโอดีในน้ำเสียโรงงานจากผลิตขนมจีนของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ดังตารางที่ 12 ในส่วนของการกำจัดชีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค8



ภาพที่ 52 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ต่อระยะเวลา (วัน)

ตารางที่ 12 ร้อยละการกำจัดซีโอดีของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

วันที่	ร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)*	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)**
0	0.00	0.00
1	24.40 ± 10.73	28.56 ± 5.93
2	31.67 ± 10.41	49.87 ± 7.32
3	39.32 ± 7.48	56.70 ± 4.01
4	40.01 ± 10.02	64.80 ± 5.28
5	54.17 ± 2.89	70.65 ± 6.80
6	55.31 ± 0.63	75.29 ± 4.42

* (T1) คือ หน่วยทดลองควบคุม

** (T2) คือ หน่วยทดลองที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร

จากตารางที่ 12 แสดงให้เห็นว่า หน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถกำจัดซีโอดีได้ดีที่สุด โดยวันที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ของการทดลอง มีร้อยละการกำจัดซีโอดีเท่ากับ 28.56 ± 5.93 , 49.87 ± 7.32 , 56.70 ± 4.01 , 64.80 ± 5.28 , 70.65 ± 6.80 และ 75.29 ± 4.42 ตามลำดับ ดังนั้น การปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เป็นสภาวะที่ทำให้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนมากยิ่งขึ้น

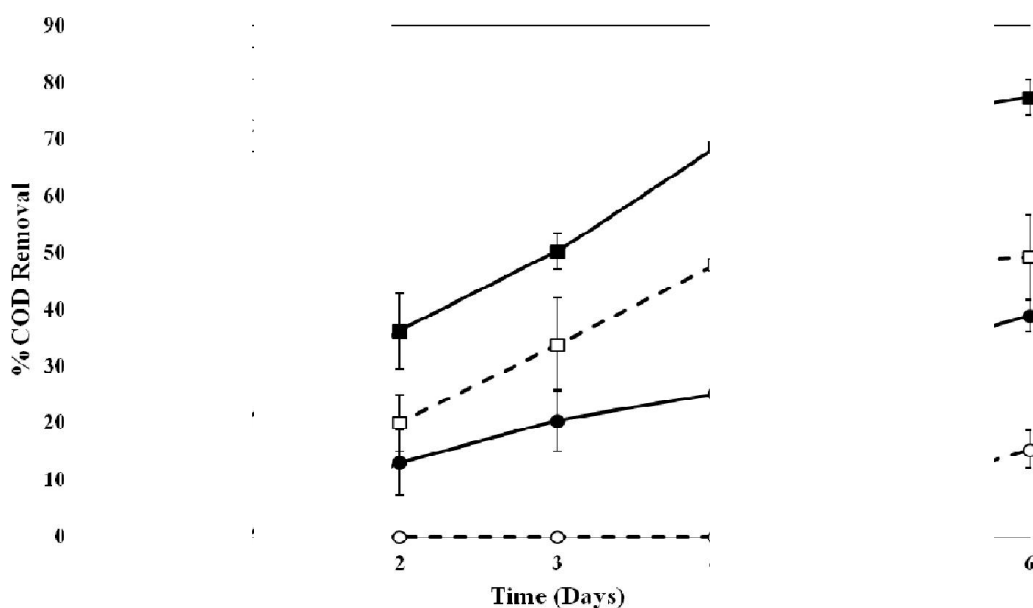
จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้เป็นอย่างดี ในส่วนของค่าความเค็มที่ไม่นำมาใช้ประกอบในการทดลองนี้ เนื่องจากน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนมีค่าความความเค็มผันแปรสูงมาก บางช่วงสูงถึง 14,600 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงไม่สามารถกำหนดค่าที่แน่นอนของโซเดียมคลอไรด์ที่ต้องเติมลงน้ำเสียเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 การศึกษาความเค็มตามข้อที่ 4.4.2 เพียงเพื่อหาความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในสภาวะที่มีความเค็มระดับต่างๆ กันเท่านั้น เช่นเดียวกับการศึกษาอุณหภูมิตามข้อที่ 4.4.3 ไม่ได้นำมาใช้ประกอบในการทดลองนี้เช่นกัน เนื่องจากการทดลองนี้เป็นการทดลองในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30 ถึง 38 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงอยู่แล้วกับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 คือ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

5. การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพร่วมกับระบบบำบัดแบบธรรมชาติ

5.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดความจุ 54 ลิตร โดยทำการปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 20 กรัม ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน (COD : N เท่ากับ 100 : 0.0005) 20 ลิตร จากนั้นแบ่งการบำบัดน้ำเสียออกเป็นแบบเติมอากาศ และแบบไร้อากาศ ผลการศึกษาพบว่า หน่วยทดลองที่ 1 (T1) และหน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่เป็นการบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ สามารถกำจัดซีโอดีได้ดีกว่าหน่วยทดลองที่ 3 (T3) และหน่วยทดลองที่ 4 (T4) ที่เป็นการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ ดังภาพที่ 53 โดย

หน่วยทดลองที่ 1 (T1) ที่ทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีร้อยละการกำจัดซีไอดีสูงสุดเท่ากับ 77.29 ± 3.16 ของวันสุดท้ายในการทดลอง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ 3 (T3) ที่ทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีร้อยละการกำจัดซีไอดีสูงสุดเท่ากับ 38.82 ± 2.69 ของวันสุดท้ายในการทดลอง และผลการกำจัดซีไอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) แสดงไว้ในตารางผนวกที่ ค9



ภาพที่ 53 ประสิทธิภาพการกำจัดซีไอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยการบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ และแบบไร้อากาศในถังปฏิกรณ์ชีวภาพต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบเติมอากาศ ที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบเติมอากาศ

T3 คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบไร้อากาศ ที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T4 คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบไร้อากาศ

จากภาพที่ 53 แสดงให้เห็นว่า การเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ทั้งในการบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ และการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดซีไอดีในน้ำเสียจากโรงงานขนมจีน ทั้งยังพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Noorhisham and Mohd, 1999 ที่พบว่า ในสถานะที่มีออกซิเจน เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (final electron acceptor) ในการเจริญเติบโต และใน

งานวิจัยของ Nakano and Hulett, 1997 ; Nakano and Zuber, 1998 ยังพบอีกว่า ในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 จะใช้สารอนินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในการเจริญเติบโต ได้แก่ในเตรตหรือไนไตรท์

เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยการหาค่าความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-way ANOVA) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนในถึงปฏิกรณ์ชีวภาพทั้ง 2 แบบ พบว่า การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศมีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียได้ดีที่สุด โดยเฉพาะหน่วยทดลองที่ 1 (T1) ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันแรกจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ดังตารางที่ 13 และข้อมูลทางสถิติ แสดงไว้ในภาคผนวก จ

ตารางที่ 13 ร้อยละการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

วันที่	การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ		การบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)	หน่วยทดลองที่ 3 (T3)	หน่วยทดลองที่ 4 (T4)
0	0.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}
1	20.37 ± 5.14 *	0.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}	0.00 ^{NS}
2	36.19 ± 6.57 *	19.92 ± 4.95 ^{NS}	12.98 ± 5.63 ^{NS}	0.00 *
3	50.24 ± 3.20 *	33.77 ± 8.18 *	20.35 ± 5.48 *	0.00 *
4	68.51 ± 4.64 *	47.78 ± 9.35 *	25.06 ± 5.79 *	0.00 *
5	73.01 ± 2.52 *	47.78 ± 9.35 *	30.95 ± 3.17 *	7.18 ± 2.53 *
6	77.29 ± 3.16 *	49.16 ± 7.51 ^{NS}	38.82 ± 2.69 ^{NS}	15.25 ± 3.25 *

(T1) คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบเติมอากาศที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

(T2) คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบเติมอากาศ

(T3) คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบไร้อากาศที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

(T4) คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบไร้อากาศ

* ในแถวเดียวกัน คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^{NS} ในแถวเดียวกัน คือ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

5.2 การบำบัดน้ำเสียด้วยระบบบำบัดแบบธรรมชาติ

5.2.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการ

การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการเป็นการทดลองในคอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร คุณ ยาว 45 เซนติเมตร โดยใช้ น้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ตามข้อที่ 5.1 เปรียบเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ซึ่งแบ่งผลการศึกษาออกได้ ดังนี้

ก. การบำบัดน้ำเสียแบบปล่อยผ่าน

1. ผลของซีโอดี พบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้น้อยมาก โดยซีโอดีเริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ $3,669.70 \pm 134.50$ มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการปล่อยผ่าน ซีโอดีเหลืออยู่เท่ากับ $2,492.37 \pm 67.36$ มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละการบำบัดเท่ากับ 32.08 เท่านั้น ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดไว้ให้สูงสุดไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตามตารางที่ 14

2. ผลของ pH พบว่า น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมี pH เพิ่มขึ้นเท่ากับ 8.0 โดย pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4.2 ซึ่งยังอยู่ในช่วงของค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ดังตามตารางที่ 14 สาเหตุที่ทำให้ น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมี pH เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากอนุภาคดินเหนียว (clay content) ที่มีอยู่ในวัสดุปลูกไปตรึงกรดอินทรีย์ในน้ำเสีย (Christen *et al*, 2010) และ/หรือ อาจเกิดจากตัววัสดุปลูกเองมีความเป็นด่าง โดยสังเกตจาก pH ของน้ำกลั่นหลังการปล่อยผ่านเท่ากับ 8.3 ซึ่ง pH เริ่มต้นของน้ำกลั่นเท่ากับ 7.0 เมื่อมีการปล่อยผ่านของน้ำเสียจึงเกิดการปรับ pH ของน้ำเสียเกิดขึ้น

3. ผลของความเค็ม พบว่า น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมีความเค็ม เพิ่มขึ้นเท่ากับ $3,470 \pm 50$ มิลลิกรัมต่อลิตร โดยความเค็มเริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ $2,370 \pm 40$ มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งยังอยู่ในช่วงของค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ดังตามตารางที่ 14 สาเหตุที่ทำให้ น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมีความเค็มเพิ่มขึ้น อาจเกิดจากตัววัสดุปลูกมีความเค็มในปริมาณสูง โดยสังเกตจากความเค็มของน้ำกลั่นหลังการปล่อยผ่านเท่ากับ 1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งความเค็ม

เริ่มต้นของน้ำกลั่นตรวจไม่พบ เมื่อมีการปล่อยน้ำเสียผ่านจึงเกิดการชะล้างความเค็มจากวัสดุปลูกมายังน้ำเสียหลังการปล่อยผ่าน

ตารางที่ 14 คุณภาพน้ำของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนก่อนและหลังการปล่อยผ่าน

พารามิเตอร์	pH	ความเค็ม	ซีโอดี	
		มิลลิกรัมต่อลิตร		
น้ำเสีย ¹	ก่อนการปล่อยผ่าน	4.2	2,370 ± 40	3,669.70 ± 134.50
	หลังการปล่อยผ่าน	8.0	3,470 ± 50	2,492.37 ± 67.36
น้ำกลั่น ²	ก่อนการปล่อยผ่าน	7.0	0.0	0.0
	หลังการปล่อยผ่าน	8.3	1,100	26.94
ค่ามาตรฐาน ³	5.5 – 9.0	≤ 5,000	≤ 400	

¹ น้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

² หน่วยทดลองควบคุม

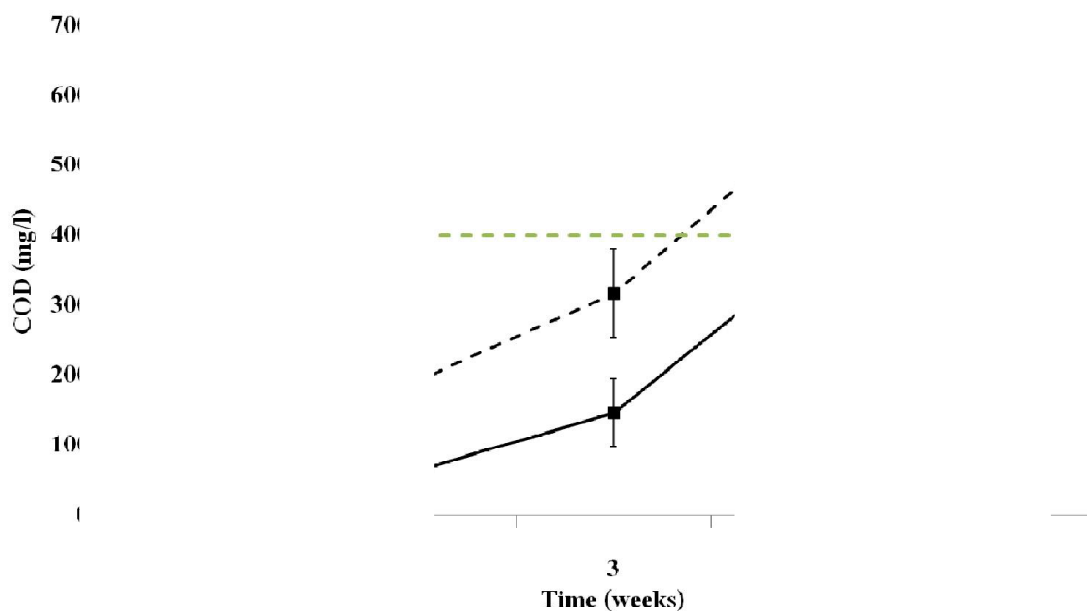
³ ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2. (2539)

จากการตารางที่ 14 แสดงให้เห็นว่า การบำบัดน้ำเสียแบบปล่อยผ่าน ยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน ดังนั้นผู้วิจัยจึงไม่ทำการศึกษาศึกษาการบำบัดน้ำเสียแบบปล่อยผ่านกับน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ข. การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง

1. ผลของซีโอดี พบว่า หน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสามารถกำจัดซีโอดีจาก 801.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 40.44 ± 14.44 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด และลดลงสูงสุดถึง 369.97 ± 28.89 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 4 ของการบำบัด ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสามารถกำจัดซีโอดีจาก 3,669.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 121.65 ± 43.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบ

ที่ 1 ของการบำบัด และลดลงสูงที่สุดถึง 318.95 ± 61.66 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 3 ของการบำบัด ดังภาพที่ 54 และผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง ดังตารางที่ 15



ภาพที่ 54 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T3 คือ ค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 15 ผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง

สัปดาห์ที่	ซีโอดีในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ¹	ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ²	น้ำกลั่น ³
1	40.44 ± 14.44	121.65 ± 43.45	8.69
2	64.99 ± 21.66	193.94 ± 64.65	0.00
3	146.63 ± 48.88	318.10 ± 63.62	0.00
4	369.97 ± 28.89	554.95 ± 61.66	0.00
5	526.30 ± 40.48	**	0.00

¹ ซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 801.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

² ซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนการบำบัดเท่ากับ 3,669.70 มิลลิกรัมต่อลิตร

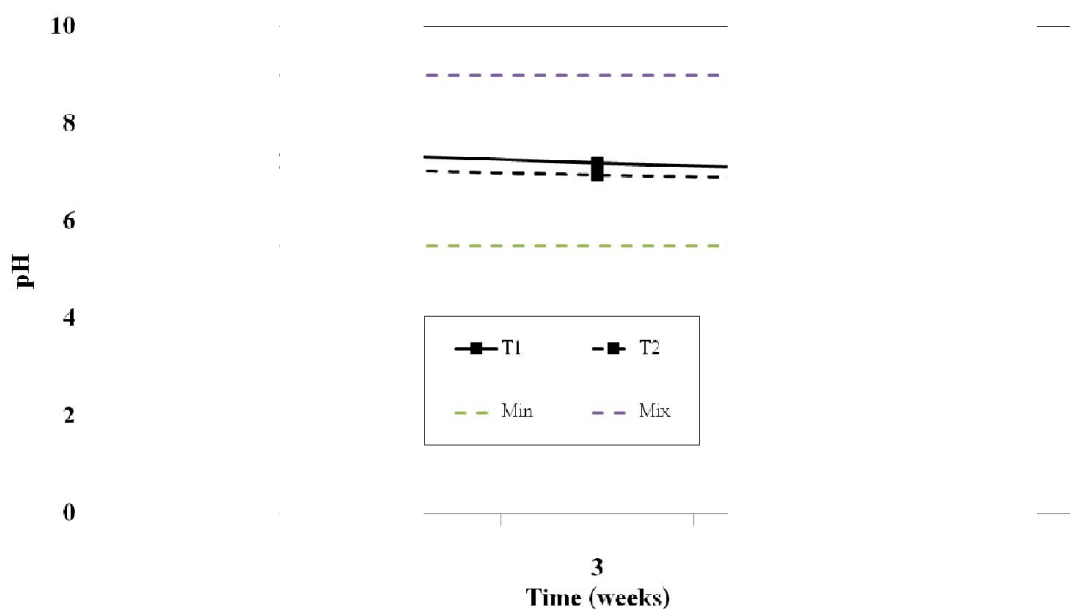
³ ซีโอดีของน้ำกลั่นก่อนผ่านระบบบำบัดเท่ากับ 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

** ไม่มีการตรวจวิเคราะห์

จากตารางที่ 15 แสดงให้เห็นว่า หน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถลดซีโอดีได้สูงสุดถึงรอบที่ 4 ของการบำบัด โดยสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, และ 4 ของการทดลอง มีซีโอดีเท่ากับ 40.44 ± 14.44, 64.99 ± 21.66, 146.63 ± 48.88 และ 369.97 ± 28.89 ตามลำดับ ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ สามารถลดซีโอดีได้สูงสุดถึงรอบที่ 3 ของการบำบัด โดยสัปดาห์ที่ 1, 2, และ 3 ของการทดลอง มีซีโอดีเท่ากับ 121.65 ± 43.45, 193.94 ± 64.65, 318.10 ± 63.62, และ 554.95 ± 61.66 ตามลำดับ ซึ่งหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเพิ่มระยะการบำบัดซีโอดีได้มากกว่าหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพอยู่ 1 รอบการบำบัด ซึ่งคำนวณจากซีโอดีของการทดลองแต่ละสัปดาห์เทียบกับมาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ที่กำหนดให้ค่าซีโอดีสูงสุดไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ผลของ pH พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการ

บำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียหลังผ่านการบำบัดแบบขังแช่สลั๊บแห้งมี pH เฉลี่ยเป็นกลางโดยอยู่ที่ 7.1 ดังภาพที่ 55 และส่วนของผล pH ของการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลั๊บแห้ง ดังตารางที่ 16



ภาพที่ 55 ผลของ pH ในน้ำเสียที่บำบัดแบบขังแช่สลั๊บแห้งต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

Min คือ ค่ามาตรฐาน pH ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้ต่ำสุดเท่ากับ 5.5

Mix คือ ค่ามาตรฐาน pH ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดเท่ากับ 9.0

ตารางที่ 16 pH ในน้ำเสียที่บำบัดแบบขังแช่สลับแห้ง

สัปดาห์ที่	pH ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน		
	ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ¹	ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ²	น้ำกลั่น ³
1	7.40 ± 0.00	7.15 ± 0.05	7.3
2	7.35 ± 0.05	7.05 ± 0.05	7.2
3	7.20 ± 0.00	6.95 ± 0.05	7.2
4	7.10 ± 0.00	6.90 ± 0.00	7.1
5	7.05 ± 0.05	**	7.1

¹ pH เฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 7.9 ± 0.0

² pH เฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 4.2 ± 0.4

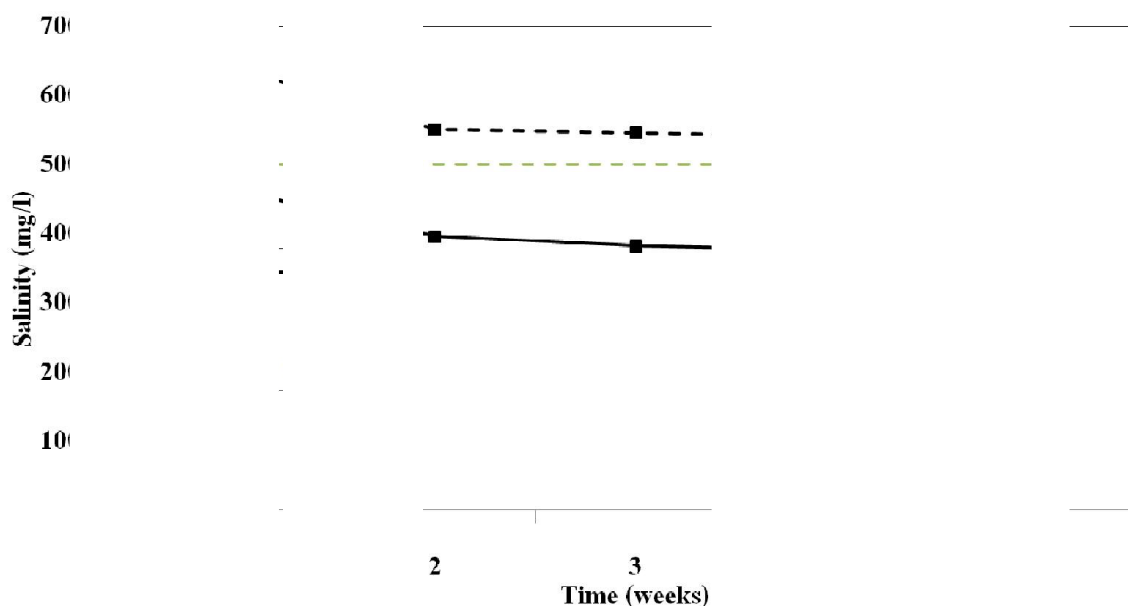
³ pH ของน้ำกลั่นก่อนผ่านระบบบำบัดเท่ากับ 7.0

** ไม่มีการตรวจวิเคราะห์

จากตารางที่ 16 แสดงให้เห็นว่า หน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 มีค่าเฉลี่ยของ pH อยู่ที่ 7.2 ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ มีค่าเฉลี่ยของ pH อยู่ที่ 7.0 ซึ่งอาจเกิดจากชั้นวัสดุปลูกที่ใช้ในการทดลอง โดยเฉพาะชั้นดินที่มีความสามารถในการรักษาระดับความเป็นกลาง (buffering capacity) ของ pH เฉลี่ยเท่ากับ 7.1 ในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัด ซึ่ง pH มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาในการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kadam *et al.* (2008) ที่พบว่า ชั้นดินมีความสามารถช่วยรักษาระดับความเป็นกลางของ pH เท่ากับ 7.0 ในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดไว้ได้เกือบคงที่อยู่เสมอตลอดการทดลอง

3. ผลของความเค็ม พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ความเค็มในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสูงขึ้นในรอบที่ 1 ของการบำบัด จากนั้นความเค็มลดลงและเริ่มคงที่ตั้งแต่รอบที่ 2 ของการบำบัดจนจบการทดลอง โดยน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดจากหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น มีความเค็มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตั้งแต่รอบที่ 1 ของ

การบำบัดจนสิ้นสุดการทดลอง ดังภาพที่ 56 และส่วนของผลความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง ดังตารางที่ 17



ภาพที่ 56 ผลของความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดแบบขังแช่สลับแห้งต่อระยะเวลา (วัน)
 T1 คือ น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8
 T2 คือ น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ
 T3 คือ ค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 17 ความเค็มในน้ำเสียที่บำบัดด้วยการขังแช่สลับแห้ง

สัปดาห์ที่	ความเค็มในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจลิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ¹	ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ²	น้ำกลั่น ³
1	4,633.33 ± 88.89	6,408.56 ± 12.70	1,100
2	3,933.67 ± 88.89	5,519.78 ± 15.87	1,100
3	3,833.33 ± 44.44	5,473.00 ± 9.52	1,100
4	3,766.67 ± 44.44	5,426.22 ± 12.70	1,000
5	3,564.44 ± 47.41	**	1,000

¹ ความเค็มเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 3,130.00 ± 160 มิลลิกรัมต่อลิตร

² ความเค็มเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 4,210.00 ± 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

³ ความเค็มของน้ำกลั่นก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

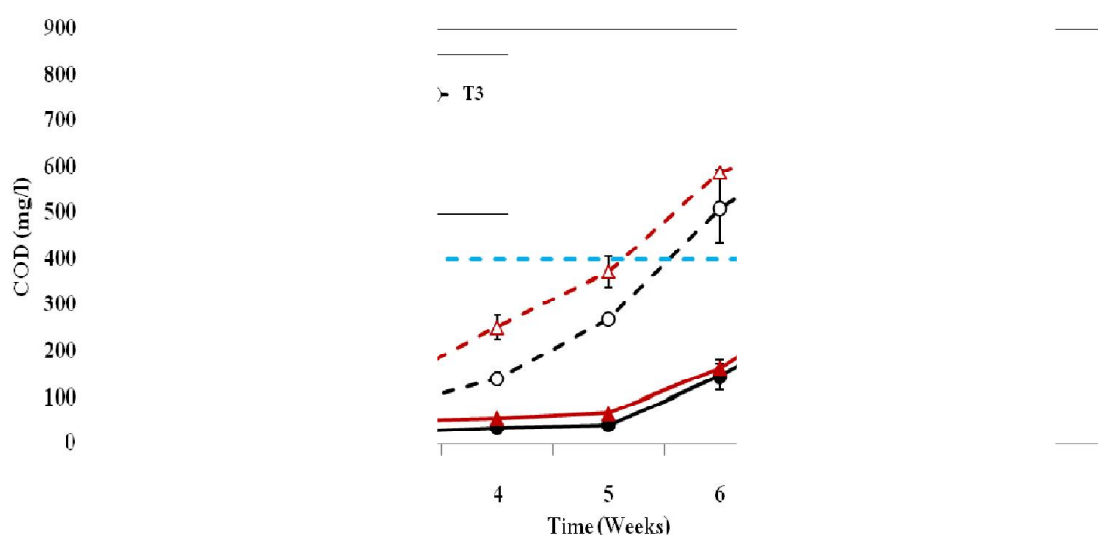
** ไม่มีการตรวจวิเคราะห์

จากตารางที่ 17 แสดงให้เห็นว่า การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้ง ไม่สามารถกำจัดความเค็มในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจลินได้ โดยหน่วยทดลองที่ใช้ น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 น้ำเสียหลังผ่านการบำบัดมีความเค็มเฉลี่ยเท่ากับ 3,952.89 ± 62.81 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าน้ำเสียก่อนการบำบัดที่มีความเค็มเฉลี่ยเท่ากับ 3,130.00 ± 160.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้ น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียหลังผ่านการบำบัดมีความเค็มเฉลี่ยเท่ากับ 4,210.00 ± 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าน้ำเสียหลังการบำบัดที่มีความเค็มเฉลี่ยเท่ากับ 5,706.89 ± 12.70 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.2.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก โดยเป็นการทดลองแบบขังแช่ในวัสดุปลูกเป็นเวลา 5 วัน สลับกับปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 2 วัน ในถังพลาสติกทรงกลมขนาดความจุ 30 ลิตร ร่วมกับการปลูกพืชบำบัด 2 ชนิด ได้แก่ กกกลม และ หญ้าแฝก ซึ่งแบ่งผลการศึกษาดังกล่าวตามพารามิเตอร์ ได้ดังนี้

ก. ผลของซีโอดี พบว่า หน่วยทดลองที่ 1 (T1) ที่ใช้หญ้าแฝกและหน่วยทดลองที่ 2 (T2) ที่ใช้กกกลม ร่วมกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถกำจัดซีโอดีจาก $1,082.60 \pm 259.04$ มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 10.69 ± 00.00 และ 16.03 ± 5.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด ตามลำดับ และลดลงสูงสุดถึง 400.80 ± 21.09 ที่รอบที่ 8 ของการบำบัด และ 320.64 ± 29.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 7 ของการบำบัด ตามลำดับ ในส่วนของหน่วยทดลองที่ 3 (T3) ที่ใช้หญ้าแฝกและหน่วยทดลองที่ 4 (T4) ที่ใช้กกกลม ร่วมกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ สามารถกำจัดซีโอดีจาก $3,280.87 \pm 778.07$ มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 16.03 ± 5.34 และ 26.72 ± 5.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด ตามลำดับ และลดลงสูงสุดถึง 271.73 ± 00.00 และ 373.64 ± 33.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 5 ของการบำบัด ตามลำดับ ดังภาพที่ 57 และผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการบำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ดังตารางผนวกที่ 18



ภาพที่ 57 ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ร่วมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ หญ้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T3 คือ หญ้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T4 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T5 คือ ค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 18 ผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กพร้อมกับพืชบำบัด

ลำดับที่	ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากน้ำเสียโรงงานผลิตขมจีน				น้ำกลั่น ³
	ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ¹		ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ²		
	หญ้าแฝก	กกกลม	หญ้าแฝก	กกกลม	
1	10.69 ± 0.00	16.03 ± 5.34	16.03 ± 5.34	26.72 ± 5.34	10.69
2	19.55 ± 0.00	31.70 ± 7.93	25.42 ± 3.91	38.12 ± 6.84	0.00
3	24.74 ± 0.00	49.48 ± 0.00	79.17 ± 0.00	128.65 ± 0.00	0.00
4	35.16 ± 7.03	56.25 ± 0.00	140.63 ± 14.06	253.14 ± 26.57	0.00
5	42.46 ± 8.49	67.93 ± 0.00	271.73 ± 0.00	373.63 ± 33.97	0.00
6	145.75 ± 29.15	163.96 ± 18.22	510.11 ± 72.87	590.27 ± 7.29	0.00
7	284.20 ± 21.86	320.64 ± 29.15	655.85 ± 72.87	679.54 ± 67.41	0.00
8	400.80 ± 21.09	421.89 ± 28.13	773.47 ± 70.32	803.36 ± 82.62	0.00

¹ ซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 1,082.60 ± 259.04 มิลลิกรัมต่อลิตร

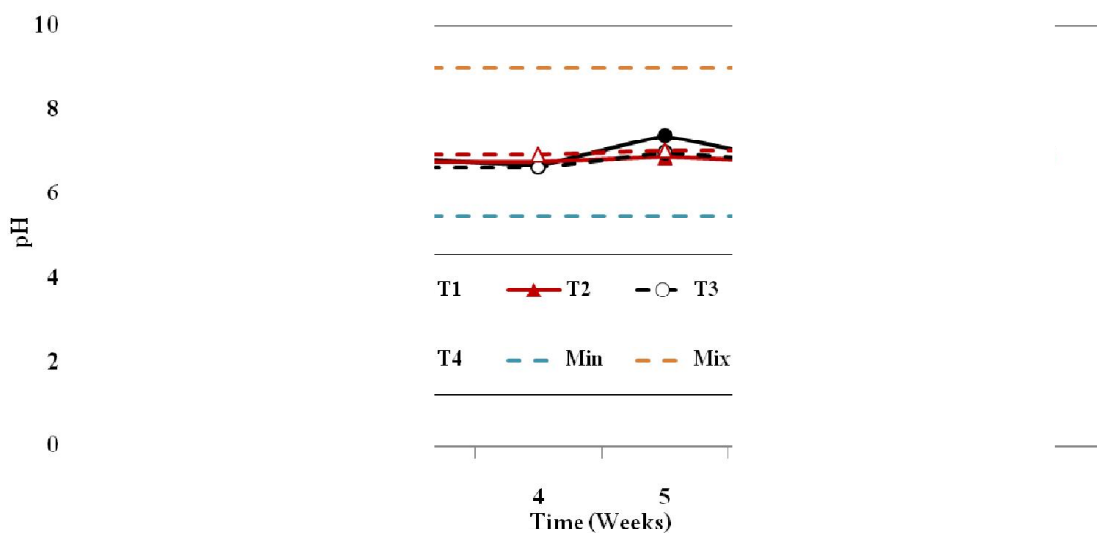
² ซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 3,280.87 ± 778.07 มิลลิกรัมต่อลิตร

³ ซีโอดีของน้ำกลั่นก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากตารางที่ 18 แสดงให้เห็นว่า หน่วยทดลองที่ใช้พืชบำบัดทั้งหญ้าแฝกและกกกลม ในการบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ที่มีค่าซีโอดีเท่ากับ 1,082.60 ± 259.04 มิลลิกรัมต่อลิตร พืชทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีใกล้เคียงกัน และมีประสิทธิภาพลดลงตามระยะเวลาของรอบการบำบัด ที่รอบที่ 8 ของการบำบัด (20 ลิตรต่อรอบ) ซึ่งคำนวณจากซีโอดีของการทดลองแต่ละรอบของการบำบัดเทียบกับมาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ที่กำหนดให้ค่าซีโอดีสูงสุดไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. ผลของ pH พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบไม่ผ่านการ

บำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียหลังผ่านการทดลองมีสภาพ pH เป็นกลาง เฉลี่ยอยู่ที่ 7.0 ดังภาพที่ 58 และผลของ pH จากการบำบัดด้วยระบบบำบัดแบบธรรมชาติในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ดังตารางที่ 19



ภาพที่ 58 ผลของ pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ หล้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T3 คือ หล้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T4 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

Min คือ ค่ามาตรฐาน pH ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้ต่ำสุดเท่ากับ 5.5

Mix คือ ค่ามาตรฐาน pH ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดเท่ากับ 9.0

ตารางที่ 19 pH ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

ลำดับที่	pH ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน				น้ำกลั่น ³
	ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ¹		ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ²		
	หยาบ	กกลม	หยาบ	กกลม	
1	7.30 ± 0.00	7.15 ± 0.05	7.30 ± 0.05	7.40 ± 0.10	7.1
2	7.35 ± 0.05	7.05 ± 0.05	7.25 ± 0.05	7.15 ± 0.05	7.0
3	6.85 ± 0.05	6.95 ± 0.05	6.65 ± 0.05	6.80 ± 0.10	7.0
4	6.70 ± 0.00	6.95 ± 0.05	6.65 ± 0.05	6.80 ± 0.00	7.0
5	7.40 ± 0.00	7.05 ± 0.05	7.00 ± 0.00	6.90 ± 0.00	6.9
6	6.80 ± 0.00	7.05 ± 0.05	6.80 ± 0.00	6.80 ± 0.00	6.9
7	6.80 ± 0.00	6.80 ± 0.00	6.65 ± 0.05	6.65 ± 0.05	6.8
8	6.95 ± 0.05	7.05 ± 0.05	6.75 ± 0.05	6.95 ± 0.05	6.7

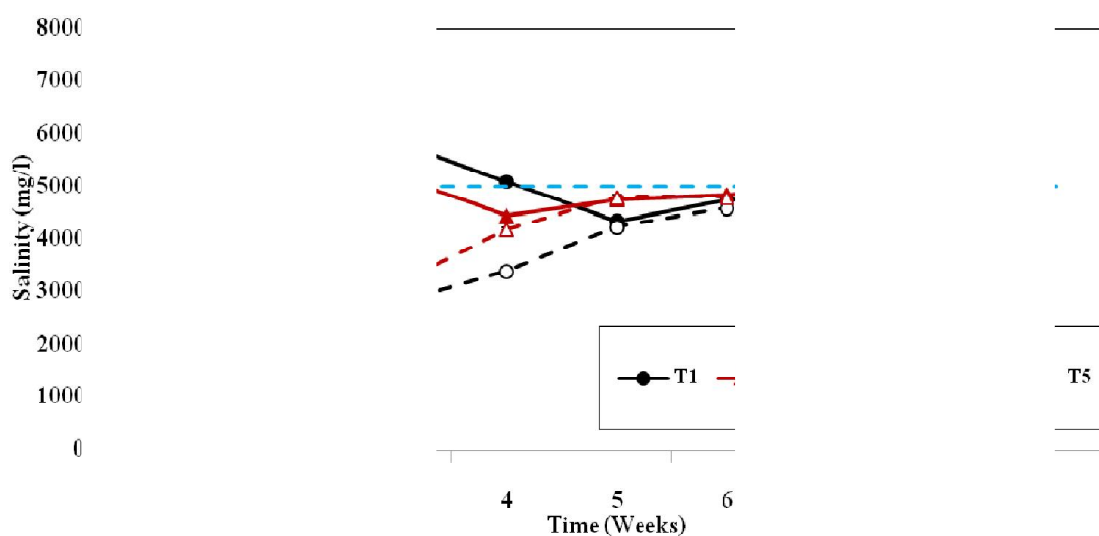
¹ pH เฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 8.1 ± 0.2

² pH เฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 3.7 ± 0.5

³ pH ของน้ำกลั่นก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 7.0

จากตารางที่ 19 แสดงให้เห็นว่า การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กร่วมกับการปลูกพืชบำบัด สามารถในการรักษาระดับความเป็นกลางของ pH เฉลี่ยเท่ากับ 7.0 ในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดได้ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการศึกษาในข้อที่ 5.2.1 (ข)

ค. ผลของความเค็ม พบว่า หน่วยทดลองที่ใช้ น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* KJP8 ความเค็มมีแนวโน้มลดลงในรอบที่ 2 ของการบำบัด จากนั้นความเค็มเริ่มคงที่ ตั้งแต่รอบที่ 5 ของการบำบัด จนจบการทดลอง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้ น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ความเค็มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในรอบที่ 2 ของการบำบัด จากนั้นความเค็มเริ่มคงที่ ตั้งแต่รอบที่ 6 ของการบำบัด จนจบการทดลอง ดังภาพที่ 59 และผลของความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการบำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ดังตารางที่ 20



ภาพที่ 59 ผลของความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็กพร้อมกับพืชบำบัดต่อระยะเวลา (วัน)

T1 คือ หญ้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T2 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

T3 คือ หญ้าแฝกบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T4 คือ กกกลมบำบัดน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ

T5 คือ ค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 20 ความเค็มในน้ำเสียที่บำบัดด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

ลำดับที่	ความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน				น้ำกลั่น ³
	ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ¹		ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ²		
	หยู้าแฝก	กกกลม	หยู้าแฝก	กกกลม	
1	6,950.00 ± 50	5,750.00 ± 150	2,500.00 ± 0.0	2,700.00 ± 200	1,500
2	6,450.00 ± 50	6,200.00 ± 400	2,550.00 ± 50	2,950.00 ± 150	1,400
3	5,850.00 ± 50	5,200.00 ± 200	2,800.00 ± 0	3,150.00 ± 150	1,300
4	5,100.00 ± 100	4,450.00 ± 50	3,400.00 ± 100	4,200.00 ± 100	1,300
5	4,350.00 ± 150	4,750.00 ± 250	4,250.00 ± 50	4,800.00 ± 0.0	1,300
6	4,750.00 ± 50	4,850.00 ± 50	4,600.00 ± 100	4,800.00 ± 0.0	1,300
7	4,700.00 ± 150	5,000.00 ± 0.0	4,500.00 ± 0.0	4,600.00 ± 0.0	1,200
8	4,650.00 ± 150	5,250.00 ± 350	4,300.00 ± 100	4,250.00 ± 150	1,200

¹ ความเค็มเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 3,200.00 ± 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

² ความเค็มเฉลี่ยของน้ำเสียก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 2,137.50 ± 437.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

³ ความเค็มของน้ำกลั่นก่อนผ่านการบำบัดเท่ากับ 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากตารางที่ 20 แสดงให้เห็นว่า การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ร่วมกับการปลูกพืชบำบัด ไม่สามารถกำจัดความเค็มในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนได้ ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการศึกษาในข้อที่ 5.2.1 (ค)

สาเหตุที่การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ร่วมกับพืชบำบัดมีประสิทธิภาพต่ำในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 อาจเกิดสภาพน้ำเสียที่มี pH ต่ำ เฉลี่ยเท่ากับ 3.7 ± 0.5 และมีซีโอดีปริมาณสูง เฉลี่ยเท่ากับ 3,280.87 ± 778.07 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชบำบัดทั้ง หยู้าแฝก และกกกลม ดังภาพที่ 60 จึงทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียลดลงตามไปด้วย ดังที่แสดงให้เห็นในผลการศึกษาข้างต้น



ภาพที่ 60 การตอบสนองของพืชบำบัดที่ใช้ในการทดลอง (ก) หน่วยทดลองที่ใช้ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ และ(ข) หน่วยทดลองที่ใช้ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

จากภาพที่ 60 แสดงให้เห็นว่า พืชบำบัดมีการตอบสนองต่อน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนต่างกัน ซึ่งแสดงออกมาจากการเจริญเติบโต โดยหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ พืชบำบัดมีการเจริญเติบโต และการแตกกอที่ลดลง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 พืชบำบัดมีการเจริญเติบโต และการแตกกอมากกว่าอย่างชัดเจน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน เริ่มด้วยการศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีน พบว่า เป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสทั้งหมดเท่ากับ 2.9×10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ต่อไปเป็นการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รวมทั้งสิ้น 9 สายพันธุ์ และทำการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแองจ์สตาร์ช พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส 2 สายพันธุ์ ได้แก่ รหัส KJP3 และรหัส KJP8 ซึ่งมีความสามารถในการสร้างวงใสรอบโคโลนีที่เกิดจากการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุด โดยความกว้างของวงใสรอบโคโลนีเท่ากับ 9.00 ± 1.40 และ 8.89 ± 0.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากนั้นศึกษาการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 สามารถกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับร้อยละ 67.99 ± 0.02 สุดท้ายพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA ผลปรากฏว่า เชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส รหัส KJP8 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในระดับความถูกต้อง และแม่นยำที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นผลการศึกษาทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* รหัส KJP8 เป็นเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนที่มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้เพื่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ผลการศึกษาพบว่า การปรับ pH ที่ 6.0 การเติมโซเดียมคลอไรด์ 2.2 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร การปรับอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และการเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ $5.17 \times 10^9 \pm 7.55 \times 10^8$, $2.97 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$, $2.22 \times 10^8 \pm 1.65 \times 10^7$ และ $2.63 \times 10^9 \pm 8.77 \times 10^8$ ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการเลือกสภาวะที่สามารถใช้ได้กับน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน ผลการคัดเลือกพบว่า การปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100

มิลลิลิตร เหมาะสมในการใช้กับน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนมากที่สุด ต่อไปทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 โดยปรับน้ำเสียสังเคราะห์ให้ pH เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากนั้นทำการทดสอบการย่อยสลายแป้งน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่าความสามารถในการย่อยสลายแป้งของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สูงขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อทำการปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร สุดท้ายทดลองบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนขนาดเล็ก ในจังหวัดปทุมธานี ผลการศึกษาว่า หน่วยทดลองที่ปรับสภาวะน้ำเสียโดยการปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถบำบัดน้ำเสียได้ดีที่สุด โดยซีโอดีเท่ากับ 75.29 ± 4.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นผลการศึกษาทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า สภาวะน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน ที่ pH เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรสที่ 0.1 กรัม ต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร เป็นสภาวะที่ส่งผลต่อความสามารถในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

3. การบำบัดน้ำเสียด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยปรับสภาวะน้ำเสียให้ pH เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร จากนั้นแบ่งการบำบัดน้ำเสียออกเป็น 2 แบบ ได้แก่ แบบเติมอากาศที่อัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที และแบบไร้อากาศที่อัตราการกวนที่ 50 รอบต่อนาที ผลการศึกษาพบว่า การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับร้อยละ 77.29 ± 3.16 และการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับ 38.82 ± 2.69 ดังนั้นผลการศึกษาทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า การบำบัดแบบเติมอากาศอัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที เหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

4. การบำบัดน้ำเสียด้วยการบำบัดแบบธรรมชาติ

4.1 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการ

การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทดลองในคอลัมน์แก้วที่ภายในบรรจุชั้นวัสดุปลูก แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 แบบ คือ การบำบัดน้ำเสียแบบปล่อยผ่าน

และการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่ 5 วัน สลับแห้ง 2 วัน ผลการศึกษาพบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้น้อยมาก โดยซีโอดีเริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ $3,669.70 \pm 134.50$ มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการปล่อยผ่าน ซีโอดีเหลืออยู่เท่ากับ $2,492.37 \pm 67.36$ มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละการบำบัดเท่ากับ 32.08 เท่านั้น ผลของ pH พบว่า น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมี pH เพิ่มขึ้นเท่ากับ 8.0 โดย pH เริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ 4.2 และผลของความเค็ม พบว่า น้ำเสียหลังการปล่อยผ่านมีความเค็ม เพิ่มขึ้นเท่ากับ $3,470 \pm 50$ มิลลิกรัมต่อลิตร โดยความเค็มเริ่มต้นของน้ำเสียเท่ากับ $2,370 \pm 40$ มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนของการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่ 5 วัน สลับแห้ง 2 วัน ผลการศึกษาพบว่า หน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสามารถกำจัดซีโอดีจาก 801.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 40.44 ± 14.44 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด และลดลงสูงสุดถึง 369.97 ± 28.89 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 4 ของการบำบัด ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ การบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสามารถกำจัดซีโอดีจาก $3,669.70$ มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 121.65 ± 43.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด และลดลงสูงสุดถึง 318.95 ± 61.66 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 3 ของการบำบัด ผลของ pH พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียหลังผ่านการบำบัดแบบขังแช่สลับแห้งมี pH เฉลี่ยเป็นกลาง โดยอยู่ที่ 7.1 และผลของความเค็ม พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ความเค็มในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่สลับแห้งสูงขึ้นในสัปดาห์แรกของการทดลอง จากนั้นความเค็มลดลงและเริ่มคงที่ตั้งแต่รอบที่ 2 ของการบำบัดจนจบการทดลอง โดยน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดจากหน่วยทดลองที่ใช้บำบัดน้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น มีความเค็มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดให้สูงสุดไม่เกิน $5,000$ มิลลิกรัมต่อลิตร ตั้งแต่รอบที่ 1 ของการบำบัดจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

4.2 การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

การบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก ทำการศึกษาด้วยวิธีบำบัดน้ำเสียแบบขังแช่ 5 วัน สลับแห้ง 2 วัน ร่วมกับการปลูกพืชบำบัด (หญ้าแฝกและกกกลม) ในถังพลาสติกทรงกลมขนาดความจุ 30 ลิตร ผลการศึกษาพบว่า ผลของซีโอดี พบว่า หน่วยทดลองที่ใช้หญ้าแฝกและหน่วยทดลองที่ใช้กกกลมร่วมกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8 สามารถกำจัดซีโอดีจาก $1,082.60 \pm 259.04$ มิลลิกรัมต่อลิตร

ไปเป็น 10.69 ± 00.00 และ 16.03 ± 5.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด ตามลำดับ และลดลงสูงสุดถึง 400.80 ± 21.09 ที่รอบที่ 8 ของการบำบัด และ 320.64 ± 29.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 7 ของการบำบัด ตามลำดับ ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้หญ้าแฝกและหน่วยทดลองที่ใช้กกกลม ร่วมกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ สามารถกำจัดซีโอดีจาก $3,280.87 \pm 778.07$ มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเป็น 16.03 ± 5.34 และ 26.72 ± 5.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 1 ของการบำบัด ตามลำดับ และลดลงสูงสุดถึง 271.73 ± 00.00 และ 373.64 ± 33.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่รอบที่ 5 ของการบำบัด ตามลำดับ ผลของ pH พบว่า ทั้งหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* KJP8 และหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียหลังผ่านการทดลองมีสภาพ pH เป็นกลาง เฉลี่ยอยู่ที่ 7.0 และผลของความเค็ม พบว่า หน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบผ่านการบำบัดที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* KJP8 ความเค็มมีแนวโน้มลดลงในรอบที่ 2 ของการบำบัด จากนั้นความเค็มเริ่มคงที่ ตั้งแต่รอบที่ 5 ของการบำบัด จนจบการทดลอง ในส่วนของหน่วยทดลองที่ใช้น้ำเสียแบบไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ความเค็มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในรอบที่ 2 ของการบำบัด จากนั้นความเค็มเริ่มคงที่ ตั้งแต่รอบที่ 6 ของการบำบัด จนจบการทดลอง

ข้อเสนอแนะ

1. การบำบัดน้ำเสียโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์บำบัดควรออกแบบให้มีการใช้ทั้งระบบบำบัดน้ำเสียทั้งแบบไร้อากาศ และแบบเติมอากาศควบคู่กัน ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการลดอัตราภาระอินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้น ก่อนการบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก

2. การบำบัดน้ำเสียโดยการใช้พืชบำบัดจากผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่า ทั้งกกกลมและหญ้าแฝก มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานขนมจีนได้ใกล้เคียงกันมาก จึงควรนำพืชบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 ชนิด ปลูกในหน่วยทดลองเดียวกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียให้ดียิ่งขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ. 2549. **หลักปฏิบัติเทคโนโลยีการผลิตที่สะอาด (การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการป้องกันมลพิษ) อุตสาหกรรมรายสาขาแป้งขนมจีน.** สำนักเทคโนโลยีน้ำและการจัดการมลพิษ โรงงาน กรมโรงงานอุตสาหกรรม, กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.
- กลอยกาญจน์ เก่าเนตรสุวรรณ. 2544. **การบำบัดน้ำเสียชุมชนโดยใช้บึงประดิษฐ์แบบน้ำไหลได้** ผิดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- คลินิกเทคโนโลยีราชชมงคลสุรินทร์. 2552. **เอกสารประกอบการให้คำปรึกษา เรื่อง การผลิตขนมจีนแป้งหมัก.** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชชมงคลอีสาน, สุรินทร์.
- ณรงค์ นิยมวิทย์ และอัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ. 2528. **วิทยาศาสตร์การประกอบอาหาร.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ณรงค์ นิยมวิทย์. 2528. **ขนมจีน. อาหาร. 15(3): 123 – 129.**
- นงนุช วงศ์สินชวน. 2555. **การเพาะข้าวกล้องงอก. ธรรมชาติบำบัดและสมุนไพร. 33 (2).**
- นิรนาม. 2555. **ประวัติความเป็นมาของขนมจีน.** แหล่งที่มา: <http://nutmamakung.exteen.com>, 21 พฤษภาคม 2555.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. **จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.**
- บุศราวรรณ นิยมวิทย์. 2547. **ผลของแป้งข้าวเจ้าพรีเจล แป้งมันฝรั่งและน้ำตาลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของขนมจีนแป้งหมัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เบญจภรณ์ ประภักดี. 2551. **จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม. บริษัท มิสเตอร์ก๊อปปี้ (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ.**

- ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2. 2539. ออกตามความในพระราชบัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2535. เรื่อง กำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงาน. ประกาศ ณ วันที่ 18 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2540.
- ประมวล ทรายทอง. 2548. การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำทิ้งในกระบวนการผลิตขมจีนโดยวิธีการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พณีย์ ทองทา. 2550. ประสิทธิภาพการจัดการของเสียจากโรงงานแป้งขมจีนจังหวัดขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พรพรรณ อุ่สรธรณ. 2550. การใช้เชื้อ *Bacillus spp.* และ *Streptomyces spp.* ในการควบคุมโรคเชื้อราในองุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ขมจีน (มผช. 500/2547). กรุงเทพฯ.
- ราชบัณฑิตสถาน. 2542. พจนานุกรม ฉบับ ราชบัณฑิตสถาน. นามิบัญญัติพืชมงคล, กรุงเทพฯ
- วรพจน์ รัตนพันธุ์. 2550. สถานะการบำบัดน้ำเสียจากการผลิตเส้นขมจีนโดยแอนแอโรบิกคอนแทค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Akber, A., E. Al-Awadi and T. Rashid. 2003. Assessment of the use of soil aquifer treatment (sat) technology in improving the quality of tertiary treated wastewater in Kuwait. **Emirates Journal for Engineering Research**. 8(2): 25 – 31.
- Akber, A., A. Mukhopadhyay, M. Al-Senafy, A. Al-Haddad, E. Al-Awadi and H. Al-Qallaf. 2008. Feasibility of long-term irrigation as a treatment method for municipal wastewater using natural soil in Kuwait. **Agricultural water management**. 95(3): 233 - 242.

- Amutha, K. and K.J. Priya. 2011. Effect of pH, temperature and metal ions on amylase activity from *Bacillus subtilis* KCX 006. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**. 2(2): 407 – 413.
- APHA, AWWA and WEF. 2005. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed. American public health association, Washington D.C.
- Arikan, B. 2008. Highly thermostable, thermophilic, alkaline, SDS and chelator resistant amylase from a thermophilic *Bacillus* sp. isolate A3-15. **Bioresource Technology**. 99(8): 3,071 – 3,076.
- Atlas, R.W., and R. Bartha. 1993. **Microbial Ecology: Fundamental and Application**, 3rd ed., The Benjamin/ Cummings Publishing Company, California, USA.
- Bassinello, P. Z., B. R. Cordenunsi, and F. M. Lajolo, 2002. Amylolytic activity in fruits: comparison of different substrates and methods using banana as model. **Journal of agricultural and food chemistry**. 50(21): 5,781 – 5,786.
- Boyd, C.E. 2010. Vascular Aquatic Plants for Mineral Nutrient Removal from Polluted Waters. **Econ. Bot.** 2444: 94 - 103.
- Bryers, J.D., and B.D. Ratner. 2004. Bioinspired implant materials befuddle bacteria. **ASM News-American Society for Microbiology**. 70(5): 232 - 232.
- Bunnag, S., W. Pimda and S. Pongpera. 2010. Utilization of *Spirulina platensis* for wastewater treatment in fermented rice noodle factory. **ELBA Bioflux**. 2(2): 39 – 44.
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 2008. **Microbiology: A Laboratory Manual**. 8th ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey.

- Castro, G.R., M.A. Ferrero, B.S. Méndez and F. Siñeriz. 1993. Screening and selection of bacteria with high amyolytic activity. **Acta Biotechnol.** 13(2): 197–201.
- Christen, E.W., W.C. Quayle, M.A. Marcoux, M. Arienzo and N.S. Jayawardane. 2010. Winery wastewater treatment using the landfilter technique. **Journal of Environmental Management.** 91: 1,665 – 1,673.
- Christopher, G.O. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis.. **Trends in Food Science & Technology.** 8: 375 – 382.
- Csonka, L.N. and A.D. Hanson. 1991. Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. **Annual Review of Microbiology.** 45: 569 – 606.
- Davis, L., C. DuPoldt and R. Edwards. 1997. **A Handbook of Constructed Wetlands.** Washington DC. U.S. Government Printing Office.
- Deák, T. 2007. **Handbook of Food Spoilage Yeasts.** 2^{ed} ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.
- Demain, A.L. 1957. **Minimal Media for Quantitative Studies with *Bacillus Subtilis*.** Merck Sharp and Dohme Research Laboratories, Rahway, New Jersey.
- Dongyai, S., N. Likitsaraan and P. Jitjumroonchokchai. 2011. Isolated effective microorganism EM: *B. subtilis*) from natural to be green material for environmental management in wastewater treatment. **IGS – SENSE Conference at University of Twente**, October 19 – 21, 2011.
- Earl, A. M., R. Losick and R. Kolter. 2008. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. **Trends in microbiology.** 16 (6): 269 – 275.

- Eric, M.T. 2011. Identification and Potential Biotechnological Application of Yeast Isolates. *In the UNESCO-MIRCEN Biotechnological Yeast Culture Collection of the University of the Free State*. Magister Scientiae in Biotechnology. University of the Free-State Bloemfontein, South Africa.
- Errington, J. 2003. Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. **Nature Reviews, Microbiology**. 1: 117 – 126.
- Galinski E.A. 1995. Osmoadaptation in bacteria. **Advances in Microbial Physiology**. 37: 273 – 328.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce and R.L. Mitchell. 1985. **Physiology of Crop Plants**. Iowa State University Press, U.S.A.
- Gary, N. D. and R.C. Bard. 1952. Effect of nutrition on the growth and metabolism of *Bacillus subtilis*. **Journal of bacteriology**. 64(4): 501 – 512.
- Goldman, H. and L.H. Green. 2009. **Practical Handbook of Microbiology**. 2^{ed} ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.
- Graumann, P., K Schröder, R. Schmid and M.A. Marahiel. 1996. Cold shock stress-induced proteins in *Bacillus subtilis*. **Journal of bacteriology**. 178(15): 4611 – 4619.
- Harris, A.R. and P.G. Adkins. 1999. Versatility of fungal and bacterial isolates for biological control of damping – off disease caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. **Biological Control**. 15: 10–18.
- Hesseltine, C.W., M. Smith and B. Bradie. 1963. Investigation of tempeh and Indonesian food. **Developments in Ind. Microbiol**. 4: 275 – 287.

- Hizukuri, S. 1988. Recent advances in molecular structure of starch. **Journal of the Japanese Society of Starch Science**. 31: 185.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. **Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed.** Philadelphia, Williams and Wilkins. 552p.
- Jackson, M. B., and W. Armstrong. 1999. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence. **Plant Biology**. 1(3): 274 – 287.
- Jadhav, G. G., D. S. Salunkhe., D. P. Nerkar., and R. K. Bhadekar. 2010. Isolation and characterization of salt-tolerant nitrogen-fixing microorganisms from food. **EurAsia J Biosci**. 4(5): 33 – 40.
- Joo, M.H., S.H. Hur, Y.S. Han and J.Y. Kim. 2007. Isolation, identification, and characterization of *Bacillus* stains from traditional Korean soybean-fermented Food, Chungkookjang. **J. Appl. Biol. Chem**. 50: 202 – 210.
- Juliano, B.O. 1978. **The chemical basis of grain quality. Workshop on Chemical Aspects of Grain Quality**. Intern Rice Ins. Los Banos, Philippines.
- Kadam ,A.M., D.P. Nemade, G.H. Oza, and H.S. Shankar. 2009. Treatment of municipal wastewater using laterite-based constructed soil filter. **Ecological Engineering**. 35: 1,051 – 1,061.
- Kadam, A., G. Oza, P. Nemade, S. Dutta, and H. Shankar. 2008. Municipal wastewater treatment using novel constructed soil filter system. **Chemosphere**. 71: 975 – 981.
- Kadlec, R. H., and R. L. Knight. 1996. **Treatment Wetlands**. Taylor & Francis Group, LLC, USA.

- Kadlec, R.H. and S. Wallace S. 2008. **Treatment Wetlands 2nd ed.** Taylor & Francis Group, LLC, USA.
- Karen, M. and S. Brian. 2002. How does soil treat wastewater. *In Suitability of Ohio Soils for Treating Wastewater Bulletin 896*. Available Source: <http://goo.gl/tQSzdv>, May 29, 2014.
- Koottatep T., Polprasert C., Oanh N. T. K., Surinkul N., Montangero A. and Strauss M., 2002. **Constructed Wetlands for Septage Treatment – Towards Effective Faecal Sludge Management**. AIT, Thailand.
- Korsten, L and N. Cook. 1996. Optimizing culturing conditions for *Bacillus Subtilis*. **South African Avocado Growers' Association Yearbook**. 19: 54 – 58.
- Loomis G.W. 1999. **Soil based wastewater treatment**. Available Source: <http://www.ces.ncsu.edu/plymouth/septic/loomis.html>, June 25, 2014.
- Mazumder, D. 2010. Simultaneous COD and ammonium nitrogen removal from a high - strength wastewater in a shaft - type aerobic hybrid bioreactor. **International Journal of Environmental Science and Development**. 1: 327 – 332.
- Mcdonald, L.C., R.F. McFeeters, N.A. Daeschel and H.P. Flemming. 1987. A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. **Appl Environ Microbiol**. 55: 1,382 – 1,384.
- Michael, T.M., J.M. Martinko, K.S. Bender, D.H. Buckley and D.A. Stahl. 2014. **Brock biology of microorganisms. 14th ed.**, Pearson Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Mishra, S. and N. Behera. 2008. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil receiving kitchen wastes. **African journal of Biotechnology**. 7(18): 3,316 – 3,331.

- Mohsen, F.N., D. Dileep and D. Deepti. 2005. Purification and characterization of an extracellular α -amylase from *Bacillus subtilis* AX20. **Protein Expr Purif.** 41: 349 – 354.
- Mosse, K.P.M., A.F. Patti, R.J. Smernik, E.W. Christen, and T.R. Cavagnaro. 2012. Physicochemical and microbiological effects of long- and short-term winery wastewater application to soils. **Journal of Hazardous Materials.** 201– 202: 219 – 228.
- Najafi, M.F., D. Deobagkar and D. Deobagkar. 2005. Purification and characterization of an extracellular α – amylase from *Bacillus subtilis* AX20. **Protein Expression and Purification.** 41: 349 – 354.
- Nakano, M. M. and F. M. Hulett. 1997. Adaptation of *Bacillus subtilis* to oxygen limitation. **FEMS Microbiol. Lett.** 157: 1–7.
- Nakano, M. M. and P. Zuber. 1998. Anaerobic growth of a “strict aerobe” (*Bacillus subtilis*). **Annu. Rev. Microbiol.** 52: 165 – 190.
- Nemade, P.D., A.M. Kadam, and H.S. Shankar. 2009. Wastewater renovation using constructed soil filter (CSF): A novel approach. **Journal of Hazardous Materials.** 170: 657 – 665.
- Nester, E.W., D.G. Anderson, C.E. Roberts and M.T. Nester. 2007. **Microbiology: A Human Perspective. 5th ed.**, McGraw Hill Higher Education, New York, USA.
- Noorhisham ,T. K. and S. K. Mohd. 1999. Effect of pH and agitation on growth of *Bacillus subtilis*. **Sains Malaysiana.** 28: 49 – 57.
- Pandey, A., P. Nigam, C.R. Soccol, V.T. Soccol. D. Singh. and R. Mohan. 2000. Advances in microbial amylases. **Biotechnol. Appl. Biochem.** 31: 135 – 152.

- Pantamas, P., P. Chaiprasert and M. Tanticharoen. 2003. Anaerobic digestion of glucose by *Bacillus licheniformis* and *Bacillus coagulans* at low and high Alkalinity. **Asian J. Energy Environ.** 4 (1 – 2): 1 – 17.
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan and N.R. Krieg. 1993. **Microbiology: Concept and Applications**, International ed. McGraw – Hill Publishing, New York.
- Phisit, S., K. Ampin, S. Ken and T. Charin. 2009. Biocoagulation of dairy wastewater by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 for protein recovery using micro-aerobic sequencing batch reactor (micro-aerobic SBR). **Process Biochemistry.** 44: 406 - 411.
- Pratum, C., J. Wongthanate, C. Arunlertaree and B. Prapagdee. 2011. Decolorization of reactive dyes and textile dyeing effluent by *Pleurotus sajor – caju*. **International Journal of Integrative Biology.** 11: 52 – 57.
- Priest, F.G. 1993. Systematics and Ecology of *Bacillus*, *Bacillus subtilis* and other gram positive bacteria: biochemistry, physiology and molecular genetics. **A.I., Sonenshein, J.A., Hoch, R., Losick (eds).** pp 3-16. American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Rai, M. and P.D. Paul. 2009. **Applied mycology.** CAB International, UK.
- Ravikumar, S., S. J. Inbaneson., and J. Seshserebiah. 2009. Cadmium induced effect on growth and physiology in halophilic phosphobacteria. **Journal of Environmental Biology.** 30(5): 673 – 676.
- Reed, S.C., E.J. Middlebrooks and R.W. Crites. 1988. **Natural System for Waste Management and Treatment**, McGraw-Hill Inc., New York.
- Rosovitz, M.J., M.I. Voskuil, and G.H. Chambliss. 1998. *Bacillus*. **Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections Systematic Bacteriology.** 2: 709 – 729.

- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1978. **Plant Physiology 2nd ed.** Wadsworth Publishing Company, Inc., Belmont, California.
- Shaheen, M., A. A. Shah., A. Hameed, and F. Hasan. 2008. Influence of culture conditions on production and activity of protease from *Bacillus subtilis* BS1. **Pak. J. Bot.** 40(5): 2,161 – 2,169.
- Sirianuntapiboon S. and S. Yommee. 2008. Application of a new type of moving bio-film in aerobic sequencing batch reactor (aerobic-SBR). **Journal of Environmental Management.** 78: 149 – 156.
- Siripattanakul-Ratpukdi, S. 2012. Ethanol production potential from fermented rice noodle wastewater treatment using entrapped yeast cell sequencing batch reactor. **App Water Sci.** 2: 47 – 53.
- Stottmeister, U., A. Wießner, P. Kusch, U. Kappelmeyer, M. Kästner, O. Bederski, and H. Moormann. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology Advances.** 22(1): 93 – 117.
- Stottmeister, U., A. Wießner, P. Kusch, U. Kappelmeyer, M. Kästner, O. Bederski, and H. Moormann. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology Advances.** 22(1): 93 – 117.
- Tannock, G.W. 1999. Identification of lactobacilli and bifidobacteria. **Current Issues Molec. Biol.** 1: 53 – 64.
- Tchobanoglous, G., F.L. Burton and H. D. Stensel. 2003. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse, 4th ed.**, McGraw-Hill, New York

- Thomas, K.L., J. Benstead, K.J. Davies, D. Lloyd. 1996. Role of wetland plants in the diurnal control of CH₄ and CO₂ fluxes in peat. **Soil Biology and Biochemistry**. 28 (1): 17 – 23.
- Toder, K. 2012. **General Bacteriology; Diversity of Metabolism in Prokaryotes (page 3)**.
Available Source: http://textbookofbacteriology.net/metabolism_3.html, June 25, 2013.
- Tortora, GJ., B.R. Funke and C.L. Case. 2010. **Microbiology: An introduction. 10th ed.**,
Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, USA.
- United Nations Environment Programme. 2014. Wastewater Treatment. *In* **Water Treatment**.
<http://www.unep.or.jp/ietc/publications/techpublications/techpub-8f/b/Treatment1-1.asp>
- Ventosa, A., J.J. Nicot and A. Oren. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria.
Microbiology and Molecular Biology Reviews. 62: 504 – 544.
- Verhees, C. H., S.W. Kengen, J.E. Tuininga. G.J. Schut. M. W. Adams. W. M. De Vos and J. Van Der Oost. 2003. The unique features of glycolytic pathways in Archaea. **Biochemical Journal**. 375: 231 – 246.
- Vijayalakshmi, R., K. Sushma, S. Abha, and P. Chander. 2012. Isolation and characterization of *Bacillus Subtilis* KC3 for amyolytic activity. **International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics**. 2 (5): 336 – 341.
- Vymazal, J. 2001. Types of constructed wetlands for wastewater treatment: their potential for nutrient removal. **Transformations of Nutrients in Natural and Constructed Wetlands**. Backhuys Publishers, the Netherlands.
- Vymazal, J. 2009. The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. **Ecological engineering**. 35: 1–17.

Wenzel, W.W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. **Plant and Soil**. 321(1-2): 385 – 408.

Wilkie, A.C. 2005. Anaerobic digestion: biology and benefits, pp. 63-72. *In Dairy Manure Management Conference*. 15 – 17 March 2005, Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service, Cornell University, Ithaca, NY.

Willey, J.M., L.M. Sherwood and C.J. Woolverton. 2008. **Prescott, Harley, and Klein's Microbiology**. 7th ed., The McGraw-Hill Companies, Inc., New York, USA.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สารละลายเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. น้ำเลี้ยงสังเคราะห์เลียนแบบน้ำเลี้ยงโรงงานผลิตขนมจีน (ดัดแปลงจาก Mazumder, 2010)

Dextrose	4,000 มิลลิกรัม
KH_2PO_4	877 มิลลิกรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	56.7 มิลลิกรัม
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	11 มิลลิกรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	30.8 มิลลิกรัม
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	7.5 มิลลิกรัม
Distilled Water	1.0 ลิตร
Final pH	7.2

2. สารละลายไอโอดีน (Iodine Solution)

KI	6.6 กรัม
I	0.6 กรัม
Distilled Water	165 มิลลิลิตร

3. สารละลายบรอมโมครีซอลกรีน (Bromocresol Green Solution)

Bromocresol green	0.1 กรัม
0.01 N NaOH	30 มิลลิลิตร

4. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเพลตเคานต์ (Plate Count Agar; PCA)

Casein peptone	5.0 กรัม
Yeast extract	2.5 กรัม
Dextrose	1.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Final pH	7.0 ± 0.2 at 25°C

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเทรียนต์ (Nutrient Agar; NA)

Enzymatic Digest of Gelatin	5.0 กรัม
Beef Extract	3.0 กรัม

5. (ต่อ)

Agar	15.0 กรัม
------	-----------

Final pH:	6.8 ± 0.2 at 25 C
-----------	-------------------

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวนิวเตรียนด์ (Nutrient Broth; NB)

Enzymatic Digest of Gelatin	5.0 กรัม
-----------------------------	----------

Beef Extract	3.0 กรัม
--------------	----------

Final pH:	6.8 ± 0.2 at 25 C
-----------	-------------------

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโพเตโต เดกซ์โทรส (Potato Dextrose Agar; PDA)

Potato Infusion from 200 g	4 กรัม
----------------------------	--------

Dextrose	20 กรัม
----------	---------

Agar	15 กรัม
------	---------

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับสารละลายให้มี pH อยู่ที่ 5.6 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งยีสต์ มอลต์ (Yeast Extract - Malt Extract Agar; YM Agar)

Peptic digest of animal tissue	5.0 กรัม
--------------------------------	----------

Yeast extract	3.0 กรัม
---------------	----------

Malt extract	3.0 กรัม
--------------	----------

Dextrose	10.0 กรัม
----------	-----------

Agar	20.0 กรัม
------	-----------

Final pH	6.2±0.2 at 25°C
----------	-----------------

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

9. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งกลูโคส ยีสต์ เอกซแทรกต์ เพปโตน (Glucose Yeast Extract Peptone Agar; GYP Agar Base)

Glucose	10.0 กรัม
Yeast extract	10.0 กรัม
Peptic digest of animal tissue	10.0 กรัม
Sodium acetate	10.0 กรัม
Agar	20.0 กรัม
Final pH	6.8±0.2 at 25°C

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

10. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa and Sharpe Media; MRS Broth)

Glucose	20.0 กรัม
Basal medium	33.04 กรัม
ประกอบด้วย	
Peptone	10.0 กรัม
Beef extract	8.0 กรัม
Yeast extract	4.0 กรัม
Tween 80	1.0 มิลลิลิตร
K ₂ HPO ₄	2.0 กรัม
MnSO ₄ H ₂ O	0.04 กรัม
Ammonium citrate, dibasic	2.0 กรัม
Sodium acetate	5.0 กรัม
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.0 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับสารละลายให้มี pH อยู่ที่ 7.0 ± 0.02 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

11. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa and Sharpe Media; MRS Agar)

Basal medium	33.04 กรัม
Glucose	20.0 กรัม
Agar	20.0 กรัม

11. (ต่อ)

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับสารละลายให้มี pH อยู่ที่ 7.0 ± 0.02 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ในส่วนของบรอมโมคริสซอลกรีนให้เติม 25 มิลลิกรัม ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

12. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอชเอชดี (Homofermentative – Heterofermentative Differential Agar; HHD Agar)

Fructose	2.5 กรัม
KH_2PO_4	2.5 กรัม
Trypticase peptone	10.0 กรัม
Phytone peptone	1.5 กรัม
Casamino acid	3.0 กรัม
Yeast extract	1.0 กรัม
Tween 80	1.0 กรัม
Bromocresol green	20.0 กรัม
Agar	20.0 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับสารละลายให้มี pH อยู่ที่ 7.0 ± 0.02 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

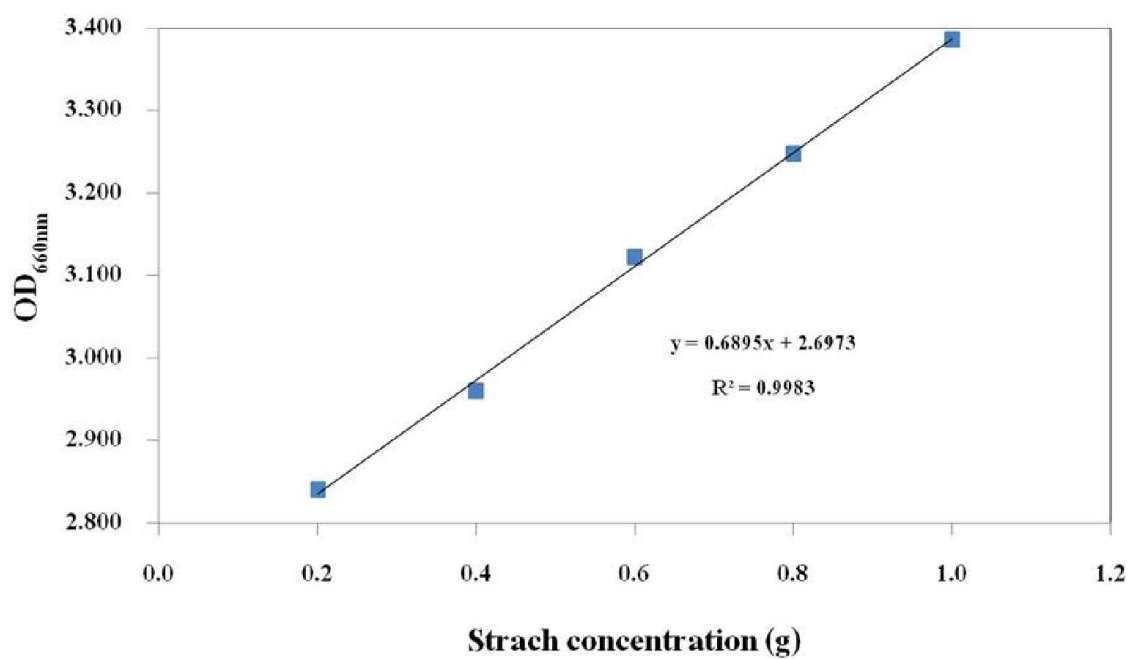
13. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสตาร์ช (Starch Agar)

K_2HPO_4	3.0 กรัม
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2.5 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 กรัม
Yeast extract	5.0 กรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 กรัม
Starch	10.0 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับสารละลายให้มี pH อยู่ที่ 7.0 ± 0.02 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานใช้คำนวณหาปริมาณแป้งที่เหลือจากการย่อยสลายของ
เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานใช้คำนวณหาปริมาณแป้งที่เหลือจากการย่อยสลายของ
เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ภาคผนวก ค
ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ค1 การกำจัดชีโอดีของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัสที่คัดแยกได้

วันที่	การกำจัดชีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ (มิลลิตรต่อลิตร)		
	หน่วยทดลองควบคุม	รหัสที่ KJP3	รหัสที่ KJP8
0	4,737.60±0.00	4,737.60±0.00	4,737.60±0.00
1	4,737.60±0.00	4,737.60±0.00	4,196.07±73.18
2	4,737.60±0.00	4,627.83±36.59	2,073.71±0.14
3	4,703.94±4.39	4,561.97±29.27	1,898.11±0.10
4	4,703.94±4.39	4,561.97±29.27	1,750.72±1.14
5	4,701.01±7.32	4,518.06±43.91	1,516.72±0.96

ตารางผนวกที่ ค2 ผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

pH	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิตร)
3	$3.17 \times 10^7 \pm 3.51 \times 10^5$
4	$5.46 \times 10^7 \pm 4.41 \times 10^6$
5	$4.30 \times 10^9 \pm 4.00 \times 10^8$
6	$5.17 \times 10^9 \pm 7.55 \times 10^8$
7	$2.01 \times 10^9 \pm 6.00 \times 10^7$
8	$1.05 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^6$

ตารางผนวกที่ ค3 ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิตร)
2,700	$1.00 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^4$
4,900	$1.50 \times 10^5 \pm 5.00 \times 10^4$
6,500	$2.80 \times 10^5 \pm 3.00 \times 10^4$
8,400	$1.77 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^5$
9,800	$3.30 \times 10^6 \pm 6.24 \times 10^5$

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

ความเค็ม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)
12,200	$5.40 \times 10^6 \pm 7.21 \times 10^5$
14,100	$2.33 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$
22,400	$2.97 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$
28,000	$1.83 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$
41,100	$7.13 \times 10^5 \pm 4.04 \times 10^4$

ตารางผนวกที่ ค4 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)
15.0	0.00
30.0	$1.65 \times 10^8 \pm 2.27 \times 10^7$
37.0	$2.22 \times 10^8 \pm 1.65 \times 10^7$
40.0	$1.21 \times 10^8 \pm 2.72 \times 10^7$
45.0	$2.67 \times 10^4 \pm 1.53 \times 10^4$

ตารางผนวกที่ ค5 ผลของสารอาหารต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

สารอาหาร	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)
หน่วยทดลองควบคุม	$2.60 \times 10^7 \pm 8.67 \times 10^6$
กากน้ำตาล*	$4.17 \times 10^7 \pm 1.39 \times 10^7$
แอมโมเนียมไนเตรต**	$5.53 \times 10^4 \pm 1.86 \times 10^4$
แอมโมเนียมคลอไรด์**	$5.50 \times 10^7 \pm 1.83 \times 10^7$
ผงชูรส**	$2.63 \times 10^9 \pm 8.77 \times 10^8$
ปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0**	$6.64 \times 10^6 \pm 2.21 \times 10^6$
ปุ๋ยเคมี สูตร 15 - 15 - 15**	$1.91 \times 10^6 \pm 6.37 \times 10^5$

ตารางผนวกที่ ค5 (ต่อ)

สารอาหาร	อัตราการเจริญเติบโต (ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร)
แอม โมเนียมซัลเฟต**	$4.94 \times 10^6 \pm 1.65 \times 10^6$

* แหล่งคาร์บอน

** แหล่งไนโตรเจน

ตารางผนวกที่ ค6 ค่าการดูดกลืนแสงในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ชั่วโมงที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)
0	0.000	0.000
2	0.103	0.103
4	0.284	0.301
6	0.338	0.861
8	0.402	1.309
9	0.447	1.479
10	0.470	1.484
11	0.483	1.488
15	0.460	1.698
16	0.460	1.696
17	0.460	1.694
18	0.459	1.688

(T1) คือ หน่วยทดลองควบคุม

(T2) คือ หน่วยทดลองที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ค7 ค่าการย่อยสลายแป้ง (กรัม) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

ชั่วโมงที่	การย่อยสลายแป้ง (กรัม) ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus subtilis</i> KJP8	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)
0	1.00	1.00
2	0.59	0.44
4	0.22	0.14
6	0.15	0.01
8	0.14	0.00
10	0.04	0.00

(T1) คือ หน่วยทดลองควบคุม

(T2) คือ หน่วยทดลองที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ค8 ผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียดังเคราะห์

วันที่	การกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)
0	5,528.26 ± 0.00	6,173.22 ± 575.40
1	4,179.30 ± 593.34	4,387.18 ± 61.36
2	3,777.64 ± 575.40	3,094.11 ± 537.35
3	3,354.76 ± 413.28	2,672.01 ± 356.00
4	3,316.15 ± 554.02	2,192.42 ± 517.26
5	2,533.78 ± 159.59	1,830.95 ± 565.78
6	2,470.52 ± 34.98	1,537.99 ± 376.45

(T1) คือ หน่วยทดลองควบคุม

(T2) คือ หน่วยทดลองที่ปรับ pH ให้เท่ากับ 6.0 และเติมผงชูรส 0.1 กรัมต่อน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ๑๑ ผลของซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

วันที่	การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ		การบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ	
	หน่วยทดลองที่ 1 (T1)	หน่วยทดลองที่ 2 (T2)	หน่วยทดลองที่ 3 (T3)	หน่วยทดลองที่ 4 (T4)
0	3,383.12 ± 264.59	3,206.24 ± 165.76	3,006.12 ± 23.35	3,194.80 ± 174.77
1	2,704.99±425.75	3,206.24 ± 165.76	3,006.12 ± 23.35	3,194.80 ± 174.77
2	2,169.42±418.77	2,568.19 ± 275.65	2,646.97 ± 256.92	3,194.80 ± 174.77
3	1,689.34±255.25	2,127.75 ± 393.53	2,422.92 ± 249.45	3,194.80 ± 174.77
4	1,075.89±293.87	1,687.58 ± 487.16	2,450.18 ± 240.70	3,194.80 ± 174.77
5	916.96±182.83	1,687.58 ± 487.16	2,075.98 ± 132.54	2,871.76 ± 109.15
6	776.33±211.01	1,640.70 ± 405.97	1,923.13 ± 201.03	2,705.70 ± 152.26

(T1) คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบเติมอากาศที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

(T2) คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบเติมอากาศ

(T3) คือ หน่วยทดลองการบำบัดแบบไร้อากาศที่เติมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* KJP8

(T4) คือ หน่วยทดลองควบคุมการบำบัดแบบไร้อากาศ

ภาคผนวก ง

ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA

ภาคผนวก จ

ข้อมูลทางสถิติ

การกำจัดซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D1	Between Groups	933.303	3	311.101	27.174	.000
	Within Groups	91.588	8	11.449		
	Total	1024.891	11			
D2	Between Groups	2045.369	3	681.790	14.583	.001
	Within Groups	374.018	8	46.752		
	Total	2419.387	11			
D3	Between Groups	4067.790	3	1355.930	29.322	.000
	Within Groups	369.941	8	46.243		
	Total	4437.732	11			
D4	Between Groups	7828.126	3	2609.375	43.073	.000
	Within Groups	484.643	8	60.580		
	Total	8312.769	11			
D5	Between Groups	6926.190	3	2308.730	48.272	.000
	Within Groups	382.619	8	47.827		
	Total	7308.809	11			
D6	Between Groups	5949.365	3	1983.122	53.955	.000
	Within Groups	294.039	8	36.755		
	Total	6243.404	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

D1

Duncan ^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Treatment 2	3	.0000	
Treatment 3	3	.0000	
Treatment 4	3	.0000	
Treatment 1	3		20.3667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D2

Duncan ^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Treatment 4	3	.0000		
Treatment 3	3		12.9800	
Treatment 2	3		19.9233	
Treatment 1	3			36.1933
Sig.		1.000	.249	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D3

Duncan^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Treatment 4	3	.0000			
Treatment 3	3		20.3467		
Treatment 2	3			33.7733	
Treatment 1	3				50.2400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D4

Duncan^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Treatment 4	3	.0000			
Treatment 3	3		25.0600		
Treatment 2	3			47.7800	
Treatment 1	3				68.5067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D5

Duncan^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Treatment 4	3	7.1800			
Treatment 3	3		30.9500		
Treatment 2	3			47.7800	
Treatment 1	3				73.0067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

D6

Duncan^a

TREAT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Treatment 4	3	15.2467		
Treatment 3	3		38.8200	
Treatment 2	3		49.1600	
Treatment 1	3			77.2867
Sig.		1.000	.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นายชิษณุพงศ์ ประทุม
เกิดวันที่	1 กันยายน พ.ศ. 2521
สถานที่เกิด	เขตราชเทวี จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยมหิดล
ตำแหน่งปัจจุบัน	เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2557 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)