

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียไนโตรฟายอิงและดีไนโตรฟายอิงที่เจริญร่วมกันเป็น double biofilm บนวัสดุตัวกลางเดียวกัน ทำให้สามารถกำจัดสารประกอบไนโตรเจนทุกชนิดได้ในขั้นตอนเดียว ในการทดลองได้เลือกไม้ไผ่ตัดขวางกระบอกเป็นท่อนยาว  $2.5 \pm 0.1$  เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางวงนอก  $6.0 \pm 0.5$  เซนติเมตร ใช้เป็นวัสดุตัวกลางสำหรับแบคทีเรียยึดเกาะเป็นฟิล์มชีวภาพ ทำการคัดเลือกแบคทีเรียดีไนโตรฟายอิงได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ไนเตรทสูงที่สุดคือ *Pseudomonas aeruginosa* จากตะกอนริคโรงควบคุมคุณภาพน้ำทุ่งครุ เนื่องจากความต้องการออกซิเจนของปฏิกิริยาไนโตรฟิเคชันและดีไนโตรฟิเคชันที่แตกต่างกัน จึงได้ทำการตรึงเชื้อแบคทีเรียดีไนโตรฟายอิงลงบนผิวไม้ไผ่เป็นชั้นแรกโดยไม่ให้อากาศ จากนั้นตรึงเชื้อแบคทีเรียไนโตรฟายอิงผสมจากบ่อบำบัดน้ำเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทะเลทับลงไปบนไม้ไผ่เดิมโดยไม่ให้อากาศเต็มที่ ทำให้ได้ double biofilm ที่มีแบคทีเรียไนโตรฟายอิงเจริญอยู่ที่ชั้นนอก ขณะที่แบคทีเรียดีไนโตรฟายอิงเจริญบนผิวและในช่องรูพรุนของไม้ไผ่ ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนของ double biofilm โดยวัดปริมาณแอมโมเนียในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ลดลงจากความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในถังพลาสติกขนาด 10 ลิตร เปรียบเทียบกับฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียไนโตรฟายอิงกลุ่มเดียว พบว่าตัวกรองชีวภาพของ double biofilm สามารถกำจัดแอมโมเนียในโตรเจนได้ 91.77 เปอร์เซ็นต์ ใน 120 ชั่วโมง โดยไม่มีไนไตรท์และไนเตรทเหลือค้างในระบบ และตัวกรองชีวภาพของแบคทีเรียไนโตรฟายอิงเพียงกลุ่มเดียวก็สามารถกำจัดแอมโมเนียได้ใกล้เคียงกับ double biofilm คือกำจัดได้ 92.25 เปอร์เซ็นต์ แต่ไนเตรทที่เกิดขึ้นก็ยังคงเหลืออยู่ในระบบ ส่วนตัวกรองชีวภาพของแบคทีเรียดีไนโตรฟายอิงสามารถกำจัดไนเตรทในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นของไนเตรทเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 90.36 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียบนฟิล์มชีวภาพ โดยนำฟิล์มจากตัวกรองมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวแอมโมเนียและไนเตรท พบว่าตัวกรองที่มีฟิล์มแต่ละกลุ่มแยกกันมีจำนวนแบคทีเรียไนโตรฟายอิงและดีไนโตรฟายอิงเท่ากับ  $7.23 \times 10^3$  MPN/cm<sup>3</sup> และ  $1.01 \times 10^4$  MPN/cm<sup>3</sup> ตามลำดับ double biofilm มีจำนวนแบคทีเรียไนโตรฟายอิงและดีไนโตรฟายอิงเท่ากับ  $3.61 \times 10^3$  MPN/cm<sup>3</sup> และ  $1.35 \times 10^3$  MPN/cm<sup>3</sup> ตามลำดับ เมื่อนำฟิล์มชีวภาพมาศึกษาเซลล์ที่มีชีวิตโดยย้อมด้วยอะคริดิโนออร์เรนจ์และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ พบแบคทีเรียชนิดที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการเตรียมฟิล์มชีวภาพ สอดคล้องกับผลของประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจน

This research was carried out for the removal efficiency of nitrogenous compounds by double biofilm of nitrifying and denitrifying bacteria. In order to develop a method for removal of all nitrogenous compounds in wastewater via a biological process, the double biofilm biofilter of nitrifying and denitrifying bacteria was designed to have the ability to convert ammonia to nitrite and then to nitrate and finally to nitrogen gas. Bamboo rods (outer d.m.  $6.0 \pm 0.5$  cm; length  $2.5 \pm 0.1$  cm) were selected to be a biofilm supporting material. *Pseudomonas aeruginosa*, the best nitrate reducer isolated from wastewater residue from the Thungkru Wastewater Treatment Plant was selected as a denitrifying bacterium. Because of different natures between nitrification and denitrification for oxygen requirement, the biofilm of denitrifying bacteria was created first by immobilized cell culture of the denitrifier onto the bamboo rods without aeration, then, followed by growing nitrifier from seawater aquaculture treatment pond over the same bamboo rods with an extensive aeration. Nitrifier were at the upper layer of the biofilm, while denitrifier were at the lower layer and in the porous channels of the bamboo rod. The efficacy of the double biofilm biofilter on nitrogen compound removal was investigated in ammonia rich synthetic wastewater ( $100 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N/L}$  initial concentration) in 10-liters containers, compared to individual biofilm of nitrifying bacteria. The double biofilm biofilter could remove up to 91.77% of  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  in 120 hours without a nitrite and nitrate accumulation. Biofilter of nitrifier could get rid of ammonia almost similar to the double biofilm (92.25% of  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ) but there was the evidence of nitrate remaining. Biofilter of denitrifier could get rid 90.36% of nitrate from  $100 \text{ mg NO}_3^- \text{-N/L}$  initial concentration. Verification of the existence of the nitrifiers and denitrifiers in individual biofilm and double biofilm was done by reculturing the biofilm in ammonium liquid and nitrate liquid media. The amount of the nitrifiers and denitrifiers in the single biofilm on supporting material was  $7.23 \times 10^3$  and  $1.01 \times 10^4 \text{ MPN/cm}^3$ , respectively. Double biofilm had the nitrifier and denitrifier at  $3.61 \times 10^3$  and  $1.35 \times 10^3 \text{ MPN/cm}^3$ , respectively. The bacterial biofilm on the supporting material were stained with an acridine orange dye and observed for the living cells under a fluorescent microscope. The bacteria found on the biofilm were belonged to the bacteria used as a starting culture. The results support the removal efficacy of nitrogen compounds.