ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบยูเอเอสบีของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง

Study of Organic Decomposition Dominant Bacteria in UASB from Frozen Seafood Factory

นามผู้วิจัย นางสาวเกศกวี บุญช่วย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

(.....อาจารย์พีรกานต์ บรรเจิดกิจ, D.Tech.Sc.....)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(.....ผู้ช่วยศาสตราจารย์สัญญา สิริวิทยาปกรณ์, Ph.D.....)

หัวหน้าภาควิชา .....

(.....รองศาสตราจารย์ชาติ เจียมไชยศรี, D.Eng.....)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(.....รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.....)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....**เดือน**..... **พ.ศ.**.....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง

Study of Organic Decomposition Dominant Bacteria in UASB from Frozen Seafood Factory

โดย

นางสาวเกศกวี บุญช่วย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เกศกวี บุญช่วย 2555: การศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบยูเอเอสบีของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์พีรกานติ์ บรรเจิดกิจ, D.Tech.Sc. 105 หน้า

กระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ จะมีแบคทีเรียทำหน้าที่เป็นหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ดังนั้นการเข้าใจถึงบทบาทของแบคทีเรียจึงเป็นสิ่งสำคัญในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียให้มีเสถียรภาพมากยิ่งขึ้น การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Upflow Anaerobic Sludge Blanket ;UASB จากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง จำนวน 3 โรงงาน ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการทางชีวเคมีที่นำมาใช้ในการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรีย โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลการวิเคราะห์พารามิเตอร์น้ำเสียทางเคมี ดังนี้ pH, BOD, COD, TKN, TP, Oil& Grease และ SS

เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียด้วยอาหาร Reinforced Clostridium Medium; RCM พบว่าโรงงานที่ 1, 2 และ 3 มีจำนวนแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเฉลี่ยเท่ากับ 2.49×10^{7} CFU/ml, 4.36×10^{7} CFU/ml และ 3.62×10^{7} CFU/ml ตามลำดับ และเมื่อทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีการทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae ทั้งนี้เมื่อวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแบคทีเรียที่มากขึ้น

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพ *Bacillus* sp. และแบคทีเรียตระกูล Enterobacteriaceae ในการบำบัดน้ำเสียกับถังปฏิกรณ์แบบกะระดับปฏิบัติการ พบว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย 45.2% และ 52.6% ตามลำดับ ที่ระยะเวลากักเก็บ 2 และ24 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อนำแบคทีเรียทั้งสองชนิดทดสอบกับน้ำเสียที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120°C ความดัน 15 psi พบว่า *Bacillus* sp. และแบคทีเรียตระกูล Enterobactericeae มีประสิทธิภาพการบำบัด 25% และ 50.2% ตามลำดับโดยมีระยะเวลากักเก็บที่ 24 และ8 ชั่วโมงตามลำดับ

_____ _____ ___ / ___ / ____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ketkawee Bunchuay 2012: Study of Organic Decomposition Dominant Bacteria in UASB from Frozen Seafood Factory. Master of Engineering (Environmental Engineering), Major Field: Environmental Engineering, Department of Environmental Engineering. Thesis Advisor: Miss Peerakarn Banjerdkij, D.Tech.Sc. 105 pages.

Biological treatment has bacteria to decompose an organic, so it is important to understand the role of bacteria in order to increase efficiency wastewater treatment operation. The objective of this study was investigated an organic decomposition dominant bacteria in UASB from 3 Frozen Seafood Factories with Culture Based Technique and Biochemistry approaches. In addition, the data of microorganisms will be used to compare with chemical data: pH, BOD, COD, TKN, T-P, Oil& Grease and SS.

The result of amount of average culturing bacteria in Reinforced Clostridium Medium; RCM from UASB sample wastewater 1,2 and 3 factory is 2.49×10^7 CFU/ml, 4.36×10^7 CFU/ml and 3.62×10^7 CFU/ml respectively and after identification culturing bacteria by biochemical technique found *Bacillus* sp. and Enterobacteriaceae. As a result, chemical parameters of effluent were decreased while bacteria were increased.

Bacillus sp. and Enterobactericeae were added in each Batch reactor lab-scale with bioaugmentation method, the efficiency of wastewater treatment were increased by 45.2% and 52.6% with 2 and 24 hours of HRT; Hydraulic Retention Time respectively. In contrast, when examine with wastewater that was autoclave at 120°C 15 psi, the efficiency of *Bacillis* spp. and Enterobacteriaceae is 25% and 50% with 24 and 8 of HRT respectively.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร.พีรกานติ์ บรรเจิดกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ผศ.ดร.สัญญา สิริวิทยาปกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาและชี้แนะข้อบกพร่องของงานวิจัย ตลอดจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนทำให้งานวิจัยและวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนภายใต้โครงการ เรื่อง การควบคุม และตรวจสอบระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิคชีวโมเลกุลจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2554-2555 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกคน ที่คอยสนับสนุนในทุกๆด้าน รวมทั้งกำลังใจตลอดระยะเวลาตั้งแต่เริ่มต้นศึกษา ในขณะกำลังศึกษาจนถึงการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้กับข้าพเจ้า และความช่วยเหลือต่างๆ และขอขอบคุณ คุณกาญจนา ทุยเวียง, คุณปรัชญา จันทร์ศักดิ์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ตลอดจนรุ่นพี่นิสิตและเพื่อนนิสิตปริญญาโทที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจเสมอมา

เกศกวี บุญช่วย

เมษายน 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	32
อุปกรณ์	32
วิธีการ	34
ผลและวิจารณ์	42
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	61
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	62
ภาคผนวก	68
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์ และสารเคมี	69
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	82
ภาคผนวก ค วิธีการทดสอบทางชีวเคมี	85
ภาคผนวก ง ข้อมูลจากการทดลองทางเคมี	89
ภาคผนวก จ ข้อมูลการทดลองทางจุลชีววิทยา	94
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	105

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าต่ำสุด-สูงสุดของน้ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งปี พ.ศ. 2546	4
2	ปริมาณน้ำเสีย และ COD Loading ต่อวันของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง แต่ละกลุ่มสถานประกอบการที่ใช้ระบบ UASB	6
3	ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานปลา	6
4	ค่าการออกแบบถังปฏิกรณ์ UASB เมื่อเริ่มต้นระบบ	8
5	ค่า COD Loading ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับ ระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30 °C	10
6	ความเร็วในการไหลของน้ำ และความสูงของถังปฏิกรณ์	11
7	ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจีนัส Clostridium	20
8	การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยารีดอกซ์สำหรับจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน ที่ใช้สารตั้งต้นที่กำหนด	21
9	ชนิด และหน้าที่ของแบคเรียอื่นๆ ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์	23
10	เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำเสียในปัจจุบัน	24
11	Divisions ของ Procaryotae	28
12	พารามิเตอร์ และวิธีการวิเคราะห์	36
13	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบ UASB โรงงานที่ 1	43
14	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบ UASB โรงงานที่ 2	43
15	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบ UASB โรงงานที่ 3	44
16	ลักษณะน้ำเข้า-น้ำออกจากระบบบำบัดขั้นที่สองของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง	45
17	จำนวนแบคทีเรียที่พบในแต่ละโรงงาน	48
18	ลักษณะโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อที่เพาะได้จากอาหาร Reinforced Clostridium Medium	49
19	ลักษณะโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อที่เพาะได้จากอาหาร Cooked Meat Medium	52
20	ค่า COD (mg/l) เฉลี่ยที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ ของน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย	55

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

21 ค่า COD (mg/l) เฉลี่ยของน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ 56

22 ระยะเวลากักเก็บ และประสิทธิภาพการบำบัดของแบคทีเรียแต่ละชนิด 57

ตารางผนวกที่

ง1 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ตัวอย่าง โรงงานที่ 1 90

ง2 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ตัวอย่าง โรงงานที่ 2 90

ง3 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็ง ตัวอย่าง โรงงานที่ 3 91

ง4 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 2 91

ง5 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 4 92

ง6 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 6 92

ง7 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 8 92

ง8 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 24 93

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง	5
2	ส่วนประกอบต่างๆของระบบ UASB	8
3	การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารตั้งต้น กับมวลจุลินทรีย์	13
4	การย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน	15
5	กระบวนการย่อยสลายโปรตีน	16
6	กระบวนการย่อยสลายแป้ง	17
7	กระบวนการย่อยสลายไขมัน	18
8	ลักษณะและสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย	28
9	ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง	29
10	แผนผังการเปรียบเทียบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย	30
11	กระบวนการบำบัดน้ำเสียของโรงงานตัวอย่าง	35
12	ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียถังปฏิกรณ์แบบกะ (Batch Reactor Lab Scale)	40
13	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของน้ำเสียที่ถูกนำมาเพาะในอาหาร Cooked Meat Medium	51
14	% COD Removal น้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ (ชม.)	55
15	% COD Removal น้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ (ชม.)	57

ภาพผนวกที่

จ1	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร RCM ที่ห่อด้วยพาราฟิล์ม และบ่มใน candle jar ที่เกิดจากการ Spread Plate ของโรงงานที่ 1,2 และ 3 ตามลำดับ โดยใช้น้ำเสียจากระบบ UASB	95
จ2	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB1 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	96
จ3	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB4 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	96

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

จ4	ลักษณะของ *Bacillus* sp. จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี; วว.	97
จ5	ลักษณะของ *Bacillus* sp. จากระบบบำบัด UASB บน Nutrient Agar	97
จ6	ลักษณะของ Enterobacteriaceae จากระบบบำบัด UASB บน Nutrient Agar	98
จ7	ลักษณะสัณฐานของ *Bacillus* sp. ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	98
จ8	ลักษณะสัณฐานของ Enterobacteriaceae ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	99
จ9	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB3 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	99
จ10	ลักษณะสัณฐานของ EB3 ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	100
จ11	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB5 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	100
จ12	ลักษณะสัณฐานของ EB5 ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	101
จ13	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB6 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	101
จ14	ลักษณะสัณฐานของ EB6 ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	102
จ15	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB7 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	102
จ16	ลักษณะสัณฐานของ EB7 ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	103
จ17	ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB8 บนอาหาร Reinfored clostridium medium	103
จ18	ลักษณะสัณฐานของ EB8 ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB ด้วยการย้อมแกรม	104

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

BOD	=	Biochemical Oxygen Demand คือปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ทางชีวภาพ
CFU/ml	=	Colony Form Unit per milliliter คือจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร
COD	=	Chemical Oxygen Demand คือปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ทั้งในรูปที่ละลายน้ำ และไม่ละลายน้ำ ด้วยวิธีทางเคมี
HRT	=	Hydraulic Retention Time คือระยะเวลาเก็บกักของน้ำในถังเติมอากาศที่มีการไหลอย่างต่อเนื่อง มีค่าเท่ากับ ปริมาตร/อัตราการไหล
kg/ton	=	กิโลกรัม ต่อตัน
L	=	ลิตร
M	=	Molar คือหน่วยวัดความเข้มข้นของสารละลาย โดยที่ 1 โมลาร์ คือ ตัวถูกละลาย 1 โมลต่อตัวทำละลาย 1 ลิตร
mg/L	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
min	=	นาที
TKN	=	Total Kjeldahl Nitrogen คือปริมาณไนโตรเจนที่เป็นผลรวมแอมโมเนีย-ไนโตรเจน และไนโตรเจนอินทรีย์
T-P	=	Total Phosphorus คือปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด
TSS	=	Total Suspended Solid คือปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด
UASB	=	Upflow Anaerobic Sludge Blanket คือระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่เลี้ยงสลัดจ์ชนิดไม่ใช้ออกซิเจนด้านล่างของถัง และให้น้ำเสียไหลผ่านชั้นสลัดจ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง

Study of Organic Decomposition Dominant Bacteria in UASB from Frozen Seafood Factory

คำนำ

อุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งเป็นธุรกิจอุตสาหกรรมสำคัญที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศ สถานประกอบการในอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งต้องเผชิญกับการแข่งขันทั้งด้านราคาและคุณภาพ ความจำเป็นในการลดค่าใช้จ่ายของวัตถุดิบ และของเสียจึงเป็นประเด็นที่มีความสำคัญที่ควรให้ความสนใจ แต่เนื่องจากจำนวนของวัตถุดิบแปรผันตรงกับจำนวนของ ผลิตภัณฑ์ภาระค่าใช้จ่ายที่ต้องมีการลดคือค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการของเสีย โดยเฉพาะน้ำเสียที่เกิดขึ้นปริมาณมากในแต่ละวัน

ลักษณะน้ำเสียของอุตสาหกรรมอาหารมีภาระค่าซีโอดีสูง เพราะมีปริมาณสารอินทรีย์เจือปนค่อนข้างมาก ซึ่ง BOD; Biological Oxygen Demand และ COD; Chemical Oxygen Demand จากอุตสาหกรรมน้ำเสียก่อนเข้าระบบบำบัดจะมีค่าอยู่ในช่วง 1,000 -3,000 mg/l และ 2,000 - 4,000 mg/l ตามลำดับ (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) อุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งเป็นส่วนหนึ่งของอุตสาหกรรมอาหารที่มีปริมาตรน้ำเสียต่อวันขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ส่วนภาระค่าซีโอดีที่พบส่วนใหญ่ก็มีค่าใกล้เคียงกับอุตสาหกรรมอาหารทั้งหลาย ในบางโรงงานอาจมีภาระ COD สูงใกล้เคียงกับอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากในกระบวนการผลิตอาจมีการแร่เนื้อสัตว์ร่วมด้วย น้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัดมาจากกระบวนการผลิต ทำให้มีความจำเป็นในการลด COD และเพื่อเป็นการลดต้นทุนทางการผลิต และการบำบัดน้ำเสีย กระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนต้องอาศัยจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทมากที่สุดในการย่อยสลายสารอินทรีย์คือ กลุ่มของแบคทีเรีย (Gerardi, 2006) โดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนนับเป็นอีกกระบวนการที่นิยมใช้ในการบำบัดน้ำเสียสำหรับอุตสาหกรรมลักษณะนี้ เนื่องจากไม่ต้องมีการเติมออกซิเจนก็สามารถลดค่า BOD ของน้ำที่เข้าระบบ และทำให้ประหยัดพลังงานในการเดินระบบอีกด้วย (Lester and Birkett, 1999)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน พิจารณาปัจจัยของลักษณะน้ำเสีย, ปริมาณสารอินทรีย์, อัตราการไหลของน้ำ, ปริมาตรของถังปฏิกรณ์, ลักษณะทางกายภาพ และระบบเก็บกักก๊าซ (Tchobanoglous *et al*., 2004) ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ UASB; Upflow Anaerobic Sluge Blanket เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่ถูกใช้เพื่อบำบัดน้ำเสียจากน้ำเสียชุมชนและอุตสาหกรรมต่างๆอาทิเช่น อุตสาหกรรมอาหาร, อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม, อุตสาหกรรมกระดาษ เป็นต้น โดยระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นระบบที่แบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจนเข้ามามีบทบาทสำคัญในการบำบัด

กระบวนการการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะมีการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบอินทรีย์ จนกระบวนการสุดท้ายมีก๊าซมีเทนเกิดขึ้น ปฏิกิริยาส่วนใหญ่ต้องแบคทีเรียเข้าช่วยในการย่อยสลาย ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์โดยไม่ใช้ออกซิเจนจะเป็นแบคทีเรียในกลุ่มนอนเมทาโนเจน (Non-methanogen) โดยกระบวนการไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) อะซิโดจีเนซีส (Acidogenesis) และเมทาโนเจน (Methanogens) โดยกระบวนการเมทาโนเจนีซีส (Methanogenesis) (Steiner, 2000)

อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ได้ดำเนินการศึกษาเพื่อศึกษาลักษณะของน้ำเสียจากโรงงานอาหารแช่แข็ง และศึกษาการตรวจหาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังเพื่อศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักที่มีความสัมพันธ์ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย และตรวจวัดพารามิเตอร์ดังนี้ BOD; Biochemical Oxygen Demand, COD; Chemical Oxygen Demand, pH, TKN; Total Kjeldahl Nitrogen, T-P; Total Phosphate, SS; Suspended Solid และ Fat oil & Grease เพื่อเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยแบคทีเรียบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน จากการวัดพารามิเตอร์ต่างๆบริเวณน้ำเข้า และน้ำออกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนของโรงงานอาหารแช่แข็งตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณลักษณะของน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งส่วนของการบำบัดน้ำเสียขั้นที่ 2 ที่ใช้ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนแบบยูเอเอสบี จากการตรวจวัดพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสีย

2. เพื่อศึกษาแบคทีเรียกลุ่มหลักในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่สามารถนับได้ โดยศึกษาลักษณะของแบคทีเรียจากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากการบำบัด UASB ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Culture Based Technique)

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาคุณลักษณะของน้ำเสียด้วยการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางเคมี ดังนี้คือ BOD; Biochemical Oxygen Demand, COD; Chemical Oxygen Demand, TKN; Total Kjeldahl Nitrogen, T-P; Total Phosphorus, SS; Suspended Solid และ Oil &Grease ของน้ำเสียก่อนเข้าและออกจากระบบบำบัด UASB; Upflow Anaerobic Sludge Blanket

2. การศึกษาแบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบ UASB จะศึกษาจากน้ำเสียภายในระบบ UASB ที่ประกอบด้วยน้ำและตะกอน โดยใช้ Cooked Meat Medium และ Reinforced Clostridium Medium ในการเพาะเชื้อแบคทีเรียเพื่อคัดแยก และใช้วิธีการทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดหรือกลุ่มของแบคทีเรียที่พบจากการคัดแยก

3. การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่ได้จากการคัดแยกและการจำแนกจากน้ำเสียโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกะระดับปฏิบัติการด้วยการเดินระบบเป็นระยะเวลา 1 วัน เพื่อวัดประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์จากค่า COD โดยการศึกษาและทดลองในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง และไม่มีการไล่ออกซิเจนออกจากถังปฏิกรณ์ขณะทำการทดลอง แต่จะมีการปิดท่อเก็บน้ำและถังปฏิกรณ์ด้วยพาราฟิล์ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. โรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง

อาหารแช่แข็งเป็นอุตสาหกรรมที่มีค่าภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (BOD Loading) ประมาณ 2.69-216.97 kg/ton ซึ่งค่าดังกล่าวจะมีความแตกต่างที่ขึ้นอยู่กับลักษณะของวัตถุดิบที่นำมาใช้ (กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2551) นอกจากค่า COD ที่มีปริมาณสูงปริมาณการใช้น้ำในโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งก็มีค่าสูงเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

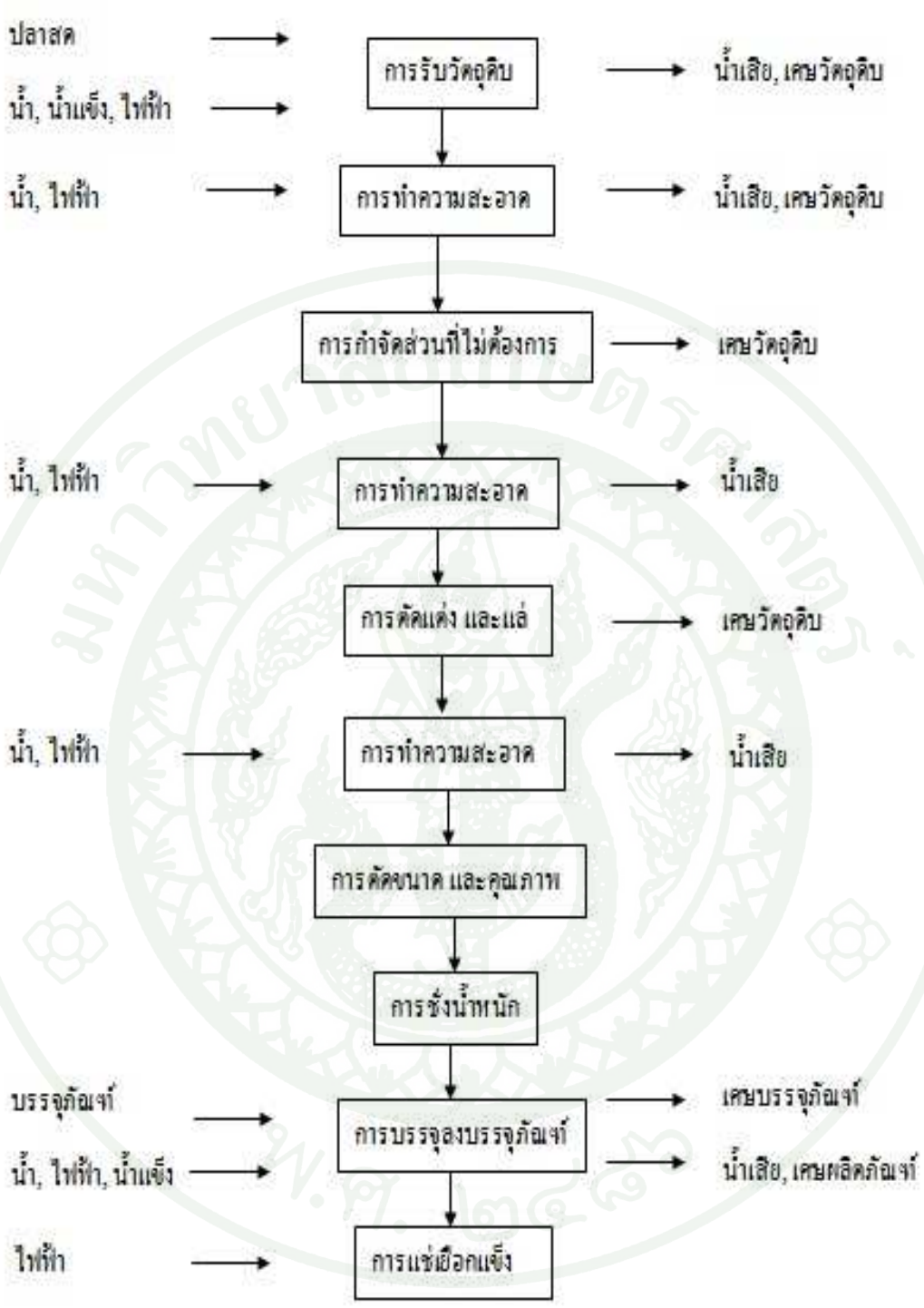
ตารางที่ 1 ค่าต่ำสุด-สูงสุดของน้ำที่ใช้ในโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งปี พ.ศ. 2546

การใช้น้ำ	หน่วย	ค่าต่ำสุด-สูงสุด ของแต่ละกลุ่มสถานประกอบการ		
		กุ้ง	ปลา	ซูริมิ
	m^3/ton	30.6-128.6	27.0-31.8	32.6-96.3

ที่มา: กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2551)

การใช้น้ำของสถานประกอบการด้านอุตสาหกรรมอาหารจะเป็นกลุ่มที่มีการใช้ปริมาณน้ำมาก เมื่อเทียบกับอุตสาหกรรมอื่นๆ เนื่องจากต้องมีสุขลักษณะในการผลิต เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งมีขั้นตอนการล้างทำความสะอาดอาหารทะเลก่อนนำเข้ากระบวนการผลิตจะใช้น้ำสะอาดผสมคลอรีนเพื่อเป็นการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, 2548) เพื่อให้ปริมาณแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับได้ดังกระบวนการผลิตที่แสดงในภาพที่ 1 แต่เนื่องจากอุตสาหกรรมอาหารแต่ละประเภทมีความแตกต่างทางด้านวัตถุดิบ ปริมาณการใช้น้ำจะแตกต่างกันด้วยเช่นกัน ดังนั้นเมื่อการใช้น้ำ วัตถุดิบ ขนาดของอุตสาหกรรมที่แตกต่างกัน และความต้องการของผู้บริโภคที่จะบริโภคอาหารชนิดต่างๆ ที่แตกต่างกัน ทำให้จำนวนการผลิตส่งผลถึงค่า COD Loading ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย ดังแสดงในตารางที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็ง

ที่มา: สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย (2548)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำเสีย และ COD Loading ต่อวันของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งแต่ละกลุ่มสถานประกอบการที่ใช้ระบบ UASB

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

ที่มา: สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย (2548)

โดยทั่วไปอุตสาหกรรมอาหาร จะมีปริมาณสารอินทรีย์ปะปนมากับน้ำเสียปริมาณสูงทำให้ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนเข้ามามีบทบาทในการบำบัด เพราะสามารถลดค่า BOD Loading ได้มาก ดังนั้นระบบ UASB; Up-flow Anaerobic Sludge Blanket จึงเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่โรงงานอุตสาหกรรมนิยมใช้ในการบำบัดน้ำเสีย (Austermann-Haun, 1997)

ตารางที่ 3 ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานปลา

พารามิเตอร์ทางเคมี	หน่วย	ความเข้มข้น	
		การล้างและการแช่	น้ำเสียรวม
COD	mg/l	5,250	873
SS	mg/l	371	119
TDS	g NaCl/l	46	17
Cl^-	g/l	27	10
SO_4^{2-}	mg/l	1,240	164
TKN	mg N/l	747	128
T-P	mg P/l	5	5

ที่มา: Dan (2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

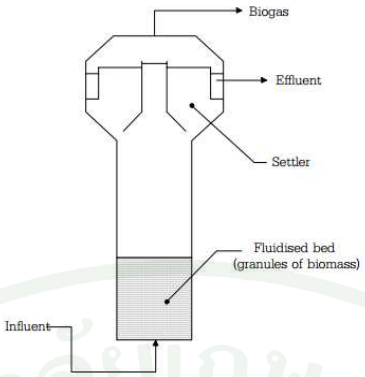
จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียมีปริมาณคลอไรด์อยู่ค่อนข้างสูง ซึ่งคลอไรด์จะมีผลต่อระบบบำบัดแบบชีวภาพ ไม่ว่าจะมีผลต่อค่าพารามิเตอร์ทางเคมี หรือปริมาณกลุ่มประชากรของ methanogen (Joseph and Frederick, 1992)

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

2. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน Upflow Anaerobic Sludge Blanket; UASB

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบต่างๆ ของระบบ UASB

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2545)

โดยการออกแบบระบบ UASB พิจารณาจากข้อมูลของลักษณะน้ำเสีย, ปริมาณสารอินทรีย์, อัตราการไหลของน้ำ, ปริมาตรของถังปฏิกรณ์, ลักษณะทางกายภาพ และระบบเก็บกักก๊าซ (Tchobanoglous *et al*., 2004) นอกจากนี้ยังมีค่าพารามิเตอร์ ดังตารางที่ 4 ที่ใช้ในการออกแบบเบื้องต้นของระบบ UASB

ตารางที่ 4 ค่าการออกแบบถังปฏิกรณ์ UASB เมื่อเริ่มต้นระบบ

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

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1 ลักษณะของน้ำเสีย

ลักษณะของน้ำเสียที่ใช้ในการบำบัดจะพิจารณาองค์ประกอบของน้ำเสีย และค่าของแข็ง การเกิดเม็ดตะกอนจะแตกต่างกันตามการไหลของน้ำเสีย หรือภายใต้การควบคุมระบบบำบัดที่แตกต่างกัน ซึ่งลักษณะสำคัญของระบบ UASB คือ การเก็บกักตะกอนไว้ในถังปฏิกรณ์ได้จำนวนมาก โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เป็นเม็ดตะกอน จนกระทั่งมีขนาดใหญ่ และน้ำหนักมาก มีความเร็วในการจมตัวสูง สามารถตกตะกอนได้ดี การรวมตัวเป็นเม็ดตะกอนขึ้นอยู่กับลักษณะน้ำเสีย, เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ตอนเริ่มเดินระบบ และอุปกรณ์แยก 3 สถานะต้องทำงานได้ดี โดยตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอนแยกตัวลงมา ต้องสามารถกลับกลับเข้าถังปฏิกรณ์ได้ง่ายไม่มีการสะสมตัวอยู่ในส่วนตกตะกอน และมีการหลุดออกของตะกอนไปกับน้ำทิ้งน้อยที่สุด (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) นอกจากนี้สภาพแวดล้อมก็ยังส่งผลต่อความแตกต่างของลักษณะของจุลินทรีย์ (Zafar *et al*,. 1997) น้ำเสียที่มีปริมาณของโปรตีน และไขมันสูงมีแนวโน้มทำให้เกิดปัญหาต่อเม็ดตะกอน และการเกิดปัญหาสลัดจ์เค้ก ซึ่งน้ำเสียของโรงงานปลาจะมีโปรตีน และไนมันเป็นส่วนประกอบหลักของน้ำเสีย (Chowdhury *et al*., 2010) ประสิทธิภาพในการบำบัดของระบบ UASB เป็นการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งควรมีค่า BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 และระบบบำบัดควรมีค่า COD:N:P เท่ากับ 600:5:1 (Tchobanoglous *et al*., 2004)

2.2 ปริมาณสารอินทรีย์

โดยปกติน้ำเสียที่มีค่า COD loading ที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบ UASB แล้ว ระบบดังกล่าวจะมีประสิทธิภาพในการลดค่า COD loading 90 – 95% เมื่อ COD Loading อยู่ในช่วง 12 – 20 kg COD/m^3dที่อุณหภูมิ 30 – 35 °C แต่หากประสิทธิภาพในการบำบัดน้อยกว่า 90% และมีปริมาณตะกอนออกมาพร้อมกับน้ำออกมาก ต้องมีการเพิ่มอัตราการไหลให้มากขึ้นเพื่อเป็นการลดความหนาแน่นของเม็ดตะกอน จึงเป็นผลให้ค่า COD loading สูงขึ้น โดยหากต้องการให้มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30°C ค่า COD loading และปัจจัยต่างๆ ควรเป็นไปตามดังตารางที่ 5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ค่า COD loading ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัด 85-95% สำหรับระบบ UASB ที่อุณหภูมิ 30°C

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

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2004)

2.3 ความเร็วในการไหลของน้ำ

ความเร็วในการไหลของน้ำจะขึ้นอยู่กับการไหล และพื้นที่ของปฏิกรณ์ ซึ่งเป็นไปตามหลักการการออกแบบ ซึ่งความเร็วน้ำไหลขึ้นที่เหมาะสม ควรจะน้อยกว่า 1 m/hr (Vieira and Garcia 1992) โดยการออกแบบเป็นไปตามตารางที่ 6 ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 ความเร็วในการไหลของน้ำ และความสูงของถังปฏิกรณ์

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

ที่มา: Tchobanoglous *et al.* (2004)

2.4 ปริมาตรของถังปฏิกรณ์

การออกแบบถังปฏิกรณ์จะพิจารณาจาก ปริมาณสารอินทรีย์ อัตราการไหลของน้ำ และประสิทธิภาพของระบบที่ต้องการ โดยที่ประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียสามารถดูได้จากจำนวนของตะกอน และชีวมวลที่ยังมีประสิทธิภาพในการทำงานอยู่ โดยความสูงของถังควรอยู่ระหว่าง 4.0-4.8 m และส่วนตกตะกอนควรจะสูง 1.5-1.6 m (Vieira and Garcia 1992; กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

3. ปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

แม้ว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเป็นกระบวนการที่ง่ายต่อการควบคุมระบบ แต่ก็ต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆให้เหมาะสมตามที่ระบบต้องการ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสีย โดยสุบัณฑิต (2548) กล่าวว่า

3.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีอิทธิพลอย่างมากต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสีย โดยแบคทีเรียแต่ละกลุ่มในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะมีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1). Psychrophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 5-15°C
2). Mesophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 35-37°C
3). Thermophilic range มีช่วงอุณหภูมิ 50-55°C

เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างมีเทนมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายครั้งนี้ซึ่งแบคทีเรียชนิดดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากซึ่งถังย่อยสลายแบบที่ต้องใช้อุณหภูมิสูงต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 50-65°C ซึ่งอุณหภูมิ 52°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมมากที่สุดในการย่อยสลาย และถังย่อยสลายแบบอุณหภูมิปานกลางซึ่งต้องมีอุณหภูมิประมาณ 30-35°C ส่วนในประเทศไทยระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมักถูกควบคุมแบบ Mesophilic ได้เองโดยสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยเอง โดยไม่ต้องเพิ่มอุณหภูมิให้กับน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดหรือถังปฏิกรณ์ (สันทัด, 2549)

3.2 พีเอช (pH)

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

3.3 อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ถ้าสภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งทางกายภาพและทางเคมีไม่ขัดต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย อัตราเร่งในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารเท่านั้น (Tchobanoglous *et al.*, 2004) โดย สันทัด (2549) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณอาหาร การวัดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียวัดได้โดยการหาปริมาณแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะสัมพันธ์กับระยะเวลา นั่นคือหากเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือน้ำเสีย จะสามารถแบ่งช่วงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

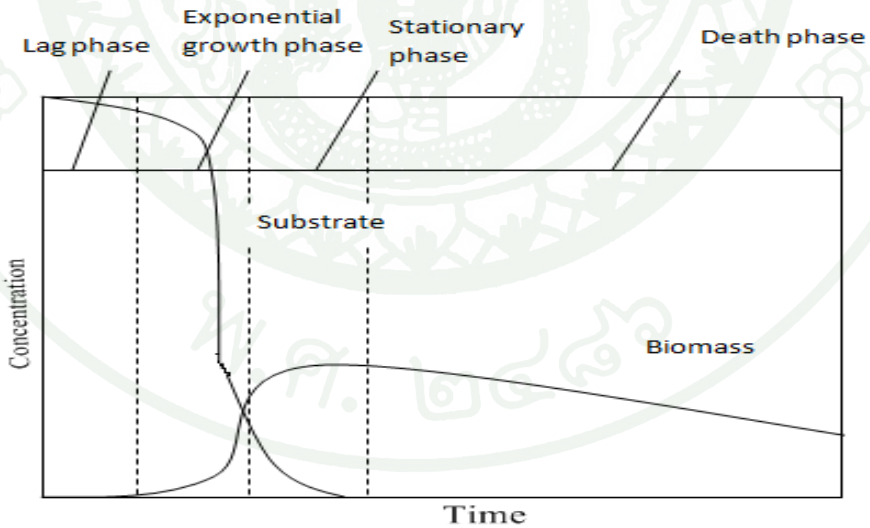
3.3.1 ในระยะแรกแบคทีเรียจะมีการปรับตัว และเป็นระยะที่แบคทีเรียได้รับสารอาหารเพื่อนำมาสร้างส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ ดังนั้นจึงยังไม่มีการแบ่งตัว อัตราการเจริญเติบโตต่ำ ระยะนี้เรียกว่า Lag phase

3.3.2 เมื่อแบคทีเรียปรับตัวได้จะมีการสะสมอาหาร และแบ่งตัวอย่างรวดเร็วอย่างสม่ำเสมอ บางครั้งเรียกว่า Steady state อัตราการเจริญเติบโตในระยะนี้สูงสุด เรียกว่า Log phase

3.3.3 หลังจากนั้นอาหารต่างๆในน้ำเสีย หรืออาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มน้อยลง ของเสียจากแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะถูกจำกัด โดยแบคทีเรียบางส่วนสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และบางส่วนจะตายลง ทำให้แบคทีเรียโดยรวมค่อนข้างคงที่นั่นคืออัตราการเจริญเติบโตสุทธิเกือบเป็นศูนย์ ระยะนี้เรียกว่า Stationary phase

3.3.4 หลังจากระยะ Stationary Phase อาหารจะยิ่งน้อยลง และอัตราการตายจะสูงกว่าอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณแบคทีเรียจึงลดลง เรียกว่า Declined growth

3.3.5 Endogenous growth phase เป็นระยะที่อาหารเหลือน้อยลงจนเกือบหมด จะมีการตายมากขึ้น พวกที่ดำรงชีวิตอยู่ได้จำเป็นต้องใช้อาหารที่สะสมภายในเซลล์เพื่อดำรงชีวิต เรียกว่า Auto oxidation ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารตั้งต้นกับมวลของจุลินทรีย์

ที่มา: ดัดแปลงจากสันทัด (2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 เวลาที่น้ำเสียอยู่ในถังย่อยสลาย (Retention Time)

เวลาที่อยู่ที่อยู่ในถังต้องเป็นเวลาที่เหมาะสม และเพียงพอที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เวลากักเก็บน้ำเฉลี่ยอย่างน้อย 4 ชั่วโมง (Lettinga *et.al*., 1993) แต่ควรจะมีมากกว่า 6 ชั่วโมง (Manila J.F. and Pohland F.G., 1992; กรมควบคุมมลพิษ, 2545) ส่วน Lettinga *et.al*. (1993); กรมควบคุมมลพิษ (2545) ได้แนะนำว่าความเร็วน้ำไหลของน้ำไม่ควรเกิน 4 m/hr

3.5 สารพิษ (Toxicants)

เนื่องจากสารบางชนิดมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย อาทิเช่นซัลไฟด์ มีผลต่อการทำงานของกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน โดยเกิดจากหากระบบมีกรดแอซีติกเกิดขึ้นปริมาณน้อยจะทำให้ขั้นตอนสุดท้ายในถังย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชัน (Sulfate Reduction) ได้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และทำให้ระบบล้มเหลวได้

3.6 ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์จะเกิดจากขั้นตอนที่ 2 หรือ Acidogenesis และเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทน ถ้าปริมาณของกรดอินทรีย์มีอยู่ปริมาณสูงกว่าปกติจะทำให้บ่งชี้ได้ว่าขั้นตอนของปฏิกิริยาการสร้างมีเทนถูกยับยั้ง หรือเป็นสัญญาณที่บ่งบอกถึงความไม่สมดุลของกระบวนการย่อยสลายในระบบทำให้ระบบล้มเหลวได้

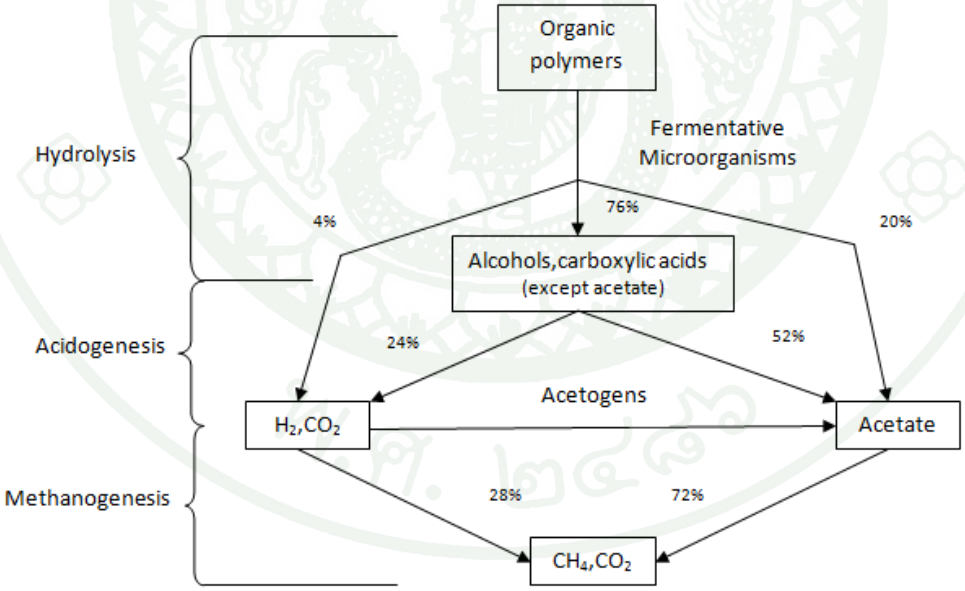
3.7 ไอออน และความเค็ม

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ปฏิกิริยา และกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

กระบวนการย่อยสลายในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนจะประกอบด้วยกลุ่มฟังไจ และโปรโตซัวจำนวนน้อย ดังนั้นการย่อยสลายส่วนใหญ่เป็นหน้าที่ของแบคทีเรีย (Gerardi, 2006) ชนิดของแบคทีเรียที่พบในระบบบำบัดประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 กลุ่ม คือ ไฮโดรไลติกแบคทีเรีย (Hydrolytic Bacteria) เฟอร์เมนต์เททีฟแบคทีเรีย (Fermentative Bacteria) และ เมทาโนจีนิกแบคทีเรีย (Methanogenic Bacteria) จากการชนิดของแบคทีเรียพบว่าส่วนใหญ่คือ *Clostridium* spp. และ *Bacteroides* spp. รวมทั้ง *Pseudomonas* spp. และ *Bacillus* spp. แต่แบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนคือกลุ่มแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่วน *Clostridium* spp., *Megasphera* spp., Streptococci และ Bacilli เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในกลุ่มของ Fermentative Bacteria (Lester and Birkett, 1999) ทั้งนี้แบคทีเรียทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จนกระทั่งกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซมีเทน โดยหลักจากการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะประกอบไปด้วยกระบวนการไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) กระบวนการอะซิโดจินีซีส (Acidogenesis) และกระบวนการเมทาโนจีนีซีส (Methanogenesis) (สุเทพ, 2552) ดังภาพที่ 4



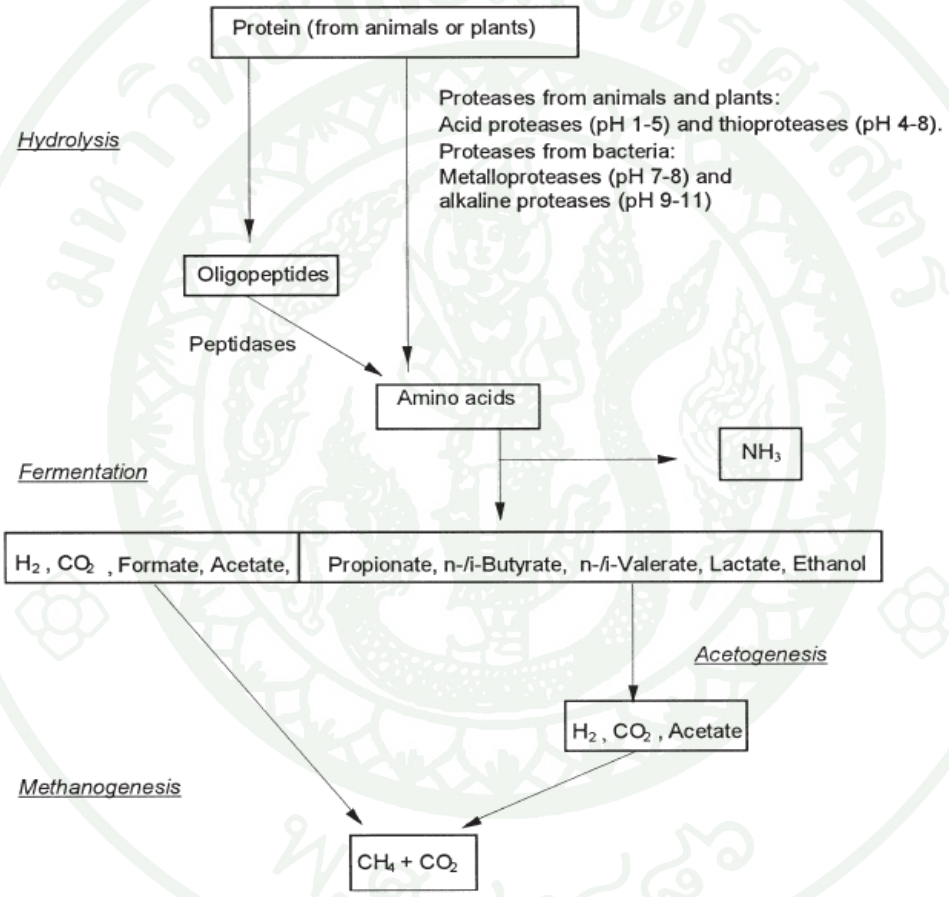
ภาพที่ 4 การย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรมควบคุมมลพิษ (2546) กล่าวว่า ไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) กระบวนการแรกที่เป็นบทบาทของกลุ่ม Hydrolytic bacteria ที่ผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสารโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน, ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กแสดงในภาพที่ 5, 6 และ7 เพื่อที่เซลล์สามารถดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ และนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ดังสมการที่ 1

$$C_6H_{10}O_4 + 2H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \quad \text{……. (1)}$$



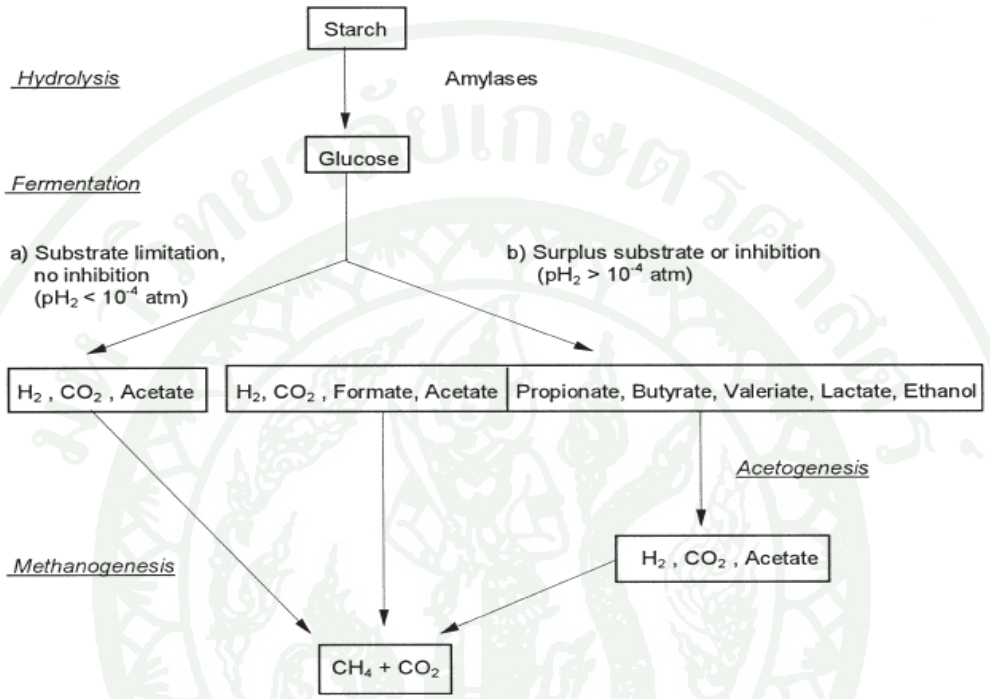
ภาพที่ 5 กระบวนการย่อยสลายโปรตีน

ที่มา: Gallert and Winter (2005)

การย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการ Hydrolysis จะถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ proteases ซึ่งทำให้เกิดเป็นกรดอะมิโน ไดเปปไทด์ หรือโอลิโกเปปไทด์ ส่วนปฏิกิริยา Hydrolysis ของคาร์โบไฮเดรตจะเกิดปฏิกิริยาที่ค่า pH น้อยๆ (McInerney, 1988; Gallert and Winter, 2005) แต่หาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นปฏิกิริยา Hydrolysis ของโปรตีนจะมีค่า pH ที่เหมาะสมเท่ากับค่า pH ตามธรรมชาติ หรือมีค่า Alkaline pH น้อยๆปฏิกิริยา Aciodogenesis ของน้ำเสียที่มีโปรตีนจะมีค่า pH เท่ากับ 7 หรือมากกว่า (Winterberg and Sahm, 1992; Gallert and Winter, 2005)

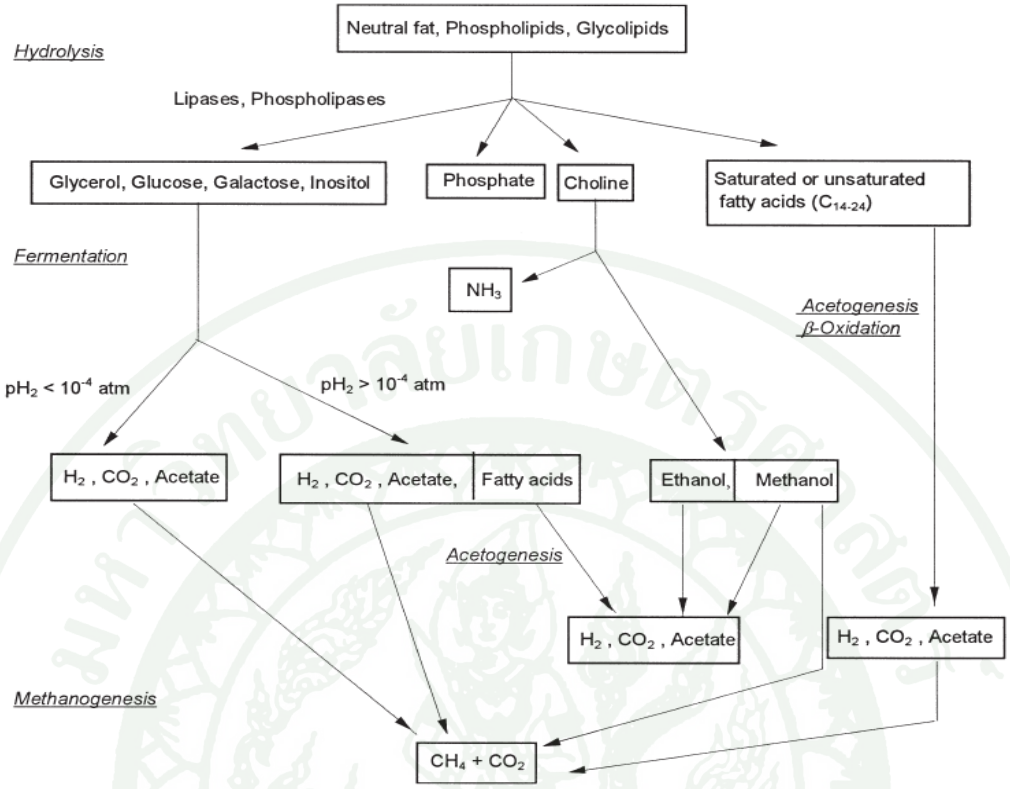


ภาพที่ 6 กระบวนการย่อยสลายแป้ง

ที่มา: Gallert and Winter (2005)

Gallert and Winter (2005) กล่าวว่า ไขมันเป็นชีวพอลิเมอร์ที่มีผลต่อค่า COD ในน้ำเสียจากโรงงานอาหาร การย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ Lipases หรือ Phospholipases ไขมัน และน้ำมันต้องถูกลดแรงตึงผิว การย่อยสลายไขมันในสภาวะไม่ใช้ออกซิเจนจะแสดงในภาพที่ 7 โมเลกุลของน้ำตาล และกลีเซอรอลสามารถถูกย่อยสลายให้กลายเป็นก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์จากปฏิกิริยาของ Fermentative Bacteria และ Methanogenic bacteria หลังจากปฏิกิริยา Hydrolysis Fermentation และ Acetogenesis สารประกอบไขมันที่อยู่ในช่วง Methanogenesis จะเปลี่ยนเป็น acetate, คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ซึ่งเป็นแก๊สชีวภาพ ปฏิกิริยาทั้งหมดจะเกิดภายในเซลล์ที่มีอิทธิพลมาจาก Syntrophic Interaction ที่มีการถ่ายโอนไฮโดรเจน ยกเว้นปฏิกิริยา lipases ที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 กระบวนการย่อยสลายไขมัน

ที่มา: Gallert and Winter (2005)

Clostridium butyricum และ *Enterobacter aerogenes* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน อย่างมีประสิทธิภาพ (Nath and Das, 2004) ซึ่งจะอยู่ในกระบวนการ Acidogenesis (Jo *et al*., 2008) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นกระบวนการที่สองที่แบคทีเรียมีการผลิตกรดอินทรีย์ (Organic acids) และแอลกอฮอล์ (Alcohols) จึงทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้มีชื่อเรียกว่าอะซิโดเจน (Acidogens) ตัวอย่างแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Clostridium* spp., *Peptococus anaerobes Bifiobaterium* spp., *Desulphovibrio* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Acitonomycess*, *Staphylococcus* spp. และ *Escherichic coli* แต่กลุ่มของจุลินทรีย์ระยะนี้เป็นกลุ่มที่ยังไม่สามารถผลิตมีเทนได้จึงเรียกนอนเมทาโนจีนิกแบคทีเรีย (Non-methanogenic bacteria) ซึ่งมีหลากหลายสายพันธุ์เป็นทั้งแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative) และแบคทีเรียที่เจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น (Obligate anaerobic bacteria) โดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่มีบทบาทในการสร้างกรดไขมันระเหยก็คือกลุ่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Clostridium spp. ดังแสดงในตารางที่ 7 จากการการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในถัง UASB พบว่าประชากรส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Methanogen รองลงมา คือ Non-Methanogen แต่เมื่อเดินระบบและมีการรับสารอินทรีย์พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นตามอัตราการป้อนสารอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้พบว่า Suspended bed สัดส่วนของ Non-methanogen ต่อประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น และเป็นกลุ่มประชากรหลัก ในขณะที่ Packed bed สัดส่วนของ Non-methanogen คงที่ (สมเกียรติ, 2547)

อย่างไรก็ตามพบว่า Hydrolytic bacteria ในกลุ่มแรกบางพวกก็มีความสามารถทำหน้าที่เหมือน แบคทีเรียที่สร้างกรด (Acid formers) ในกลุ่มที่สองบางพวก โดยสร้างกรด และแอลกอฮอล์ได้จากการหมัก (Fermentation) กรดไขมัน (Fatty acids monosaccharides) และกรดอะมิโน (Amino acids) ไปเป็นพรอพิเนต (Propionate) บิวไทเรต (Butyrate) ซัคซิเนต (Succinate) แลคเตต (Lactate) อะซิเตต (Acetate) แอลกอฮอล์(Alcohols) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจน(H_2) ดังสมการที่ 2 ,3 และ4 ตามลำดับ บทบาทสำคัญหลักของระยะที่สองคือการเตรียมสารตั้งตั้น(Substrates) ต่างๆ โดยกลุ่ม อะซิโตจีนิกแบคทีเรีย (Acetogenic bacteria) เพื่อสร้างมีเทน ได้แก่ ไฮโดรเจน (H_2) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ฟอร์เมต (Formate) เมทานอล (Methanol) เมทิลลามีน (Methylamines) และอะซิเตต (Acetate) ดังสมการที่ 5 ,6 และ 7 ตามลำดับ

$$C_6H_{12}O_6 <-> 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 \quad \text{……. (2)}$$

$$C_6H_{12}O_6 + 2H2 <-> 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O \quad \text{……. (3)}$$

$$C_6H_{12}O_6 -> 3CH_3COOH \quad \text{……. (4)}$$

$$3CH_2COO^- + 3H_2O <-> CH3COO^- + H^+ + HCO^-_3 + 3H_2 \quad \text{……. (5)}$$

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O <-> 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2 \quad \text{……. (6)}$$

$$CH_3CH_2OH + 2H_2O <-> CH_3COO^- + 2H_2 + H^+ \quad \text{……. (7)}$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจีนัส Clostridium

ลักษณะสำคัญ	ผลผลิต และลักษณะอื่น	ชนิด
1. ย่อยคาร์โบไฮเดรต	อะซิเตท, แลคเตท,	C. cellubioparum
- ย่อยเซลลูโลส	ซัสสิเนท,ไฮโดรเจน,เอทานอล, คาร์บอนไดออกไซด์	C. thermocellum
- ย่อยน้ำตาล แป้ง และเพคตินบางชนิด ตรึงไนโตรเจน	อะเซโทน, บิวทานอล, เอทธานอล, ไอโซพรอพินอล, บิวทาเรต, อะซิเตท, พรอพิโอเนท,ซัสสิเนท, ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์	C. butyricum C. acetobutylicum C. pasteurianum C. perfingens C. thermosulfurogens
- ย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดอะซิติก	ผลิตอะซิเตทจากคาร์บอนไดออกไซด์	C. aceticum C. Thermoaceticum C. formicoaceticum
- ย่อยเฉพาะ pentoses หรือ methylpentoses	อะซิเตท,พรอพิโอเนท, n-บิวทานอล, ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์	C. methylpentosum
2. ย่อยโปรตีน และกรดอะมิโน	อะซิเตท, กรดไขมันระเหยอื่น, แอมโมเนีย, คาร์บอนไดออกไซด์,อาจให้ไฮโดรเจน	C. sporogen C. tetani C. botulinum
- อาจย่อยน้ำตาล	บิวไทเรต และอะซิเตท อาจผลิตเอกโซทอกซิน	C. tetanomorphum
- ย่อยสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม	พรอพิออเนท,อะซิเตท และคาร์บอนไดออกไซด์	C. propionicum
3. ย่อยคาร์โบไฮเดรต หรือกรดอะมิโน	อะซิเตท,ฟอร์เมท, มีไอโซบิวไทเรท และไอโซวาเลอเรทเล็กน้อย	C. bifermentans
4. ย่อยพิวรีน	อะซิเตท, purines, forming acetate, คาร์บอนไดออกไซด์, แอมโมเนีย	C. acidurici
5. ย่อยเอทานอลให้เป็นกรดไขมัน	ให้อะซิเตทเป็นสารรับอิเล็คตรอน	C. kluyveri

ที่มา: Medigan *et al* (1997); กรมควบคุมมลพิษ (2546)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hydrolytic Bacteria เจริญเติบโตได้ไม่ดีเมื่ออยู่ตามลำพัง เนื่องจากหากมีการสะสมก๊าซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นมาจะทำให้ความดันพาร์เชียลสูง (สุบัณฑิต, 2548) ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกจะสร้างอาหารให้แก่แบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนก็ช่วยทำลายก๊าซไฮโดรเจนให้กับแบคทีเรียที่สร้างกรด ดังสมการที่ 8 และ 9

$$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2 \quad \text{……. (8)}$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2 \quad \text{……. (9)}$$

เมทาโนจีนีซีส (Methanogenesis; methane formation) เป็นกระบวนการในช่วงที่มีเทนแบคทีเรียจะเปลี่ยนกรดเป็นก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ (Steiner, 2000) ซึ่งแบคทีเรียที่สร้างมีเทน หรือ เมทาโนเจน(Methanogen) เป็นแบคทีเรียที่ไม่อาจทนต่อออกซิเจน และเจริญเติบโตช้า อีกทั้งยังจำเพาะต่อชนิดของอาหารมาก ดังสมการที่ 10 ,11 และ 12 ตามลำดับ

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O \quad \text{……. (10)}$$

$$2C_2H_5OH + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2CH_3COOH \quad \text{……. (11)}$$

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2 \quad \text{……. (12)}$$

ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยารีดอกซ์สำหรับจุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจน

Oxidation			ΔG_0, KJ
Propionate->Acetate	$CH_3CH_2COO^-+3H_2O$	$\rightarrow CH_3COO^-+H^++HCO_3^-+3H_2$	+ 76.1
Butyrate->Acetate	$CH_3CH_2\ CH_2\ COO^- +2H_2O$	$\rightarrow 2CH_3COO^-+H^++2H_2$	+48.1
Ethanol->Acetate	$CH_3CH_2\ OH+ H_2O$	$\rightarrow CH_3COO^-+H^++2H_2$	+9.6
Lactate->Acetate	$CH_3CHOHCOO^-+2H_2O$	$\rightarrow CH_3COO^-+ HCO_3^-+H^++2H_2$	- 4.2
Acetate->Methane	$CH_3COO^-+H_2O$	$\rightarrow HCO_3^-+CH_4$	-31.0

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 (ต่อ)

Respiration			ΔG_0, KJ
HCO^-_3->Acetate	$2HCO_3^-+4H_2+H^+$	-> $CH_3COO^-+4H_2O$	-104.6
HCO^-_3->Methane	$HCO_3^-+4H_2+H^+$	-> CH_4+3H_2O	-135.6
Sulfate->Sulfide	$SO_4^{2--}+4H_2+H^+$	->HS^-+4H_2O	-151.9
	$CH_3COO^-+ SO_4^{2--}+H^+$	-> $2HCO_3^-+H_2S$	-59.9
Nitrate->Ammonia	$NO^-_3+4H_2+2H^+$	->NH_4^++$3H_2O$	-599.6
	$CH_3COO^- +NO^-_3+H^+$+H_2O	->$2HCO_3^-+ NH_4^+$	-511.4
Nitrate->Nitrogen gas	$2NO^-_3+5H_2+2H^+$	->N_2+$6H_2O$	-1120.5

ที่มา: Joseph and Frederick (1992)

นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลากักเก็บ และภาระบรรทุกสารอินทรีย์คาร์บอน และไนเตรตไนโตรเจนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในระบบ โดยจุลินทรีย์เด่นที่พบในถังปฏิกรณ์คือ *Bacteroidetes*, *Firmicutes* และ *Thermomicrobia* ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มย่อยที่พบคือ *Nitrospira*, *Acidobacteria*, *Acinobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Chlorobi* และ *Betaproteobacteria* ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนทั้งสิ้น (วลัยภรณ์, 2551) ทั้งนี้ Keyser et al. (2007) ศึกษาแบคทีเรียที่อยู่ในตะกอนจากระบบ UASB ของอุตสาหกรรมเครื่องดื่มกระป๋องด้วยวิธี Fingerprint พบว่า unculturable แบคทีเรีย 35 % ส่วนอีก 65 % เป็นแบคทีเรียแบบ culturable ที่ประกอบไปด้วยสกุลต่างๆต่อไปนี้ *Bacillus, Pseudomonas, Bacteroides, Enterococcus, Alcaligenes, Clostridium, Shewanella, Microbacterium, Leuconostoc, Sulfurospirillum, Acidaminococcus, Vibrio, Aeromonas, Nirtospira, Synergistes, Rhodococcus, Rhodocycclus* และ *Syntrophobacter*) โดย Li *et al.* (2010) ศึกษากลุ่มแบคทีเรียของน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนพบว่ามีกลุ่ม *Firmicutes* 33%, *Acidobacteria* 23%, *Proteobacteria* 19%, *Bacteroidetes* 11%, *Nitrispira* 8%, *Chloroflexi* 4% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 2% ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างจากการศึกษาของ Tang *et al*. (2005) ที่ศึกษากลุ่มแบคทีเรียจากถังเก็บน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนของน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรและพบ *Clostridium* 15%, *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus* subdivision 20%, *Microplasma* 10%, *Flexibacter Cytophaga-Bacteroides* 20% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 35% นอกจากนี้ยังแต่ต่างกับการศึกษาของ Snell et al. (2005) ที่ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงสุกรของระบบบำบัดน้ำเสียแบบกรองทางชีวภาพที่พบว่า มีกลุ่ม *Firmicutes* มากกว่า 34%,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

γ-*Proteobacteria* 23%, α- *Proteobacteria* 17, β-*Proteobacteria* 18%, *Actinobacteria* 10% และแบคทีเรียชนิดอื่นอีก 8%

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

ตารางที่ 9 ชนิดและหน้าที่ของแบคทีเรียอื่นๆที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์

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

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก สมคิด (2536); อำพล (2546)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การคัดแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์

ปัจจุบันมีเทคนิคการคัดแยก และจำแนกเชื้อจุลินทรีย์หลากหลาย โดยแต่ละวิธีที่ใช้ในการคัดแยกจะสามารถให้ผลที่แตกต่างกัน และรูปแบบที่แตกต่างกันดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำเสียในปัจจุบัน

เทคนิค	ประโยชน์	ขอบเขต	ตัวอย่างการใช้
Microscopy	สามารถสังเกตเซลล์ของจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว	ไม่สามารถจำแนกแบคทีเรียเด่นได้	Association of filamentous bacteria with sludge bulking (Eikelboom,1975; Seviour *et al*.,1997)
Media-based methods	ง่ายต่อการทดลอง	ยากต่อการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่เด่น	Domination of aerobic and facultative anaerobic heterotrophs in kraft pulp treatment systems (Fulthorpe *et al*., 1993)
Indicator microorganism-based pathogen estimate	สามารถแสดงลักษณะของจุลินทรีย์แต่ละชนิด	ใช้ระยะเวลา และความละเอียดสูง	Fecak coliform/fecal streptococcus ratio to differentiate human vs. non-human pollution(Scott *et al*., 2002)
	เป็นมาตรฐานในการตรวจสอบ coliforms	เป็นการประมาณเชื้อโรคทางอ้อม	F+ RNA and DNA coliphage densities as an indicator of water quality (Cole *et al*., 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 (ต่อ)

เทคนิค	ประโยชน์	ขอบเขต	ตัวอย่างการใช้
Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDAR)	ง่ายต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เหมาะสำหรับการจำแนกจุลินทรีย์แบบกว้างๆ	การสกัด DNA และ ความแตกต่างของ PCR ไม่สามารถบอกเป็นเชิงปริมาณ	Microbial diversity of activated sludge (Blackall *et al*. 1998; Pellegrin *et al*.,1999)
Ribosomal RNA intergenic spacer analysis (RISA)	ง่ายต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เหมาะสำหรับการจำแนกจุลินทรีย์แบบกว้างๆ	การสกัด DNA และ ความแตกต่างของ PCR ไม่สามารถบอกเป็นเชิงปริมาณ บอกความแตกต่างตามความยาวและลำดับของแบคทีเรีย	Bacteria diversity and community structure in plup and paper wastewater(Yu and Mohn, 2001) Bacterial community analysis from different plup and paper wastewater treatment systems(Baker *et al*., 2003)
Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)	ง่ายต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เหมาะสำหรับการวิเคราะห์จุลินทรีย์แบบกว้างๆ ใช้บอกความแตกต่างของลำดับ rRNA	การสกัด DNA และความแตกต่างของ PCR ไม่สามารถบอกข้อมูลเชิงปริมาณ ความจำเพาะทำให้เกิดปัญหาเนื่องจากลำดับสั้นเกินไป	Microbial community composition (Muyzer *et al*., 1993) Population shift (Ferris *et al*., 1997) Succession of bacterial population (Simpsom *et al*., 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 (ต่อ)

เทคนิค	ประโยชน์	ขอบเขต	ตัวอย่างการใช้
Terminal-restriction fragment length polymorphism (t-RFLP)	สามารถเพาะเชื้อได้และเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลวิเคราะห์จุลินทรีย์ในช่วงกว้าง วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและข้อมูลกึ่งปริมาณ	การสกัด DNA และความแตกต่างของ PCR	Composition of pulp mill microbial community (Gilbride and Fulthorpe, 2004) Bacterial community composition from sewage treatment plants (Hiraishi *et al*.,2000)
Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)	ข้อมูลเชิงปริมาณ สามารถมองเห็นเซลล์แบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อได้	ไม่สามารถหาเซลล์ที่ตายแล้วได้	In situ analysis of microbial community structure in activated sludge (Wagner *et al*.,1993) Observation of sludge floc forming microorganisms(Rossello-Mora *et al*., 1995)
Fluorescent in situ hybridization (FISH) and confocal scanning laser microscopy (CSLM)	ข้อมูลเชิงปริมาณ สามารถมองเห็นเซลล์แบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ช้าและแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อได้สามารถทำได้รวดเร็ว และตรวจสอบจุลินทรีย์ได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน	เครื่องมือ และอุปกรณ์ราคาแพง	Visualization of nitrifying bacteria (Wagner *et al*., 1998; Juretschko *et al*., 1998)
Multiplex PCR		การรวมกันของไพรเมอร์ต้องใช้ปฏิกิริยา PCR เดี่ยว	Detection of bacterial pathogens in wastewater (Ibekwe *et al*., 2002) and viruses (Beuret., 2004)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 (ต่อ)

เทคนิค	ประโยชน์	ขอบเขต	ตัวอย่างการใช้
Nucleic acid microarrays	การใช้ประโยชน์หลากหลาย การประยุกต์ข้อมูลที่หลากหลาย	มีความละเอียดน้อยสำหรับตัวอย่างในสิ่งแวดล้อม กระบวนการตัวอย่างที่ซับซ้อน	Pathogen detection in water (Straub and Chandler, 2003),Food (Call *et al*., 2001), and wastewater (Lee *et al.,* in press)
On-chip technology	เป็นการรวม PCR กับ nucleic acid hybridization บน chip การรบกวนที่เกิดจากปฏิกิริยาน้อย	การปรับ และการบรรจุ	Detection of bacterial pathogens(Lagally *et al*., 2004;Blaskovic and Barak, 2005)

ที่มา: Gilbride (2006)

นอกจากการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ตามตารางข้างต้น การจำแนกจุลินทรีย์ตามกลุ่ม และหมวดหมู่ ต้องอาศัยข้อมูลส่วนอื่นๆ เพิ่มเติมดังนี้ สัณฐานวิทยา, อาหารจำเพาะ, การวิเคราะห์โปรตีน และการเปรียบเทียบลำดับเบส

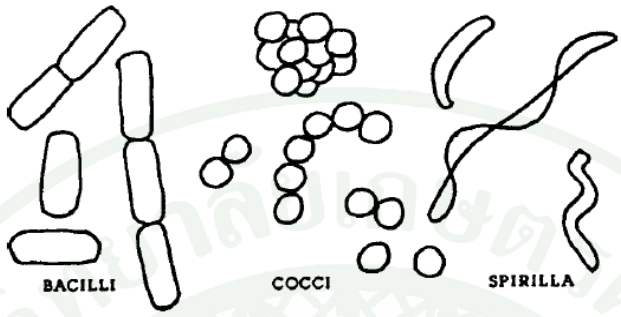
5.1 รูปร่างและโครงสร้างของแบคทีเรีย (Bacterial morphology and bacterial structure)

ด้านสัณฐานวิทยาเป็นคุณสมบัติที่ไม่สามารถมองด้วยตาเปล่า ต้องส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นรูปร่างลักษณะต่างๆของแบคทีเรียตามภาพที่ 8 แต่หากศึกษาโครงสร้างภายในเซลล์ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ดวงพร, 2537)

Culture Based Technique โดยการนำน้ำตัวอย่างมาเจือจาง แล้วนำไป เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป (Nutrient Agar) ด้วยวิธีการ spread plate, pour plate การเพาะเลี้ยงแบบนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะสามารถนับจำนวนเชื้อที่ขึ้นในหน่วยของ CFU หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้ไป Streak จนกลายเป็น pure culture เพื่อหาชนิดเชื้อแต่ละชนิดต่อไป



ภาพที่ 8 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย

ที่มา: Gabriel (2005)

การย้อมแกรมจะทำเพื่อดูลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียที่ต้องการศึกษา เพื่อจำแนก และแบ่งโดยปกติกลุ่มของแบคทีเรีย ซึ่งการจัดจำแนกแบคทีเรียตาม Buchanan (1957) มีลักษณะตามตารางที่ 11 โดยแบคทีเรียที่ติดสีม่วงคือแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียที่ติดสีแดง คือแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้สำหรับแบคทีเรียบางชนิดที่มีการสร้างสปอร์การย้อมแกรมก็สามารถเห็นลักษณะของสปอร์ที่มาจากแบคทีเรียชนิดนั้นๆได้เช่นกัน โดยหากเป็นกลุ่มแบคทีเรียจำพวก *Clostridium* spp. จะติดสีม่วงซึ่งเป็นแกรมบวก และสามารถสามารถดูลักษณะของสปอร์ โดยตำแหน่งของสปอร์จะมีลักษณะแตกต่างกันตามสปีชีส์ของจุลินทรีย์ คือ กลางเซลล์ ค่อนปลายเซลล์ และปลายเซลล์

ตารางที่ 11 Divisions ของ Procareyotae

Divisions	ชนิดของผนังเซลล์ (Type of cell wall)
Firmicutes	Gram Positive
Gracilicutees	Gram Negative
Tenericutes	No rigid cell wall

ที่มา: ดวงพร (2537)

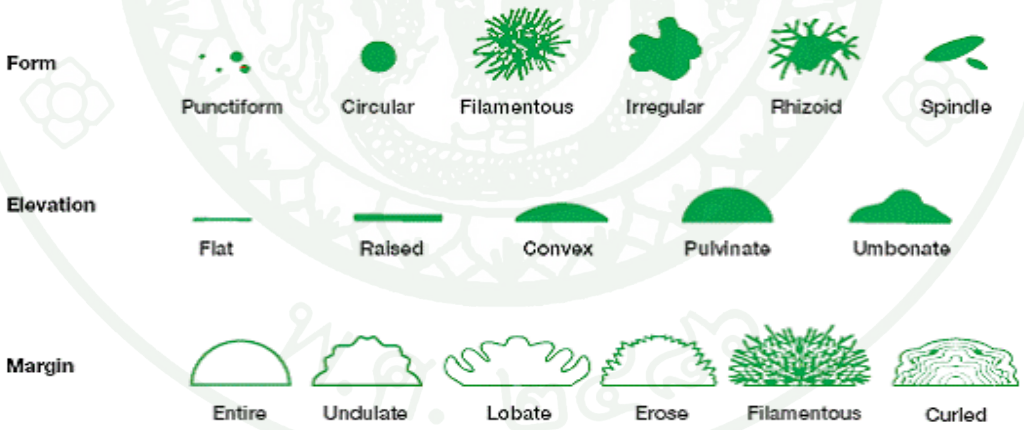
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.2 ลักษณะทางกายภาพและชีวภาพ (Physiological and biochemical properties)

ดวงพร (2534) กล่าวว่า สภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่นอุณหภูมิ, แสง, ความเป็นกรด-ด่าง, ความต้องการใช้สารเคมี หรือแก๊สบางชนิด โดยสามารถจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรียได้ดังนี้ แบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีออกซิเจน เรียกว่า Aerobic bacteria ถ้าไม่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีออกซิเจนเรียกว่า Anaerobic bacteria และแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งสองสภาวะคือ Facultative bacteria หรือหากเจริญได้ในที่ที่มีออกซิเจนน้อยเรียกว่า Microaerophilic bacteria

5.3 ลักษณะการเจริญบนอาหารที่เพาะเลี้ยงเชื้อ (Culteral characteristic)

จากเซลล์หนึ่งเซลล์เจริญรวมกันเป็นก้อนเรียกว่าโคโลนี (Colony) จนสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ทำให้สามารถศึกษาลักษณะของเชื้อโคโลนี เช่น ความมัน ใส ขุ่น ทึบ ให้รงควัตถุเป็นเม็ดละเอียด หรือหยาบ ขอบเขตการเจริญ เรียบหรือขรุขระ เมือก หรือแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 9



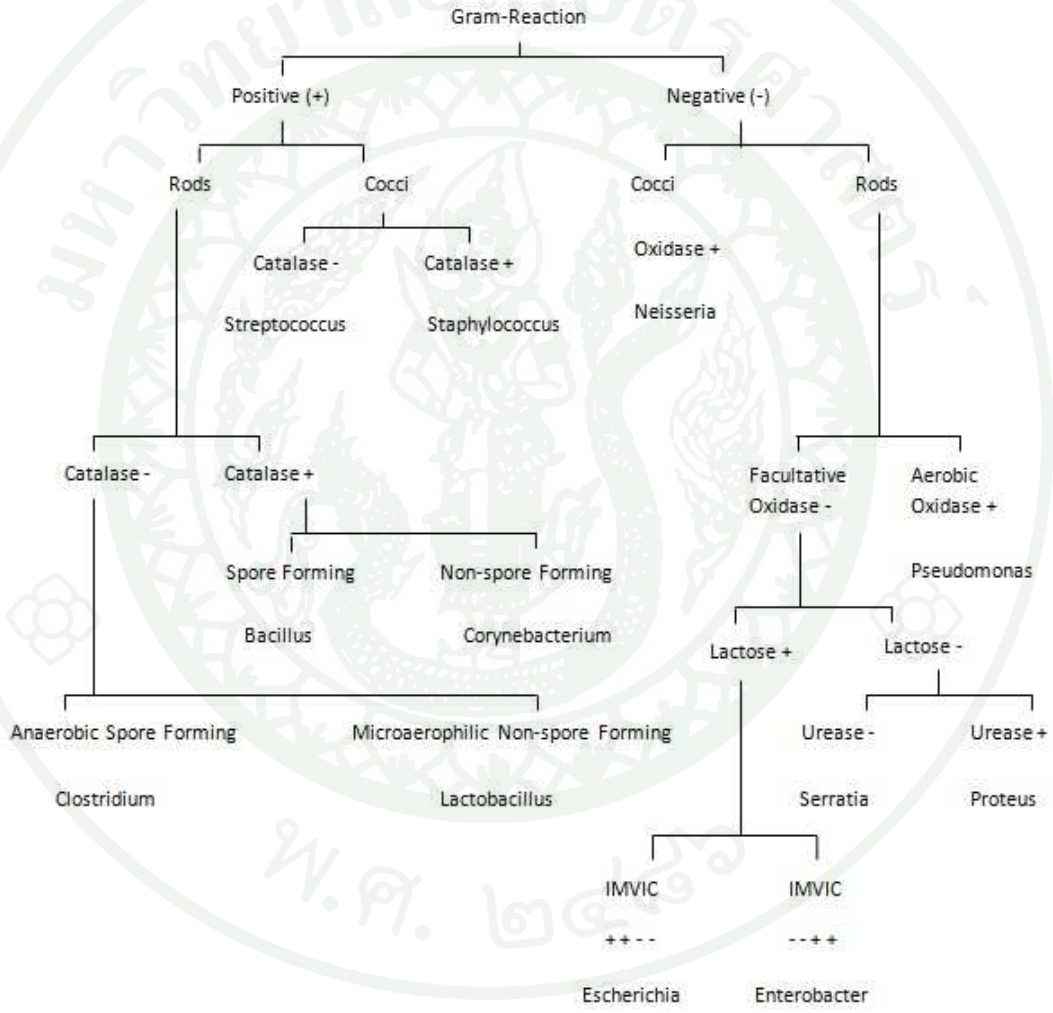
ภาพที่ 9 ลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง

ที่มา: Prescott (2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.4 คุณสมบัติของกระบวนการเมทาบอลิซึม หรือคุณสมบัติทางชีวเคมี (Metabolic or Biochemical characteristic)

ชีวเคมีเป็นวิธีการทดสอบ เพื่อแบ่งแยกลักษณะของแบคทีเรียตามกระบวนการหรือลักษณะการดำรงชีวิต เช่น การย่อยสลาย, การเคลื่อนที่ และการสร้างสาร เป็นต้น การวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมีที่มีความรวดเร็ว และน่าเชื่อถือ ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แผนผังการเทียบเคียงทางชีวเคมีของแบคทีเรีย

ที่มา: ดวงพร (2537)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับ Obligate (Strict) anaerobes ไม่ผลิตเอนไซม์ catalase และ cytochrome oxidase ทำให้สามารถใช้ออกซิเจนรับอิเล็กตรอนในการหายใจแบบใช้ออกซิเจน หรือขาดเอนไซม์ superoxide dismutase ทำให้มีการสะสมของ superoxide anion, peroxide anion เกิดขึ้น การเพาะเชื้อจึงจำเป็นต้องทำในสภาพบรรยากาศที่มีค่า Eh ต่ำ เช่น thiglycolate medium, cooked meat medium หรือเพาะเชื้อใน anaerobic incubator หรือ anaerobic jar ที่มีการดึงออกซิเจนออก (นันทนา, 2549)

Clostridia เป็นหนึ่งใน genera ที่ใหญ่ที่สุด ของโปรคาริโอตโดยตัดสินจากพื้นฐาน 4 ข้อคือ

1) สามารถฟอร์ม endospore
2) ต้องสร้างพลังงานจากการเมทาบอลิซึม
3) ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาของซัลเฟต และ
4) ผนังเซลล์ต้องเป็นแกรมบวก (Jo *et al*., 2008)

ในการทดสอบ Clostridia คือ Carbohydrate fermentation, Gelatin hydrolysis และ Indole formation (Kaufman,1960)

5.5 ลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic Characteristics)

เป็นการจำแนกที่สมบูรณ์ที่สุดควรจะศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรม เพื่อการจัดจำแนกแบคทีเรียให้ใกล้เคียงกับระบบธรรมชาติมากที่สุด ดังตารางที่ 10 ซึ่งปัจจุบันการเปรียบเทียบลำดับเบส เป็นวิธีการที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากโปรคาริโอตสามารถวินิจฉัยด้วยวิธี FISH หรือ Fluorescence In *situ* Hybridization โดย ไม่ต้องมีการเพาะเลี้ยงเชื้อ เทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่มีความน่าเชื่อถือ และสามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว แต่เทคนิค FISH ก็มีข้อจำกัดในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่สำคัญ (Wagner *et al*., 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุ และอุปกรณ์ ในการวิเคราะห์น้ำเสียทางเคมี
   1.1 กรวยบุชเนอร์ (Buchner Funnel)
   1.2 กรวยแยก (Separatory Funnel)
   1.3 ขวดบ่มเชื้อ/ ขวดบีโอดี (Incubation Bottle/BOD bottle)
   1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)
   1.5 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
   1.6 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง(pH-meter)
   1.7 เครื่องเป่าลม (Pump)
   1.8 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
   1.9 ตู้เพาะบีโอดี 20 องศาเซลเซียส (Air incubator 20° C)
   1.10 ชุดเครื่องมือการกลั่นแอมโมเนีย (Kjeldahl distillation apparatus)
   1.11 ชุดเครื่องมือการย่อยสลาย (Digester)
   1.12 โถดูดความชื้น (Desiccators)
   1.13 ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminum disc)
   1.14 ถ้วยระเหย (Evaporating disc)
   1.15 ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)
   1.16 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
   1.17 หลอดเจลดาห์ล (Kjeldahl flask)
   1.18 หลอดย่อยสลาย (Digestion vessels)
   1.19 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

2. วัสดุและอุปกรณ์ในการคัดแยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียในน้ำเสีย
   2.1 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Duran bottle)
   2.2 จานเพาะเชื้อ (Petri disc)
   2.3 ตะเกียงบุนเสน (Bunsen burner)
   2.4 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

2.6 ปิเปต (Pipette)

2.7 ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic Pipette aid)

2.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

2.9 ห่วงถ่ายเชื้อ/ เข็มเขี่ยเชื้อ/ แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (Loop/Needle/Spreader)

2.10 หลอดทดลอง (Test tube)

2.11 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

2.12 Cooked Meat Medium (Buchanan, 1957)

2.13 Reinforced Clostridial Medium; RCM (Atlas, 2005)

2.14 Reinforced Clostridial Broth (Atlas, 2005)

2.15 ถังเพาะเชื้อ (Lock and Lock) (นรีรัตน์, 2552)

2.16 Gaspak (นันทนา, 2549)

3. วัสดุและอุปกรณ์แบบจำลองระบบบำบัดน้ำเสียเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ (Batch Reactor)

3.1 แบบจำลองเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ (Batch Reactor Lab-scale)

3.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.3 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Duran bottle)

3.4 ห่วงถ่ายเชื้อ/ เข็มเขี่ยเชื้อ/ แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (Loop/Needle/Spreader)

3.5 ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic Pipette aid)

3.6 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

3.7 หลอดทดลอง (Test tube)

3.8 Reinforced Clostridium Broth

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

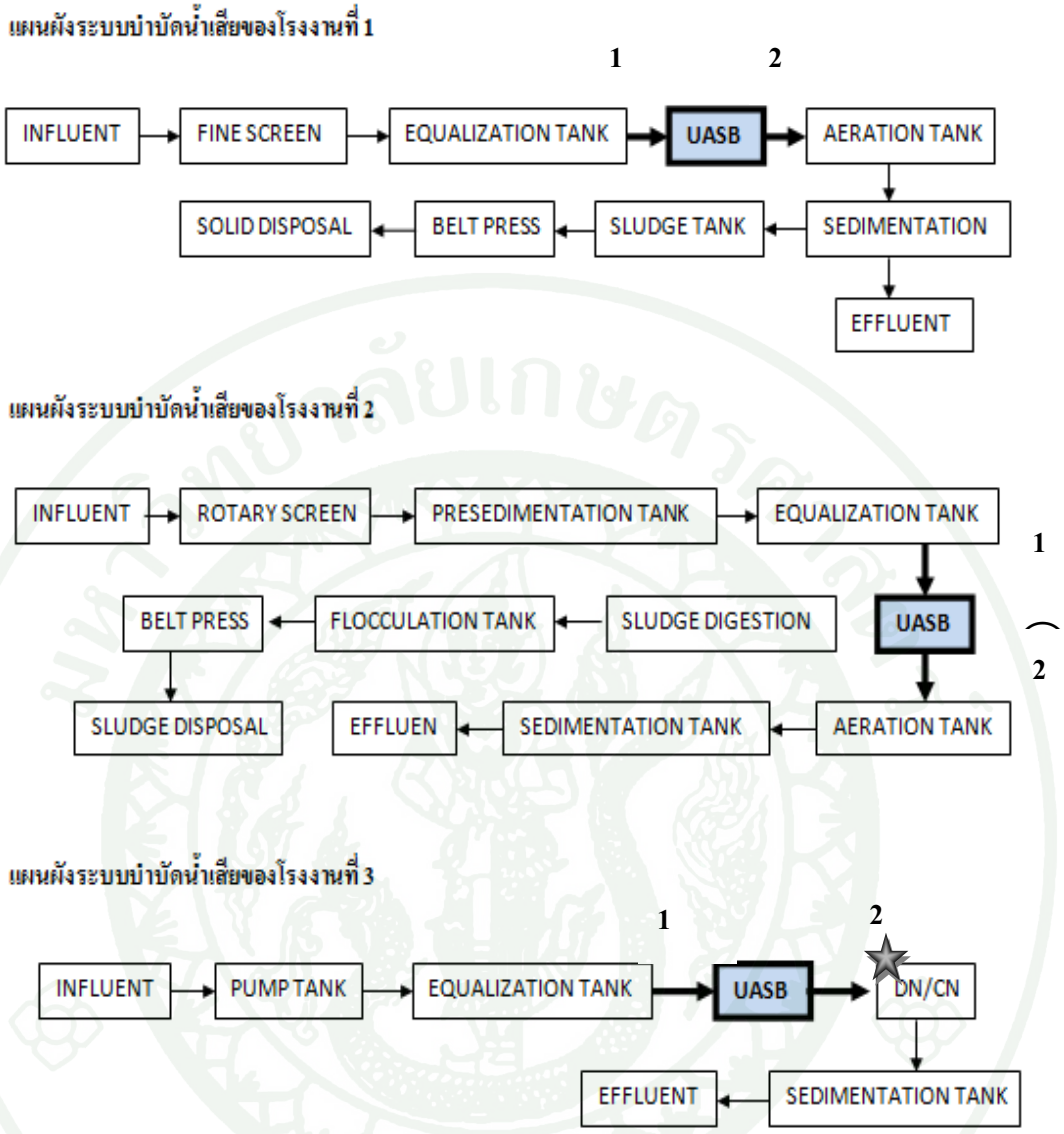
วิธีการ

1. การวิเคราะห์น้ำเสียทางเคมี

โรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่างมีระบบบำบัดน้ำเสียของ ที่ประกอบด้วย จุดรวมน้ำเสียที่มีตะแกรง และถังดักไขมันเป็นระบบบำบัดเบื้องต้น (Pre-treatment) ระบบปรับเสถียร และระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน คือระบบ UASB และต่อด้วยระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน คือระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ซึ่งเป็นระบบบำบัดขั้นที่ 2 (Secondary Treatment) และบ่อตกตะกอนก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่าง 3 แห่ง ที่ใช้ในการศึกษาตั้งอยู่ที่จังหวัดสมุทรสาคร มีส่วนประกอบของระบบดังภาพที่ 11

น้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน ส่วนใหญ่เป็นน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอาทิ เช่น การล้างวัตถุดิบ การแช่วัตถุดิบ และการล้างอุปกรณ์ในการผลิต เป็นต้น ซึ่งก่อนที่น้ำจะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแต่ละขั้นตอน น้ำเสียทั้งหมดจะต้องผ่านถังปรับเสถียร (EQ; Equalization Tank) ซึ่งมีหน้าที่ในการรองรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตให้มารวมกัน ก่อนที่จะเข้าสู่ระบบบำบัดแต่ละขั้นตอนต่อไป นอกจากนี้บ่อปรับเสถียรยังมีส่วนช่วยในการปรับอุณหภูมิของน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำให้เข้าสู่อุณหภูมิปกติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 กระบวนการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานตัวอย่าง

หมายเหตุ 1 และ 2 น้ำเสียก่อนเข้าระบบ UASB และน้ำเสียที่ออกจากระบบ UASB นำมาวิเคราะห์ทางเคมี ประกอบด้วยพารามิเตอร์ดังนี้ pH, BOD, COD, TKN, TP, SS และ Oil & Grease ส่วนน้ำเสียภายในระบบ UASB นำมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา และชีวเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1 วิธีการเก็บน้ำเสีย

เก็บน้ำเสียจากจุดน้ำเข้า และออกจากระบบบำบัด UASB และเก็บภายในระบบ UASB โดยการเก็บน้ำเพื่อวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางเคมีเก็บใส่ขวดพลาสติกขนาด 1.5 L การเก็บน้ำเพื่อวิเคราะห์ไขมันเก็บใส่ขวดแก้วขนาด 180 ml และการเก็บน้ำเพื่อวิเคราะห์จุลินทรีย์เก็บใส่ขวดที่ห่อพลาสติกสีดำขนาด 350 ml และเก็บเต็มขวด โดยเก็บน้ำจำนวน 3 ตัวอย่างต่อเดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน

1.2 การหาค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสีย

พารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสีย เป็นตัวบ่งชี้ให้เห็นถึงคุณลักษณะของน้ำเสีย ไม่ว่าจะเป็นน้ำเข้า หรือน้ำออก ทั้งนี้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจนสามารถเป็นน้ำออก ที่ปล่อยลงสู่แม่น้ำได้แล้วนั้นจะมีข้อกฎหมายเป็นตัวบังคับโดยปกติค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสีย ที่รู้จักกันเป็นอย่างดีคือ ค่า BOD และค่า COD ซึ่งค่าทั้งสองชนิด เป็นค่าที่เกี่ยวกับปริมาณสารอินทรีย์ และปริมาณสารอนินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียนั้นๆ ตามลำดับ แต่ยังมีค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียอีกหลายค่าที่สามารถบ่งชี้ได้ถึงคุณลักษณะของน้ำเสียเหล่านั้น โดยวิธีการวิเคราะห์ของพารามิเตอร์ทางน้ำเสียต่างๆ ตาม Standard Method for the Examination of Water and Wastewater 20th (APHA *et al*., 1998) ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 พารามิเตอร์ และวิธีการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
COD	วิธีฟลักซ์ปิดแบบไตเตรชัน (Closed Flux Titration)
BOD	วิธีวิเคราะห์บีโอดีแบบตรง (Direct BOD)
pH	วิธีไฟฟ้า (Electrometric Method)
TKN	ทีเคเอ็น (TKN; Total Kjeldahl Nitrogen)
TP	วิธีกรดแอสคอร์บิค (Ascorbic Acid Method)
Oil & Grease	วิธีสกัดด้วยกรวยแยก (Partition Gravimetric Method)
SS	วิธีการวิเคราะห์ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids)

ที่มา : มั่นสิน (2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การคัดแยก และจำแนกเชื้อแบคทีเรียในน้ำเสีย

2.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

2.1.1 การเพาะเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ Reinforced Clostridium Medium

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียด้วย Reinforeced Clostridium Medium; RCM ด้วยการ spread plate ที่ dilution ต่างๆ เพื่อหาจำนวนของแบคทีเรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจนที่สามารถเจริญเติบโตได้มากที่สุด ห่อด้วยพาราฟิล์ม และเก็บในภาชนะที่ไม่มีออกซิเจน ในที่นี้จะเก็บในถังที่ใส่ Gaspak เพื่อทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.1.2 การเพาะเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ Cooked Meat Medium

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียด้วย Cooked meat Medium ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *Clostridium* spp. และกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจาก Cooked meat medium เป็นอาหารเหลว การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียจะทำในหลอดทดลองที่มีฝาปิด และปิดด้วยพาราฟิล์มเพื่อป้องกันออกซิเจน บ่มเพาะนาน 7 วัน สังเกตความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ (นันทนา, 2549) หลังจากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนจานเพาะเชื้อด้วย Reinfored Clostridium medium เพื่อหาจำนวนของแบคทีเรียที่เกิดขึ้น ด้วยการ spread plate dilution ต่างๆ เหมือนข้อ 2.1.1. แต่เปลี่ยนจากน้ำเสียเป็นของเหลวจากอาหาร Cooked meat medium ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ จะสามารถเกิดแบคทีเรียได้หลายชนิด ซึ่งจะสามารถจำแนกแบคทีเรียได้ยาก ดังนั้นหลังจากที่ Spread plate เพื่อหาจำนวนของแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตบนจานเพาะเชื้อแบคทีเรียมีจำนวนมากที่สุด เลือกแบคทีเรียดังกล่าวมา Streak บนจานเพาะเชื้อ Reinforced Clostridium Medium เพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์ก่อนนำไปแยกกลุ่ม และหมวดหมู่ของแบคทีเรียต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1.3 การทำเชื้อแบคทีเรียให้บริสุทธิ์

เชื้อแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อมมีหลายชนิด ทำให้การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อมีความหลากหลาย เพื่อเป็นการแยกชนิด และลักษณะของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดการสังเกตเชื้อที่เกิดขึ้นในจานเชื้อ

การพิจารณาลักษณะของโคโลนีของแบคทีเรียแต่ละชนิดทางกายภาพจะมีความแตกต่างกัน โดยการพิจารณารูปร่าง ลักษณะต่างๆ อาศัยการเทียบเคียง พิจารณารูปร่างลักษณะ และสีของโคโลนีแต่ละชนิด โดยสามารถคัดแยกลักษณะภายนอกของโคโลนีตามภาพที่ 9 ซึ่งการคัดเลือกเชื้อที่มีลักษณะแตกต่างกันในแต่ละจานเลี้ยงเชื้อจึงทำให้สามารถแบ่งแยกเบื้องต้น

เขี่ยกลุ่มเชื้อจาก Cooked Meat Medium ลงใน Reinforced Clostridial Medium เพื่อพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพของโคโลนีของแบคทีเรียที่พบบนจานเพาะเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจาก Selective Agar เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มนั้นๆ ใช้ในการเจริญเติบโต แต่จะมีความหลากหลายของลักษณะโคโลนีปรากฏอยู่ เพื่อเป็นการแยกลักษณะโคโลนีอย่างชัดเจนการเลี้ยงแบบ Subculture จะทำให้แบ่งแยกชนิดของแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น

2.2 การแยกกลุ่มหรือหมวดหมู่ของกลุ่มจุลินทรีย์โดยใช้วิธีการทางชีวเคมี (R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, 1957)

2.2.1 ย้อมแกรม (Gram's reaction)

การย้อมแกรมจะทำเพื่อดูลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียที่ต้องการศึกษาเพื่อจำแนก และแบ่งโดยปกติกลุ่มของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่ติดสีม่วงคือแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียที่ติดสีแดง คือแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้สำหรับแบคทีเรียบางชนิดที่มีการสร้างสปอร์การย้อมแกรมก็สามารถเห็นลักษณะของสปอร์ที่มาจากแบคทีเรียชนิดนั้นๆได้เช่นกัน โดยหากเป็นกลุ่มแบคทีเรียจำพวก *Clostridium* spp. จะติดสีม่วง ซึ่งเป็นแกรมบวก และสามารถสามารถดูลักษณะของสปอร์ โดยตำแหน่งของสปอร์จะมีลักษณะแตกต่างกันตามสปีชีส์ของจุลินทรีย์ คือ กลางเซลล์ ค่อนปลายเซลล์ และ ปลายเซลล์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.2 การทดสอบแคคตาเลส (Catalase Test)

การทดสอบเอนไซม์ Catalase เพื่อศึกษาดูความสามารถของแบคทีเรียในการสลาย H_2O_2 โดยเอนไซม์ Catalase ถ้าได้จะทำให้เกิดฟองแก๊สขึ้น ซึ่งเป็นแก๊ส O_2

2.2.3 การทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test)

การทดสอบ Oxidase ใช้มากในการจัดจำแนกสกุลของแบคทีเรียแกรมลบโดยผลบวกจะเกิดสีน้ำเงินอย่างรวดเร็วภายใน 2 นาที ส่วนผลลบจะไม่เกิดปฏิกิริยาใดๆ

2.2.4 การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility Test)

เพื่อตรวจสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียบางชนิดจะมี Flagella ที่สามารถทำให้แบคทีเรียสามารถเคลื่อนที่ได้

2.2.5 การทดสอบการหมักน้ำตาลกลูโคส

แบคทีเรียที่มีการย่อยน้ำตาลมีหลายชนิด และน้ำตาลที่แบคทีเรียสามารถย่อยได้ก็มีกลายชนิดเช่นกัน ทั้งนี้แบคทีเรียบางชนิดสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคส โดยจะเปลี่ยนจากน้ำตาลกลูโคสเป็นกรด

3. แบบจำลองถังปฏิกรณ์แบบกะ (Batch Reactor)

Lab-scale แบบ Batch Reactor ใช้ในการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในโรงงาน โดยเพิ่มจุลินทรีย์แบบ Bioaugmentation ซึ่งเป็นการเพิ่มจุลินทรีย์จากภายนอกพื้นที่มาเติมลงในพื้นที่ที่ต้องการบำบัดสารปนเปื้อน รวมทั้งปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะแก่การเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ (Mohan *et al*., 2007) โดยทดลองระดับปฏิบัติการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 12 ตัวอย่างระบบบำบัดน้ำเสียถังปฏิกรณ์แบบกะ (Batch Reactor Lab-scale)

วิธีการทดลองหาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่พบจากการคัดแยกเบื้องต้นในระดับปฏิบัติการ เป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อดูความสามารถในการบำบัดน้ำเสียหากเพิ่มแบคทีเรียชนิดเด่นลงไปในน้ำเสีย

โดยถังปฏิกรณ์จะใช้ขวดแก้ว ขนาด 600 ml (เจาะรูที่ฝา เพื่อใช้ในการเก็บน้ำตัวอย่างมาทดสอบค่า COD) จำนวนขวดแก้วที่ใช้ตามจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่พบมากที่สุด และแบคทีเรียที่ใช้ในการควบคุมจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย; วว. ตามชนิดของแบคทีเรียที่พบ ชนิดละ 3 ขวด และน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งจำนวน 400-500 ml เป็นน้ำเสียตัวอย่างในการทดลอง

นำแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยง และเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากการคัดแยกและจำแนกแบคทีเรียมาบ่มเพาะใน Reinforced Clostridium Broth จนแบคทีเรียมีค่า OD_{600} เท่ากับ 0.5-1 โดยปริมาณน้ำเสียต่อแบคทีเรียคือ 95:5 (นรีรัตน์, 2552) เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากการทดลองด้วยถังปฏิกรณ์แบบกะในช่วงเวลา 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง ตามค่า HRT การออกแบบถังปฏิกรณ์ UASB กำหนด 4-20 ชั่วโมง (Tchobanoglous *et al*., 2004) โดยเก็บน้ำเสียจากถังปฏิกรณ์แต่ละถังๆละ 3 ซ้ำ เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่า COD

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองด้วยถังปฏิกรณ์แบบกะ แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบดังนี้

3.1 การทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพ และระยะเวลากักเก็บของน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เป็นการทดลองที่ใช้น้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งโดยตรง ซึ่งเก็บจากน้ำเสียก่อนเข้าระบบ UASB

3.2 การทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพ และระยะเวลากักเก็บ โดยใช้น้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เป็นการทดลองโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งเช่นเดียวกับข้อ 3.1 แต่จะนำน้ำเสียไปฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยการ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi เป็นระยะเวลา 15 นาที ซึ่งทำให้น้ำเสียเกิดสภาวะปลอดเชื้อ (สันทัด, 2549) และทำให้สามารถศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เติมเข้าสู่ระบบได้มากยิ่งขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. ผลการวิเคราะห์น้ำเสียทางเคมี

ลักษณะน้ำเสียของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งที่ใช้ในการศึกษาเป็นน้ำเสียที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียขั้นที่สอง ที่ผ่านการบำบัดในกระบวนการบำบัดขั้นต้นมาแล้ว แต่ยังคงมีสารแขวนลอยและสารอินทรีย์ทั้งที่ละลายน้ำ และไม่ละลายน้ำเหลืออยู่ โดยทั่วไประบบบำบัดขั้นที่สองจะเป็นระบบบำบัดทางชีวภาพ ที่อาศัยจุลินทรีย์ในการทำงานภายใต้การควบคุมทางกายภาพ อาทิเช่น pH, อุณหภูมิ และปริมาณสารอินทรีย์ เป็นต้น การบำบัดน้ำเสียขั้นนี้สามารถกำจัดสารแขวนลอยและสารอินทรีย์ซึ่งวัดได้ในรูปของ BOD มากกว่าร้อยละ 80

น้ำเสียที่เข้าระบบบำบัดของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่างมาจากกระบวนการผลิต เช่นน้ำเสียจากการแช่แข็ง, น้ำล้างวัตถุดิบ และน้ำเสียที่เกิดการล้างผลิตภัณฑ์ เป็นต้น โดยที่น้ำเสียจากกระบวนการผลิตจะถูกรวบรวมที่บ่อปรับเสถียร เพื่อเป็นการกักเก็บน้ำ และพักน้ำ เนื่องจากน้ำเสียที่มาจากกระบวนการผลิตอาหารทะเลแช่แข็งจะมีอุณหภูมิต่ำ บ่อปรับเสถียรจะทำหน้าที่ปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมกับระบบบำบัด หลังจากนั้นน้ำจะเข้าสู่ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน คือถังปฏิกรณ์ UASB และเข้าสู่ระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจน คือถังปฏิกรณ์ Activated Sludge และถังตกตะกอน ก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติต่อไป

ในการศึกษาระบบบำบัดน้ำเสีย ผู้วิจัยทำการศึกษาคุณลักษณะน้ำก่อนเข้าระบบ UASB และน้ำที่ออกจากระบบ UASB เพื่อศึกษาคุณลักษณะน้ำเสียหลังจากการบำบัดโดยระบบไม่ใช้ออกซิเจน หรือระบบ UASB โดยนำน้ำที่กล่าวข้างต้นมาวิเคราะห์คุณภาพของน้ำทางกายภาพและเคมี พบว่าค่าที่ได้ของแต่ละพารามิเตอร์แตกต่างกันดังตารางที่ 13, 14, 15 และ 16

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB โรงงานที่ 1

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

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในโรงงานที่ 1 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.64 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย ที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 13 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 38.07, 10.7, 4.75, 30.25, -23.35 และ 83.5 ตามลำดับ

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB โรงงานที่ 2

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

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในโรงงานที่ 2 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.86 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 14 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 17.95, -98.5, 13.95, -8.77, 13.65 และ -414.95 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 ประสิทธิภาพการบำบัดของน้ำเสียในถัง UASB โรงงานที่ 3

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

ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีตามประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียในถัง UASB ในโรงงานที่ 3 พบว่าระบบมีค่า pH โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6.46 และประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย ที่ศึกษาจากพารามิเตอร์ทางเคมีดังตารางที่ 15 ของ BOD, COD, T-P, TKN, O&G และ SS โดยเฉลี่ยร้อยละ 26.53, -136.3, -83.37, -147.52, -46.23 และ-1,106.25 ตามลำดับ

จากกค่าพารามิเตอร์ในตารางที่ 13, 14 และ15 พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียบางพารามิเตอร์มีค่าติดลบ ซึ่งหมายถึงระบบไม่มีประสิทธิภาพในการทำงาน แต่ทั้งนี้การติดลบของประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียเกิดจากข้อจำกัดในการเก็บน้ำ เนื่องจากระบบบำบัดของโรงงานที่ 3 ไม่มีส่วนที่สามารถเก็บน้ำหลังจากที่น้ำออกจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน หรือ UASB ทำให้ต้องเก็บน้ำในระบบ DN/CN ดังภาพที่ 11 ซึ่งเป็นระบบที่ต่อจากระบบ UASB ทำให้ค่าน้ำที่เป็นตัวแทนน้ำที่ได้จากการบำบัดในระบบ DN/CN ไม่สามารถเป็นตัวแทนที่ดีของค่าน้ำที่ออกจากระบบบำบัด UASB ได้ เนื่องจากในระบบ DN/CN เปรียบเสมือนระบบ Anoxic ซึ่งเป็นอีกกระบวนการบำบัดอีกขั้นตอนที่ไม่ได้เกิดจากการบำบัดน้ำเสียจากระบบ UASB

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 ลักษณะน้ำเข้า และน้ำออกเฉลี่ยจากระบบ UASB ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง

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

จากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากตารางที่ 13, 14 และ 15 ดังค่าพารามิเตอร์ทางเคมี pH, BOD, COD, TKN, TP, Oil& Grease และ SS พบว่า ค่า pH ไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับน้ำก่อนเข้าระบบบำบัด UASB และออกจากระบบ UASB โดยช่วงค่า pH ของน้ำเข้าของโรงงานดังตารางที่ 16 ที่แสดงลักษณะน้ำเข้า และน้ำออกจากระบบ UASB อยู่ระหว่าง 6.53-7.25 ซึ่งมีแนวโน้มต่ำกว่าค่า pH ที่ใช้ในการออกแบบมีค่าอยู่ระหว่าง 6.3-7.8 Habeeb *et al.* (2010) แต่ Tchobanoglous *et al.* (2004) กล่าวว่า pH ควรมีค่าใกล้เคียง 7 ทั้งนี้ สันทัด (2549) กล่าวว่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด และแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทนมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-7.8 ซึ่งอยู่ในช่วงของ ค่า pH ของน้ำเสียที่เป็นน้ำเข้าของโรงงานที่ใช้ในการศึกษา นอกจากนี้ สันทัด (2549) ยังกล่าวอีกว่า ถึงแม้ว่าไม่สามารถควบคุมให้จุลินทรีย์แต่ละกลุ่มเจริญเติบโต และแสดงประสิทธิภาพได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ แต่ค่า pH ที่อยู่ในช่วงดังกล่าวจะสามารถทำให้จุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มเจริญเติบโตอยู่ได้ และทำหน้าที่ในการบำบัดสารอินทรีย์เพื่อให้ได้ก๊าซมีเทน ทั้งนี้หากค่า pH ต่ำกว่าช่วงดังกล่าวจะเป็นผลโดยตรงกับแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน และทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียลดลงได้ สำหรับค่า BOD มีค่าลดลงโดยเฉลี่ยของแต่ละเดือนของแต่ละโรงงานประมาณร้อยละ 27 แต่หากพิจารณาประสิทธิภาพโดยเฉลี่ยของแต่ละโรงงานพบว่าโรงงานที่ 1 มีประสิทธิภาพในการบำบัด BOD มากที่สุดคือ ร้อยละ 37 ลำดับต่อมาคือโรงงานที่ 3 ร้อยละ 26 และโรงงานที่ 2 ร้อยละ 18 ดังตารางที่ 13, 14 และ 15 ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการบำบัดของระบบ UASB เป็นการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ควรบำบัดได้มากกว่าร้อยละ 80 ซึ่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ควรมีค่า BOD:N:P ประมาณ 100:1.1:0.2 ซึ่งพบว่าค่า BOD:N:P ของระบบที่ใช้ในการศึกษามีค่าเท่ากับ 5.82:1:1.69 ซึ่งค่าของฟอสฟอรัสมากเกินไป และมีค่าไนโตรเจนน้อยเกินไป ทั้งนี้การที่ธาตุอาหารไม่สมบูรณ์จะมีผลให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียไม่สมบูรณ์ (สันทัด, 2549) ซึ่งอาจเป็นผลที่ทำให้เกิดการย่อยสลายของ BOD น้อยลง ส่วนค่า COD ไม่มีค่าลดลง แต่กลับมีค่าเพิ่มขึ้นสำหรับน้ำที่ออกจากระบบ UASB ใน บางเดือน ทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดมีค่าติดลบดังตารางที่ 13 ,14 และ 15 อาจมีผลมาจากกระบวนการผลิตที่เพิ่มมากขึ้น เพราะน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัดเป็นน้ำเสียที่มาจากกระบวนการผลิตอาหารทะเล และกรมโรงงานอุตสาหกรรม (2551) กล่าวว่าการผลิตอาหารทะเลมีการใช้คลอรีนผสมกับน้ำใช้ในกระบวนการผลิต โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ซึ่งคลอรีนที่เติมลงไปนั้นช่วงแรกจะทำปฏิกิริยากับสารอนินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ หลังจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์และสารประกอบไนโตรเจนเกิดเป็น Combined chloride residual และเหลือเป็น Free chloride residual โดยที่ Free chloride residual จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณคลอรีนที่เติมลงไป ซึ่งทำให้น้ำเสียมีคลอไรด์มากกว่ากระบวนการผลิตในช่วงเดือนปกติ ซึ่งคลอไรด์มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัด(กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2551) ของระบบค่าพารามิเตอร์ทางเคมี T-P โดยจะทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอสฟอรัสลดลง และยังทำให้ประสิทธิภาพของ COD มีค่าลดลง (Chon *et al*., 2007) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ต้องปรับตัวให้มีความเคยชินกับสภาพที่มีคลอไรด์สูงซึ่งจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถปรับสภาพได้อาจตาย และถูกย่อยสลายไป (ณัฏฐริกา , 2550) นอกจากนี้ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงมากกว่า 2.0 M จะทำให้กลุ่มประชากร methanogens น้อยลง (Joseph and Frederick, 1992) ซึ่งผลที่ตามมาคือการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นหน้าที่ของแบคทีเรีย methanogens ทั้งนี้ระบบบำบัดควรมีธาตุอาหารเสริมสำหรับแบคทีเรียคือมีค่า COD:N:P ซึ่งเป็นอัตราส่วนอาหารเสริมสร้างที่ต้องเติมให้กับระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน เพราะอัตราส่วนเสริมที่ต่ำมาก สามารถชี้ให้เห็นอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะต่ำมาก เมื่อเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจน (สันทัด, 2549) โดย Tchobanoglous *et al*. (2004) แนะนำให้มีค่า COD:N:P ตอนเริ่มเดินระบบเท่ากับ 300:5:1 ในขณะที่หากมีการเดินระบบไปแล้วค่า COD:N:P ควรจะมีค่าเท่ากับ 600:5:1 แต่ค่า COD:N:P ขณะเดินระบบกลับมีค่าเท่ากับ 8.53:1:1.69 ซึ่งตรงข้ามกับค่า BOD ที่มีค่าลดลง เนื่องจากในน้ำเสียมีสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ยากอยู่มาก ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถ และความต้องการในการผลิตที่มีลักษณะสูงขึ้นในเดือนนั้นๆ ในส่วนค่า TKN และ T-P มีค่าลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกันมากระหว่างน้ำก่อนเข้าระบบ UASB และออกจากระบบ UASB โดย Elmitwalli *et al*. (2007) กล่าวว่า เมื่อใช้ระบบ UASB เพื่อบำบัดน้ำที่มาจากการทำความสะอาดภายใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บ้านเรือนจะสามารถบำบัด TKN และ T-P ได้เพียง 23-36% และ 10-24% ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Terek and Ralf (2007) ที่กล่าวไว้เช่นกันว่าการบำบัดน้ำเสียจากการทำความสะอาดภายในบ้านมีประสิทธิภาพในการบำบัด TKN และ T-P 22-30% และ 15-21% ตามลำดับ อีกทั้ง สุจินดา และคณะ (2547) พบว่าความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมประมงด้วยระบบ UASB สามารถบำบัด TKN และ T-P ได้เพียง 17.51% และ 24.64% ตามลำดับ นอกจากนี้ระบบไม่สามารถบำบัดไขมัน เพราะไขมันควรถูกบำบัดในระบบบำบัดน้ำเสียตั้งแต่ขั้นแรก จากตารางที่ 13, 14 และ 15 มีค่า Oil &Grease ติดลบ อาจเกิดจากการบำบัดในขั้นตอนแรกไม่สามารถบำบัดได้ดีเท่าที่ควร สังเกตได้จากตัวอย่างมีคราบไขมันเกิดขึ้นเมื่อตั้งทิ้งไว้ จึงส่งผลให้มีไขมันผ่านเข้ามาในการบำบัดขั้นที่ 2 ส่วนค่า SS ดังตารางที่ 14 และ15 มีค่าติดลบเนื่องจากเป็นผลต่อเนื่องของระบบบำบัดที่มีค่า BOD:N:P ไม่เหมาะสม ทำให้เกิดมวลสารปริมาณมากขึ้นตามมา ประกอบกับเกิดข้อจำกัดในการเก็บน้ำเสีย เนื่องจากไม่มีท่อที่สามารถเก็บน้ำเสียสำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียของระบบ UASB ทำให้ต้องเก็บน้ำเสียที่อยู่ในระบบ DN/CN ซึ่งทำให้เกิดคลาดเคลื่อนของค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียที่ออกจากระบบบำบัด UASB

2. ผลการคัดแยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียในน้ำเสีย

การคัดแยก และการจำแนกเชื้อแบคทีเรียในจากน้ำเสียจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง โดยการวิเคราะห์จากน้ำเสียที่อยู่ภายในระบบ UASB พบว่าลักษณะน้ำเสียของแต่ละโรงงานมีลักษณะตะกอนที่แตกต่างกัน และพบว่าโรงงานที่มีลักษณะของตะกอนเป็นเม็ดตะกอนมีเพียงโรงงานที่ 2 ส่วนโรงงานที่ 1 ลักษณะของตะกอนจะเหมือนโคลน และโรงงานที่ 3 มีตะกอนขนาดเล็กมาก ทั้งนี้โรงงานที่ 1 และ โรงงานที่ 2 จะเก็บน้ำด้านล่างระบบ UASB ซึ่งเป็นบริเวณที่มีตะกอนอยู่ ส่วนโรงงานที่ 3 เก็บน้ำจากด้านบนของระบบ UASB ซึ่งเป็นผลให้พบตะกอนน้อย เนื่องจากระบบ UASB เป็นระบบที่น้ำไหลขึ้น และจะมีแผ่นกั้นป้องกันไม่ให้ตะกอน หรือสารแขวนลอยหลุดออกมา ซึ่งระบบ UASB จะมีการควบคุมการไหลของน้ำ และป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกิริยาในอัตราที่เหมาะสม เพื่อให้ตะกอนจุลินทรีย์ในถังสามารถเกาะตัวกันเป็นเม็ดตะกอน โดยสุบัณฑิต (2548) กล่าวว่า ซึ่งน้ำที่ไหลขึ้นมาผสมกับจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูปตะกอนจะถูกเลี้ยงให้จับตัวเป็นเม็ดตะกอน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดตะกอนจะมีขนาด 1-2 mm คล้ายกับระบบตะกอนเร่งของการบำบัดแบบใช้ออกซิเจน และตะกอนของจุลินทรีย์ชนิดนี้จะมีสมบัติในการตกตะกอนได้ดี ขณะที่สันทัด (2549) กล่าวว่าขนาดของเม็ดตะกอนส่วนใหญ่จะมีขนาด 1-5 mm การที่ตะกอนของแต่ละโรงงานแตกต่างกัน เนื่องมาจากการป้อนน้ำเข้าสู่ระบบ และอัตราการไหลของน้ำที่ต่างกันหรืออาจมาจากปัจจัยอื่นๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1 ผลจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียด้วย Reinforced Clostridium Medium; RCM

ผลการทดลองจากการนำตัวอย่างน้ำเสียมาเพาะเชื้อแบคทีเรียในอาหาร RCM พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกันดังนี้

ตารางที่ 17 จำนวนแบคทีเรียที่พบแต่ละโรงงาน

โรงงาน	จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียเฉลี่ย (CFU/ml)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
1	2.43×10^{7}	2.54×10^{7}
2	5.12×10^{7}	3.60×10^{7}
3	4.90×10^{7}	2.34×10^{7}

เนื่องจากแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อของแต่ละโรงงานมีจำนวนที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียที่แตกต่างกันของแต่ละโรงงาน แสดงให้เห็นว่าจำนวนแบคทีเรียที่มากขึ้นมีผลต่อค่าพารามิเตอร์ทางเคมีโดยมีแนวโน้มลดลงดังตารางผลการทดลองค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของแต่ละโรงงานตารางที่ 13 และ 14 ของโรงงานที่ 1 และโรงงานที่ 2 ตามลำดับ จากตารางดังกล่าวจะเห็นได้ว่าโรงงานที่ 1 ของการเพาะเชื้อแบคทีเรียครั้งที่ 1 มีเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้น้อยกว่าโรงงานที่ 2 ครั้งที่ 1 และประสิทธิภาพในการบำบัดทางเคมี pH, BOD และ COD มีค่าน้อยกว่าโรงงานที่ 2 เช่นเดียวกันกับในครั้งที่ 2 ของแต่ละโรงงานมีประสิทธิภาพในการบำบัดเป็นไปในแนวทางเดียวกัน คือเมื่อมีจำนวนแบคทีเรียน้อย ประสิทธิภาพในการบำบัดจะน้อยลง เนื่องจากปฏิกิริยา Methanogenesis ที่เป็นปฏิกิริยาหลักของกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะมี Methanogen ที่สามารถทำงานได้ดีในช่วงค่า pH 6.8-9.2 (มั่นสิน, 2542) ในขณะเดียวกัน Chowdhury *et al*., 2010 กล่าวว่า Methanogen จะสามารถทำงานได้ดีในช่วงค่า pH 7-8 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า Methanogen จะสามารถทำงานได้ดีอยู่ในช่วง pH สูงๆ ซึ่งหากเปรียบเทียบค่า pH ของโรงงานที่ 1 และโรงงานที่ 2 พบว่า ค่า pH ของโรงงานที่ 1 มีแนวโน้มต่ำกว่าโรงงานที่ 2 ซึ่งทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้ไม่ดีเท่ากับโรงงานที่ 2 ที่มี pH อยู่ในช่วงค่าที่ Methanogen สามารถทำงานได้ดี นอกจากนี้ อัตราส่วนของ BOD:N:P และ COD:N:P ของโรงงานที่ 1 และโรงงานที่ 2 (ภาคผนวก ง) มีค่าเท่ากับ 7.74:1:2.58, 11:1:2.58, 4.81:1:1.22 และ 7.25:1:1.22 ตามลำดับ โดย BOD:N:P และ COD:N:P ของโรงงานที่ 2 มีสัดส่วนมากกว่าโรงงานที่ 1 แสดงให้เห็นว่าปริมาณอาหาร หรือปริมาณสารอินทรีย์ในระบบบำบัดของโรงงานที่ 2 มากกว่าโรงงานที่ 1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นผลให้มีการเจริญเติบโตมากกว่าโรงงานที่ 1 อีกทั้งโรงงานที่ 2 ยังมีลักษณะตะกอนที่เป็นเม็ดตะกอนสีดำขนาด 1-2 mm ซึ่งต่างจากโรงงานที่ 1 ที่ตะกอนเป็นโคลน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียนอกจากจะมีการออกแบบให้เป็นไปตามเกณฑ์การออกแบบของระบบบำบัดน้ำเสียแล้ว ปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน และแบคทีเรียที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียยังมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และสารต่างๆที่เกิดเป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องกัน จึงควรมีการให้ความสำคัญทั้งในด้านการออกแบบ และการควบคุมปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อระบบบำบัดน้ำเสีย

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อดังกล่าวด้วย RCM ทำให้ทราบว่าลักษณะแบคทีเรียที่พบมากที่สุดแต่ละโรงงาน โดยการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และขนาดของโคโลนีของแบคทีเรียจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสมของแบคทีเรียแต่ละชนิด แต่จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร RCM จากการศึกษามีลักษณะดังต่อไปนี้

ตารางที่ 18 ลักษณะโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้โคโลนีที่เพาะได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM

รหัส	ผลการทดสอบทางชีวเคมี					
	ลักษณะโคโลนี	ติดสีแกรม	รูปร่าง	สร้างสปอร์	แคตาเลส	ออกซิเดส
EB3	กลม สีขาว ขอบเรียบ มันวาว ขนาด 1-2 mm	+	ท่อน	-	+	-
EB4	กลม สีครีม ขอบไม่เรียบไม่มันวาว ขนาด 1-2 mm	+	ท่อน	+	+	+
EB5	สีครีมขาว ขอบเรียบ มันวาว ขนาด 1 mm	+	ท่อน	+	+	-
EB6	กลม สีเหลือง ขอบเรียบ มันวาว ขนาด 0.5-1 mm	+	ท่อน	-	+	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 18 (ต่อ)

รหัส	การทดสอบทางชีวเคมี					
	ลักษณะโคโลนี	ติดสีแกรม	รูปร่าง	สร้างสปอร์	แคตาเลส	ออกซิเดส
EB7	ขอบเรียบ มันวาว ขนาด 1 mm	-	ท่อน	-	+	+
EB8	กลม สีขาวเหลือง ขอบเรียบ มันวาว ขนาด 0.5-1 mm	-	ท่อน	-	+	-

+ ให้ผลบวก = มีสปอร์, Catalase test เกิดฟอง, Oxidase test เกิดสีม่วงภายใน 10 วินาที

- ให้ผลลบ = ไม่มีสปอร์, Catalase test ไม่เกิดฟอง, Oxidase test ไม่เกิดสีม่วงภายใน 10 วินาที

จากผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงด้วย RCM พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก และรูปร่างเป็นท่อน ทั้งนี้พบว่ามีแบคทีเรียสองชนิดที่พบมีการสร้างสปอร์ด้วยการย้อมสีแกรม คือ EB4 และ EB5 โดยไม่ได้มีการย้อมสปอร์ และเนื่องจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์มีสองชนิด คือ *Clostridium* sp. และ *Bacillus* sp. (นันทนา, 2549) โดย *Bacillus* spp. ที่พบในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะมีหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีน , เซลลูโลส, แป้ง หรือไขมัน ซึ่งการพบ *Bacillus* sp. (Gerardi, 2003) ส่วน *Clostridium* sp. มีหน้าที่ในการผลิตกรดอินทรีย์ และแอลกอฮอล์ จากคาร์โบไฮเดรต และเปปโทน (Sneath *et al.,* 1986) ดังนั้นการทดสอบในการชี้เฉพาะแบคทีเรียได้คือการทดสอบด้วยแคตาเลส และออกซิเดส ซึ่งผลทางชีวเคมีของ แคตาเลส ของแบคทีเรียที่ถูกทดสอบให้ผลเป็นบวก ทำให้สรุปได้ว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดคือ *Bacillus* sp. เพราะพบสปอร์จากการย้อมแกรม ทั้งนี้ Thierry *et al.* (2004) สามารถคัดแยก *Bacillus coagulans* และ *B. sphaericus* จากระบบ UASB ระดับปฏิบัติการได้เช่นเดียวกัน

จากผลการทดลองได้เลือก *Bacillus* sp. (EB4) มาทำการทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพในการบำบัดเนื่องจากสามารถชี้เฉพาะชนิดของแบคทีเรียได้ อีกทั้งเป็นแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ได้จากการเพาะเชื้อแบคทีเรีย และเป็นแบคทีเรียที่พบในการทดลอง Spread plate ของทั้ง 3 โรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ผลการทดลองจากการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร Cooked Meat Medium

การเพาะเชื้อในอาหาร Cooked Meat Medium เพื่อดูความสามารถในการสร้างสปอร์ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถจำแนกแบคทีเรียได้จากการสร้างสปอร์อย่างแม่นยำ (นันทนา, 2549) แต่การนำเชื้อมาเพาะใน Cooked Meat Medium ยังใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาเชื้อ *Clostridium* spp. และเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนอื่นๆได้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2548)

เมื่อทดลองนำน้ำเสียจากภายในระบบ UASB ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ดังภาพที่ 13 พบว่าลักษณะทางกายภาพของ Cooked Meat Medium มีกลิ่น, เกิดฟองก๊าซในหลอดทดลอง โดยสังเกตได้จากอาหารถูกดันขึ้นมาสู่ผิวหน้าอาหารที่เป็นของเหลวซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการผลิตก๊าซขึ้น และอาหารขุ่นขึ้นเมื่อเทียบกับอาหาร Cooked Meat Medium ที่ไม่ได้ใส่น้ำเสีย

ภาพที่ 13 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของน้ำเสียที่ถูกนำมาเพาะในอาหาร Cooked Meat Medium

จากการทดลองดังภาพที่ 13 สามารถบอกได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียเจริญใน Cooked Meat Medium แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นแบคทีเรียชนิดใด การนำส่วนของอาหารเหลวของ Cooked Meat Medium มา Spread เชื้อแบคทีเรียลงใน Reinforced Clostridium Medium ทำให้สามารถพบว่า มีการเจริญของแบคทีเรียเกิดขึ้น ซึ่งลักษณะของโคโลนี และผลการทดสอบทางชีวเคมีดังตารางที่ 19

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 19 ลักษณะของโคโลนี และการทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้โคโลนีที่เพาะได้จากอาหาร Cooked Meat Medium

การทดสอบทางชีวเคมี	รหัส	
	EB1	EB2
ลักษณะโคโลนี	สีขาว กลม ขอบเรียบ ขนาด 1 mm	สีขาว กลม ขอบเรียบ ขนาด 1 mm
รูปร่าง	ท่อน	ท่อน
การติดสีแกรม	-	-
การสร้างสปอร์	-	-
การทดสอบแคตาเลส	+	+
การทดสอบออกซิเดส	-	-
การเคลื่อนที่	+	+
การหมักกลูโคส	+	+

+ ให้ผลบวก = มีสปอร์, Catalase test เกิดฟอง, Oxidase test เกิดสีม่วงภายใน 10 วินาที, มีการเคลื่อนที่, การหมักกลูโคส มีการเปลี่ยนสี

- ให้ผลลบ = ไม่มีสปอร์, Catalase test ไม่เกิดฟอง, Oxidase test ไม่เกิดสีม่วงภายใน 10 วินาที, ไม่การเคลื่อนที่, การหมักกลูโคส ไม่มีการเปลี่ยนสี

จากผลการทดลองทางชีวเคมีดังตารางที่ 19 จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร Cooked Meat Medium ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RCM พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน โดยการทดสอบชีวเคมีเกี่ยวกับการเคลื่อนที่ และการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสกับเชื้อแบคทีเรีย EB1 และ EB2 ซึ่งผลการทดลองทางชีวเคมี และลักษณะสัณฐานของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดคือ EB1 และ EB2 เหมือนกันเช่น สีแกรม, การเคลื่อนที่ และการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสมีผลเป็นบวก ซึ่งทำให้สามารถทราบเบื้องต้นว่า EB1 และEB2 จัดอยู่ในตระกูลของ Enterobacteriaceae (ดวงพร, 2537; นันทนา, 2549)

จากการทดลองแบคทีเรียที่พบมากที่สุดจากน้ำเสียที่บำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน และเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นรูปท่อน แกรมลบ และจัดอยู่ในกลุ่ม *Bacillus* sp. ซึ่งการศึกษาของ Li *et al*. (2010) ด้วยวิธีการ PCR-DGGE จากน้ำเสีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเลี้ยงสุกรในระบบ UASB พบว่าจุลินทรีย์ที่มีมากที่สุดในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนคือ *Clostridium* spp. หรือ จุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Firmicutes* เช่นเดียวกับ *Bacillus* spp. ที่ได้จากการทดลอง เช่นเดียวกับ Shi *et al*. (2012) ที่ศึกษากลุ่มของแบคทีเรียในระบบ UASB ที่มีการเพิ่มขึ้นของวิตามินซีในน้ำเสีย กล่าวว่าแบคทีเรียที่เป็นแบคทีเรียหลักคือกลุ่มของ *Firmicutes* นอกจากนี้ Kayser *et al.* (2007) กล่าวว่า เมื่อใช้เทคนิค Fingerprinting ในการจำแนกแบคทีเรียจากตะกอนที่มาจากระบบ UASB ของโรงงานเครื่องดื่มพบแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ 35 % ส่วนอีก 65 % เป็นแบคทีเรียแบบเพาะเลี้ยงได้ที่ประกอบไปด้วยสกุลต่างๆต่อไปนี้ *Bacillus, Pseudomonas, Bacteroides, Enterococcus, Alcaligenes, Clostridium, Shewanella, Microbacterium, Leuconostoc, Sulfurospirillum, Acidaminococcus, Vibrio, Aeromonas, Nirtospira, Synergistes, Rhodococcus, Rhodocycclus* และ *Syntrophobacter*

การคัดแยก และจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ พบว่าแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทมากที่สุดในระบบบำบัดน้ำเสีย โดยแบคทีเรียที่พบมากที่สุดในการทดลองคือ แบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae และ *Bacillus* sp. ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ (Li *et al*., 2010) ที่ทำการศึกษากลุ่มของจุลินทรีย์ และความหลากหลายของจุลินทรีย์ตั้งแต่เริ่มต้นของระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากสุกรพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ส่วนใหญ่คือกลุ่มของ *clostridium* spp. ซึ่ง *Clostridium* spp.เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในกลุ่มของแบคทีเรียที่มีหน้าที่ในการหมัก แต่หากเป็นแบคทีเรียที่มีมากที่สุดในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเป็นแบคทีเรียกลุ่ม methanogen แต่แบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวเป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เลยหากมีออกซิเจน ทำให้ยากต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ เนื่องจากโตเจริญเติบโตยาก (Lester and Birkett, 1999) นอกจากนี้ Joseph and Frederick (1992) กล่าวว่าการที่น้ำเสียมีปริมาณความเข้มข้นของเกลือมากจะมีผลกับกลุ่มประชากร methanogens ลดน้อยลง การศึกษาของ Nath and Das (2004) *Clostridium butyricum* และ *Enterobacter aerogenes* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจน อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่ Lester and Birkett (1999) กล่าวว่า *Clostridium* spp., *Megasphera* spp., Streptococci และ Bacilli เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในกลุ่มของ fermentative bacteria ซึ่งจะอยู่ในกระบวนการ Acidogenesis (Ji *et al*., 2008) กระบวนการดังกล่าวเป็นกระบวนการที่ 2 ของกระบวนการทั้งหมดที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยกระบวนการ Hydrolysis กระบวนการ Acidogenesis กระบวนการ Acitogenesis และกระบวนการ Methanogenesis (Steiner, 2000) Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่มีหน้าที่ในการหมักน้ำตาล และยังสามารถใช้ไนเตรตไอออนในปฏิกิริยา Nitrate Reduction แทนที่จะใช้ Hydrogen Oxidation ซึ่งทำให้มีการผลิตไฮโดรเจนน้อยลง เมื่อแบคทีเรียชนิดนี้เจริญเติบโตในพื้นที่ที่ไม่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ออกซิเจน (Podesta *et al*., 1997) ส่วน *Bacillus* sp. ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Denitrifying bacteria ที่สร้างไนโตรเจนจากไนเตรต จากการศึกษาที่ผ่านมายังพบว่า *Bacillus subtilis* สามารถเปลี่ยนไนเตรตให้เป็นแอมโมเนียโดยไม่มีหลักฐานของว่าผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา Denitrification จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Michiko and Peter, 1998)

ในการคัดแยกและการจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการเพาะเชื้อแบคทีเรียบนจานเพาะเชื้อเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุดการเพาะเชื้อแบคทีเรียแต่วิธีการดังกล่าวจะไม่สามารถตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ (Unculturable Bacteria) และเชื้อแบคทีเรียจำพวก Obligate อาทิเช่น แบคทีเรียกลุ่ม *Clostridium* spp. และ Methanogens ที่เป็นแบคทีเรียที่สำคัญในกระบวนการ Acidogenesis และMethanogenesis ตามลำดับ (Gilbride *et al* , 2006*)* โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ และ Obligate bacteria จะศึกษาโดยการใช้ยีน 16S rRNA เป็นหลัก (โชติมา, 2553)

3. ผลการทดลองแบบจำลองถังปฏิกรณ์แบบกะ

การทดลองถังปฏิกรณ์แบบกะ เป็นการทดลองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้แบบเฉพาะเจาะจงจากตัวอย่างน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (UASB) อุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งโดยแบคทีเรียที่สามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย คือ Enterobacteriaceae (EB1) และ *Bacillus* sp. (EB4) ซึ่งการเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียลงไปเพื่อเป็นการเติมจุลินทรีย์เหล่านั้นให้มีมากขึ้น เรียกว่า Bioaugmentation (Gerardi, 2006)

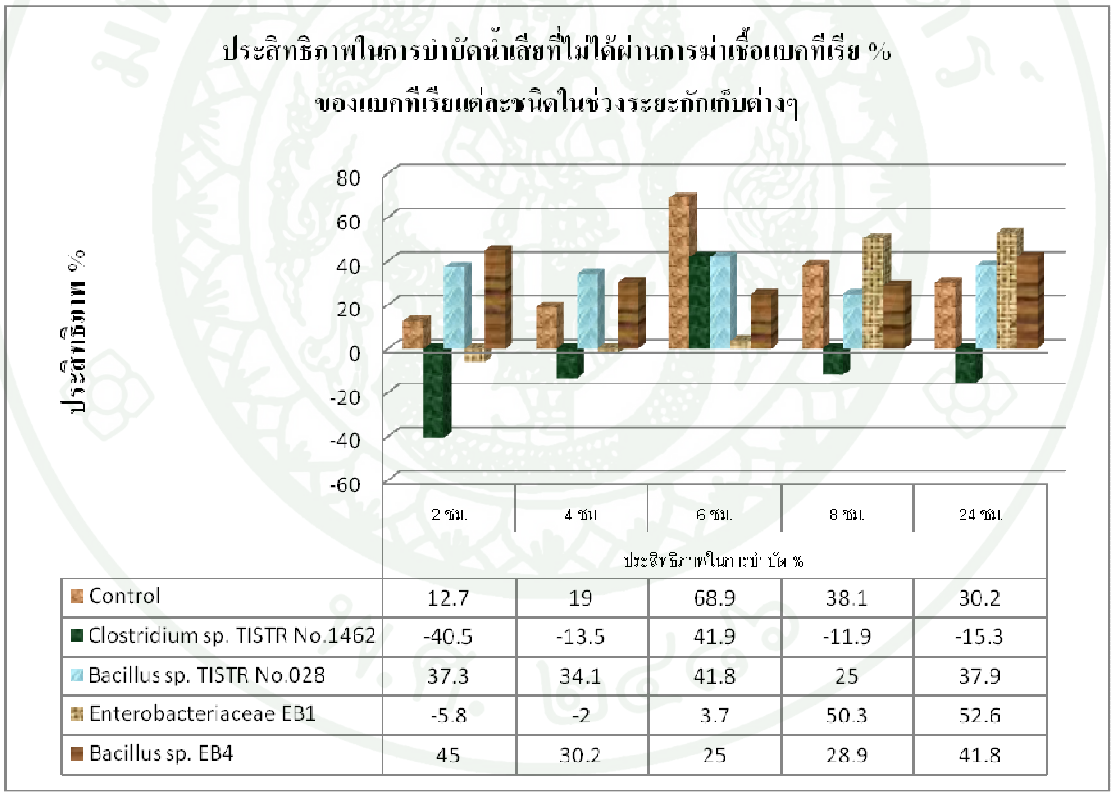
ในการทดลองประสิทธิภาพการบำบัดของแบคทีเรียเด่นที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง มีการใช้เชื้อแบคทีเรียมาตรฐานจาก วว. ทดสอบการทำงานของเชื้อแบคทีเรียควบคู่ไปกับแบคทีเรียเด่นที่ได้จากการทดลองด้วยการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในผลการทดลองที่ 2 ซึ่งเชื้อมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบจาก วว. คือ เชื้อ *Clostridium* sp. No. 1426 และ *Bacillus* sp. No. 028

การทดลองที่ใช้แบคทีเรียแบบเฉพาะเจาะจงที่จำแนกได้จากระบบบำบัดน้ำเสีย และใช้น้ำเสียที่เก็บจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ทดลองใช้ค่า OD_{600} เริ่มต้นเท่ากับ 0.5 โดยน้ำเสียมีค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 1,512 mg/l

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 20 ค่า COD เฉลี่ย (mg/l) ที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ ของน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรีย / ระยะเวลากักเก็บ	ค่า เฉลี่ย COD (mg/l)				
	2 ชม.	4 ชม.	6 ชม.	8 ชม.	24 ชม.
Control	1,320	1,224	469	936	1,056
Clostridium sp. TISIR No.1462	2,124	1,716	878	1,692	1,744
Bacillus sp. TISIR No.028	948	997	880	1,134	938
Enterobacteriaceae (EB1)	1,600	1,552	1,456	751	716
Bacillus sp.(EB4)	828	1,056	1,134	1,075	880



ภาพที่ 14 % COD Removal น้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ (ชม.)

จากการทดลองดังภาพที่ 14 แสดงให้เห็นประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียเด่นที่ได้จากผลการคัดแยก และจำแนกเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งแสดงให้เห็นประสิทธิภาพการทำงานที่แตกต่างกันของแบคทีเรียแต่ละชนิด อีกทั้งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียเด่นที่เติมเพิ่มลงไปในถัง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

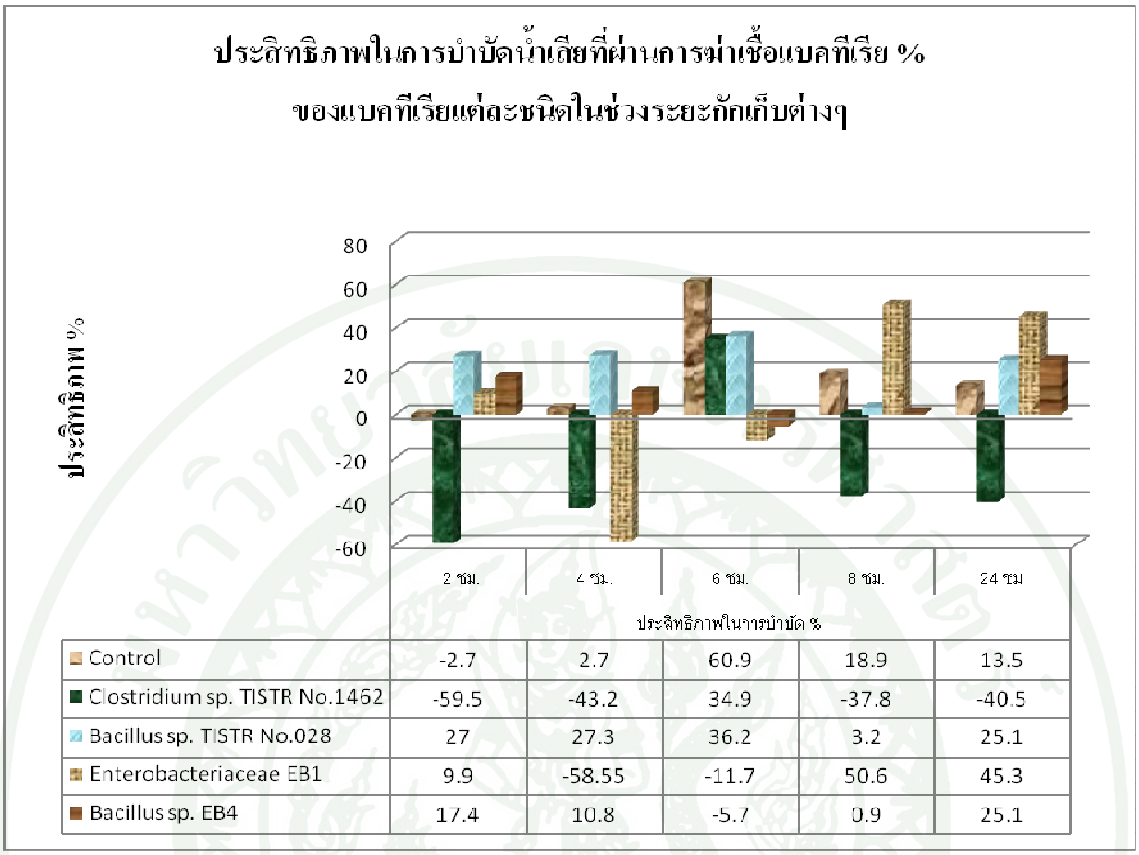
ปฏิกรณ์แบบกะทำงานร่วมกับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เนื่องจากตัวควบคุม (Control) ที่เป็นน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งที่ไม่มีการเติมเชื้อสามารถบำบัดน้ำเสียได้เช่นกัน แสดงให้เห็นว่านอกจากแบคทีเรียที่เติมลงไปแล้ว ยังมีแบคทีเรียชนิดอื่นๆ อยู่ในน้ำเสียที่ทำการทดลองเช่นกัน

ดังนั้นจึงพบว่าในน้ำเสียประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิด และเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเด่นที่คัดแยกได้ จึงทดสอบประสิทธิภาพโดยใช้ค่า OD_{600} เริ่มต้น = 0.5 แต่ใช้น้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งที่ผ่านการให้ความร้อน 121°C ที่ความดัน 15 psi เป็นเวลา 15 นาที ทั้งนี้ระดับความร้อน และความดันดังกล่าวจะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำได้ ซึ่งน้ำเสียมีค่า COD เริ่มต้น 1,332 mg/l โดยผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ค่า COD เฉลี่ย (mg/l) ของน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียระยะเวลากักเก็บต่างๆ

แบคทีเรีย / ระยะเวลากักเก็บ	ค่า COD เฉลี่ย (mg/l)				
	2 ชม.	4 ชม.	6 ชม.	8 ชม.	24 ชม.
Control	1,368	1,296	520	1,080	1,152
Clostridium sp. TISIR No. 1462	2,124	1,908	866.84	1,836	1,872
Bacillus sp. TISIR No. 028	968	968	850	1,290	997
Enterobateriaceae (EB1)	1,200	2,112	1,488	658	728
Bacillus sp. (EB4)	1,100	1,188	1,408	1,320	997

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 15 % COD Removal น้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ (ชม.)

ตารางที่ 22 ระยะเวลากักเก็บ และประสิทธิภาพการบำบัด ของแบคทีเรียแต่ละชนิด

แบคทีเรีย	น้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ		น้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	
	ระยะเวลากักเก็บ (ชม.)	ประสิทธิภาพการบำบัด	ระยะเวลากักเก็บ (ชม.)	ประสิทธิภาพการบำบัด
Control	6	68.8%	6	60.96%
Clostridium sp. TISTR No.1462	6	41.9%	6	34.92%
Bacillus sp. TISTR No. 028	2	41.8%	6	36.19%
Enterobacteriaceae EB1	24	52.6%	8	50.6%
Bacillus sp. EB4	2	45.2%	24	25%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากตารางที่ 22 จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียระหว่างน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากการทดลองกับถังปฏิกรณ์ในครั้งที่2 และครั้งที่ 3 โดยใช้น้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ และน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 psi มีค่า COD เริ่มต้นคือ 1,512 mg/L และ 1,332 mg/L ตามลำดับ โดยเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 11.9% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ความดัน และอุณหภูมิข้างต้นสามารถทำลายสารอินทรีย์บางชนิดไปได้ ถึงแม้ว่าสารอินทรีย์จะสามารถถูกกำจัดได้เมื่อเผาที่อุณหภูมิ 550 °C เนื่องจากสมบัติของสารอินทรีย์จะประกอบด้วยคาร์บอนเป็นส่วนใหญ่ เมื่อถูกเผาที่อุณหภูมิดังกล่าวสารอินทรีย์จะกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำระเหยออกไป (สันทัด, 2549) ทำให้แบคทีเรียที่เติมลงไปไม่สามารถทำงานได้ดีเท่าที่ควร นอกจากนี้การทำงานร่วมกันของกลุ่มแบคทีเรีย สำหรับแบคทีเรียบางชนิดจะสามารถทำงานได้ดีกว่าการทำงานชนิดเดียว คือ *Bacillus* sp.TISTR No. 028 และ *Bacillus* sp. (EB4) พบว่าหากเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดลงไปในน้ำเสียไม่มีการฆ่าเชื้อแบคทีเรียจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่วัดได้จากค่า COD ได้ดีกว่าน้ำเสียที่มีการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งระยะเวลากักเก็บน้อยกว่า ยกเว้น Enterobacteriaceae (EB1) ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดมากขึ้นหากเติมลงไปในน้ำเสียที่มีการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยสามารถดูได้จากระยะเวลาเก็บกักที่น้อยลงกว่าเดิม และประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ค่าที่ใช้ในการออกแบบ HRT ของระบบ UASB คือ 4-20 ชั่วโมง (Tchobanoglous *et al*., 2004) ซึ่งระบบปฏิกรณ์ที่ใช้แบคทีเรียจาก Enterobacteriaceae (EB1) มีระยะเวลาในการกักเก็บเท่ากับ 24 ชั่วโมง ซึ่งมากกว่าถังปฏิกรณ์แบบกะที่ใช้ *Bacillus* sp. ที่มีระยะเวลาในการกักเก็บเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์เพียง 2 ชั่วโมง ทั้งนี้ปฏิกิริยาในการย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นเพียงปฏิกิริยาที่ผลิตสารตั้งต้นที่จะนำไปใช้ในกระบวนการ Methanogenesis ต่อไป

ทั้งนี้การที่ระบบบำบัดไม่มีความเสถียร เนื่องมาจากการเก็บน้ำเสีย เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวัด COD ด้วยวิธีการเก็บน้ำเสียที่จุ่มปิเปตจนถึงก้นถังปฏิกรณ์ จึงทำให้ค่า COD ที่ตรวจวัดได้มีความคลาดเคลื่อน จากตะกอนที่ติดมากับน้ำเสียขณะเก็บตัวอย่างน้ำ โดยตะกอนที่เกิดขึ้นเป็นเพราะเมื่อมีการเติมน้ำเสีย และแบคทีเรียลงในถังปฏิกรณ์ แบคทีเรียจะได้รับอาหาร และสารอาหารนอกจากที่มาจากอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเหลว หรือ Reinforced Clostridium Broth แต่ยังมีสารอาหารที่มาจากน้ำเสีย ค่า COD ในบางค่าที่เพิ่มสูงขึ้นในตอนแรกหลังจากที่มีการเติมเชื้อเนื่องมาจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย (ภาคผนวก ข) จะประกอบไปด้วยสารอาหารที่มากเกินพอสำหรับแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้หมด (สันทัด, 2549) ดังนั้นค่า COD จึงเพิ่มขึ้น ในขณะที่เวลาต่อมาเมื่อแบคทีเรียเริ่มปรับตัวได้จาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารอาหารที่มีมากเกินพอ การเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และอาหารที่หมดลงอย่างรวดเร็วทำให้แบคทีเรียที่ไม่สามารถปรับสภาพได้ตายไปดังภาพที่ 3 ที่แสดงการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารตั้งต้น กับมวลของจุลินทรีย์ (สันทัด, 2549; Tchobanoglous *et al.,* 2004) และเกิดเป็นตะกอน ทำให้น้ำเสียที่ได้จากการเก็บตัวอย่างในบางช่วงมีค่ามากเกินไป นอกจากนี้ Tchobanoglous *et al.* (2004) กล่าวว่าเซลล์โปรคาริโอตจะประกอบด้วยสัดส่วนของคาร์บอนร้อยละ 53 ปริมาณของคาร์บอนจากเซลล์แบคทีเรียสามารถมีผลต่อค่า COD เช่นกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายสารอินทรีย์ กับจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันตามลักษณะของน้ำเสีย และวิธีการบำบัดน้ำเสีย (Servais *et al*.,1999) โดย Hargerty *et al*. (1999) กล่าวว่า การย่อยสลายเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ มากที่สุดในช่วงแรกของการย่อยสลายขึ้นอยู่กับสารอาหารของจุลินทรีย์ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆจากการทดลองทั้งหมด จะเห็นได้ว่าระบบ UASB สามารถแทนการบำบัดขั้นต้นเช่น การย่อยสลัดจ์แบบไม่ใช่ออกซิเจน, ขั้นตอนการบำบัดแบบใช้ออกซิเจน (แอคติเวเต็ดสลัดจ์ และระบบโปรยกรอง เป็นต้น) และระบบบำบัดขั้นที่ 2 ของระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจนแบบธรรมดา แต่อย่างไรก็ตามน้ำที่ออกจากระบบ UASB ต้องการการบำบัดในขั้นตอนต่อไป เพื่อที่จะกำจัดสารอินทรีย์, สารอาหาร และสิ่งก่อโรค ซึ่งระบบบำบัดขั้นสุดท้ายสามารถบำบัดได้ในระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจน เช่น บ่อปรับเสถียร, ระบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ และ อื่นๆ (Seghezzo *et al*., 1998) เนื่องจากระบบสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ด้วยข้อจำกัดเกี่ยวกับน้ำเสียบางประเภท เช่นน้ำเสียจากอุตสาหกรรมที่มีค่าความเค็มสูง ทำให้ประสิทธิภาพของระบบ และความสามารถในการย่อยสลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในน้ำลดลง แต่หากอุตสาหกรรมต้องการลดขั้นตอนในการบำบัดน้ำเสีย ก็ควรมีการศึกษาคุณลักษณะของน้ำเสียที่จะเข้าสู่ระบบ และข้อจำกัดเกี่ยวกับระบบนั้นๆก่อน ทั้งนี้การทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจต้องอาศัยหลายปัจจัยในการลดปริมาณ COD หรือค่าพารามิเตอร์ทางเคมีต่างๆอีกทั้งการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียยังต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม แต่การลดลงของปริมาณ COD แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่พบมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารอินทรีย์ที่ลดลง นอกเหนือจากปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

แบคทีเรียกลุ่มหลักที่พบในระบบ UASB ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง คือ แบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae (EB1) และ *Bacillus* sp. (EB4) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของระบบ UASB โรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง พบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดทางเคมี BOD, COD, TKN, T-P, SS และ Oil & Grease ค่อนข้างต่ำกว่าประสิทธิภาพที่ออกแบบตามเกณฑ์การออกแบบ

เมื่อนำแบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae (EB1) และ *Bacillus* sp.(EB4) มาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในถังปฏิกรณ์แบบกะระดับปฏิบัติการพบว่าแบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae (EB1) มีประสิทธิภาพในการลดค่า COD มากกว่า *Bacillus* sp. (EB4) แต่ใช้ระยะเวลากักเก็บมากกว่า ในขณะเดียวกันเมื่อนำน้ำเสียไปนึ่งฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยการให้ความร้อนที่ 121°C 15 psi ก่อนเติมแบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae(EB1) และ *Bacillus* sp.(EB4) พบว่าแบคทีเรียในตระกูลของ Enterobacteriaceae (EB1) มีประสิทธิภาพในการลด COD มากกว่า *Bacillus* sp. (EB4) เช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดค่า COD ของแบคทีเรียแต่ละชนิด กับน้ำเสียทั้งสองแบบพบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ซึ่ง *Bacillus* sp. (EB4) สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบที่มีความล้มเหลวได้ เนื่องจาก *Bacillus* sp. (EB4) มีประสิทธิภาพในการลดค่า COD ที่ระยะเวลากักเก็บน้อย ทั้งนี้แบคทีเรียที่ได้จากการคัดแยกในระบบ UASB ของโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งทั้งสองชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการหาเชื้อจุลินทรีย์เด่นที่มีบทบาทในการบำบัดน้ำเสียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน จากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็ง ซึ่งจุลินทรีย์จากการทดสอบคือเชื้อแบคทีเรียตระกูล Enterobacteriaceae *และ Bacillus* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียพวก Facultative เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการทดลองเบื้องต้น เพื่อให้ทราบจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทั้งนี้ระหว่างการทำการทดลองอาจมีปัจจัยอื่นที่ทำให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียอื่นที่อาจมีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทั้งนี้ควรมีการวิจัยในเพิ่มเติมในหัวข้อต่อไปนี้

1. การเติมก๊าซเฉื่อย: ไนโตรเจน หรืออาร์กอน เพื่อให้ได้การทดลองอยู่ในสภาวะไม่มีออกซิเจน
2. แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในแต่ละระดับของความสูงของถังปฏิกรณ์ UASB
3. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่พบโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกะซึ่งเป็นการทดลองแบบ Lab Scale ซึ่งหากต้องการประยุกต์ใช้ ควรที่จะมีการทดลองแบบ Pilot Scale หรือ Full Scale
4. เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดงานวิจัยควรมีการทดลองหาอัตราส่วนที่ดีที่สุดของชนิดของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้แต่ละชนิดว่า แบคทีเรียกลุ่มใดกับกลุ่มใดสามารถบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด
5. อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างแบคทีเรีย กับน้ำเสียแต่ละชนิด ทั้งนี้ความสามารถของแบคทีเรียจะมีความแตกต่างกันไปตามประเภทของน้ำเสีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2548. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉ.40**. 30 ธันวาคม 2548.

กรมควบคุมมลพิษ. 2546. **คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ**. กรมควบคุมมลพิษ, กรุงเทพฯ.

สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย. 2548. **แนวปฏิบัติที่ดีด้านการป้องกัน และลดมลพิษอุตสาหกรรมอาหาร ทะเลแช่เยือกแข็ง: ประเภทปลา**. สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย , นนทบุรี.

กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ. 2551. **หลักปฏิบัติเทคโนโลยีการผลิตที่สะอาด**. สุเทพการพิมพ์ , เชียงใหม่.

จุรีรัตน์ ลีสมิทธิ์. 2552. **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป**. ครั้งที่2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ดวงพร คันธโชติ. 2537. **อนุกรมวิธานของแบคทีเรีย และปฏิบัติการ.** ครั้งที่ 1. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

นรีรัตน์ คำกล่อมใจ. 2552. **การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียเศษอาหาร.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2549. **การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบ.** ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2542. **เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมเล่ม 2.** ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2543. **คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**. ครั้งที่3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วลัยภรณ์ วุฒิเมธา. 2551. **บทบาทของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรตต่อความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี.** วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันพัฒนาเทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ กรมควบคุมมลพิษ . 2545. **การจัดทำแนวทางการออกแบบวิศวกรรมเพื่อปรับปรุงระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมให้มีประสิทธิภาพ และประหยัดพลังงานโดยระบบไม่ใช้ออกซิเจน กันยายน 2545.** 174 หน้า**.**

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูล์. 2549. **ระบบบำบัดน้ำเสีย.** ครั้งที่ 1. ท้อป, กรุงเทพฯ.

สุจินดา นาถพินิจ, ปรีชา พลอยภัทรภิญโญ และพิศมัย เจนวนิชปัญจกุล. 2547. **การพัฒนาตะกอนจุลินทรีย์ลักษณะเม็ดในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศชนิด UASB สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ.** สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

สุเทพ สิริวิทยาปกรณ์. 2552. **เทคโนโลยีน้ำเสีย.** ครั้งที่ 2. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2548. **จุลชีววิทยาของน้ำเสีย**. ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สมเกียรติ เตชกาญจนารักษ์. 2548. **การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริญชากรของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์บำบัดน้ำเสียระบบไม่ใช้อากาศแบบลูกผสม โดยใช้วิธี 16 sRNA Fluorescent In Situ Hybridization.** กรุงเทพฯ.

อำพล มั่นเสกวิทย์. 2546. **การศึกษา และการคัดเลือกจุลินทรีย์จากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Atlas, M. Ronail. 2005. **Media for Environmental Microbiology.** 2 ed. CRC Press, USA.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

APHA, AWWA and WPCF. 1995. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.** 19 ed. APHA Inc, USA.

Buchanan, R.E. and N. E. Gibbons. 1957. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 8th ed. The Waverly Press, USA.

Chowdhury, P., T. Viraraghavan and A. Srinivasan. 2010. Biological treatment processes for fish processing wastewater - A review. **Biosource Technology** (101): 439-449.

Gallert, C. and J. Winter. 2005. Bacteria Metabolism in Wastewater Treatment Systems, pp. 1-40. *In* H.-J. Jördening and J. Winter., **Environmental Biotechnology Concept and Application**. Weinheim.

Dan, N.P. 2000. **Special study: Saline wastewater survey and trends of study on biological treatment.** Ph.D. Thesis, AIT.

Elmitwalli, T.A., M. Shalabi, C. Wendland and R. Otterpohl. 2007. Grey water treatment in UASB reactor at ambient temperature. **Water science & Technology** 7 (55): 173-180.

Gerardi, H. Michael. 2006. **Wastewater Bacteria.** 1 ed. A john willey & sons inc, USA.

Gerardi, M.H. 2003. **The Microbiology of Anaerobic Bioreactors.** John Wiley Sons, New Jersey.

Habeeb, S.A., A.B. Aziz Bin Abdul Latiff and Z. Bin Ahmad. 2010. A Review on Properties of the Digestion Process in the Up-flow Anaerobic Aludge Bed (UASB) Reactor. **Canadian Journal on Environmental Construction and Civil Engineering** 1 (3): 58-70.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hargerty, D.J., J.L. Paroni and J.E. Heer. 1999. **Solid Waste Management.** Van Nostrant Reinhold, New York.

Jo, J. Hye, D. S. Lee, D. Park and J. M. Park. 2008. Biological hydrogen production by immobilized cells of Clostidium tyrobutyricum JM1 isolated from a food waste treatment process. **ELSEVIER**. 99, 6666-6672.

Joseph, F. Malina, Jr. Frederick and G. Pohland. 1992. **Design of anaerobic processes fpr the treatment of industrial and municipal wastes.** 7th ed. Technomic Publishing, USA.

Kaufman, L. and R.H. Weaver. 1960. Rapid method for the identification of clostridia. **Bacteoil**. 79:119-225.

Keyser, M., T.J. Britz and R.C. Witthuhn. 2007. Fingerprinting and Identification of Bateria Present in UASB Granules Used to Treat Winery, Brewery, Distillery or Peach-hye Canning Wastewater. **S.Afr.J.Enol.Vitic** 28 (1): 89-78.

Michiko, M. Nakano and Peter Zuber. 1998. Anaerobic Growth of a Strict aerobe (Bacillus subtilis). **Annu.Rev.Microbiol** (52): 165-190.

Mohan, Venkata S., G. Mohanakrishna, S. Veer Raghavulu and P.N. Sarma. 2007. Enchancing biohydrogen production from chemical wastewater Treatment in anaerobic sequencing batch biofilm reactor (AnBBR) by Bioaugmenting with selectively enriched kanamycin resistant anaerobic mixed consortia. **Internation Journal Hydrogen Energy** (32): 3284-3292.

Nath, K. and Das D. 2004. Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches. **Appl.Microbial.Biotechnol**. 65,520-529.

Nguyen, P. D. 2001. **Biological Treatment of high salinity wastewater using yeast and bacteria system.** dissertation thesis, Asian Institute of Technology.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pantamas, P., P. Chaiprasert and M. Tanticharoen. 2003. Glucose utilization and microbial interaction in methanogenesis, pp. 292-297. *In* **2nd Regional Conference of Energy Technology Towards a Clean Environment**. 12-14 February 2003, Phuket, Thailand.

Podesta, J.J., A.M. Gutierrez Navarro, C.N. Estrella and M.A. Estero. 1997. Electrochemical measure of Trace concentrations of Biological hydrogen produced by Enterobacteriaceae. **Institute Pasteur/Elsevier** (148): 87-93.

Seghezzo, L., G. Zeewan, , B. van Liev Jules, H.V.M. Hamlers and Gateze Lettinga. 1998. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB Reactors. **Biosource Technology** (65): 175-190.

Servais, P., J. Servais, N. Demarteau, N. Brion and G. Billen. 1999. Supply og Organic Matter and Bacteria to aquatic ecosysytems though wastewater effluents. **Elsevier Science** 33 (16): 3521-3531.

Shi, R., Y. Zhang, W. Yang and H. Xu. 2012. Microbial community characterization of an UASB treating increased organic loading rates of vitamin C biosynthesis wastewater. **Water Sci Technol** 65 (2): 254-261.

Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. 1986. **Bergey's Manual Systematic Bacteriology.** Williams & Wilkins, Baltimore.

Steiner, C. G. 2000. Understanding Anaerobic Treatment. **Pollution Engineering**. 36-38.

Tang, Y., S. Toru, M. Shigeru and K. Kenji. 2005. Microbial community analysis of mesophilic anaerobic protein degradation process using bovine serum albumin (BSA)-fed continuous cultivation. **J. Biosci. Bioeng** 99 (2): 150-164.

Tchobanoglous, G., F.L. Buton and H. David Stensel. 2004. **Wastewater Engineering Treatment and Reuse.** 4 ed. The McGraw-Hill, Singapore.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Terek, A. E. and R. Otterophi. 2007. Anaerobic biodegradability and Treatment of grey water in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. **Water research** 6 (44): 1379-1387.

Thierry, S., P. Mariaca, F. Raminez and H. Macarie. 2004. Strict aerobe autochthonous or passenger microorganisms in anaerobic reactors?, pp. 167-173. *In* **Proceeding of 10th Anaerobic Digestion Conference.** Montreal, Canada.

Wagner, M., M. Horn and H. Daims. 2003: Fluorescence in *situ* Hybridysation for The identification and characterisation prokaryotes. **ELSEVIER**, 6:302-309.

Zehnder , AJB, Ingvorsen K , hlarti T . 1982. Microbiology of me- thane bacteria. In: Hughes DE, Stafford DA, Weathle, BI, Baader W , Lettinga G, Nyns E J , Verstraete W, We n t s o r t h R L (eds) Anaerobic digestion, **Elsevier Biomedical Press**, Amsterdam-Neri York-Oxford, pp 45-68.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี และสารเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์น้ำเสียทางเคมี

1. การวิเคราะห์พีเอช (pH)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter)
2. บีกเกอร์ขนาด 100 ml

วิธีการวัดพีเอช

1. หลังจากเปิดเครื่องวัด pH ควรปล่อยให้เครื่องร้อนอย่าง 15 นาทีก่อนใช้งาน

2. ปรับเทียบมาตรฐาน (Standardization) เครื่องให้พร้อมก่อนที่จะวัด pH ตัวอย่าง โดยใช้สารละลายบัพเฟอร์มาตรฐานที่ทราบค่า pH แน่นอน

3. ตัวอย่างที่จะนำมาวัดค่า pH ต้องปล่อยให้มีอุณหภูมิคงที่เสียก่อน

4. ก่อนวัด เขย่าตัวอย่างให้เข้ากันดี เทใส่บีกเกอร์จุ่มอิเล็กโทรด กวนจนค่า pH หยุดนิ่ง อ่านค่า pH ของตัวอย่างน้ำ

5. เมื่อจะวัดตัวอย่างต่อไปให้ฉีดล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นแล้วซับด้วยกระดาษ หรือผ้านุ่มๆ แล้วจึงวัดตัวอย่างถัดไป ถ้าจะเลิกวัดหลังจากที่ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นจนสะอาด ซับให้แห้งแล้วให้แช่อิเล็กโทรดไว้ในสารละลายที่มีอิออนมากพอควร และมีฤทธิ์เป็นกรด

2. การวิเคราะห์ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) โดยวิธีทำให้แห้งที่ 103-105°C

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ตู้ดูดความชื้น พร้อมสารดูดความชื้น
2. ตู้อบที่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
3. ตาชั่งละเอียด
4. กระดาษกรอง GFC ขนาด 4.7 cm

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. กรวยบุชเนอร์

6. เครื่องดูดสุญญากาศ (Suction Pump) พร้อมขวดดูดสุญญากาศขนาด 500-1,000 ml

7. ถ้วยอลูมิเนียมฟอยล์

8. ปากคีบ

วิธีวิเคราะห์

1. กระดาษกรอง GF/C จุ่มน้ำกลั่นแล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103-105˚C เป็นเวลา 1 ชม. ปล่อยให้เห็นในโถทำแห้ง

2. ชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง GF/F วางบนถ้วยอลูมิเนียมฟอยล์

3. ต่อชุดเครื่องมือสำหรับกรอง ใช้ปากคีบหยิบกระดาษกรอง GF/C วางบนกรวยบุชเนอร์ เปิดเครื่องดูดสุญญากาศ

4. เลือกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่จะใช้โดยพิจารณาจากลักษณะน้ำ ถ้าน้ำขุ่นมีของแข็งแขวนลอยมาก ควรใช้ปริมาณน้อยๆ แต่ถ้าน้ำใสควรใช้ปริมาณน้ำตัวอย่างให้มากที่สุด เขย่าตัวอย่างให้เข้ากันอย่างดี เทตัวอย่างที่ทราบปริมาตรลงกรองโดยค่อยๆเททีละน้อยอย่างต้องเนื่องจนหมด ใช้น้ำกลั่นฉีดภาชนะที่ใช้ตวงตัวอย่าง เทลงกรอง และฉีดน้ำกลั่นๆด้านข้างของกรวยบุชเนอร์รวมทั้งบนกระดาษกรอง GF/C ปล่อยให้เครื่องดูดสุญญากาศ ดูดน้ำออกจนแห้ง ปิดเครื่อง

5. ใช้ปากหนีบของกระดาษกรองขึ้นวางบนอลูมิเนียมฟอยล์ นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 103-105˚C. อย่างน้อยเป็นเวลา 1ชม. นำออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นในโถทำแห้ง ชั่งน้ำหนักกรอง

6. ควรทำข้อ 5 ซ้ำ จนได้น้ำหนักที่คงที่ หรือจนกระทั่งมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักน้อยกว่า 4 % ของน้ำหนักครั้งก่อนประมาณ 0.5 mg

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งแขวนลอย(มล./ล.)} = \frac{\text{น้ำหนักกระดาษกรองและของแข็ง (กรัม)} - \text{น้ำหนักกระดาษกรองอย่างเดียว (กรัม)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)}} \times 10^6$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การวิเคราะห์ BOD; Biological Oxygen Demand

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ขวด BOD ขนาด 250-300 ml พร้อมจุกปิดสนิท
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 20 ± 1 °C และต้องมืด
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่นกระบอกตวง บิวเรต ขวดรูปกรวย เป็นต้น
4. เครื่องจ่ายลม แบบเดียวกับที่ใช้กับตู้เลี้ยงปลาสวยงาม และหัวลูกฟู่ (หัวจ่ายลม)

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์: สารละลายโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 8.5 g ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4.7H_2O$) 33.4 g ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 21.75 g และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH4Cl) 1.7 g ในน้ำกลั่น 500 ml แล้วเจือจางให้เป็น 1 L
3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต: ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$) จำนวน 22.5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L
4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์: ละลายแคลเซียมคลอไรด์ปราศจากน้ำ (anhydrous $CaCl_2$) จำนวน 27.5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L
5. สารละลายเฟริคคลอไรด์: ละลายเฟริคคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($FeCl_3.6H_20$) จำนวน 0.25 g แล้วเจือจางเป็น 1 L
6. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต: ละลายแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($MnSO_4.H_2O$) 346 g หรือแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ($MnSO_4.4H_2O$) 480 g หรือแมงกานีสซัลเฟตไดโฮเดรต ($MnSO_4.2H_2O$) 400 g ในน้ำกลั่น กรองแล้วเจือจางเป็น 1 L
7. สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (Alkali-Iodide-Azide reagent): ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 500 g. หรือโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 700 g และโซเดียมไอโอไดด์ (NaI) 135 g หรือโปแตสเซียมไอโอไดด์ 150 g ในน้ำกลั่นเจือจางเป็น 1 L และละลายโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 10 g. ในน้ำกลั่น 40 ml แล้วเติมลงในสารละลายข้างต้น
8. กรดซัลฟิวริคเข้มข้ม 36 N
9. น้ำแป้ง: ละลายแป้ง 5 g ในน้ำต้ม 800 ml เติมน้ำให้ได้ 1 L ต้มให้เดือด 2-3 นาที ตั้งค้างคืนใช้แต่น้ำใส เติมกรดแซลลิไซลิค (Salicylic Acid) 1.25 g ต่อน้ำแป้ง 1 L

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

10. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 N.: ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) จำนวน 24.82 g ในน้ำต้มที่เย็นแล้ว เติมจนได้ปริมาตร 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 ml หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 g ต่อสารละลาย 1 L

11. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 N: เตรียมโดยการเจือจางสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 N จำนวน 250 ml ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 ml หรือใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 g ต่อสารละลาย 1 L สารละลายนี้ต้องนำมาหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายไดโครเมต

12. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต 0.025 N: ละลายโปแตสเซียมไดโครเมตที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 103°C นาน 2 ชม. จำนวน 1.226 g ต่อน้ำกลั่น 1 L

13. สารละลายโซเดียมซัลเฟต 0.025 N: ละลายโซเดียมซัลไฟต์ปราศจากน้ำ (Na_2SO_3) 1.575 g ในน้ำกลั่น 1 L (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

วิธีเตรียมน้ำเจือจาง (Dilution Water)

1. ตวงน้ำกลั่นให้มากกว่าปริมาตรที่ใช้ 1 ลิตร ใส่ขวดแอสไพเรเตอร์ที่สะอาด

2. เป่าอากาศที่สะอาดเพื่อเพิ่มออกซิเจนในน้ำ อย่างน้อย 1 ชั่วโมง

3. เติมสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ และเฟริกคลอไรด์อย่างละ 1 ml ต่อน้ำเจือจาง 1 L

วิธีวิเคราะห์

1. เลือกตัวอย่างที่จะใช้ ถ้าไม่ทราบค่า BOD โดยประมาณของตัวอย่างน้ำ ต้องหาค่า COD ก่อน หรืออาจจะดูจากค่า Rapid COD พร้อมกับพิจารณาลักษณะของตัวอย่างน้ำ แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำร่วมด้วย เพื่อกะประมาณค่า BOD เช่น น้ำตัวอย่างมีค่าของแข็งละลายมาก ควรจะมีค่า BOD ร้อยละ 60-70 ของ COD การเลือกปริมาณน้ำตัวอย่างนิยมเลือกให้มีปริมาณออกซิเจน เหลืออยู่อย่างน้อย 1mg/L และควรจะมีการใช้ออกซิเจนอย่างน้อย 2 mg/L เมื่อทราบค่า BOD โดยประมาณ ควรเลือกปริมาณตัวอย่างที่คาดว่าจะให้ BOD อยู่ในช่วงที่กำหนดแล้วเลือกปริมาณตัวอย่างที่ใช้ให้สูง และต่ำกว่าที่อยู่ติดกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. เมื่อเลือกปริมาณตัวอย่างได้แล้ว ปิเปตตัวอย่างตามจำนวนที่เลือกไว้ลงในขวด BOD ขนาด 300 ml อย่างละ 2 ขวด เติมน้ำเจือจางจนเต็มขวด BOD ต้องระมัดระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ปิดฝาให้แน่น นำขวด BOD ขวดหนึ่งของแต่ละปริมาตรที่เลือก มาหาค่าออกซิเจนละลายที่มีเริ่มต้น สมมุติเป็น DO_0 ส่วนอีกขวดนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมที่อุณหภูมิ 20°C เป็นเวลา 5 วัน

3. เมื่อครบ 5 วัน นำขวด BOD ที่บ่มไว้มาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่ สมมุติเป็น DO_5

การคำนวณหาค่า BOD ทำได้ดังนี้

$$\text{ค่า BOD (mg Oxygen/L.)} = (DO_0\text{-}DO_5)\times\text{อัตราส่วนเจือจาง}$$

4. การวิเคราะห์ COD; Chemical Oxygen Demand โดยวิธีฟลักซ์ปิดแบบไตเตรชัน

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. เตาอบ (Oven) สามารถควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ประมาณ 150±2 °C
3. บิวเรต
4. ขวดรูปกรวยขนาด 125 ml

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.1 N: ละลายโปแตสเซียมไดโครเมต ซึ่งอบแห้งที่ 103°C เป็นเวลา 2 ชม. หนัก 4.913 g ในน้ำกลั่น 500 ml เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 167 ml และปรอทซัลเฟต 33.3 g คนให้ละลาย ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 ml.

2. กรดซัลฟิวริก และซิลเวอร์ซัลเฟต: ชั่งซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 8.8 g ใส่ลงในกรดซัลฟุริกเข้มข้น1 L ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลายได้ทั้งหมด ก่อนนำไปใช้ต่อไป

3. สารละลายมาตรฐานเฟรัสแอมโมเนียมซัล 0.05 N: ละลายเฟรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) 19.6 g ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 20 ml แล้วเจือจางเป็น 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. สารละลายเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์: ละลายเฟรัสซัลเฟต (Ferrous Sulfate,FeSO4.7H2O) 695 mg และ1,10-ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (1,10-Phenanthroline Monohydrate, C12H8N2.H2O) 1.485 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 100 ml

วิธีการตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลาย FAS

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต 0.1 N. 5.0 ml ใส่ขวดรูปกรวย เติมน้ำกลั่น 50 ml แล้วจึงค่อยๆ เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 15 ml ทิ้งให้เย็น เติมเฟอโรอีน 2-3 หยด ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน FAS จนได้สีน้ำตาลเป็นจุดยุติ

ความเข้มข้นของ FAS, N. = (5.0×0.1)/ml. FAS ที่ใช้

5. กรดซัลฟามิก (Sulfamic): ใช้สำหรับป้องกันการรบกวนของไนไตรต์ (NO^-_2) ปริมาณที่ใช้คือ 10 mg ต่อทุกๆ 1 mg ของไนไตรต์

6. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate หรือ KHP): บด KHP เพื่อลดขนาดลง และนำไปอบที่อุณหภูมิ 103°C จนแห้ง และมีน้ำหนักคงที่ แล้วละลาย KHP ที่บดและอบแห้งแล้ว 425 mg ในน้ำกลั่น เจือจางให้เป็น 1,000 ml สารละลายนี้มี COD เท่ากับ 500 mg/L สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้นานไม่เกิน 3 เดือน

7. สารละลายกลูโคส: ละลาย 486.6 mg ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 1,000 ml. สารละลายนี้จะมีค่า COD เท่ากับ 500 mg/L. (กลูโคส 1 g จะให้ COD 1.067 g) สารละลายกลูโคสจะไม่ค่อยคงตัว เพราะสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว

วิธีวิเคราะห์

1. ต้องล้างหลอดแก้ว และฝาปิดด้วยสารละลายกรดกำมะถัน 20% เสมอทุกครั้งก่อนใช้งาน

2. การเลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำ: เลือกใช้ปริมาณตัวอย่างน้ำมากที่สุด 5 ml หรือใช้น้อยกว่าแล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 5 ml และถ้าตัวอย่างน้ำซีโอดีสูงมากต้องเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนนำมาใช้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ควรประมาณค่า COD ของตัวอย่างน้ำคร่าวๆ ก่อนเพื่อที่จะเลือกใช้ปริมาณตัวอย่างได้อย่างเหมาะ การประมาณค่า COD สามารถทำได้โดยพิจารณาจากลักษณะตัวอย่างน้ำ แหล่งที่มาของน้ำ และ Rapid COD การเลือกขนาดตัวอย่างน้ำที่จะใช้ โดยเลือกใช้ปริมาณตัวอย่างน้ำให้ผลต่างของค่า FAS ที่ใช้ในการไตเตรต Blank และตัวอย่างน้ำอยู่ที่ 1-5 ml

3. น้ำตัวอย่าง

3.1 ใส่น้ำตัวอย่างลงในหลอดแก้วขนาดเหมาะสม เติมน้ำยาย่อยสลาย หรือโปแตสเซียมไดโครเมต ตามด้วยกรดกำมะถันอย่างช้าๆ ปิดฝาให้แน่น และเขย่าผสมกันให้ดี สำหรับ Blank ใช้น้ำกลั่นแล้วทำเหมือนตัวอย่างทุกอย่าง

3.2 นำไปอบในตู้อบ ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150 ± 2 °C เวลา 2 ชม. เมื่อครบ 2 ชม. แล้วนำออกจากตู้อบแล้วปล่อยทิ้งให้เย็น

4. การทำไตเตรชัน: เทสารละลายออกจากหลอดแก้วลงในขวดรูปกรวย ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างสารละลายในหลอดแก้วให้หมด แล้วเทรวมลงในขวดรูปกรวย เติมเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน FAS สีของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนจากสีเหลือง เป็นสีเขียวอมเหลือง สีฟ้า และกลายเป็นสีน้ำตาลแดง ซึ่งแสดงว่าถึงจุดยุติ จดปริมาณ FAS ที่ใช้ไตเตรต

การคำนวณ

$$\text{COD mg } O_2/L = \frac{(A-B)\times N\times 8000}{\text{ml.ของตัวอย่างน้ำ}}$$

เมื่อ A = ml. ของ FAS ที่ใช้ในการไตเตรตแบลงค์

B = ml. ของ FAS ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่างน้ำ

N = ความเข้มข้นของ FAS, Normal

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การวิเคราะห์ TKN; Total Kjeldahl Nitrogen

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ขวดเจดาลห์ (Kjeldahl Flask) ขนาด 800 ml
2. ชุดเครื่องมือสำหรับย่อยสลาย
3. ชุดเครื่องมือสำหรับทำการกลั่นแอมโมเนีย

สารเคมี

1. สารละลายปรอทซัลเฟต: สารละลายปรอทออกไซด์ (HgO,Red) 8 g ในกรดกำมะถัน 6 N ปริมาตร 100 ml
2. น้ำยาสำหรับย่อยสลาย: (Digestion Reagent): ละลายโปแตสเซียมซัลเฟต 25 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้สารละลายมีปริมาตร 1 L เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C เพื่อป้องกันการตกผลึก
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium Hydroxide-Sodium Thiosulfate Reagent): ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 g และโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na2S2O3.5H2O$) 25 g และเจือจางเป็น 1 L
4. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

วิธีวิเคราะห์

1. การเลือกขนาดตัวอย่าง โดยให้สอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนที่คาดว่าจะมี (สังเกตได้จากลักษณะน้ำ และแหล่งที่มาของตัวอย่าง) ถ้าใช้ขนาดตัวอย่างมากเกินไปอาจทำให้เสียเวลาในการย่อยหลายชั่วโมง เมื่อเลือกปริมาตรตัวอย่างได้แล้ว ตวงตัวอย่างใส่ในขวดเจดาลห์ขนาด 800 ml เติมลูกแก้ว 3-4 เม็ด เพื่อกันการเดือดอย่างรุนแรงภายในขวด

2. การย่อยสลาย (Digestion): เติมน้ำยาสำหรับย่อยสลาย 50 ml ลงในขวดเจดาลห์นำเข้าเครื่องย่อยสลาย ต้มจนกระทั่งเกิดควันสีขาวของ SO_3 ให้ต้มต่อไปเรื่อยๆจนได้สารละลายใส จากนั้นย่อยสลายต่อไปอีก 20-30 นาที (ถ้ายังไม่ได้สารละลายใสให้เติมน้ำยาย่อยสลายอีก 50 ml แล้วย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส) ปิดไฟแล้วปล่อยทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 300 ml และฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 ml เขย่าให้เท่ากันและทำให้เป็นด่างโดยค่อยๆ เติมน้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไธโอซัลเฟต 50 ml (ใช้น้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ไธโอซัลเฟต 50 ml ต่อน้ำยาย่อยสลาย 50 ml) เขย่าให้เข้ากัน ถ้าสีชมพูของฟีนอล์ฟทาลีนยังไม่เกิด ให้เติมน้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ไธโอซัลเฟตลงไปอีก จากนั้นนำไปกลั่น

3. การกลั่น: ต่อขวดเจลดาลห์เข้ากับเครื่องกลั่น ทำการกลั่นโดยให้ความร้อนที่พอเหมาะ เก็บส่วนที่กลั่นออกมา 200 ml ผ่านหลอดแก้วที่จุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริค 50 ml ถ้าจะหาแอมโมเนียไนโตรเจนโดยวิธี Nesslerization ให้ใช้กรดบอริคธรรมดา แต่ถ้าจะหาวิธีไตเตรตให้ใช้กรดบอริคที่เติมอินดิเคเตอร์ เมื่อกลั่นครบ 200 ml เลื่อนขวดเก็บสารละลายที่ได้จากการกลั่น (Distillation) ออกและนำไปหาแอมโมเนียต่อไป ให้ทำแบลงค์ด้วยโดยใช้น้ำกลั่นแล้วทำตามขั้นตอนเหมือนตัวอย่างน้ำ

4. การคำนวณ: ปริมาตรแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างน้ำที่ผ่านการย่อย และกลั่นมาแล้วจะเป็นค่า TKN ถ้าต้องการหาความเข้มข้นของสารอินทรีย์ไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว จะต้องวิเคราะห์หาค่าแอมโมเนียของตัวอย่างน้ำก่อน

คำนวณหาค่าสารอินทรีย์ไนโตรเจนดังนี้

สารอินทรีย์ไนโตรเจน = TKN- แอมโมเนียไนโตรเจน

6. การวิเคราะห์ TP; Total Phosphate ด้วยวิธีกรดแอสคอร์บิค

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งมีอินฟราเรดโฟโตทิวบ์สำหรับใช้ความยาวคลื่น 880 nm
2. เครื่องแก้วที่ล้างด้วยกรด และน้ำกลั่นจนสะอาด

สารเคมี

1. กรดซัลฟุริค 5 N.: กรดซัลฟุริคเข้มข้น 70 ml ลงในน้ำกลั่นจนครบ 500 ml
2. สารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต (Patassium Atimonyl Tartrate Solution): ละลาย $K(SbO)C_4H_4O_6.5H_2O$ 1.3715 g ในน้ำกลั่น 400 ml แล้วเจือจางเป็น 500 ml ในขวดวัดปริมาตร เก็บในขวดแก้ว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium Molybdate Solution): ละลาย $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 0 g. ในน้ำกลั่น 500 ml เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4°C

4. กรดแอสคอร์บิค(Ascorbic Acid) 0.1 M: ละลายกรดแอสคอร์บิค 1.76 g ในน้ำกลั่น 100 ml สารละลายนี้จะคงตัวประมาณ 1 สัปดาห์ ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

5. น้ำยารวม (Combined Reagent): ผสมน้ำยาเคมีที่กล่าวแล้วข้างบนในสัดส่วนสำหรับ 100 ml ดังนี้

- กรดซัลฟุริค 5 N 50 ml
- สารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต 5 ml
- สารละลายแอมโมโมลิบเดต 15 ml
- สารละลายกรดแอสคอร์บิค 30 ml

ก่อนผสมต้องปล่อยให้สารละลายแต่ละชนิดอยู่ในอุณหภูมิห้องก่อน นำมาผสมโดยผสมให้เข้ากันทุกครั้งเมื่อเติมส่วนผสมแต่ละชนิด (ให้เติมเรียงลำดับไป) ถ้ามีความขุ่นเกิดขึ้นในน้ำยารวมหลังจากเติมสารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต หรือแอมโมเนียมโมลิบเดตให้เขย่าน้ำยาเคมีรวมนี้แล้วตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที จนกระทั่งความขุ่นหายไป จึงจะเติมน้ำยาตัวอื่นต่อไป น้ำยารวมนี้อยู่ตัวได้นาน 24 ชั่วโมง

6. สารละลายสต๊อกฟอสเฟต

7. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต: นำสารละลายสต๊อกฟอสเฟตมา 50 ml เติมน้ำกลั่นจนได้ 1,000 ml สารละลายนี้ 1.00 ml = P 2.5 µg

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง: ปิเปตตัวอย่างน้ำ 50 ml ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 125 ml เติมสารละลาย ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าเป็นสีแดงให้หยดกรดซัลฟุริค 5 N. ลงไปทีละหยดจนกระทั่ง สีแดงหายไป เติมน้ำยารวม 8.0 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 880 nm โดยใช้ Reagent Blank เทียบ A=0

2. การทำ Correction สำหรับน้ำตัวอย่างที่มีสี หรือความขุ่น: โดยทั่วไปสีของน้ำธรรมชาติจะไม่ขัดขวางการหาความยาวคลื่นสูงๆ แต่ในกรณีที่น้ำขุ่น หรือมีสีมากให้ใช้น้ำตัวอย่างเป็น Blank โดยเติมน้ำยาทุกอย่างยกเว้นสารละลายกรดแอสคอร์บิค และสารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต ลงในตัวอย่าง นำไป Set A = 0 แล้ววัด Absorbance ของตัวอย่างน้ำที่เติมน้ำยาครบทุกชนิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การเตรียมกราฟมาตรฐาน: เตรียมอนุกรมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ดังนี้ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 µg โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (1ml. = 2.5 µg P) มา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ml ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 ml แต่ละขวด แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทใส่ขวดรูปกรวยขนาด 125 ml เติมน้ำยารวม 8.0 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัด Absorbance ที่ความยาวคลื่น 880 nm โดยใช้ขวดที่มีความเข้มข้น 0 µg เป็น Blank พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็น µg กับ Absorbance ที่ได้ แต่ละความเข้มข้นโดยใช้กราฟ

การคำนวณ

$$\text{ฟอสเฟต (mg P/L.)} = \frac{\text{µg ฟอสเฟตที่อ่านได้จากกราฟ}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง } (ml)}$$

7. การวิเคราะห์ Oil & Grease ด้วย วิธีการสกัดด้วยกรวยแยก (Partition Gravimetric Method)

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. กรวยแยก (Separatory Funnel) ขนาด 500 ml ซึ่งล้างด้วยเฮกเซน 15 ml ไว้ก่อน
2. ถ้วยระเหย (Evaporating Disc)
3. เครื่องอังน้ำ (Water Bath)
4. กระดาษกรองขนาด 11cm. เบอร์ 40
5. ถ้วยกรอง (Funnel)
6. บีกเกอร์ขนาด 600 ml และ 100 ml ซึ่งล้างด้วยเฮกเซนประมาณ 15 ml ไว้ก่อน
7. เครื่องชั่งละเอียด

สารเคมี

1. กรดกำมะถันเข้มข้น
2. เฮกเซน
3. โซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ (Sodium Sulfate Anhydrous)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีวิเคราะห์

1. เทตัวอย่างน้ำที่ทราบปริมาตรใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 ml เติมกรดกำมะถันเข้มข้นจน pH น้อยกว่า 2

2. เทตัวอย่างน้ำใส่บีกเกอร์ใส่กรวยแยก เติมเฮกเซนจำนวน 10-15 ml เขย่าอย่างแรงประมาณ 2 นาที ตั้งทิ้งไว้จนสารผสมแยกชั้น ชั้นเฮกเซนจะอยู่ด้านบน ส่วนตัวอย่างน้ำจะอยู่ด้านล่าง

3. ถ่ายชั้นตัวอย่างน้ำไว้ในบีกเกอร์เดิมเพื่อนำมาสกัดอีก

4. ถ่ายชั้นของเฮกเซนซึ่งมีไขมันและน้ำมันละลายอยู่ ผ่านกรวยกรองที่มีโซเดียมซัลเฟตบนกระดาษกรองลงในถ้วยระเหยซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่และชั่งน้ำหนักไว้แล้ว สมมุติเป็น A g

5. ทำการสกัดซ้ำ ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีกหลายครั้ง จนกระทั่งไขมันและน้ำมันถูกสกัดออกจากตัวอย่างหมด

6. นำถ้วยระเหยซึ่งมีเฮกเซน และไขมัน และน้ำมันในถ้วยอยู่ ไประเหยเฮกเซนออกบนเครื่องอังอุณหภูมิ 70°C จนแห้งปราศจากความชื้น แล้วปล่อยให้เย็นในโถทำแห้งประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักสมมุติเป็น B g

การคำนวณ

$$\text{ไขมัน และน้ำมัน (mg/L.)} = \frac{(B-A)\times 10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง } (ml)}$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture Media)

1. สูตรอาการเพาะเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย

1.1 Reinforced Clostridium Agar

Yeast Extract	3.0	g
Beef Extract	10.0	g
Tryptone	10.0	g
Glucose	5.0	g
Soluble Strach	1.0	g
Sodium Chloride	5.0	g
Sodium Acetate	3.0	g
L-Cysteine HCl	0.5	g
Agar	15.0	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

2. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเหลว

2.1 Reinforced Clostridium Broth

Yeast Extract	3.0	g
Beef Extract	10.0	g
Tryptone	10.0	g
Glucose	5.0	g
Soluble Strach	1.0	g
Sodium Chloride	5.0	g
Sodium Acetate	3.0	g
L-Cysteine HCl	0.5	g
น้ำกลั่น	1,000	ml

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 อาหาร Glucose yeast extract brom cresol purple broth

Beef extract	3	g
Peptone	5	g
Yeast extract	1	g
Glucose	10	g
Brom cresol purple	0.0133	g
น้ำกลั่น	1,000	g

ปรับ pH เป็น 6.8-7.0

การเตรียม Phosphate buffer dilution water

ก่อนการ spread plate จำเป็นเป็นต้องมีการเจือจางลำดับส่วนแบบ 10 เท่า โดยการเจือจางขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในน้ำเสีย โดยการทดลองนี้จะเจือจางถึง $1:10^5$ แล้วใช้ปิเปตอันใหม่ดูดน้ำเสียที่เจือจาง 0.1 ml ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. เตรียม Phosphate Buffer pH 7.0 จาก KH_2PO_4 และ $MgSO_4$ โดยเตรียมสารละลายแต่ละชนิดแยกกันก่อน แล้วนำมาผสมกัน โดยใช้ KH_2PO_4 1.25 ml และ $MgSO_4$ 5 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 ml
2. ใส่น้ำสำหรับเจือจางใส่ลงในหลอดทดลอง 9.0 ml เพื่อใช้ในการเจือจาง โดยการเจือจางจะใช้ น้ำเสียปริมาตร 1 ml

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ค

วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. การย้อมสีแบคทีเรีย; Gram strain

1.1 วัสดุ และอุปกรณ์

1. สไลด์
2. ลวดเขี่ยเชื้อ
3. ลวดรองย้อมสี
4. สีย้อมชนิดต่างๆ

1.2 วิธีปฏิบัติ

1. การเตรียมสไลด์ นำสไลด์มาล้างด้วยผงซักฟอก ให้สะอาดแล้วเช็ดให้แห้ง เพื่อขจัดคราบไขมัน

2. การเตรียม smear โดยการเขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการศึกษา มาผสมกับหยดน้ำบนสไลด์ แล้วใช้ลวดเขี่ยเชื้อผสมกับหยดน้ำบนสไลด์ให้เข้ากัน เกลี่ยเชื้อให้กระจายออกบางๆเป็นวงกลมเล็กๆ บนสไลด์อย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้เชื้อเรียงตัวกันอย่างพอเหมาะ ไม่หนาแน่นเกินไป

3. การ fix smear โดยการนำเชื้อที่ smear แล้วในข้อ 2 มาผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง ในความร้อนที่มือพอทนได้

4. นำเชื้อที่ผ่านการ fix smear มาหยดด้วย crystal violet นาน 1 นาที จากนั้นล้างสีออกด้วยน้ำ หยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วม smear 1 นาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำ หยด 95% นาน 15-20 วินาที ล้างออกด้วยการหยดสี safranin-o นาน 1 นาที จากนั้นล้างสีออกปล่อยให้แห้ง แล้วนำไปตรวจดูกำลังขยาย 100x โดยใช้น้ำมัน

2. การทดสอบแคตาเลส (Catalase Test)

2.1 อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ห่วงเขี่ยเชื้อ
2. ตะเกียงบุนเสน
3. สไลด์
4. H_2O_2 ที่มีความเข้มข้น 3 หรือ 30%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 วิธีการทดสอบ

1. ปลูกเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารวุ้นเอียง (ปกติใช้ NA) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นเวลา 18 – 24 ชม.

2. หยด H_2O_2 ที่มีความเข้มข้น 3 หรือ 30% 1 หยด ลงบนสไลด์

3. เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่บ่มได้ลงบนแผ่นสไลด์ ผสมให้เข้ากัน

ผลบวก: เกิดฟองแก๊ส

ผลลบ: ไม่มีฟอง

3. การทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test)

การทดสอบ Oxidase ใช้ในการจัดจำแนกสกุลต่างๆ ของแบคทีเรียแกรมลบ

3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ห่วงเขี่ยเชื้อ
2. ตะเกียงบุนเสน
3. สไลด์
4. 5% tetramethyl-p-phenylenediamine HCI

3.2 วิธีการทดสอบ Kovacs' method

1. วางกระดาษกรองที่อิ่มด้วย 0.5% tetramethyl-p-phenylenediamine HCI ลงในจานเลี้ยงเชื้อ

2. ใช้ลวด nichrome เขี่ยโคโลนีออกมาทดสอบ โดยลากโคโลนีมาบนกระดาษ ผลบวกเกิดสีม่วงเข้มภายใน 10 วินาที

หรืออาจจะทดสอบโดยหยดน้ำยาทดสอบลงบนจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนี ถ้ามี Oxidase จะมีสีชมพู แล้วก็สีม่วงเข้ม และสามารถเอาเชื้อไปย้อมแกรมได้ เพราะน้ำยาไม่ขัดขวางการย้อมสีแกรม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลบวก: เกิดสีน้ำเงินภายใน 2 นาที ถ้านานกว่านี้เป็น Weak Oxidase สารละลาย A ละลาย 1 กรัม ของ α-napthol ลงในสารละลาย 95% alcohol ปริมาตร 100 ml.

สารละลาย B ละลาย 1 กรัม ของ p-aminodimethylaniline HCI หรือ Oxalate ลงในน้ำกลั่น 100 ml. เก็บไว้ในตู้เย็นไม่ควรเกิน 1 เดือน

4. การทดสอบการหมักกลูโคส

4.1 วัสดุ และอุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose yeast extract brom cresol purple broth
2. 10% KOH
3. ลวดเขี่ยเชื้อ

4.2 วิธีทดสอบ

ตรวจการเกิดกรด หรือด่างในอาหาร โดยสังเกตการเปลี่ยนสีของพีเอชอินดิเคเตอร์ในอาหาร

ผลบวก: เปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลือง
ผลลบ: ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ง

ข้อมูลจากการทดลองทางเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ง1 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่างโรงงานที่ 1

พารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเข้า-น้ำออกของแต่ละเดือน							
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3		เดือนที่ 4	
	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก
pH	6.56	6.6	6.88	6.75	6.74	6.58	6.61	6.37
BOD(mg/L)	1,230	855	1,080	765	1,200	380	1,440	1,095
COD(mg/L)	2,200	1,280	1,200	1,280	1,200	1,227	2,400	2,160
TP(mg/L)	459	456.6	299.6	251.2	429	390.6	454.4	485.2
TKN(mg/L)	151	133	136	136	206	46	142.8	98
O&G(mg/L)	70	250	175	55	347.1	75	96	80
SS(mg/L)	338.3	260	237.2	213	298	237	474	334

ตารางผนวกที่ ง2 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่างโรงงานที่ 2

พารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเข้า-น้ำออกของแต่ละเดือน							
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3		เดือนที่ 4	
	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก
pH	6.62	6.99	6.53	7.25	6.96	6.97	6.74	6.81
BOD(mg/L)	2,190	660	2,175	660	630	1,230	930	675
COD(mg/L)	2,133	853	2,800	800	1,200	6,133	2,800	6,000
TP(mg/L)	379.8	150.2	382.2	150.1	411.8	435	332.4	531.6
TKN(mg/L)	274	324	306	346	378	35	274.4	583.8
O&G(mg/L)	250	65	100	55	40	81.3	55.8	33.8
SS(mg/L)	854.4	280	844.5	207.8	378	5,223	485	5,302

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ง3 ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งตัวอย่างโรงงานที่ 3

พารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์ทางเคมีของน้ำเข้า-น้ำออกของแต่ละเดือน							
	เดือนที่ 1		เดือนที่ 2		เดือนที่ 3		เดือนที่ 4	
	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก	น้ำเข้า	น้ำออก
pH	6.37	6.7	6.60	6.89	6.14	6.63	6.01	6.32
BOD(mg/L)	1,320	1,020	1,193	1,125	1,298	983	1,433	668
COD(mg/L)	2,600	2,080	1,733	3,680	800	3,800	3,600	6,400
TP(mg/L)	292	555.8	276	577.8	238.4	413.6	325	521.4
TKN(mg/L)	205	42	179	902	164	431	157	339
O&G(mg/L)	260	135	60	150	138.8	227.5	212.9	167.5
SS(mg/L)	180	1,560	393.3	2785.3	189	4,110	390	4,195

ตารางผนวกที่ ง4 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 2

เชื้อแบคทีเรีย	COD 1	COD 2	COD 3	ค่าเฉลี่ย
Control	1,116	1,512	1,332	1,320
Clostridium sp.	1,980	2,052	2,340	2,124
Bacillus sp.	880	968	997	948
EB1	1,536	1,344	1,920	1,600
EB4	821	836	1378	828

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ง5 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 4

เชื้อแบคทีเรีย	COD 1	COD 2	COD 3	ค่าเฉลี่ย
Control	1,368	1,260	1,044	1,224
Clostridium sp.	1,620	1,800	1,728	1,716
Bacillus sp.	968	997	1,026	997
EB1	1,152	1,536	1,968	1,552
EB4	1,144	1,100	924	1,056

ตารางผนวกที่ ง6 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 6

เชื้อแบคทีเรีย	COD 1	COD 2	COD 3	ค่าเฉลี่ย
Control	576	485	347	469
Clostridium sp.	797	867	971	878
Bacillus sp.	440	997	762	880
EB1	1,200	1,392	1,776	1,456
EB4	1,144	1,202	1,056	1,134

ตารางผนวกที่ ง7 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 8

เชื้อแบคทีเรีย	COD 1	COD 2	COD 3	ค่าเฉลี่ย
Control	792	1,116	900	936
Clostridium sp.	1,620	1,692	1,764	1,692
Bacillus sp.	1,056	1,085	1,216	1,134
EB1	624	693	936	751
EB4	1,056	1,114	1,056	1,075

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ง8 ค่า COD ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่เติมลงไปในถังปฏิกรณ์แบบกะ ชั่วโมงที่ 24

เชื้อแบคทีเรีย	COD 1	COD 2	COD 3	ค่าเฉลี่ย
Control	1,104	1,152	912	1,056
Clostridium sp.	1,392	2,352	1,488	1,744
Bacillus sp.	938	909	968	938
EB1	554	901	963	751
EB4	821	938	1,261	880

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก จ

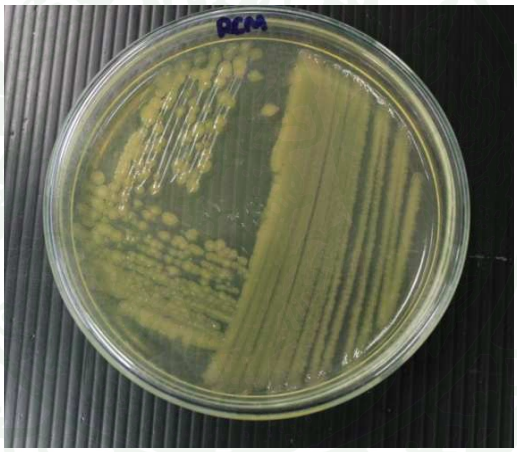
ข้อมูลการทดลองทางจุลชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ จ1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร RCM ที่ห่อด้วยพาราฟิล์ม และบ่มใน candle jar ที่เกิดจากการ Spread Plate ของโรงงาน1,2 และ 3 ตามลำดับ และใช้น้ำเสียจากระบบบำบัด UASB

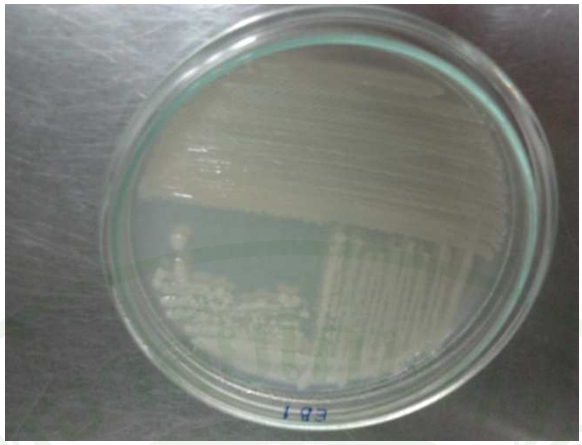
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ จ2 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB1 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

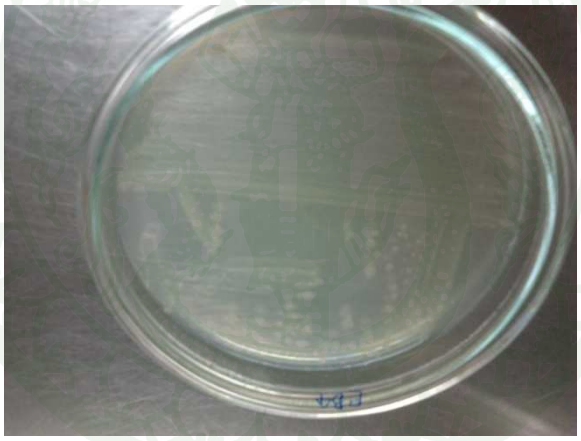


ภาพผนวกที่ จ3 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB4 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

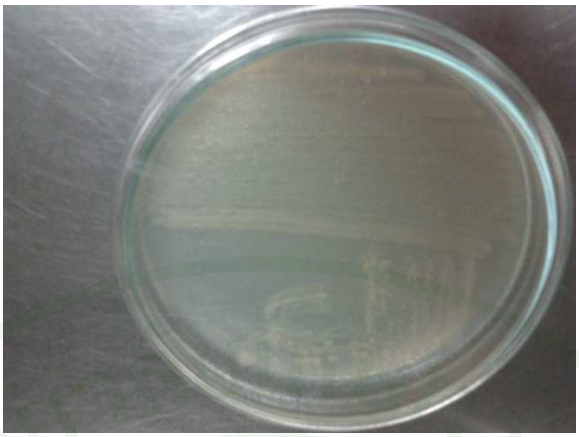


ภาพผนวกที่ จ4 ลักษณะ Bacillus Sp. จาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย; วว. บน Nutrient Agar

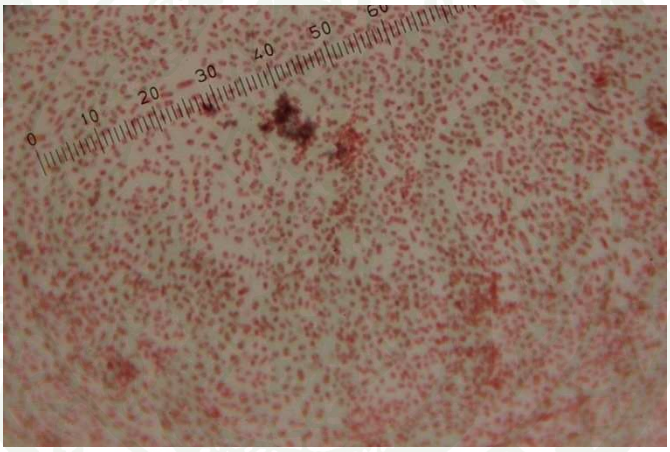


ภาพผนวกที่ จ5 ลักษณะ *Bacillus* Sp. จากการเพาะเลี้ยงจากระบบบำบัด UASB บน Nutrient Agar

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



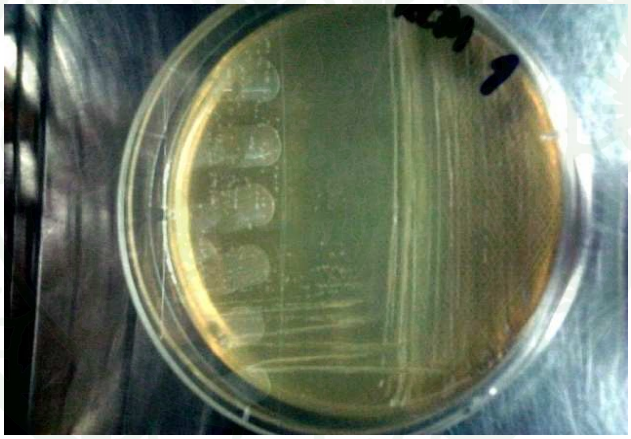
ภาพผนวกที่ จ6 ลักษณะ Enterobacteriaceae จากการเพาะเลี้ยงจากระบบ UASB บน Nutrient Agar



ภาพผนวกที่ จ7 ลักษณะสัณฐานของ Enterobacteriaceae ด้วยการย้อมแกรม ที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB

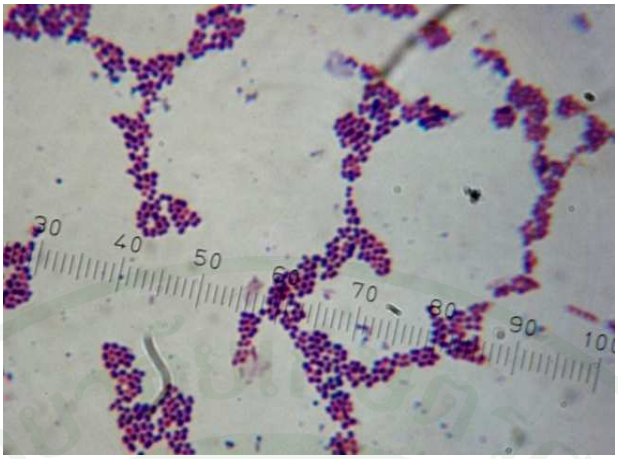
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพผนวกที่ จ8 ลักษณะสัณฐานของ *Bacillus* sp. ด้วยการย้อมแกรม. ที่เพาะเลี้ยงจากระบบUASB



ภาพผนวกที่ จ9 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB3 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

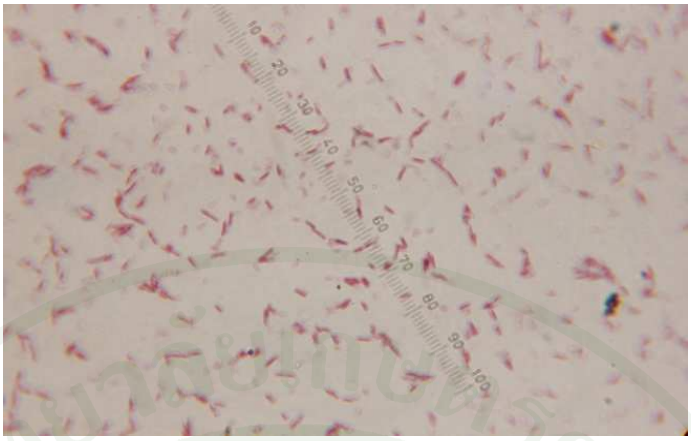
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



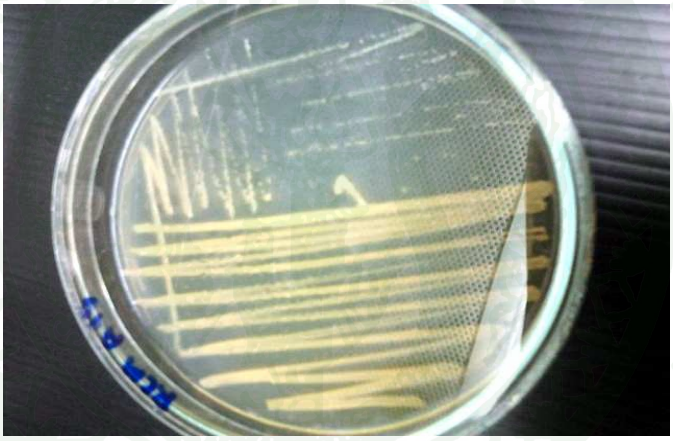
ภาพผนวกที่ จ10 ลักษณะสัณฐานของ EB3 ด้วยการย้อมแกรมที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB

ภาพผนวกที่ จ11 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB5 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

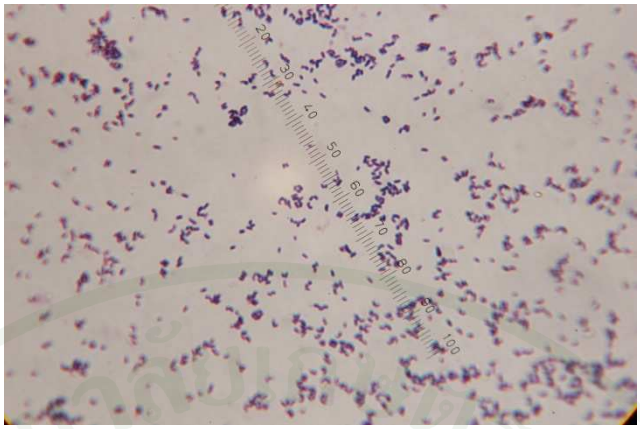


ภาพผนวกที่ จ12 ลักษณะสัณฐานของ EB5 ด้วยการย้อมแกรมที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB

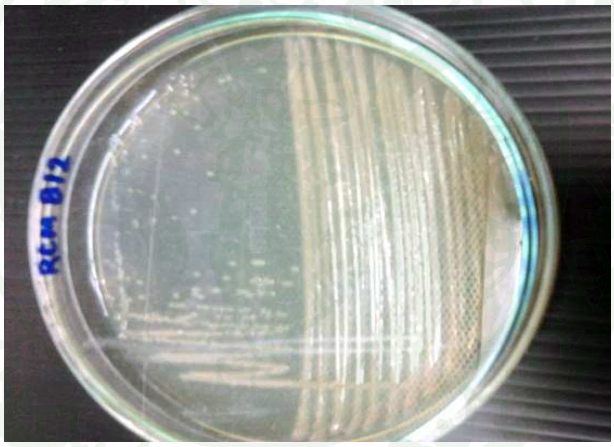


ภาพผนวกที่ จ13 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB6 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

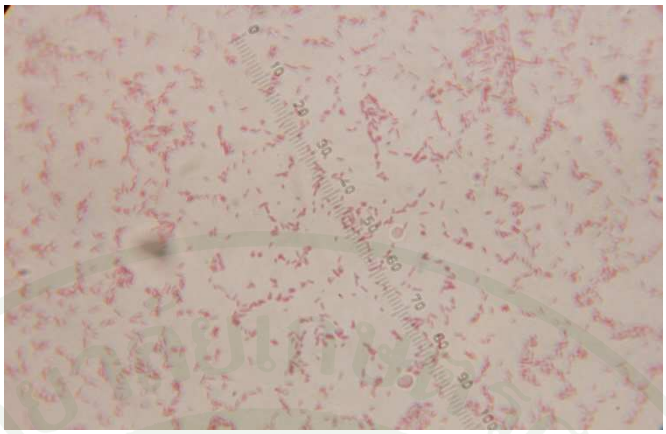


ภาพผนวกที่ จ14 ลักษณะสัณฐานของ EB6 ด้วยการย้อมแกรมที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB

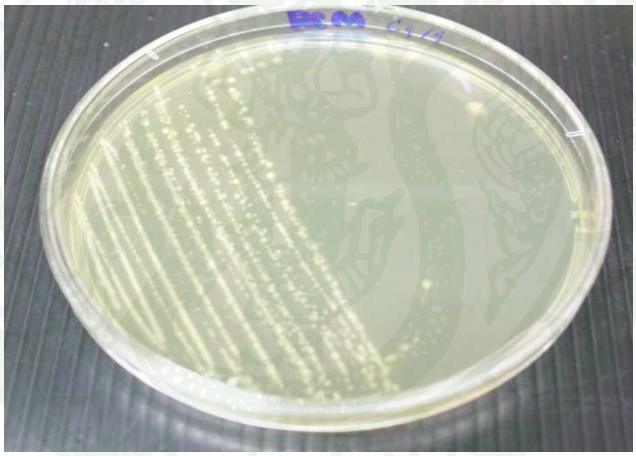


ภาพผนวกที่ จ15 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB7 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

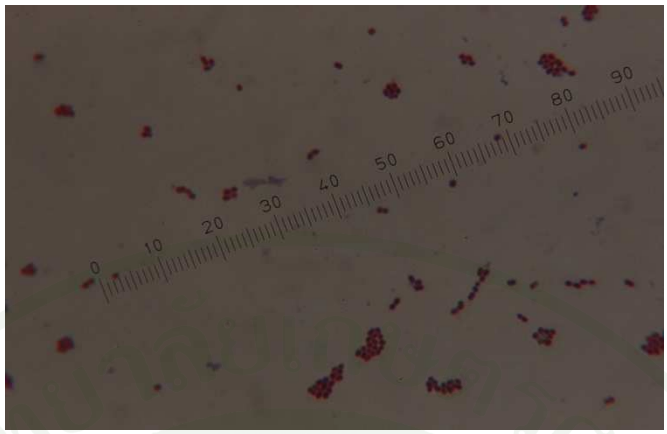


ภาพผนวกที่ จ16 ลักษณะสัณฐานของ EB7 ด้วยการย้อมแกรมที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB



ภาพผนวกที่ จ17 ลักษณะโคลีนีบริสุทธิ์ของ EB8 บนอาหาร Reinfored clostridium medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ จ18 ลักษณะสัณฐานของ EB8 ด้วยการย้อมแกรมที่เพาะเลี้ยงจากระบบ UASB

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวเกศกวี บุญช่วย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	7 ตุลาคม 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดสงขลา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (สาธารณสุขศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์