บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde)

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 1 อะตอม มีสูตรทางเคมี คือ CH_2O มีน้ำหนักโมเลกุล 30.03 พบได้ทั้งสถานะของเหลวและก๊าซที่ไม่มีสีหรือเกือบไม่มีสี มีสภาพเป็นกรดอ่อน มีกลิ่นฉุนแรงและระคายเคือง ในสถานะของเหลวจะมีฤทธิ์กัดกร่อนคาร์บอนสตีล ค่า log Kow = 0.35 เป็นสารระเหยที่มีค่าความดันไอ 10 mmHg ที่ –80.0°C (Osol, 1980; Budavari, 1989) ฟอร์มาลดีไฮด์มีประโยชน์หลายด้าน เช่น เป็นสารฆ่าเชื้อในที่พักอาศัย โกดัง ภาชนะอุปกรณ์ เสื้อผ้า เป็นสารฆ่าเชื้อโรคและเชื้อราสำหรับพืชและผัก เป็นสารที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกาว สี เรซิน กระจก ผ้าไหมเทียม สารเคลือบและรักษาเนื้อไม้ เป็นต้น (Budavari, 1989) ฟอร์มาลดีไฮด์ใช้เป็นสารที่ใช้ในการรักษาสภาพตัวอย่างสัตว์และตัวอย่างทางชีวภาพ (Goodman and Gilman, 1975) นอกจากนี้ฟอร์มาลดีไฮด์ใช้สำหรับรักษาสภาพร่างของมนุษย์ (อาจารย์ใหญ่) สำหรับการเรียนการสอนทางด้านกายวิภาคศาสตร์ สำหรับนักเรียนแพทย์และสาขาวิชาทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ

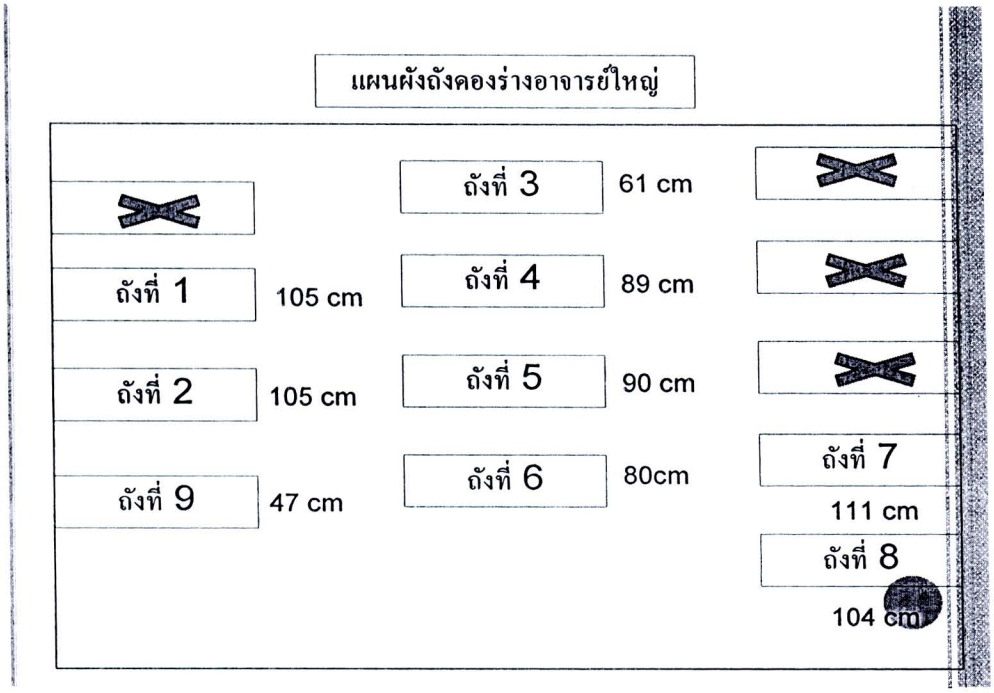
ฟอร์มาลดีไฮด์จัดเป็นสารที่มีความเป็นพิษ เป็นอันตราย และเป็นสารที่ต้องสงสัยว่าเป็นสารก่อมะเร็ง แต่ระดับความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งขึ้นอยู่กับระยะเวลาและการสัมผัส ไอระเหยของฟอร์มาลดีไฮด์เป็นอันตรายหากสูดดมหรือสัมผัสผิวหนัง เป็นสาเหตุให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง ตา และระบบทางเดินหายใจ ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตหรือทำให้ตาบอดได้ถ้ากลืนกิน หรือได้รับในปริมาณมาก โดยข้อมูลทางพิษวิทยาของฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีต่อสัตว์ทดลอง พบว่า การได้รับฟอร์มาลดีไฮด์ทางปากของหนูมีค่า LD50 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทางผิวหนังของกระต่ายมีค่า LD50 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ส่วนการได้รับทางตาของกระต่ายในปริมาณ 750 ไมโครกรัม จะส่งผลต่อการเกิดการระคายเคืองอย่างรุนแรง และการได้รับโดยการสูดดมในหนู มีค่า LD50 203 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เมตร และจากการตรวจสอบผลการได้รับฟอร์มาลดีไฮด์ในสัตว์ทดลอง พบว่า เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ก่อมะเร็ง และทำให้เกิดการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศได้ (Material Safety Data Sheet Number: F5522, 2009)

การได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์ทางปากจะมีผลทำให้เกิดปวดแสบปวดร้อนบริเวณที่สัมผัส ตั้งแต่ ปาก คอหอยและกระเพาะอาหาร มีอาการวิงเวียน คลื่นไส้ อาเจียนเป็นเลือด ปวดท้องและท้องเดินซึ่งอาจจะมีเลือดปนออกมาด้วย หากได้รับในปริมาณที่มากอาจทำให้หมดสติและเสียชีวิตเนื่องจากระบบหายใจล้มเหลว (Gosselin, et al., 1984) IARC (International Agency for Research on Cancer) จัดสารฟอร์มาลดีไฮด์ให้อยู่ในกลุ่ม 2A คือเป็นสารที่ถูกสงสัยว่าจะเป็นสารที่ก่อมะเร็งในมนุษย์ (IARC, 1995) สถาบันมะเร็งแห่งสหรัฐอเมริกาได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์กับอัตราการตายจากมะเร็งจมูกและคอ ถึงแม้ว่าจะมีหลักฐานไม่มากนักที่จะสรุปถึงการเกิดมะเร็งดังกล่าวว่ามีสาเหตุจากการได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์ แต่ก็พอที่จะสรุปได้ว่าผู้ที่ได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์จะมีอัตราเสี่ยงที่สูงขึ้นของการเกิดมะเร็งจมูกและคอ (Collins, et al., 1988)

จากข้อมูลใน Material Safety Data Sheet Number: F5522 (2009) ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ -117°C (156 K) และมีจุดเดือด -19.3 °C (253.9 K) จึงเป็นสารที่สามารถระเหยสู่บรรยากาศได้ง่าย เป็นสารรีดิวซ์รุนแรง เมื่อสัมผัสกับอากาศจะถูกออกซิไดส์ช้าๆ ไปเป็นกรดฟอร์มิกซึ่งมีฤทธิ์กัดกร่อน มีค่าพีเอชประมาณ 2.8-4.0 สามารถรวมตัวได้กับน้ำ แอลกอฮอล์ แต่ฟอร์มาลดีไฮด์ไม่สามารถใช้ร่วมกับสารดังต่อไปนี้ คือ ด่างทับทิม ไอโอดีน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ถ้าฟอร์มาลดีไฮด์เก็บไว้นานหรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4.4 °C ฟอร์มาลดีไฮด์จะเปลี่ยนรูปไปเป็น พาราฟอร์มาลดีไฮด์ ซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนสีขาวที่มีความพิษมากยิ่งขึ้น

ความเข้มข้นและปริมาตรน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่

จากการศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลก่อนหน้านี้ในหัวข้อวิจัย เรื่อง การศึกษาลักษณะและปริมาณน้ำเสียจากการดองร่างอาจารย์ใหญ่เพื่อการศึกษาทางการแพทย์: กรณีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2553 เพื่อติดตามความเข้มข้นและปริมาตรน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ พบว่า น้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ประกอบด้วย ฟอร์มาลดีไฮด์ในรูปฟอร์มาลีน (ฟอร์มาลีน 40%) ปริมาตร 30 ลิตร กลีเซอรีน 3 ลิตร และ ฟีนอล 500 มิลลิลิตร ในน้ำ 1,500 ลิตร โดยใช้สารที่เป็น laboratory grade ปริมาณที่เตรียมในแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับจำนวนร่างอาจารย์ใหญ่ที่จะนำมาดอง โดยวิธีการเตรียมจะเป็นในลักษณะเทส่วนประกอบทุกอย่างผสมรวมกันภายในถังดองที่ใช้สำหรับกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่



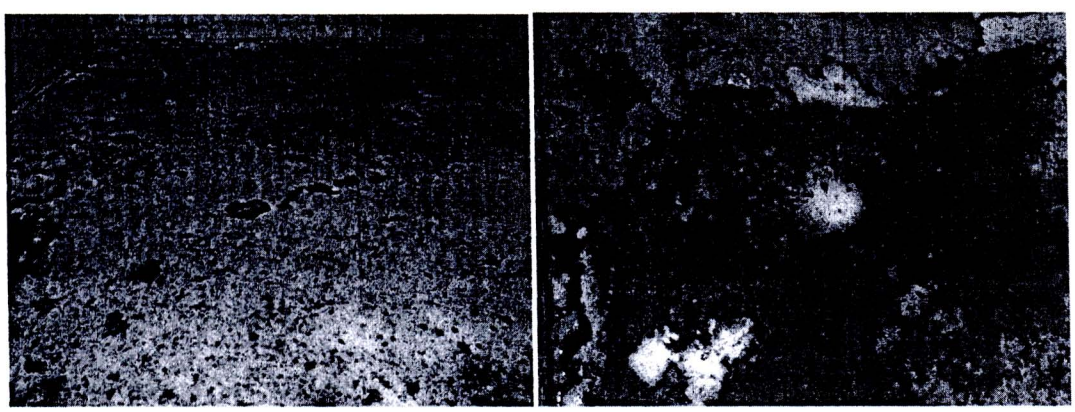
ภาพ 1 แผนผังถังดองร่างอาจารย์ใหญ่ในอาคารดองร่างอาจารย์ใหญ่ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปัจจุบัน อาคารดองร่างอาจารย์ใหญ่คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีถังดองอาจารย์ใหญ่ที่ใช้งานจริงทั้งหมด 9 ถัง และมีถังอยู่อีกจำนวนหนึ่งซึ่งไม่ได้ใช้งาน ดังภาพ 1 ซึ่งแสดงแผนผังถังดองร่างอาจารย์ใหญ่ นอกจากนี้ ในแต่ละถังที่มีการใช้งานยังมีปริมาตรน้ำยาดองที่บรรจุแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 1 ดังนั้น ถ้ามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำยาดอง 1 ครั้งต่อปี จะได้ปริมาตรน้ำยาดองทั้งหมดในถังดองที่ต้องบำบัดประมาณ 24,862 ลิตร แต่โดยทั่วไปจะเปลี่ยนถ่ายน้ำยาดอง 2 ครั้งต่อปี เพื่อรักษาสภาพของอาจารย์ใหญ่ให้ดีที่สุด ดังนั้นปริมาณน้ำยาดองต่อปีอย่างน้อยที่สุดจึงเท่ากับ 49,724 ลิตร ที่ต้องได้รับการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม

และจากการเก็บข้อมูลน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ทั้งหมดที่มีการเปลี่ยนถ่ายในเดือนพฤษภาคม 2553 ทั้งหมด 5 ถัง เพื่อนำร่างอาจารย์ใหญ่บางส่วนไปใช้สำหรับการศึกษาในภาคเรียนที่ 1/2553 จะมีปริมาตรน้ำยาดองหลังจากการดองทั้งหมดประมาณ 14,485 ลิตร ถูกเก็บไว้ในถังเก็บ (ภาพ 2) และมีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ เฉลี่ย 2,424.37 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด โดยมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ที่ประกาศโดยกระทรวง วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) กล่าวว่า ปริมาณความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำทิ้งจะต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร

ตาราง 1 ปริมาตรของน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ในแต่ละถังดอง

ถังที่	ปริมาตรของถัง (cm^3)				ปริมาตรของน้ำดอง(cm^3)	
	ความสูง (cm)	ความกว้าง (cm)	ความยาว (cm)	ปริมาตรถัง (cm^3)	ระดับน้ำ (cm)	ปริมาตรน้ำ ($1,000cm^3$)(L)
1	116	149	217	3,750,628	105	3,395
2	116	149	217	3,750,628	105	3,395
3	91	150	200	2,730,000	61	1,830
4	91	150	200	2,730,000	89	2,670
5	91	150	200	2,730,000	90	2,700
6	94	150	200	2,820,000	80	2,400
7	116	149	217	3,750,628	111	3,589
8	116	149	217	3,750,628	104	3,363
9	116	149	217	3,750,628	47	1,520
ปริมาตรของน้ำดองทั้งหมด					24,862 L	



ภาพ 2 ลักษณะน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ในถังเก็บก่อนนำเข้าสู่การบำบัด

การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบ

การบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียมีด้วยกันหลายวิธีทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ เช่น การใช้ถ่านกัมมันต์ ดูดซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย แต่พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดอยู่ในระดับต่ำ การออกซิเดชันฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้ โอโซน (O_3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือคลอรีน (Cl_2) พบว่ามีประสิทธิภาพดี แต่มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ค่าติดตั้งสูง ค่าใช้จ่ายด้านสารเคมี และผลกระทบจากสารเคมีตกค้าง (Kao, et al., 2003) เป็นต้น และกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การบำบัดโดยใช้จุลินทรีย์ เป็นต้น

การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบโดยใช้จุลินทรีย์

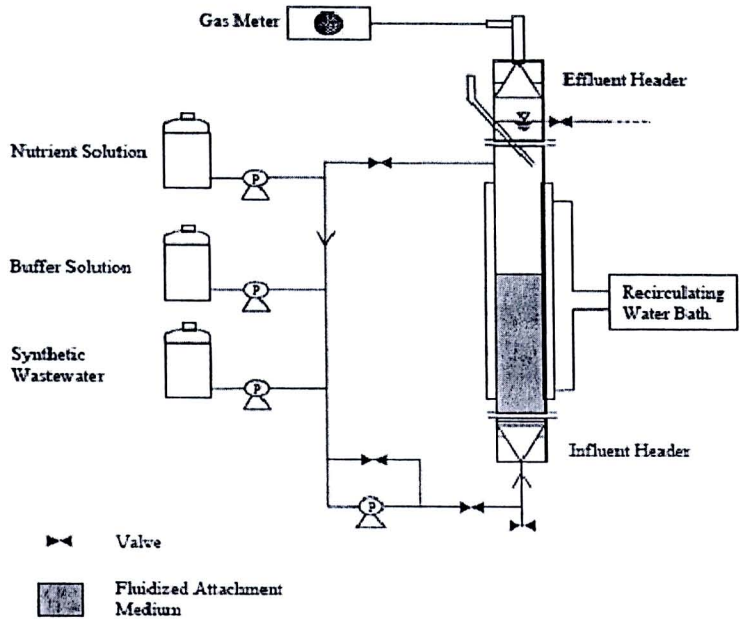
กระบวนการทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ เนื่องจากเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพสูงและค่าใช้จ่ายต่ำ ระบบตะกอนเร่งเป็นเทคโนโลยีในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป ระบบจะประกอบด้วยถังเติมอากาศซึ่งเป็นถังปฏิกิริยาสำหรับการบำบัดสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์และถังตกตะกอนสำหรับการแยกเชื้อตะกอนจุลินทรีย์ออกจากน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว แต่ข้อจำกัดของการบำบัดทางชีวภาพเกิดจากความเข้มข้นที่สูงของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย อาจมีความเป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบลดลงจนนำไปสู่ความล้มเหลวของระบบได้

มีรายงานการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบไม่ใช้อากาศพบว่า ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 100 มิลลิกรัม/ลิตร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการผลิตมีเทนจำพวก Methanogenic จะมีปริมาณลดลง 50% เมื่อใช้กรดไขมันที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid, VFA) เป็น co-substrate และที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์มากกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป เชื้อจุลินทรีย์พวกนี้จะถูกยับยั้งจนหมด แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 250 ชั่วโมง แบคทีเรียจะเจริญขึ้นมาใหม่เพื่อกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าใช้ซูโครส เป็น co-substrate ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 238 มิลลิกรัม/ลิตร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการผลิตมีเทนจำพวก Methanogenic จะมีปริมาณลดลง 50\% (Vidal, et al., 1999)

Lotfy and Rashed (2002) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบใช้อากาศพบว่า ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 300 มิลลิกรัม/ลิตร ความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ของเชื้อจุลินทรีย์หรือปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลง นอกจากนั้นมีรายงานว่าฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำหากมีความเข้มข้นเกินกว่า 500 มิลลิกรัม/ลิตร ขบวนการใช้ออกซิเจนทางชีวภาพจะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) ฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 5,400 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำลายสิ่งมีชีวิตจำพวกจุลินทรีย์ทุกชนิดภายในเวลา 6-12 ชั่วโมง (Oliveira 2004)

การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบเอสบีอาร์ (sequencing batch reactors; SBR) เป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพอีกวิธีหนึ่งซึ่งอาศัยหลักการของระบบตะกอนเร่ง (Activated sludge) ลักษณะสำคัญของระบบเอสบีอาร์ คือเป็นระบบตะกอนเร่งแบบเติมเข้า-ถ่ายออก (Fill-and-Draw activated sludge) โดยมีขั้นตอนในการบำบัดน้ำเสียต่างจากระบบตะกอนเร่งแบบอื่นๆ คือ การเติมอากาศ (Aeration) และการตกตะกอน (Sedimentation) จะดำเนินการเป็นไปตามลำดับภายในถังปฏิกิริยาเดียวกัน ซึ่งนับได้ว่าเป็นการลดการใช้พื้นที่และประหยัดค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและติดตั้ง ซึ่งจากการทดลองพบว่าระบบเอสบีอาร์สามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 50-500 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพการบำบัดมากกว่า 99% ซึ่งน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดมีค่าฟอร์มาลดีไฮด์ต่ำกว่า 1 มิลลิกรัม/ลิตร แต่เมื่อความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์สูงเกิน 500 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบลดลง (กมลชนก แสงสว่าง และชลอ จารุสุทธิรักษ์, 2552)

มีรายงานการศึกษาการลดระดับของฟอร์มาลดีไฮด์โดยการใช้จุลินทรีย์ในอาหารที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและมีการควบคุมอัตราการให้อาหารแบบ fed-batch และ continuous chemostat จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ลดลง โดยใช้ Enzyme assay จากการศึกษาพบว่า เชื้อสามารถลดระดับฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 1,200 มิลลิกรัม/ลิตร ให้หมดไปภายใน 200 ชั่วโมง (Mitsui, et al., 2004) การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ โดยใช้ anaerobic fiuidzed bed granular activated carbon bio-reaction (AFBGAC) (ภาพ 3) หรือการใช้ถังหมักแบบ anaerobe ที่มีการใส่ activated carbon เข้าไปสำหรับให้จุลินทรีย์ได้ยึดเกาะ จากนั้นเติมอาหาร สารละลาย buffer และน้ำเสียเข้าไปในระบบ พบว่าวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้สูงถึง 99.99% นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถทนต่อระดับของฟอร์มาลดีไฮด์ได้สูงถึง 1,100 มิลลิกรัม/ลิตร (Moteteb, et al., 2002) เป็นต้น



ภาพ 3 การบำบัดแบบ Anaerobic fluidized bed reactor

ที่มา: Moustafa, et al., 2002

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นๆ เกี่ยวกับการศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้จุลินทรีย์ ดังนี้

Adroer, et al. (1990) ศึกษากระบวนการทางชีวภาพในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* โดยพบว่าการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์เริ่มต้นที่ปฏิกิริยา dismutation ทำให้เกิดกรดฟอร์มิกและเมทานอล จากนั้นการย่อยสลายกรดฟอร์มิกและเมทานอลเริ่มขึ้นเมื่อปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในระบบมีค่าลดลง โดยจุลินทรีย์เริ่มย่อยสลายกรดฟอร์มิกก่อนตามด้วยเมทานอล ผลการวิจัยระบุว่าการเพิ่มปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในระบบส่งผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ทำให้เซลล์ที่มีชีวิตลดปริมาณลง

Omil, et al. (1999) การศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศในสภาวะที่เติมและไม่เติม co-substrate ประเภทกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acids) จากการศึกษาพบว่าการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์เกิดขึ้นได้ดีในสภาวะที่มีการเติม co-substrate โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีกรดอะซิติกในปริมาณที่สูง และระหว่างการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ พบว่ามี เมทานอลเกิดขึ้นเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ไม่ว่าจะมีการเติม co-substrate หรือไม่ก็ตาม การศึกษาผลของฟอร์มาลดีไฮด์ต่อกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ

พบว่า ฟอร์มาลดีไฮด์มีส่วนยับยั้งการย่อยสลายกรดไขมันระเหยง่าย ค่าความเข้นข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ 4.17 มิลลิโมลาร์ (125 มิลลิกรัม/ลิตร) ลดประสิทธิภาพการทำงานของตะกอนสลัดจ์ลงร้อยละ 50 และที่ความเข้มข้น 5.00–6.67 มิลลิโมลลาร์ (150–200 มิลลิกรัม/ลิตร) พบการสะสมของเมทานอลในระบบ

Vidal, et al. (1999) พบว่าความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ในการทดลองแบบครั้งคราว (Batch) ที่มีการใช้กรดไขมันระเหยง่ายเป็น co-substrate และภายใต้กระบวนการปรับสภาพน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบต่อเนื่อง (continuous) ภายใต้สภาวะไร้อากาศในถังปฏิกรณ์ up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) มีผลให้จุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน (Methanogen) ลดลงร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นฟอร์มาลดีไฮด์ประมาณ 100% และที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์มากกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไปเชื้อจุลินทรีย์พวกนี้จะถูกยับยั้งจนหมด แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 250 ชั่วโมง แบคทีเรียจะเจริญขึ้นมาใหม่เมื่อกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเท่ากับร้อยละ 90-95

Garrido, et al. (2000) พบว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งใน Lab scale ปริมาตร 2 ลิตร สามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ร้อยละ 99 ในขณะเดียวกันสามารถกำจัดซีโอดีและสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน (TKN) ได้เท่ากับร้อยละ 70-85 และร้อยละ 30-50 ตามลำดับ ฟอร์มาลดีไฮด์ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยระบบถูกควบคุมค่าอัตราการเติมสารอินทรีย์เท่ากับ 0.2-1.2 kg COD/m^3 และระยะเวลาการกักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 0.5-1.4 วัน

Glancer-soljan, et al. (2001) ศึกษาการผสมจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ *Pseudomonas putida, Pseudomonas cepacia* และ *Trichosporon penicillatum* เพื่อใช้ย่อยฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิกในน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำเสียจริงประเภทเมลามีนเรซิน แบบใช้อากาศ จากการศึกษา พบว่า จุลินทรีย์ในระบบสามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ ที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ภายใน 18-24 ชั่วโมง และย่อยกรดฟอร์มิกที่มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 12-18 ชั่วโมง ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีได้ร้อยละ 90 ในขณะที่สามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ เมทานอลและบิวทานอลได้อย่างสมบูรณ์ จากการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์ในการบำบัด พบว่า จุลินทรีย์ชนิด *Pseudomonas* spp. ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dismutase ยีสต์กลุ่ม *Hansenula* spp. และ *Candida* spp. ใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dehydrogenase ในการย่อยสลาย ส่วนจุลินทรีย์ชนิด *Trichosporon penicillatum* มีส่วนช่วยในการสร้างฟล็อคที่ทำให้เกิดการตกตะกอน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 18 ตค. 2555
เลขทะเบียน 250026
เลขเรียกหนังสือ

Lotfy และ Rashed (2002) พบว่าในการบำบัดน้ำเสียทีปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบใช้อากาศที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 31.5 ถึง 125 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 16 วัน ฟอร์มาลดีไฮด์จะมีความเข้มข้นคงเหลือเท่ากับร้อยละ 40 ถึง 85 และเมื่อความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เป็น 300 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์จะลดลงเหลือประมาณร้อยละ 50-70 ส่วนฟีนอลที่เป็นพิษต่อกระบวนการทางเคมีจะถูกเปลี่ยนรูปให้ไม่มีพิษโดยใช้โซเดียมซัลไฟต์ ซึ่งโซเดียมซัลไฟต์จะรวมตัวกับฟอร์มาลดีไฮด์เกิดเป็นโซเดียมฟอร์มาลดีไฮด์ไบซัลไฟต์เป็นผลให้กิจกรรมการย่อยสลายทางชีวภาพสูงขึ้น

Oliveira, et al. (2004) พบว่าการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในถังปฏิกรณ์แบบ Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Sludge Reactor (HAIB) ที่ความเข้มข้น 26.2-1,158.6 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์และซีโอดีลงได้ร้อยละ 99.7 และ 92 ตามลำดับ กรดไขมันที่ระเหยง่าย (Volatile fatty acid, VFA) เกิดขึ้นระหว่างย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้สารตัวกลางจำพวก เมทานอลและกรดฟอร์มิก

Eiroa, et al. (2006) ศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตพลาสติกด้วยระบบบำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียมีฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิก ปนเปื้อน โดยค่าความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์อยู่ในช่วง 2,087-2,200 มิลลิกรัม/ลิตร และกรดฟอร์มิกอยู่ระหว่าง 1,385-1,514 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการวิจัยพบว่า ระบบบำบัดทางชีวภาพสามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิกได้สูงถึงร้อยละ 99.9 และ 99.7 ตามลำดับ ปริมาณสารคาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมดในน้ำเสียมีค่าระหว่าง 1,423-1,600 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราภาระสารอินทรีย์เท่ากับ 0.20 kg TOC/m^3 ระบบสามารถบำบัดสารคาร์บอนอินทรีย์ได้ร้อยละ 92 นอกจากนี้การศึกษายังพิจารณาถึงการกำจัดสารไนโตรเจน โดยค่าทีเคเอ็นในน้ำเสียมีค่าเท่ากับ 468–492 มิลลิกรัม/ลิตร ถูกบำบัดได้ร้อยละ 76.6

กมลชนก แสงสว่าง และชลอ จารุสุทธิรักษ์ (2552) ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบเอสบีอาร์ โดยทำการทดลองแบบ ครั้งคราว ซึ่งปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอร์มาลดีไฮด์ ปริมาณตะกอนสลัดจ์ ระยะเวลาสัมผัส และค่าพีเอชของระบบ จากการศึกษาพบว่าระบบบำบัดทางชีวภาพแบบเติมอากาศสามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ ซึ่งร้อยละของการบำบัดมีค่า 99.6 ที่เวลา 24 ชั่วโมง และปริมาณของตะกอนสลัดจ์ เท่ากับ 500 มิลลิกรัม/ลิตร การเพิ่มปริมาณตะกอนสลัดจ์ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์สูงขึ้น ในขณะที่ระยะเวลาการบำบัดสั้นลง ปริมาณตะกอนสลัดจ์ในช่วง 1,000–2,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามาร

บำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ถึงร้อยละ 99.9 ที่ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 6 ชั่วโมงขึ้นไป โดยน้ำที่ผ่านการบำบัดมีค่าฟอร์มาลดีไฮด์ต่ำกว่ามาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม (1 มิลลิกรัม/ลิตร) การศึกษาผลของพีเอชพบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสม อยู่ระหว่างพีเอช 5.0-7.0 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของระบบเอสบีอาร์ได้ทำการศึกษาค่าอายุตะกอนสลัดจ์ต่างๆ ได้แก่ 10 30 และ60 วัน พบว่า การเพิ่มอายุสลัดจ์ส่งผลให้ปริมาณตะกอนสลัดจ์ในระบบมีค่ามากขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ของระบบเอสบีอาร์มีค่าสูงขึ้นด้วย

Moussavi, et al. (2009) ได้นำกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่า CAOP ของ O_3/MgO/H_2O_2 มาใช้ในการกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียสังเคราะห์ร่วมกับระบบบำบัดแบบ เอสบีอาร์ โดยมี CAOP เป็นระบบแรก ซึ่งในเวลา 120 นาที สามารถกำจัดในส่วนของฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 7,000 มิลลิกรัม/ลิตรและซีโอดีในน้ำเสียลงได้ 79% และ 65.6% ตามลำดับ จนทำให้เหลือความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์และซีโอดีในน้ำเสียเป็น 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร และ 3,200 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ และเมื่อปล่อยน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ ทำให้สามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียลงได้อย่างสมบูรณ์ขณะที่เหลือค่าซีโอดีในน้ำเพียง 60 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้

จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยจัดอยู่ในกลุ่ม Methylotroph ซึ่งหมายถึง จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ ยกตัวอย่างสารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น methane methanol methylamine formate และ formaldehyde

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้มีอยู่ 4 กลุ่มใหญ่ คือ Methanotrophic bacteria Methylotrophic bacteria Methylotrophic yeast และ Methylotrophic mold และจากการศึกษาพบว่ามีงานวิจัยหลายงานที่มีการศึกษาและสามารถคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ดังเช่น การศึกษาการลดระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ ในเชื้อ *Methylobacterium* sp.MF1 ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ที่คัดเลือกได้ในกลุ่มของ Methylotrophic bacteria (Mitsui, et al., 2004) การศึกษา C_1 metabolism ของเชื้อ *Paracoccus denitrificans* ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่ม Methylotrophic bacteria พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ C_1 metabolism หลายชนิด คือ Methylamine dehydrogenase (MDH), NAD-GSH-dependent formaldehyde dehydrogenates (GD-FALDH), Formate dehydrogenaes (FDH) และ *S*-formylglutathione hydrolase (FGH) (Van Spanning, et al., 2000)

ตัวอย่างของแบคทีเรียในกลุ่ม Methylotroph ที่สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ เช่น *Paracoccus denitrificans Methylomonas rubra Methylococcus thermophilus Pseudomonas* sp. และ *Streptomyces* sp. เป็นต้น สำหรับยีสต์ที่ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ เช่น *Pichia pastoris Candida bidinii* และ *Hansenula polymorpha* ในส่วนของเชื้อรานั้น มีรายงานเชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม formaldehyde resistant fungus เช่น *Paecilomyces variotii* เป็นต้น (Kondo, et al., 2008)

จากการค้นคว้างานวิจัยอื่นๆ มีงานวิจัยหลายฉบับที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ ดังนี้

Pseudomonas putida และ *Pseudomonas cepacia* สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 30 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (Glancer-Soljan, 2001) ส่วน *Pseudomonas putida* A2 สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัม/ลิตร (Adroer, et al., 1990 อ้างอิงใน Eiroa, 2005)

Trichosporon penicillatum สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 36 ชั่วโมง (Glancer-soljan, et al., 2001)

Halomonas sp. MA-C สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำเกลือ (Adroer, et al., 1990 อ้างอิงใน Eiroa, 2005)

Hansenula spp. ที่สามารถย่อยสลายเมทานอลได้ ทำให้เกิดฟอร์มาลดีไฮด์ขึ้นใน cytoplasm และสามารถสลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นได้โดยอาศัย NAD-dependant formaldehyde และ Formaldehyde dehydrogenase (Van Dijken, et al., 1976)

Candida boidinii ที่ถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารที่มีเมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถเจริญและตรวจพบเอนไซม์ Formaldehyde hydrogenase และ Formate dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ (Schutte, et al., 1976)

Burkholderia fungorum LB400 มีวิถีเมทาบอลิซึมที่ใช้ในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ 3 วิถีทาง คือ NAD-linked, glutathione (GSH)-independent formaldehyde dehydrogenase; NAD-linked, GSH-dependent formaldehyde oxidation system และ tetrahydromethanopterin-methanofuran-dependent formaldehyde oxidation system (Marx, et al., 2004)

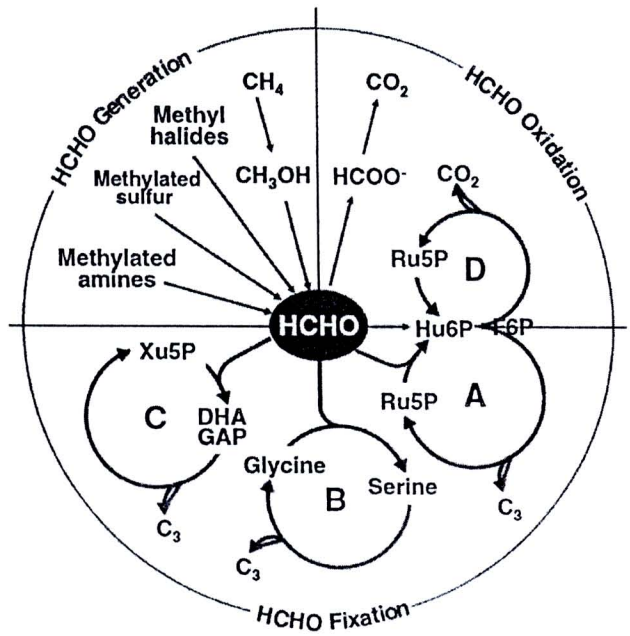
Rhodococcus erythropolis UPV-1 สามารถเจริญได้บนฟีนอลและย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้อย่างสมบูรณ์ทั้งในน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยอัตราการกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์เริ่มต้นและความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำ (Hidalgo, et al., 2002)

Nannochloropsis oculata ST-3 ซึ่งเป็นสาหร่ายทะเลที่นำมาทำให้มีความคุ้นเคยต่อฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อเพิ่มความสามารถในการทนต่อฟอร์มาลดีไฮด์และประสิทธิภาพในการย่อยสลาย จนสามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในทะเลได้ 19.9 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 22 วัน (Yoshida, et al., 2009)

นอกจากนั้นมีรายงานการคัดแยกเชื้อ *Pseudomonas cepacia* และ *Bacillus brevis* สายพันธุ์ใหม่ ได้จากน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมยาง ซึ่งมี phenol และ formaldehyde เป็นส่วนประกอบ ซึ่งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการทนต่อ phenol ที่มีความเข้มข้นสูงได้ (Aruthchelvan, et al., 2005) การศึกษาเชื้อรา *Aspergillus nomius* IRI013 ที่แยกได้จากดิน ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่ม formaldehyde-resistant fungus พบว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Formate oxidase ได้ โดยเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นนั้นเป็นเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องในกระบวนการ C_1 metabolism นอกจากนี้ ยังพบอีกว่าเชื้อยีสต์ *Candida bidinii Hansenula polymorpha* และ *Pichia pastoris* ก็สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้เช่นกัน (Kondo, et al., 2002)

กระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเชื้อจุลินทรีย์

กระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ของจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบที่สำคัญ คือ กระบวนการ oxidation และกระบวนการ fixation หรือ assimilation ดังภาพ 4 โดยกระบวนการ oxidation จะถูกแบ่งออกเป็น Linear cofactor-linked pathways และ Cyclic oxidation pathway ส่วนในกระบวนการ fixation หรือ assimilation จะประกอบด้วย 3 วิถีหลักในการสังเคราะห์ให้กลายเป็นสาร C2 และ C3 compounds คือ วิถี serine pathway ribulose monophosphate (RuMP) pathway ที่พบใน โปรคารีโอต และ xylulose monophosphate (XuMP) pathway ที่พบในยูคารีโอต อาทิ เช่น yeast (Yurimoto, et al., 2005)



ภาพ 4 ภาพรวมของวิถีเมทาบอลิซึมสาร C1 compounds **ใน** methylotrophic bacteria

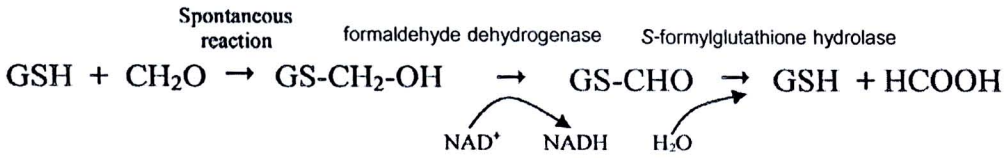
ที่มา: Yurimoto, et al., 2005

1. **กระบวนการ** oxidation

กระบวนการ oxidation ของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่เกิดโดยเชื้อจุลินทรีย์นั้น สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

1.1 Linear cofactor-linked pathways

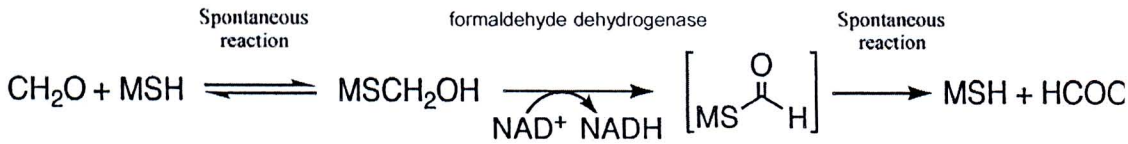
1.1.1 Glutathione (GSH)-dependent NAD^+-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH): ใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นจับกับ Glutathione ซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor มี NAD^+ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และเอนไซม์ฟอร์มาลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (Formaldehyde dehydrogenase, FDH) และเอนไซม์ฟอร์มิลกลูตาไทโอนไฮโดรเลส (*S*-formylglutathione hydrolase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลผลิตสุดท้ายออกมาเป็นกรดฟอร์มิก ดังแสดงในภาพ 5 ปฏิกิริยานี้สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในโปรคารีโอต และยูคารีโอต เช่น nonmethylotrophic organisms รวมทั้งในพืชและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม methylotrophic bacteria และ methylotrophic yeasts (Gonzalez, et al., 2006)



ภาพ 5 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Glutathione (GSH)-dependent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gonzalez, et al., 2006

1.1.2 Mycothiol-dependent NAD^+-linked formaldehyde dehydrogenase (MSH-FDH): ใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นจับกับ Mycothiol ซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor มี NAD^+ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และเอนไซม์ฟอร์มาลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (Formaldehyde dehydrogenase, FDH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลผลิตสุดท้ายออกมาเป็นกรดฟอร์มิก ดังแสดงในภาพ 6 ปฏิกิริยานี้สามารถพบได้ใน Gram-positive bacteria ในกลุ่ม *Actinobacteria* รวมทั้ง *Mycobacterium* sp. (Newton, et al., 2008)

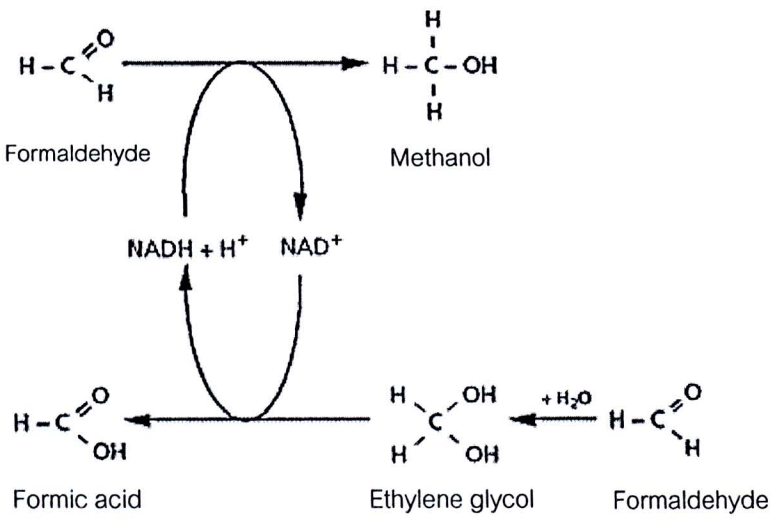


ภาพ 6 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Mycothiol (MSH)-dependent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH)

ที่มา: Newton, et al., 2008

1.1.3 Thiol-independent formaldehyde dehydrogenase **หรือ** *Pseudomonas putida* formaldehyde dehydrogenase (PFDH): เป็นปฏิกิริยาปกติที่มีการใช้ NAD^+ ทำงานร่วมกับเอนไซม์ formaldehyde dehydrogenase ที่พบในเชื้อ *Pseudomonas putida* ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของ zinc-containing medium-chain alcohol dehydrogenase (ADH) family ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องใช้ cofactor เช่น Glutathione ในการเกิดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาจะเกิดร่วมกับปฏิกิริยา dismutation ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ Formaldehyde dismutase ซึ่งเป็น

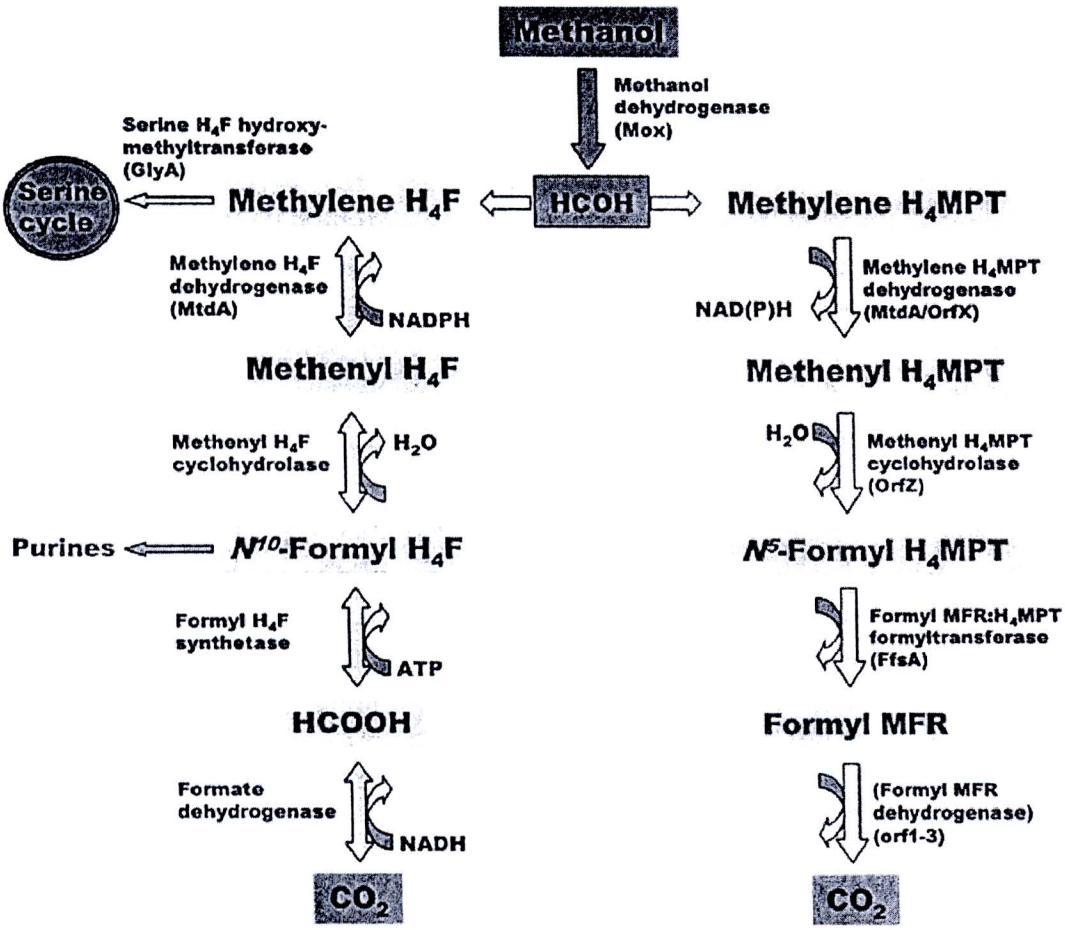
ปฏิกิริยาอีกหนึ่งรูปแบบที่เชื้อ *Pseudomonas putida* ใช้ในการลดความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ โดยการเปลี่ยนฟอร์มาลดีไฮด์ 2 โมเลกุล ให้กลายเป็น เมทานอล 1 โมเลกุล และกรดฟอร์มิก 1 โมเลกุล (Roca, et al., 2009) ดังแสดงในภาพ 7



ภาพ 7 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Glutathione (GSH)-independent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (PFDH)

ที่มา: Roca, et al., 2009

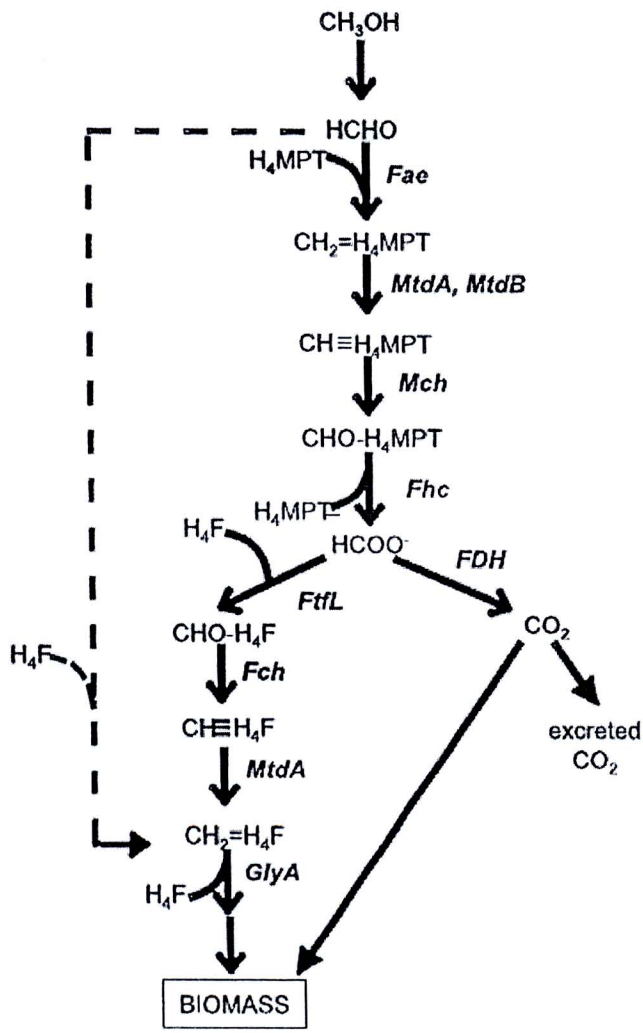
1.1.4 Tetrahydromethanopterin (H_4MPT)-dependent pathway และ Methanofuran (MFR)-dependent pathway: เป็นปฏิกิริยา oxidation อีกรูปแบบหนึ่ง ซึ่งจะต้องอาศัย cofactor คือ tetrahydromethanopterin (H_4MPT) และ methanofuran (MFR) ในการเกิดปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพ 8 การย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้วิธีนี้พบได้เพียงในแบคทีเรียจำพวก methylotrophic bacteria ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ Archaea เช่น *Methylobacterium extorquens* AM1 *Burkholderia fungorum* LB400 (Vorholt, et al., 1988)



ภาพ 8 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Tetrahydromethanopterin (H_4MPT)-dependent pathway **และ** Methanofuran (MFR)-dependent pathway **ในเชื้อ** *Methylobacterium extorquens* AM1 **ที่เจริญบนเมทานอล**

ที่มา: Vorholt, et al., 1988

นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Crowther, et al. (2008) พบว่าวิถีเมตาบอลิซึมที่อาศัยการทำงานร่วมกันระหว่าง tetrahydromethanopterin (H_4MPT) และ methanofuran (MFR) ยังเป็นวิถีเมตาบอลิซึมหลักที่เชื้อ *Methylobacterium extorquens* AM1 ใช้ในการสังเคราะห์สารตัวกลางเพื่อเข้าสู่กระบวนการ assimilation ต่อไปดังแสดงในภาพ 9



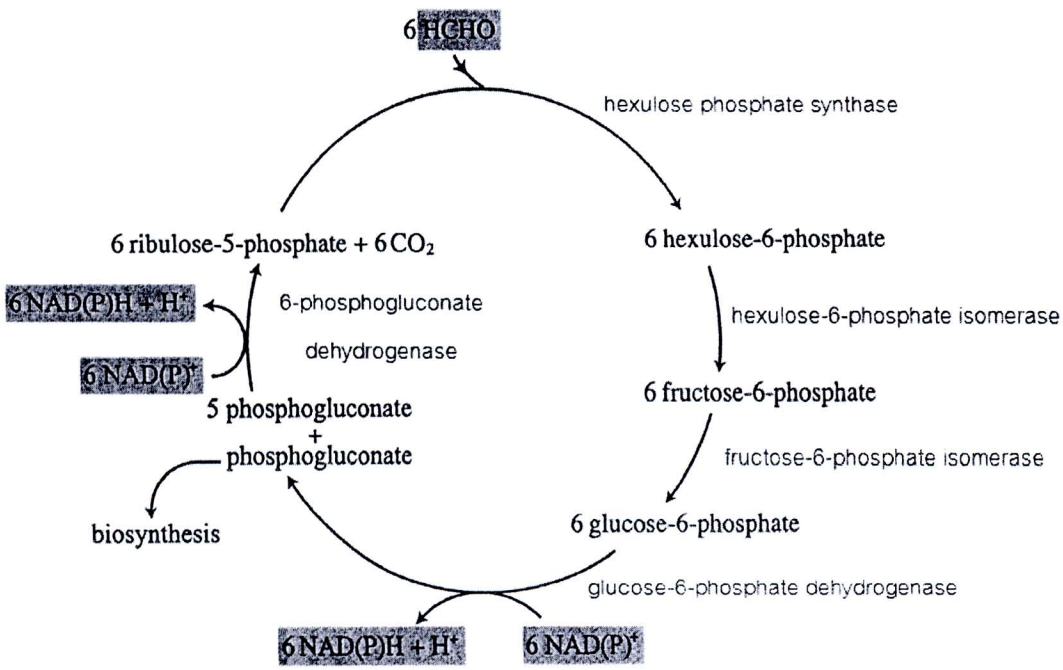
ภาพ 9 Methylotrophic metabolism **ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา** oxidation **และ** assimilation **ของเชื้อ** *M. extorquens* AM1

ที่มา: Crowther, et al., 2008

1.2 Cyclic oxidation pathway

ribulose monophosphate (RuMP) pathway: มีเอนไซม์ Hexulose phosphate synthase (HPS) และ Hexulose phosphate isomerase (HPI) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนฟอร์มาลดีไฮด์เข้าสู่วิถีเมทาบอลิซึม โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับ ribulose-5-phosphate เปลี่ยนเป็น hexulose-6-phosphate ซึ่งเป็น isomer ของ fructose-6-phosphate และถูกเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate ตามลำดับ หลังจากนั้น glucose-6-phosphate จะถูก

oxidize เป็น 6-phosphogluconate และถูก oxidized ด้วยเอนไซม์ 6-phosphogluconate dehydrogenase (GND) เพื่อเปลี่ยนเป็น CO_2 และ ribulose-5-phosphate จึงทำให้ วิถีนี้สมบูรณ์ โดยเอนไซม์หลัก (key enzyme) ที่สำคัญของวิถีเมตาบอลิซึม นี้คือ 6-phosphogluconate dehydrogenase ดังแสดงในภาพ 10 วิถี RuMP นี้สามารถพบได้ในเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ ทั้งโปรคารีโอต และยูคารีโอต ในกลุ่มของ methylotrophs และ heterotrophs



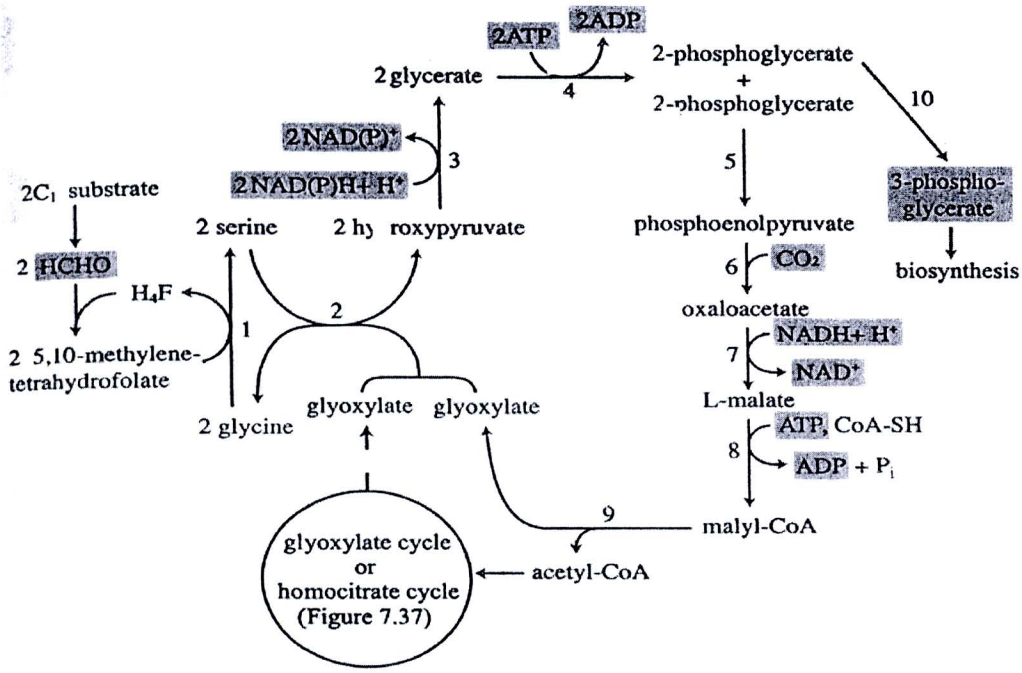
ภาพ 10 กระบวนการ oxidation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึมแบบ Ribulose-monophosphate cycle ในเชื้อ *Methylophilus methylotrophus*

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

2. **กระบวนการเกิด** assimilation

กระบวนการเกิด assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ในจุลินทรีย์ เกิดขึ้นโดยกา เปลี่ยนเป็นสารตัวกลางและนำไปใช้สร้างเซลล์ โดยใช้วิถีเมตาบอลิซึมที่สำคัญ คือ

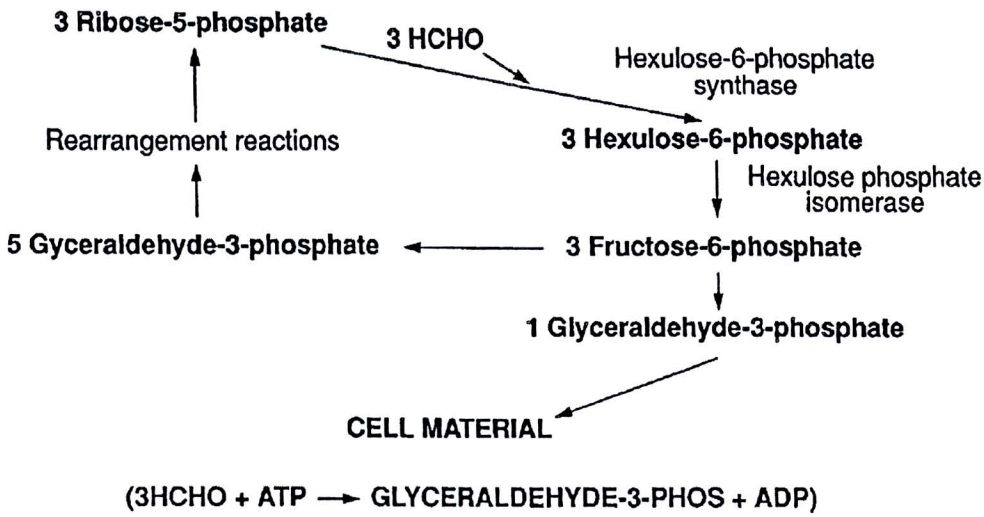
2.1 Serine pathway เกิดจากฟอร์มาลดีไฮด์ 2 โมเลกุล ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซ Serine hydroxymethyltransferase ในการเติมหมู่ methyl ให้กับ glycine 2 โมเลกุล เพื่อสร้างเป็ serine และถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปจนได้เป็น 3-phosphoglycerate ที่จะถูกนำไปใช้ในกระบวนก สร้างเซลล์ ดังแสดงในภาพ 11



ภาพ 11 กระบวนการ assimilation **ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม** serine pathway

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

2.2 ribulose monophosphate (RuMP) pathway เกิดโดยการรวม 3 โมเลกุลของฟอร์มาลดีไฮด์กับ 3 โมเลกุลของ ribulose-5-phosphate เข้าสู่เมตาบอลิซึม โดยการทำงานของ 2 เอนไซม์ คือ เอนไซม์ Hexulose phosphate synthase (HPS) และ Hexulose phosphate isomerase (HPI) สร้างเป็น dihydroxyacetone phosphate และ glyceraldehyde-3-phosphate ที่จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์ ดังแสดงในภาพ 12

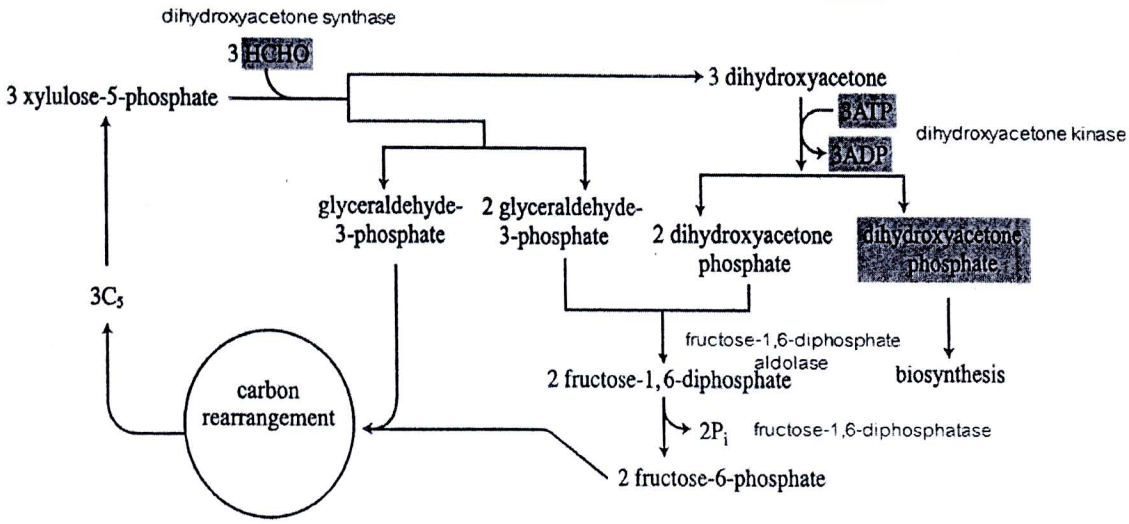


ภาพ 12 กระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม ribulose monophosphate (RuMP) pathway

ที่มา: Hanson and Hanson, 1996

2.3 Xylulose monophosphate (XuMP) pathway เป็นวิถีเมทาบอลิซึมที่ใช้ในการ assimilation ฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งพบเฉพาะในกลุ่มของ Methylotrophic yeast และ Methylotrophic mold โดยการนำฟอร์มาลดีไฮด์ 3 โมเลกุลเข้าสู่วิถีเมทาบอลิซึมและรวมตัวกับ xylulose-5-phosphate 3 โมเลกุลในระบบ ด้วยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ Dihydroxyacetone synthase ได้เป็น dihydroxyacetone 3 โมเลกุล และจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตให้กลายเป็น dihydroxyacetone phosphate ที่ใช้ในกระบวนสร้างเซลล์ต่อไป ดังแสดงในภาพ 13

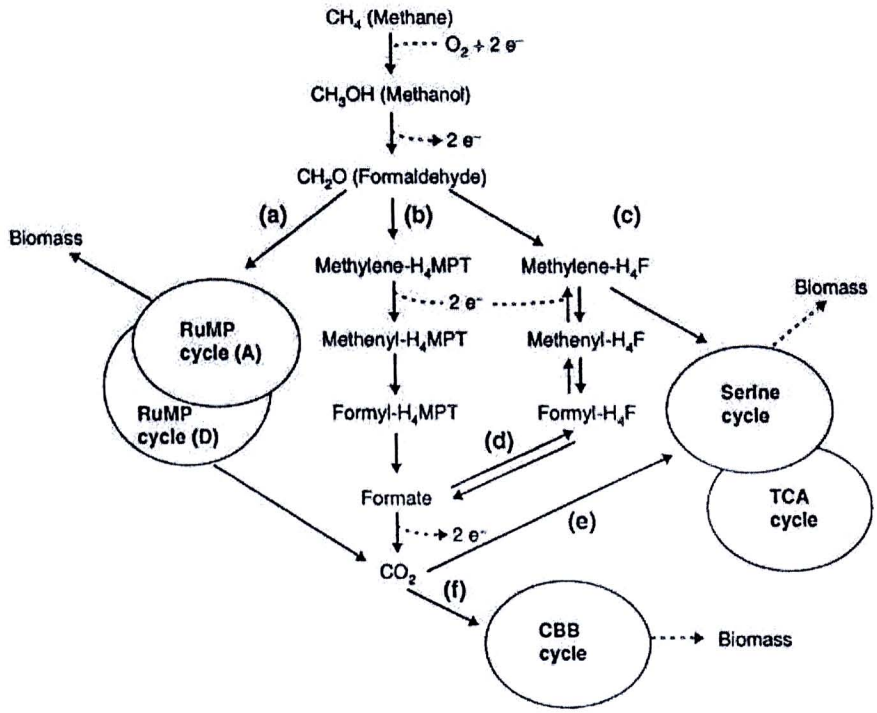
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพ 13 กระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม xylulose monophosphate (XuMP) pathway

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

ภาพ 14 แสดงภาพรวมของวิถีเมตาบอลิซึมใน Aerobic methanotrophic bacterium สายพันธุ์ *Methylococcus capsulatus* บนอาหารที่มี C1 เป็นแหล่งคาร์บอน โดยฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากมีเทนสามารถถูก metabolized ต่อโดยใช้ alternative pathways ต่างๆ ดังนี้ (a) ผ่านทาง ribulose monophosphate (RuMP) cycle ที่สามารถเกิดกระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ (A) และ dissimilation (D), (b) เปลี่ยนไปเป็นฟอร์เมท โดยรวมตัวกับ tetrahydromethanopterin(H_4MPT), (c) เปลี่ยนเป็น methylene-tetrahydrofolate (methylene-H_4F) เพื่อเข้าสู่ serine cycle และใช้สร้างเซลล์ ภายใต้เงื่อนไขบางประการ อาจมีส่วนเกินของฟอร์มาลดีไฮด์และฟอร์เมทเกิดขึ้น ดังนั้นฟอร์เมทจะสามารถย้อนกลับขึ้นไปในเส้นทาง (d) เพื่อให้ได้ methylene-H_4F และเข้าสู่ serine cycle ส่วน CO_2 ที่ถูกเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเหล่านี้สามารถถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นพลังงานชีวมวลภายใน serine cycle (e) หรือ Calvin-Benson-Bassham cycle (CBB) (f) (Chistoserdova, et al., 2005)



ภาพ 14 วิถีเมตาบอลิซึมใน Aerobic methanotrophic bacterium **สายพันธุ์** *Methylococcus capsulatus* **บนอาหารที่มี** C1 **เป็นแหล่งคาร์บอน**

ที่มา: Chistoserdova, et al., 2005

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์

การเจริญของจุลินทรีย์ที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพียงอย่างเดียวนั้น ส่วนใหญ่พบว่าเกิดจากวิถีเมตาบอลิซึม Ribulose-monophosphate cycle (RuMP cycle) ในการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์ในวิถีนี้เกิดจาก fructose-6-phosphate ซึ่งเป็นสารตัวกลางในวิถีเมทาบอลิซึม ถูกเปลี่ยนเป็น dihydroxyacetone phosphate และ glyceraldehyde-3-phosphate เข้าสู่เมตาบอลิซึม ในการสร้างเซลล์ต่อไป ดังนั้นจึงทำให้เกิดการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้อย่างสมบูรณ์ และได้เซลล์เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein (SCP)) ได้

ในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อมีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพียงอย่างเดียวนั้นต้องเติม N-source ที่อาจจะอยู่ในรูป ammonium solution เช่น $(NH_4)_2SO_4$ หรือ $(NH_4)Cl$ หรืออาจอยู่ในรูป organic nitrogen เช่น peptone นอกจากนั้นเพื่อให้เชื้อมีการเจริญ

ที่ดีควรต้องเติม Nutrient solution เช่น K^+, Na^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{3+} ตลอดจน vitamins ต่างๆ และบัฟเฟอร์เพื่อรักษาสภาพพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

สำหรับการแยกเชื้อในครั้งนี้ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 สูตร คือ Formaldehyde enrichment medium ที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮด์เป็น C-source และ energy-source มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็น N-source นอกจากนั้นมีการเติม Nutrient solution ที่เป็นเกลือของสารต่างๆ คือ $MgSO_4.7H_2O$ มี K_2HPO_4 และ KH_2PO_4 เป็นบัฟเฟอร์ สำหรับวิตามินและเกลือแร่ต่างๆได้จากการเติม 0.02% yeast extract อาหารสูตรที่ 2 ที่ใช้ในการแยกเชื้อคือ YM medium ที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮด์เป็น C-source และ energy-source และมี peptone เป็น N-source สำหรับ yeast extract และ malt extract นั้นเป็นแหล่งวิตามินและเกลือแร่ ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 แสดงส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Formaldehyde enrichment medium I และ YM medium ที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ต่อ 1 ลิตร)
Formaldehyde enrichment medium I	
Formaldehyde solution (HCHO) 38% w/v	0.79 mL.
$(NH_4)_2SO_4$	2 g.
K_2HPO_4	2 g.
KH_2PO_4	1 g.
$MgSO_4.7H_2O$	0.2 g.
Yeast extract	0.2 g.
YM medium	
Formaldehyde solution (HCHO) 38% w/v	0.79 mL.
Peptone	5.0 g.
Yeast extract	3.0 g.
Malt extract	3.0 g.

ที่มา: Mitsui, et al., 2004

ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor; SBR)

ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์เป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพอีกรูปแบบหนึ่งที่ปรับเปลี่ยนรูปแบบมาจากระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated sludge) โดยเป็นระบบที่เ จากการรวมกันของขั้นตอนและกระบวนการบำบัดทั้งหมดที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดแบบตะกอน ให้รวมอยู่ภายในบ่อหรือในถังปฏิกรณ์เดียวกัน ซึ่งต่างจากระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง ที่ต้อ จำนวนบ่อหรือถังปฏิกิริยาหลายถังเพื่อใช้ในกระบวนการบำบัดแต่ละกระบวนการ

ลักษณะสำคัญของระบบเอสบีอาร์ อยู่บนพื้นฐานของการเติมเข้า-ถ่ายออก (Fill-a Draw) ซึ่งใน 1 รอบการทำงานจะประกอบด้วย 5 ขั้นตอนตามลำดับ คือ เติมน้ำเสีย (F ทำปฏิกิริยา (React), ตกตะกอน (Settle), ระบายน้ำทิ้ง (Decant) และพักระบบ (Idle) ตามลำ โดยขั้นตอนเหล่านี้สามารถปรับเปลี่ยนได้ตามลักษณะการนำไปประยุกต์ใช้งานที่แตกต่างกัน

1. เติมน้ำเสีย คือ ขั้นตอนของการเติมน้ำเสียซึ่งจะถูกใช้เป็นสารอาหารของตะก จุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบการสร้างสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาชีวเคมีที่จะเกิด การกวนและการให้อากาศสามารถถูกปรับเปลี่ยนได้ระหว่างขั้นตอนการเติมน้ำเสียเพื่อให้เข้ การใช้งานใน 3 สภาวะที่แตกต่างกันดังนี้

Static Fill เป็นการเติมภายใต้สภาวะการเติมที่คงที่ ไม่มีการกวนหรือให้อากา ขณะที่ปล่อยน้ำเสียเข้าสู่ถังบำบัด การเติมแบบนี้จะใช้ในการเริ่มต้นเดินระบบ ในโรงบำบัดที่ไม่ มีขั้นตอน nitrify หรือ denitrify และในระบบที่มีช่วงของการไหลต่ำ

Mixed Fill เครื่องกวนจะทำงานแต่เครื่องเติมอากาศไม่ทำงาน เนื่องจากไม่มีการ อากาศจึงทำให้เกิดสภาวะ anoxic condition ที่ทำให้เกิด denitrification ขึ้นได้ในระหว่างการเ

Aerated Fill ภายใต้การเติมลักษณะนี้ ทั้งเครื่องกวนและเครื่องให้อากาศจะทำ ทำให้เปลี่ยนบริเวณที่เป็น anaerobic zone ไปเป็น aerobic zone ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นในก สารอินทรีย์และการเกิด nitrification อย่างไรก็ตามเพื่อให้กระบวนการ denitrification เกิดขึ้ ด้วย จึงจำเป็นที่จะต้องมีการปิดเครื่องให้อากาศในระหว่างการเติมเพื่อให้เกิดสภาวะ anoxic นอกจากนี้ ค่าดีโอ (Dissolved Oxygen; DO) ที่ตรวจสอบได้จากขั้นตอนนี้ ควรมีค่าไม่เกิน มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถเกิดสภาวะ anoxic condition ได้ในระหว่างช่วงพักระบบ

2. ทำปฏิกิริยา คือ ช่วงที่ระบบจะเกิดปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดการลดพารามิเตอร์ต่างๆ ในน้ำ ขั้นตอนนี้จะไม่มีการเพิ่มปริมาตรของน้ำเสียเข้าระบบ ขณะที่เครื่องกวนและเครื่องให้อ ในระบบทำงาน ทำให้มีอัตราการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียเพิ่มขึ้นอย่างมาก ค่าบีโอดีในน้ำ กำจัดมากที่สุดในขั้นตอนนี้ ปฏิกิริยา nitrification จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ฟอสฟอรัสที่ถูกป ดูดมาจากปฏิกิริยา denitrification ในระหว่าง Mixed Fill จะถูกนำไปใช้ในขั้นตอนนี้

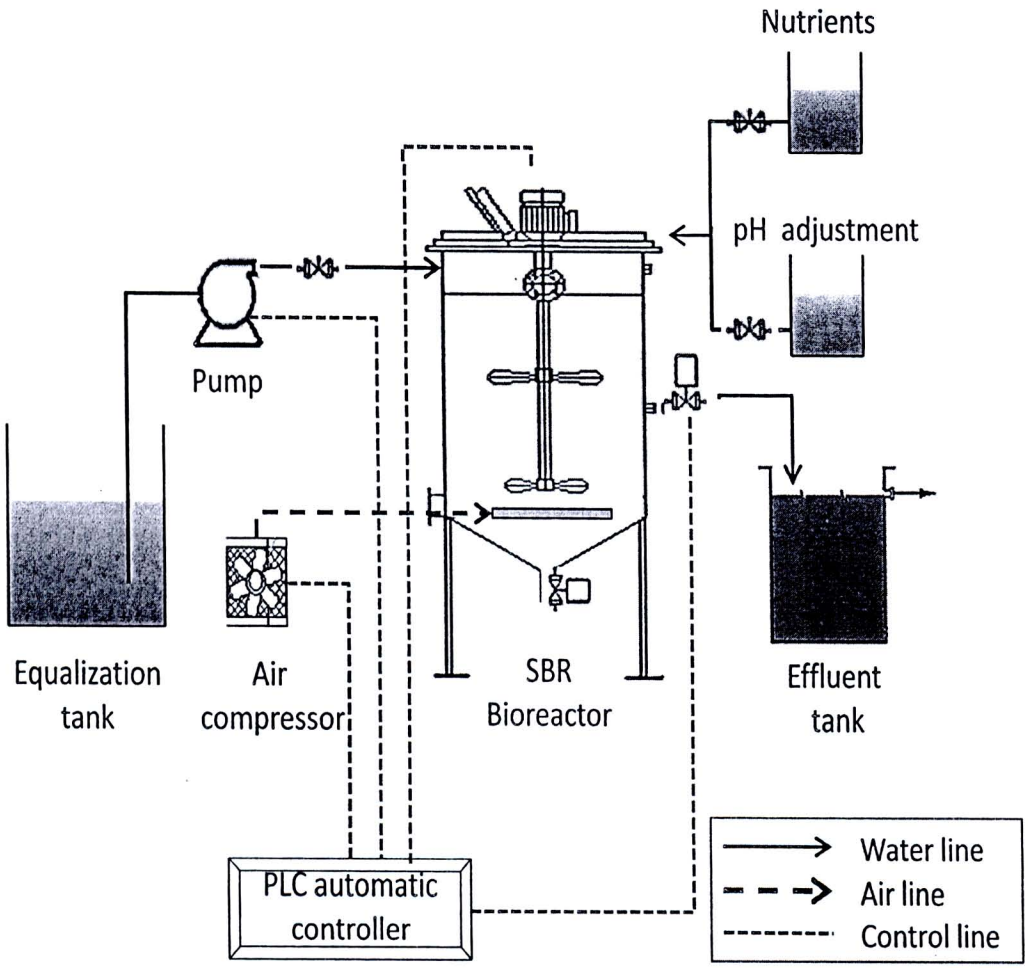
3. ตกตะกอน เป็นช่วงที่นอกจากจะไม่มีการเติมน้ำเข้าไปในระบบแล้วยัง ไม่มีการกวนและการให้อากาศกับระบบ จึงทำให้ระบบอยู่ในสภาวะที่สงบนิ่ง และเกิดการแยกชั้นของจุลินทรีย์ในระบบกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด ช่วงนี้ถือเป็นช่วงที่สำคัญของรอบการทำงานทั้งระบบ เนื่องจากถ้าของแข็งแขวนลอยในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถถูกปล่อยออกมาพร้อมน้ำเหล่านั้นทำให้น้ำมีคุณภาพลดลง

4. ระบายน้ำทิ้ง ระหว่างขั้นตอนนี้ ตัวควบคุมการระบายน้ำจะทำการปล่อยน้ำส่วนที่ใสออก โดยหลังจากกระบวนตกตะกอนเสร็จสมบูรณ์ สัญญาณจะถูกส่งไปยังตัวควบคุมให้ทำการปล่อยน้ำออกในปริมาตรเดียวกันกับที่เติมลงไปในช่วงเติมน้ำเสีย

5. พักระบบ ขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นระหว่างช่วงของ การระบายน้ำทิ้งและการเติมน้ำเสีย เวลาที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับอัตราการไหลเข้าของน้ำเสียและแผนการปฏิบัติงาน ในระยะนี้ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ในถังเอสบีอาร์จะถูกสูบออกไปบางส่วน (NEIWPCC, 2005)

การทำงานของระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ที่ใช้ในการศึกษา

ส่วนประกอบที่สำคัญของระบบเอสบีอาร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย ถัง Equalization Tank ถังปฏิกิริยา และถัง Effluent Tank ดังแสดงในภาพ 15 โดยการทำงานของระบบจะเริ่มจากการเติมเซลล์จุลินทรีย์แขวนลอยพร้อมสารอาหาร ลงในถังปฏิกิริยาเป็นปริมาตร 6 ลิตร จากนั้นปั๊มจะทำงานด้วยระบบควบคุมอัตโนมัติ เพื่อสูบน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ภายในถัง Equalization Tank เข้าไปในถังปฏิกิริยาจนระดับน้ำในถังปฏิกิริยาถึงระดับปริมาตร 60 ลิตร ถังปฏิกิริยาจะเริ่มทำงานอัตโนมัติ โดยเริ่มจากการปล่อยอากาศเข้าสู่ถังปฏิกิริยาผ่านหัวกระจายก๊าซ (Gas diffuser) ที่อยู่บริเวณด้านล่างถัง เกิดฟองอากาศที่มีลักษณะไหลขึ้นไปสู่ด้านบน และมีการหมุนของใบพัดกวนทำให้เกิดการกวนผสมกันภายในถังปฏิกิริยา ระบบจะดำเนินไปจนกว่าจะครบกำหนดระยะเวลาการกักเก็บ (Hydraulic retention time) ที่กำหนดไว้ และจะหยุดทำงานเพื่อตกตะกอนเซลล์จุลินทรีย์เป็นเวลา 45 นาทีจากนั้น น้ำในถังปฏิกิริยาจะถูกปล่อยออกสู่ถัง Effluent Tank จนเหลือปริมาตรน้ำในถัง 20 ลิตร ปั๊มจะทำงานอีกครั้งเพื่อสูบน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ภายในถัง Equalization Tank เข้าไปในถังปฏิกิริยาจนระดับน้ำในถังปฏิกิริยาถึงระดับปริมาตร 60 ลิตร และจะทำงานต่อเนื่องในลักษณะเดิม



ภาพ 15 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์