บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นคณะที่ต้องเตรียมร่างอาจารย์ใหญ่เพื่อใช้ในการเรียนการสอนในระดับปรีคลินิกให้กับคณะทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพทุกสาขา โดยมีหน่วยรับบริจาคร่างกายสำหรับผู้ประสงค์จะอุทิศร่างกายเพื่อใช้ในการศึกษาหลังจากเสียชีวิตแล้ว และมีอาคารดองร่างอาจารย์ใหญ่สำหรับดองร่างผู้เสียชีวิตให้มีสภาพที่สมบูรณ์ที่สุดก่อนนำไปใช้ในการศึกษา โดยมีถังดองอยู่ทั้งหมด 13 ถัง ซึ่งแต่ละถังมีปริมาตรบรรจุประมาณ 1,800 ลิตร ดังนั้นหากมีการใช้ถังดองทั้งหมดในการดองร่างอาจารย์ใหญ่พร้อมกันทุกถัง จะทำให้มีปริมาตรน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่สูงถึง 23,400 ลิตร และทุก 1 ปี ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่อย่างน้อย 2 ครั้ง ซึ่งจะทำให้มีปริมาตรน้ำเสียอย่างน้อยที่สุด 46,800 ลิตร/ปี และเมื่อศึกษาถึงส่วนประกอบของน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ที่ใช้ในการดองแต่ละครั้งพบว่า มีการใช้ฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นสูง โดยมีอัตราส่วนของการใช้ฟอร์มาลดีไฮด์ (ฟอร์มาลิน 40% w/v) เท่ากับ 30 ลิตร/น้ำ 1,500 ลิตร ซึ่งทำให้มีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำที่เกิดจากการคำนวณประมาณ 10,300 มิลลิกรัม/ลิตร และจากการเก็บข้อมูลน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ที่ได้ทำการเปลี่ยนถ่ายในเดือนพฤษภาคม 2553 จำนวน 5 ถัง เพื่อนำร่างอาจารย์ใหญ่บางส่วนไปใช้สำหรับการศึกษาในภาคเรียนที่ 1/2553 จะมีปริมาตรน้ำยาดองหลังจากการดองทั้งหมดประมาณ 14,485 ลิตรและมีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ เฉลี่ย 2,424.37 มิลลิกรัม/ลิตร และเป็นความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่ปล่อยเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวมีค่าสูงเกินมาตรฐานที่กำหนดโดยมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ประกาศโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) ที่กล่าวว่า ปริมาณความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำทิ้งจะต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร

โดยระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในปัจจุบันเป็นระบบบำบัดในลักษณะบ่อเกรอะที่ใช้กันตามอาคารบ้านเรือน ซึ่งไม่เหมาะกับการบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบ เนื่องจากฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล 1 อะตอม จึงมีจุลินทรีย์เพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญและย่อยสลายได้ อาทิ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Methylotrophic ที่สามารถเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารประกอบคาร์บอน 1 อะตอมได้

อีกทั้งฟอร์มาลดีไฮด์ยังจัดเป็นสารตัวกลางสำคัญ (key intermediate) ในวิถีเมทาบอลิซึมของสารประกอบคาร์บอน 1 อะตอม ที่พบในจุลินทรีย์กลุ่มนี้อีกด้วย (Codd, et al., 1990) นอกจากนี้ ฟอร์มาลดีไฮด์ยังเป็นสารที่มีสภาพเป็นกรดอ่อน มีกลิ่นฉุนแรงและระคายเคืองต่อเซลล์ ในสถานะของเหลวจะมีฤทธิ์กัดกร่อน มีความเป็นพิษที่รุนแรง และมีผลต่อการทำงานในระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อโครงสร้างดีเอ็นเอและโปรตีน ทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย และเป็นตัวยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์และซ่อมแซมดีเอ็นเอขึ้นมาใหม่ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการกลายพันธุ์ในสิ่งมีชีวิต (Grafstrom, et al., 1983) จึงมีผลไปทำลาย จุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ในระบบบำบัดน้ำเสียที่ไม่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์ในการเจริญ, ย่อยสลายหรือทนต่อความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ ส่งผลให้ระบบบำบัดเกิดความล้มเหลวและมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ลดลง ซึ่งหากปล่อยน้ำเสียดังกล่าวโดยตรงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ อาจส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศได้ นอกจากนี้ ฟอร์มาลดีไฮด์สามารถระเหยสู่บรรยากาศได้ง่ายทำให้เกิดมลพิษต่อบรรยากาศ และหากมีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในปริมาณมากอาจทำให้เป็นอันตรายถึงชีวิตได้ ดังนั้นเพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ที่ประกาศโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่3 (พ.ศ. 2539) ที่กล่าวว่า ปริมาณความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำทิ้งจะต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสียจากการดองร่างอาจารย์ใหญ่ที่ปนเปื้อนด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ ให้เป็นไปตามมาตรฐานดังกล่าวก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

การบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียมีด้วยกันหลายวิธีทั้งวิธีทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ เช่น วิธีการทางกายภาพโดยการใช้ถ่านกัมมันต์ ดูดซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย แต่พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดอยู่ในระดับต่ำ สำหรับวิธีการทางเคมีซึ่งนิยมใช้กันในโรงงานอุตสาหกรรมและโรงเรียนแพทย์ต่างๆโดยการออกซิเดชันฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยโอโซน (O_3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือคลอรีน (Cl_2) พบว่ามีประสิทธิภาพดี แต่มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ค่าติดตั้งสูง ค่าใช้จ่ายด้านสารเคมี และผลกระทบจากสารเคมีตกค้าง เป็นต้น กระบวนการทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ เนื่องจากเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพสูงและมีค่าใช้จ่ายต่ำ เช่น ระบบตะกอนเร่งเป็นเทคโนโลยีในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่นิยมใช้โดยทั่วไป ซึ่งประกอบด้วยถังเติมอากาศซึ่งเป็นถังปฏิกิริยาสำหรับการบำบัดสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์และถังตกตะกอนสำหรับการแยกเชื้อตะกอนจุลินทรีย์ออกจากน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว แต่ข้อจำกัดของการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพเกิดจากความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบลดลงจนนำไปสู่ความล้มเหลวของระบบได้

ดังนั้นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้จึงต้องเป็นสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายและทนต่อความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ ตลอดจนสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้

อย่างไรก็ตาม พบว่ามีสายพันธุ์จุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถทนต่อฟอร์มาลดีไฮด์และใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ จุลินทรีย์เหล่านี้ ได้แก่ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Methylotroph ซึ่งหมายถึง จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอมเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ ซึ่งพบได้ทั้ง Methylotrophic bacteria Methylotrophic yeast และ Methylotrophic mold ตัวอย่างของแบคทีเรียในกลุ่ม Methylotroph เช่น *Methylococcus thermophilus Paracoccus denitrificans Methylomonas rubra Pseudomonas* sp. และ *Streptomyces* sp. เป็นต้น สำหรับยีสต์ที่ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ เช่น *Pichia pastoris Candida bidinii* และ *Hansenula polymorpha* ในส่วนของเชื้อรานั้นมีรายงานเชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม formaldehyde resistant fungus เช่น *Paecilomyces variotii* เป็นต้น (Kondo, et al., 2008) มีรายงานการใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ พบว่า แบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dismutase ส่วนยีสต์กลุ่ม *Hansenula* spp. และ *Candida* spp. ใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dehydrogenase ในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ (Van Dijken, et al., 1976) ด้วยเหตุผลดังกล่าว หากสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีมากเท่าไร และนำสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เลือกได้นั้นมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสีย จะยิ่งทำให้การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์มีประสิทธิภาพและเสถียรภาพในการบำบัดมากขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอน และศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ค่าพีเอช อัตราการให้อากาศ ระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอร์มาลดีไฮด์และปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมที่จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้สามารถอยู่รอดและเจริญได้อย่างเป็นปกติ ตลอดจนทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งเกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ในการบำบัดแบบเติมอากาศในระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor; SBR)

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. คัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสีย
2. ศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

3. ทดสอบความสามารถของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่คัดเลือกในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ในระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์

ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษา และคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสีย ตลอดจนศึกษาถึงประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่มีเกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่โดยการบำบัดแบบใช้อากาศในระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์

นิยามศัพท์เฉพาะ

อาจารย์ใหญ่ หมายถึง ร่างกายของผู้ที่เสียชีวิต ซึ่งมีความประสงค์ที่จะอุทิศร่างกายภายหลังจากที่เสียชีวิตแล้ว ให้สามารถนำร่างกายนั้นมาใช้สำหรับการเรียนการสอนให้กับนิสิตนักศึกษาในสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพที่จำเป็นต้องใช้ร่างกายนั้น เพื่อศึกษาเรียนรู้ ทดลองปฏิบัติเพื่อให้เกิดความชำนาญ ก่อนนำความรู้ที่ได้จากการฝึกฝน มาปฏิบัติจริงกับร่างกายที่ยังมีชีวิต

สมมติฐานของการวิจัย

1. จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ/ย่อยสลายได้

2. การปรับเปลี่ยนสภาวะต่างๆ อาทิ พีเอช ปริมาณสารอาหาร ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสีย จะทำให้มีอัตราการเจริญและการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ของจุลินทรีย์แตกต่างกัน

3. การนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์มาประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ซึ่งมีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบได้ดียิ่งขึ้น