การเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดย
การออกแบบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยวิธีแฟกทอเรียล

สิรินันท์ ทาเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2558

การเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดย
การออกแบบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยวิธีแฟกทอเรียล

สิรินันท์ ทาเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....

(อาจารย์ ดร. มุจลินทร์ ผลจันทร์)

วันที่ 6 เดือน มกราคม พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะนุช เนียมทรัพย์)

วันที่ 6 เดือน มกราคม พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

(อาจารย์ ดร. ศรีกาญจนา คล้ายเรือง)

วันที่ 6 เดือน มกราคม พ.ศ. 2559

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)

วันที่ 6 เดือน มกราคม พ.ศ. 2559

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 6 เดือน มกราคม พ.ศ. 2559

ชื่อเรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดยการออกแบบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยวิธีแฟกทอเรียล

ชื่อผู้เขียน นางสาวสิรินันท์ ทาเจริญ

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. มุจลินทร์ ผลจันทร์

บทคัดย่อ

การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพด้วยระบบแอคติเวตเตดสลัดจ์นิยมใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเกษตร อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และชนิดของวัตถุดิบกลับมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ และการทำงานในระบบทำให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ลดลง หรือล้มเหลวในที่สุด ซึ่งการควบคุมการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียให้มีประสิทธิภาพไม่เพียงแค่ความเข้าใจทางด้านกายภาพ และเคมี แต่ต้องเข้าใจถึงสภาพแวดล้อมของกลุ่มจุลินทรีย์ด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction – Denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) และทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย เพื่อนำไปทดสอบหาสัดส่วนของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร ด้วยการออกแบบเชิงแฟกทอเรียล จากการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE สามารถคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่น 5 ชนิด ได้แก่ *Sphingomonas terrae, Flavobacterium granuli, Peudomonas* sp., *Thauera butanivorans* และ *Acidovorax soli* และได้ถูกนำมาใช้ในการทดสอบหาสัดส่วนของเชื้อที่เหมาะสมทั้งในน้ำเสียสังเคราะห์ และน้ำเสียจริง ผลการทดลองพบว่า สัดส่วนแบคทีเรียของชุดการทดลองที่ 6 (13 : 2 : 16 : 16 : 3) และชุดการทดลองที่ 12 (13 : 5 : 16 : 7 : 3) ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงสุดร้อยละ 67 ในน้ำเสียจริงระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งถึงสองชุดการทดลองแสดงให้เห็นถึงสัดส่วนที่สูงของ *S. terrae* และ *Pseudomonas* sp. (ร้อยละ 13) จากการติดตามประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ของทั้งสองชุดการทดลองในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการพบว่ามีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (แบคทีเรียในระบบเดิม) โดยประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 84.6 ± 10.9, 84.7 ± 11.4 และ 84.3 ± 12.5 ตามลำดับ (ANOVA, P value > 0.05) อย่างไรก็ตามพบว่า กลุ่มแบคทีเรียทั้งสองชุดการทดลองสามารถช่วย

รักษาเสถียรภาพของระบบบำบัดในสภาวะที่มีความแปรผันของสารอินทรีย์เข้าระบบได้ดีกว่าชุดควบคุม ตลอดจนพบว่ากลุ่มแบคทีเรียในระบบมีความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียมากขึ้น โดยค่า Shannon index (*H'*) เฉลี่ยสูงสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 12 (2.434 และ 2.387) ดังนั้น การออกแบบสัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมกับระบบจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถช่วยรักษาเสถียรภาพของระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรได้

Title	Enhancing the Performance of Biological Wastewater Treatment Plant by Microbial Consortia with Fractional Factorial Design
Author	Ms. Sirinan Thacharoen
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Dr. Mujalin Pholchan

ABSTRACT

Agricultural industry wastewater is typically treated by biological processes especially by the activated sludge system. However, the shock loading condition and variation of raw materials have been found to affect the change in the microbial communities and cause lower system performance. In order to maintain system reliability of the wastewater treatment system to be more efficient, it needs not only the understanding of the physical and chemical conditions but should also consider the environmental conditions as well. The aims of this study, therefore, were to monitor the change in the microbial community using the Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE) technique and to select the bacteria that had the ability to treat organic substances in wastewater and to be later tested to determine the suitable ratio of selected microorganisms for increased efficiency in treating wastewater from agricultural industry by fractional factorial design. From the study of variation of bacterial groups using the PCR-DGGE technique, 5 dominant bacterial groups consisting of *Sphingomonas terrae*, *Flavobacterium granuli*, *Pseudomonas* sp., *Thauera butanivorans* and *Acidovorax soli*, were chosen, and which were used to test for the suitable microbial ratio in both synthetic and raw industrial wastewater. Results showed that highest COD removal efficiency of raw wastewater at 67 % was found in Treatment 6 (13:2:16:16:3) and Treatment 12 (13:5:16:7:3) where high ratio of *S. terrae* and *Pseudomonas* sp. were adjusted to 13% . From the lab-scale SBR, results of COD removal showed no statistical significance (ANOVA, P value > 0.05) between results obtained from Treatments 6, 12 and control (84.6 ± 10.9, 84.7 ± 11.4 and 84.3 ± 12.5%, respectively). However, results indicated that the 2 bacterial groups were able to help maintain the system stability of the wastewater treatment plant treating agricultural industry wastewater that

had high diversity in organic substances, in a much better way than the control. Moreover, it was found in Treatments 6 and 12, optimal average of Shannon index (*H'*) was at 2.434 and 2.387, respectively. This showed high microbial diversity found in the system where consortia had been applied. Therefore, the optimum suitable ratio of microbial consortia could be one of the solutions that could help maintain the stability of the wastewater treatment plant treating agricultural industry wastewater.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. มุจลินทร์ ผลจันทร์ และกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะนุช เนียมทรัพย์ และอาจารย์ ดร. ศรีกาญจนา คล้ายเรือง ที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการแก้ไขปัญหา ตลอดระหว่างดำเนินการวิจัย อีกทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนคอยให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สกุณณี บวรสมบัติ ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม-พวอ. ระดับปริญญาโท ประจำปี 2556 ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัท มาเจสติคอุตสาหกรรมอาหาร จำกัด จังหวัดลำปาง ที่ร่วมให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และเอื้อตัวอย่างน้ำเสียในการทดลอง ตลอดจน คุณอัฒมาส ชนะ ผู้จัดการโรงงาน ที่ให้การสนับสนุนการวิจัย และคุณธนกฤต เมืองสิทธิ์ ผู้จัดการแผนกควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการ ที่คอยช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และให้คำปรึกษาจนเสร็จสิ้นการทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณ ห้องปฏิบัติการสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการวิจัยจนเสร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมทั้งคุณเรือนแก้ว ประพฤติ นักวิทยาศาสตร์ สถาบัน IQS มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อยุทธนา และคุณแม่อำนวย ทาเจริญ และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ได้มอบโอกาสที่ดีในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และนักวิทยาศาสตร์ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

ประโยชน์ และความดี อันเนื่องมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อคุณแม่ให้กำเนิด และเลี้ยงดู ตลอดจนครูอาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สิรินันท์ ทาเจริญ

ตุลาคม 2558

สารบัญ

(หน้า)

สารบัญตาราง

ตาราง (หน้า)

สารบัญภาพ

ภาพ (หน้า)

ภาพ (หน้า)

ภาพ (หน้า)

สารบัญตารางภาคผนวก

สารบัญภาพภาคผนวก

บทที่ 1
บทนำ

เนื่องด้วยนโยบายเศรษฐกิจของประเทศที่ต้องการขยายตัวในตลาดระดับโลกทำให้ในปัจจุบันมีการขยายตัวของอุตสาหกรรมค่อนข้างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมอาหารรวมถึงการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ดังนั้นในการส่งสินค้าออกต่างประเทศนอกจากมาตรฐานและคุณภาพของสินค้าแล้วผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมก็เป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อการยอมรับในระดับสากล จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ทางผู้ประกอบการในระดับอุตสาหกรรมจะต้องมีการจัดการทางด้านสิ่งแวดล้อมควบคู่ไปกับกระบวนการผลิตสินค้า และบริการที่มีคุณภาพเพื่อให้สามารถแข่งขัน และเป็นที่ยอมรับในระดับโลกได้

การจัดการทางด้านสิ่งแวดล้อมของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรโดยมากจะเน้นไปที่การจัดการกับน้ำเสีย และสิ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต ซึ่งการบำบัดน้ำเสียเป็นสิ่งที่ทางอุตสาหกรรมจำเป็นที่จะต้องจัดการให้ผ่านมาตรฐานเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และภาพลักษณ์ของโรงงานที่อาจเกิดปัญหาจากการร้องเรียนของชุมชนรอบข้าง อุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรมักมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของวัตถุดิบ และมีปริมาณของน้ำเสียไม่คงที่เป็นผลทำให้น้ำเสียที่เข้าระบบมีความผันแปรสูงจึงจำเป็นที่จะต้องมีการปรับเปลี่ยนสภาวะของการเดินระบบ และการแก้ไขปัญหาของการดำเนินระบบอยู่บ่อยครั้ง นอกจากนั้นยังพบปัญหาว่าการบำบัดมีประสิทธิภาพต่ำ และบางครั้งเกิดการล้มเหลวของระบบ ทั้งนี้ส่วนหนึ่งของปัญหาดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการเลือก และออกแบบระบบ รวมไปถึงการดำเนินระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ยังไม่สมบูรณ์เพราะยังขาดความเข้าใจถึงกลไกของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ (Yu and Mohn, 2001 cited by Moura et al., 2009)

ดังนั้นการศึกษาถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพจึงมีความสำคัญมากเพราะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของชนิดจุลินทรีย์ที่มีต่อความแปรผันของน้ำเสียเข้าระบบ ฉะนั้นหากมีการศึกษาในเชิงลึก และคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียมาเพื่อออกแบบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่เหมาะสม และนำมาใช้ในการรองรับการเปลี่ยนแปลงของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัด จึงคาดว่าการศึกษาดังกล่าวจะเป็นแนวทางที่ช่วยแก้ไขปัญหาในการจัดการน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรในระยะยาวได้อย่าง

มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังคาดว่าผลจากการศึกษานี้น่าจะเป็นต้นแบบในการปรับปรุงและพัฒนาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมที่มีฐานการผลิตใกล้เคียงกันได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการแปรผันของคุณสมบัติน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปการเกษตร
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกในการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียโดยวิเคราะห์ผ่านการออกแบบเชิงแฟกทอเรียล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. คาดว่ากลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้สามารถช่วยในการปรับปรุงการบำบัดน้ำเสียสำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร
2. กลุ่มจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย และช่วยลดค่าใช้จ่ายในการแก้ไขปัญหาน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร
3. แนวทางการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรให้รองรับกับความแปรผันของน้ำเสีย

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

ปัจจุบันมีการขยายตัวของโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรที่สูงขึ้นจึงทำให้เกิดมลภาวะที่ตามมากับสิ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาน้ำเสียที่หลายโรงงานเริ่มหันมาให้ความสำคัญ เนื่องจากมีกฎหมายกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรม และนิคมอุตสาหกรรม (กรมควบคุมมลพิษ, 2539) และประกาศจากกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดให้โรงงานต้องมีระบบบำบัดน้ำเสีย (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2547) อีกทั้งการแข่งขันในตลาดโลกที่นอกจากจะพิจารณาคุณภาพของสินค้าแล้วยังมองถึงการจัดการทางด้านสิ่งแวดล้อมด้วย เป็นผลทำให้โรงงานอุตสาหกรรมต่างให้ความสนใจ และมีการจัดการกับระบบสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียถือได้ว่าเป็นสิ่งสำคัญที่ทางอุตสาหกรรมได้มีการจัดการเพื่อป้องกันการร้องเรียนของชุมชน และสร้างมาตรฐานให้กับโรงงานของตนเอง โดยมากทางโรงงานจะเลือกออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียที่มีต้นทุนต่ำ มีประสิทธิภาพในการบำบัดสูง และเหมาะสมกับบริเวณของโรงงาน

กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ (Activated sludge)

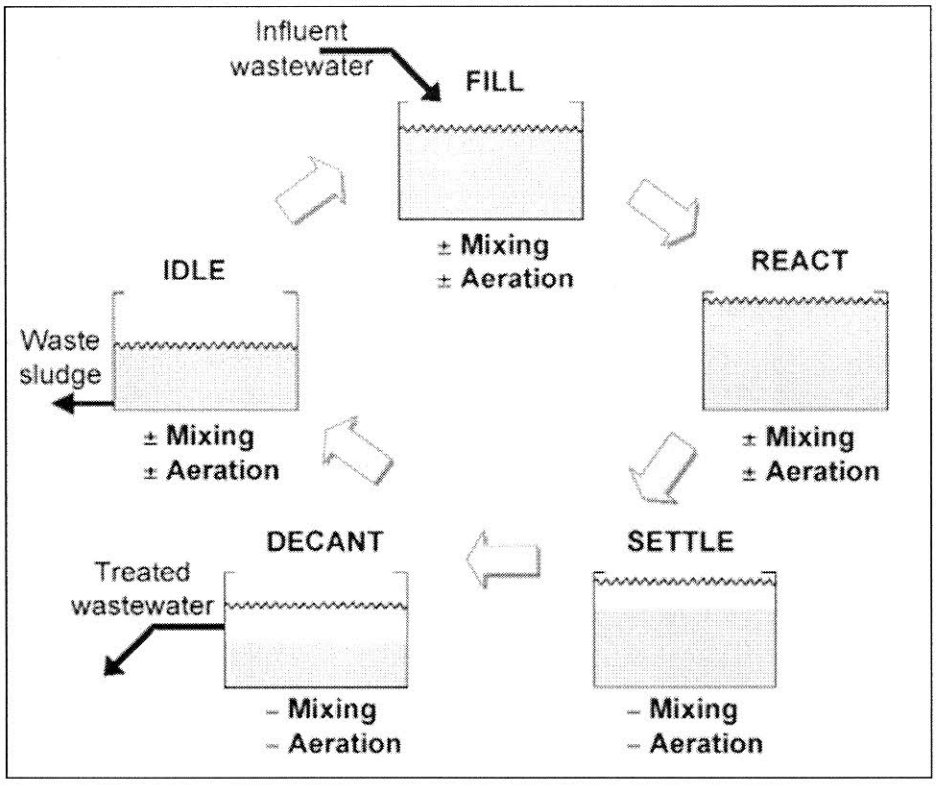
ระบบบำบัดน้ำเสียที่ทางอุตสาหกรรมนิยมเลือกใช้แตกต่างกันไปตามประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ชนิด และปริมาณน้ำเสีย อัตราส่วนของสารอินทรีย์ในน้ำเสียต่อวัน เป็นต้น โดยกระบวนการบำบัดน้ำเสียมีหลายประเภททั้งการบำบัดทางชีวภาพแบบใช้อากาศ และไม่ใช้อากาศ หรือรวมการบำบัดทั้งสองแบบเข้าด้วยกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย (Chunyang et al., 2011) ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศถือได้ว่าเป็นระบบที่ทางอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรนิยมใช้ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการเริ่มต้นระบบน้อยกว่าระบบไร้อากาศ และช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ค่อนข้างดีโดยมีค่าการกำจัดบีโอดีสูงถึงร้อยละ 95 (Chamorro et al., 2009) กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ เป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศที่เป็นที่นิยมมากที่สุด โดยระบบนี้จะเป็นการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาโดยใช้แบคทีเรียพวกที่ใช้ออกซิเจน (aerobic bacteria) เป็นตัวหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย (วีรานุช, 2554) โดยทั่วไปจุลินทรีย์มีลักษณะแขวนลอยสามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย และ

สามารถตกตะกอนได้ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างตะกอนจุลินทรีย์ และน้ำทิ้งซึ่งสามารถเขียนปฏิกิริยาชีวเคมีของกระบวนการได้ดังนี้ (ธีระ, 2539)

ระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์เป็นระบบที่นิยมใช้ทั้งในการบำบัดน้ำเสียจากชุมชน และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามการเดินระบบประเภทนี้มีความซับซ้อน เนื่องจากจำเป็นต้องมีการควบคุมสภาวะแวดล้อม และลักษณะทางกายภาพต่าง ๆ ให้เหมาะสมแก่การทำงาน และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสูงสุด (วีรานุช, 2554) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาใช้งานระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์หลายรูปแบบ เช่น ระบบแบบกวนสมบูรณ์ กระบวนการปรับเสถียร ระบบคลองวนเวียน และระบบบำบัดเอสบีอาร์

ระบบบำบัดเอสบีอาร์ (Sequencing batch bioreactor : SBR) เป็นระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ (activated sludge) อีกแบบหนึ่งที่ทางอุตสาหกรรมนิยมใช้ เนื่องจากประหยัดพื้นที่ สามารถรวมเอาถังปรับเสถียร ถังเติมอากาศ และถังตกตะกอนรวมไว้ในถังเดียว (EPA, 1999) โดยหลักการทำงานของระบบเอสบีอาร์เริ่มจากน้ำเสียเข้าสู่ถังรีแอคเตอร์ และเติมอากาศเพื่อให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนย่อยสลายสารอินทรีย์ จากนั้นเมื่อหยุดการเติมอากาศจะเกิดการตกตะกอน และมีการปล่อยน้ำส่วนใสที่ผ่านการบำบัดออกจากระบบเพื่อการบำบัดขั้นถัดไป ดังแสดงในภาพ 1 นอกจากนี้ยังมีความยืดหยุ่น และสามารถควบคุมระบบได้ง่าย (EPA, 1999) อีกทั้งระบบเอสบีอาร์ยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์จากน้ำเสียที่มาจากอุตสาหกรรมโดยมีร้อยละการกำจัดบีโอดี และซีโอดีสูงถึง 85 และ 95 ตามลำดับ (Goncalve et al., 2005) ตัวอย่างงานวิจัยในการบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ ได้แก่ การบำบัดน้ำเสียจากแป้งแบบใช้อากาศร่วมกับแบบไม่ใช้อากาศด้วยระบบ UBF - CASS พบว่า ค่าซีโอดีลดลงจาก 12,000 มก.ต่อ ลิตร เหลือ 125 มก.ต่อ ลิตร (Yang et al., 2009) นอกจากนี้การบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศพบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีถึงร้อยละ 95 (Jin et al., 2012) เช่นเดียวกับ Xinkai และคณะ (2004) ที่ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากแป้งด้วยระบบเอสบีอาร์ พบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 94 - 97 จากรายงานวิจัยที่ได้กล่าวไปข้างต้นจะเห็นได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามเพื่อให้ระบบมีประสิทธิภาพสูง การควบคุมระบบจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทราบถึงคุณลักษณะของน้ำเสียเข้าระบบ

ซึ่งมีสัดส่วนของสารอินทรีย์แตกต่างกันไป และยังต้องทราบถึงกลไกการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย



ภาพ 1 กระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยระบบเอสบีอาร์

ที่มา: Poltalk, 2005

พารามิเตอร์ที่สำคัญในการออกแบบระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ มีดังนี้

1. อายุตะกอน (Sludge age) หรือ Sludge Retention Time (SRT)

อายุตะกอน คือ ระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบบำบัด ซึ่งสามารถคำนวณได้ โดยการหาน้ำหนักของแข็งแขวนลอยในถังเติมอากาศด้วยน้ำหนักของแข็งที่ระบายออกในแต่ละวัน การควบคุมสามารถทำได้โดยการปรับอัตราการนำตะกอนส่วนเกินไปทิ้ง หากทิ้งตะกอนส่วนเกินออกไปมาก ค่าอายุตะกอนก็จะลดลง และหากนำตะกอนส่วนเกินไปทิ้งน้อย ค่าอายุตะกอนจะเพิ่มขึ้นโดยค่าอายุตะกอนของระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์แบ่งตามรูปแบบของกระบวนการได้เป็น 3 ประเภทคือ อัตราการบำบัดสูง อัตราการบำบัดธรรมดา และอัตราการบำบัดต่ำ ซึ่งอายุตะกอนที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วงน้อยกว่า 3 วัน ช่วงเวลา 5 - 15 วัน และมากกว่า 20 วัน ตามลำดับ (มั่นสิน, 2542) ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสมการ ดังนี้

$$\text{อายุตะกอนจุลินทรีย์} = \frac{\text{ตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้บำบัดน้ำเสีย (กก.)}}{\text{ตะกอนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นต่อวัน (กก. ต่อ วัน)}} \quad \text{---------- (1)}$$

$$\text{หรือ} = \frac{VX}{Q_wX + (Q - Q_w)X_c}$$

โดยที่ V = ปริมาตรของถังเติมอากาศ (ลบ.ม.)

X = ความเข้มข้นของตะกอนในถังเติมอากาศ (มก. ต่อ ลิตร)

Q_w = อัตราการระบายตะกอนทิ้ง (ลบ.ม ต่อ วัน)

Q = อัตราการไหลของน้ำเสียที่เข้าถังเติมอากาศ (ลบ.ม ต่อ วัน)

X_c = ความเข้มข้นของตะกอนในน้ำทิ้ง (มก. ต่อ ลิตร)

2. ระยะเวลาการเก็บกักน้ำเสียในระบบ (Hydraulic retention time, HRT)

เนื่องจากระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ต้องการระยะเวลาการเก็บกักต้องมากพอที่จะบำบัดสารอินทรีย์ได้ แต่ไม่มากเกินไปจนกลายเป็นการเติมอากาศที่มากเกินจำเป็น ทำให้เปลืองพลังงาน ซึ่งระยะเวลาในการบำบัดที่แนะนำอยู่ในช่วง 4 - 8 ชั่วโมง จะมากหรือน้อยกว่าค่าแนะนำนั้น ขึ้นกับแต่ละชนิดของระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ด้วย

3. Food per Microorganism หรือ F/M Ratio

F/M Ratio คือ สัดส่วนปริมาณสารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบในแต่ละวันต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ คำนวณจากปริมาตรของถังเติมอากาศ และมีความสัมพันธ์กับค่าอายุตะกอน จุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพในการทำงานต้องมีอาหารที่เพียงพอ และเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถควบคุมได้โดยการรักษาอัตราส่วนของสารอินทรีย์เข้าระบบที่อยู่ในรูปของค่าบีโอดี ต่อน้ำหนักตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\text{อัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์} = \frac{\text{น้ำหนักของสารอินทรีย์ที่เข้าระบบต่อวัน (กก.)}}{\text{น้ำหนักของจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศ (กก.)}} \quad \text{---------- (2)}$$

$$\text{หรือ} = \frac{\text{น้ำหนักบีโอดีที่เข้าระบบต่อวัน (กก.)}}{\text{น้ำหนักของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศ (กก.)}} \quad \text{---------- (3)}$$

หรือ = <u>อัตราการไหลของน้ำเสีย (ลบ.ม. ต่อ วัน) x บีโอดีเข้า (มก. ต่อ ลิตร)</u> ---------- (4)
ปริมาตรน้ำในถังเติมอากาศ (ลบ.ม. ต่อ วัน) x MLSS (ลบ.ม. ต่อ ลิตร)

4. อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (organic loading)

อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ คือ ปริมาณสารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบในแต่ละวัน คิดเทียบกับขนาดของถังเติมอากาศ ซึ่งมีค่าเป็นสัดส่วนกับค่า F/M Ratio มีหน่วยเป็นกิโลกรัมบีโอดี ต่อ ลูกบาศก์เมตรต่อวัน

สำหรับพารามิเตอร์ตัวอื่น ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัด ได้แก่ การควบคุมปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำตะกอน (Mixed-liquor) ในถังเติมอากาศ หรือที่เรียกว่า เอ็มแอลเอสเอส (Mixed - Liquor Suspended Solid; MLSS) และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำตะกอน Mixed - Liquor Volatile Suspended Solid; MLVSS) ซึ่งจะรวมถึงจุลินทรีย์ทั้งมีชีวิต และไม่มีชีวิต สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่จุลินทรีย์ สัดส่วนของตะกอนสูบกลับ ค่าความเป็นกรด - ด่าง และอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทำงานของแบคทีเรีย

การเจริญของจุลินทรีย์ในระบบบัดน้ำเสีย (Bitton, 2005)

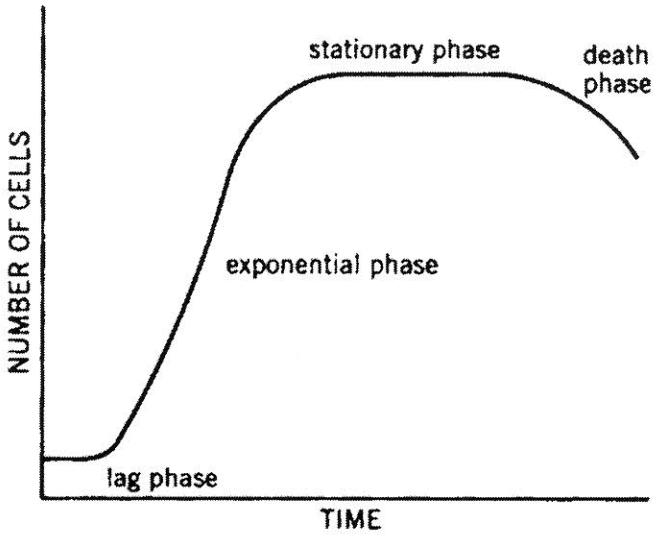
การเจริญของแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลักในระบบบัดน้ำเสียโดยทั่วไปจะมีการเจริญเป็น 4 ระยะ ได้แก่ Lag phase, Exponential growth phase, Stationary growth phase และ Death phase ดังแสดงในภาพที่ 2

ระยะ Lag phase เป็นช่วงที่แบคทีเรียใช้เวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม และเริ่มสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

ระยะ Exponential growth phase เป็นช่วงที่แบคทีเรียเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องจากมีอาหารที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้อย่างเต็มที่ โดยอัตราการเจริญของแบคทีเรียในระยะนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการย่อยสลายสารอาหาร จึงส่งผลให้อัตราการเจริญของแบคทีเรีย และอัตราการใช้สารอาหารมีค่าสูงสุด

ระยะ Stationary phase เป็นช่วงที่อัตราการเจริญของเซลล์คงที่เนื่องจากอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการตายของเซลล์ ซึ่งมีสาเหตุจากมีความจำกัดของสารอาหาร ตัวรับอิเล็กตรอน และมีการผลิตสารพิษออกมาภายนอกเซลล์ เช่น สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ เป็นต้น

ระยะ Death phase เป็นระยะที่มีอัตราการตายของเซลล์แบคทีเรียมากกว่าอัตราการเกิด ซึ่งในการวัดจำนวนเซลล์ด้วยวิธี viable count จะพบว่ามีการลดลงของเซลล์ แต่ถ้าใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะพบว่ามีความขุ่นหรือจำนวนเซลล์คงที่



ภาพ 2 รูปแบบการเจริญของจุลินทรีย์
ที่มา: Bitton,2005

การเจริญของจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ และใช้สารตั้งต้น (substrate) เช่น สารอินทรีย์ สารอาหารต่างๆ เป็นต้น โดยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีอัตราการเจริญจำเพาะที่แตกต่างกันไปตามความสามารถในการใช้สารตั้งต้นในการเจริญ สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียมีลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ที่แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ทั่วไป เนื่องจากมีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดเจริญอยู่ร่วมกันจึงทำให้อัตราการเจริญจำเพาะที่คำนวณได้เป็นค่าที่ประมาณการ โดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศมีอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.5 และระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันเท่ากับ 0.2 (Pollard and Greenfield, 1997 cited by Bitton, 2005) ซึ่งอัตราการเจริญของจุลินทรีย์สามารถแสดงในรูปของสมการคณิตศาสตร์ หรือ Monod's equation ดังนี้

$$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]} \qquad \text{---------- (5)}$$

อย่างไรก็ตามในการเจริญของจุลินทรีย์มีการตายเกิดขึ้นดังนั้น จึงได้มีสมการที่นำสัมประสิทธิ์การลดลงของจุลินทรีย์มาคำนวณด้วย ดังนี้

$$\mu = \mu_{max} \frac{[S]}{K_s + [S]} - K_d \qquad \text{---------- (6)}$$

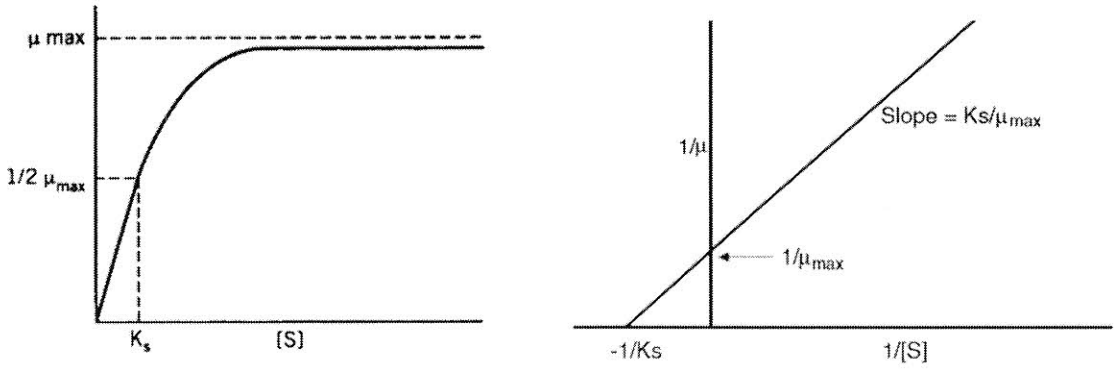
เมื่อ μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลชีพ (มก. ต่อ ลิตร)

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดของจุลชีพ (มก. ต่อ ลิตร)

S = ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในระบบ (มก. ต่อ ลิตร)

K_s = ค่าความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบที่ครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญสูงสุด (มก. ต่อ ลิตร)

K_d = สัมประสิทธิ์การลดลงของจุลชีพ



ก ข

ภาพ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) และความเข้มข้นของสับเสตรท (S)

ก Monod's saturation curve ข Lineweaver - Burke plot

ที่มา: Bitton (2005)

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาจะมีจุลินทรีย์หลายชนิดทำงานอยู่ร่วมกัน ดังนั้นปัจจัยสำคัญต่าง ๆ เช่น ปริมาณ และชนิดของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย อุณหภูมิ พีเอช และปริมาณออกซิเจน เป็นต้น จึงส่งผลต่อประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากปัจจัยดังกล่าวจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบบำบัด ดังนั้นความเข้าใจถึง

ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์จึงนับว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการออกแบบและควบคุมระบบบำบัด โดยปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมระบบให้มีประสิทธิภาพสามารถสรุปได้ดังนี้ (Bitton, 2005)

1. ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

เนื่องจากสารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ดังนั้นในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอินทรีย์มากจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยทำให้มีอัตราส่วนของอาหารต่อจุลินทรีย์สูง จุลินทรีย์จะเกิดการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และเกิดการกระจายตัวไม่รวมเป็นกลุ่มก้อน (floc) จึงเป็นผลทำให้ประสิทธิภาพในการตกตะกอนต่ำ แต่ในทางตรงกันข้ามหากอัตราส่วนของอาหารต่อจุลินทรีย์ต่ำ ตะกอนจุลินทรีย์ตกตะกอนได้เร็ว แต่ไม่สามารถจับตะกอนเล็ก ๆ ตกลงมาได้หมดเป็นผลทำให้น้ำออกมีลักษณะขุ่น

2. อาหารเสริม

จุลินทรีย์ในระบบต้องการสารอาหาร (nutrient) ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และเหล็ก ซึ่งน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาจมีปริมาณของสารอาหารเหล่านี้ไม่เพียงพอแก่การเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์สร้างฟล็อก ทำให้จุลินทรีย์ชนิดที่มีเส้นใยเจริญได้ดีกว่า เป็นผลทำให้ตะกอนอืด และตกตะกอนได้ยาก

3. ออกซิเจนละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเติมอากาศควรมีไม่น้อยกว่า 2 มิลลิกรัม ต่อ ลิตร เพื่อรักษาความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำ โดยที่ค่าออกซิเจนละลายน้ำจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ถ้ามีอุณหภูมิสูงความสามารถในการละลายน้ำของออกซิเจนจะต่ำ แต่หากอุณหภูมิต่ำออกซิเจนจะสามารถละลายน้ำได้มาก

4. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการเพิ่มของอุณหภูมิทุก ๆ 10 องศาเซลเซียส จะทำให้จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว จนถึงอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส แต่เมื่ออุณหภูมิสูงเกินไปจุลินทรีย์จะเจริญได้น้อยลง อย่างไรก็ตามการควบคุมอุณหภูมิทำได้ยาก จึงมีการควบคุมความเข้มข้นของตะกอนในระบบให้มีปริมาณน้อยลงเมื่อมีอุณหภูมิสูงหรือควบคุมให้มีปริมาณตะกอนเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลง

5. ระยะเวลาในการบำบัด

การควบคุมเวลาที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียควรเพียงพอที่จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ เพราะหากระยะเวลาสั้นเกินไปสารอินทรีย์อาจจะยังไม่ย่อยสลายจนถึงขั้นสุดท้ายทำให้ค่าซีโอดี หรือบีโอดีในน้ำออกยังคงมีค่าสูง

6. ค่าพีเอช

ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย คือ ช่วง 6.5 - 8.5 หากพีเอชต่ำกว่า 6.5 เชื้อราจะเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรีย เป็นผลทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดและการตกตะกอนลดลง อย่างไรก็ตามหากมีค่าพีเอชสูงจะทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ จุลินทรีย์จึงไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้

7. สารพิษ

สารพิษที่พบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารพิษแบบให้พิษเฉียบพลัน (acute Toxicity) จะทำให้จุลินทรีย์ตามภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วโมง สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ ไซยาไนด์ อะเซนิค เป็นต้น และสารแบบให้พิษออกฤทธิ์ช้า (chronic toxicity) สารกลุ่มนี้ใช้เวลานานและทำให้แบคทีเรียค่อย ๆ ตาย เช่น ทองแดง และโลหะหนักต่าง ๆ เป็นต้น

8. อัตราการไหลของน้ำ

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของน้ำมีผลโดยตรงต่อการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ เนื่องจากอัตราการไหลของน้ำเสียที่สูง จะทำให้ระยะเวลาในการบำบัดน้อยลงทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดลดลง

ปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่จะทำให้สามารถเข้าใจถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียได้ก็คือ อันตรกิริยาของกลุ่มจุลินทรีย์ (interactions) ซึ่งเป็นการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในสภาวะการเปลี่ยนแปลงตามคุณลักษณะของน้ำเสีย และสภาพแวดล้อม จึงทำให้กลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดมีการปรับให้เข้ากับสภาพแวดล้อมเป็นผลทำให้ระบบค่อนข้างคงที่ แต่ในบางสภาวะที่จุลินทรีย์ไม่สามารถที่จะปรับให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้จะทำให้ระบบไม่คงตัว และยากต่อการควบคุม ดังนั้นความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับอันตรกิริยาของจุลินทรีย์จะช่วยให้ทราบถึงธรรมชาติของจุลินทรีย์แต่ละชนิดซึ่งนำไปสู่การปรับสภาวะของการควบคุมระบบให้มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดียิ่งขึ้น โดยอันตรกิริยาของกลุ่มจุลินทรีย์สามารถแบ่งได้ดังนี้ (ธีระ, 2539)

1. ภาวะเป็นกลาง (neutral interactions) เป็นภาวะที่ไม่มีอันตรกิริยาระหว่างจุลินทรีย์ซึ่งเกิดขึ้นได้ยากมากในระบบสิ่งแวดล้อม เว้นแต่จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันมากในสิ่งแวดล้อมที่ต้องการ

2. ภาวะอิงอาศัย (commensalism) จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งได้รับประโยชน์ในขณะที่จุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งไม่ได้รับผลกระทบ เช่น การย่อยเซลลูโลส จุลชีพหนึ่งจะย่อยเซลลูโลสให้กลูโคสและกลูโคสจะถูกใช้เป็นอาหารของจุลชีพอื่น

3. ภาวะพึ่งพากัน (mutualism) คือภาวะที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดต่างก็ได้รับผลประโยชน์

4. ภาวะแข่งขัน (competition) จุลินทรีย์มีการแข่งขันต่อกันเพื่ออาหาร และพื้นที่ มักเกิดกับจุลินทรีย์ที่มีความใกล้เคียงกัน หรือมีความต้องการอาหาร และสภาพแวดล้อมเหมือนกัน

5. ภาวะปรับปรุง (amensalism) เป็นภาวะที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเปลี่ยนสิ่งแวดล้อมให้จุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง เช่น จุลินทรีย์กลุ่มแฟคคัลเททีฟอยู่ได้ในสภาวะที่มี หรือไม่มีออกซิเจน และเมื่อใช้ออกซิเจนหมดแล้วจะเอื้อให้จุลินทรีย์กลุ่มไม่ใช้อากาศเจริญได้

6. ภาวะปรสิต (parasitism) คือการเบียดเบียนของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งกับชนิดอื่น

7. การล่าเหยื่อ (predation) จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งบริโภคจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง

โดยทั่วไปแล้วในน้ำเสียจะประกอบไปด้วยสารอินทรีย์ประกอบหลายชนิดรวมกัน ซึ่งจุลินทรีย์มีความสามารถในการใช้สารประกอบเพื่อการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ โดยที่จุลินทรีย์สามารถใช้สารประกอบเพียงชนิดเดียว หรือหลายชนิดได้ (Dagley, 1975 cited by Cloete and Muyima, 1997) อย่างไรก็ตามกระบวนการเมตาบอลิซึมที่หลากหลายของการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์เกิดจากความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาจมากับน้ำเสียเข้าระบบ และจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียนั้น ๆ ซึ่งอันตรกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ และกิจกรรมของจุลินทรีย์โดยรวมเรียกว่าชุมชนของจุลินทรีย์ (microbial consortia) โดยปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างจุลินทรีย์มีทั้งส่งผลเชิงบวกและลบ ซึ่งกลไกการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์นี้จะช่วยรักษาเสถียรภาพการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ (Cloete and Muyima, 1997) อีกทั้งกระบวนการย่อยสลายที่เกิดโดยกลุ่มแบคทีเรียสามารถกำจัดสารสารปนเปื้อนได้เร็วกว่าแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว (Thompson et al., 2005 cited by Anggraaeni et al., 2014) เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียประกอบไปด้วยแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารปนเปื้อนให้ได้เป็นสารอีกชนิดหนึ่งซึ่งแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ สามารถนำไปใช้ได้จึงทำให้กิจกรรมการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสียของแบคทีเรียเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ (Jadhav et al., 2008 cited by Anggraaeni et al., 2014)

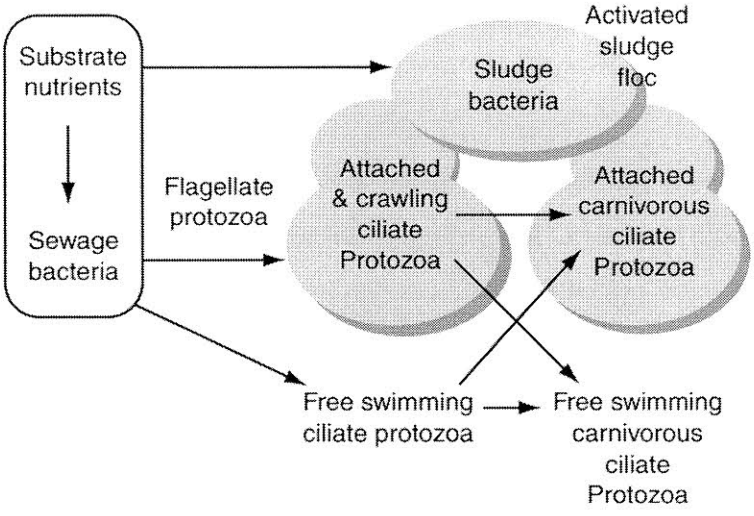
จากรายงานวิจัยของ Andersson และคณะ (2009) ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติของแบคทีเรียสร้างไบโอฟิล์มเพื่อใช้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสีย โดยในการศึกษาได้ใช้แบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Comamonas denitrificants Bracbymonas denitrificant* และ *Aeromonas hydrophila* จากการศึกษาพบว่า การใช้แบคทีเรียหลายชนิดร่วมกันมีการสร้างโพลีแซกคาไรด์ แต่ไม่พบสารดังกล่าวในการทดลองที่ใช้แบคทีเรียเพียงชนิดเดียว ซึ่งโพลีแซกคาไรด์นั้นเกิดจากปฏิสัมพันธ์แบบต่อต้านกันระหว่างแบคทีเรียซึ่งมีผลทำให้เกิดชั้นไบโอฟิล์มขึ้นมา นอกจากนี้ภาวะอิงอาศัยเป็นอีกภาวะหนึ่งที่มักเกิดขึ้นในระบบนิเวศ เช่น กลุ่มแบคทีเรีย chemolithoautotrophic nitrifying bacteria ที่มีการผลิตสารประกอบอินทรีย์ละลายออกมาภายนอกเซลล์ และจุลินทรีย์กลุ่ม heterotrophic สามารถนำสารอินทรีย์เหล่านั้นไปใช้ได้ (Dolinsek et al., 2013) หรือการเจริญของ Nitrifying bacteria ที่จะเกิดขึ้นหลังจากการเจริญของ Heterotrophic bacteria เนื่องจากต้องรอให้ความเข้มข้นของสารคาร์บอนอินทรีย์ลดลงโดยการใช้ของ Heterotrophic bacteria (ธงชัย, 2544) นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Anggraaeni และคณะ (2014) ที่ทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเบียร์โดยใช้กลุ่มแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียจากเบียร์ พบว่า การใช้กลุ่มแบคทีเรีย *Cronobacter* sp., *Pseudomonas fluorescent* และ *Aeromnas* sp. สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้แบคทีเรียเดี่ยว โดยกลุ่มแบคทีเรียสามารถกำจัด ซีโอดี และบีโอดีได้ถึงร้อยละ 66.06 และ 78.91 ตามลำดับ จากรายงานข้างต้นจะเห็นได้ว่ากลุ่มแบคทีเรียมีปฏิสัมพันธ์ร่วมเชิงบวกที่ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์

ความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ มีปัจจัยสำคัญที่ช่วยในกระบวนการบำบัดน้ำเสียคือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศ โดยการทำงานของระบบจะมีการเติมอากาศเป็นช่วงเวลาเพื่อให้ออกซิเจนแก่จุลินทรีย์ที่ใช้อากาศในการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือเกิดการออกซิเดชั่นสารอินทรีย์ละลายน้ำ ให้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ใหม่ของจุลินทรีย์ จากนั้นเมื่อหยุดการเติมอากาศตะกอนจุลินทรีย์จะเกิดการรวมตัวหรือที่เรียกว่า ฟล็อก (flock) ทำให้สามารถตกตะกอน และแยกออกจากน้ำทิ้ง ซึ่งลักษณะของฟล็อกที่มีการรวมกลุ่มของจุลินทรีย์แสดงดัง ภาพ 4 และลักษณะฟล็อกที่แบ่งตามการเข้าถึงออกซิเจนสามารถแบ่งได้เป็น 3 บริเวณ ได้แก่ aerobic zone, anaerobic zone และ anoxic zone ดังแสดงในภาพ 5 โดยแบคทีเรียถือว่าเป็นจุลินทรีย์หลักที่สามารถพบได้ในตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสีย โดยทั่วไปแบคทีเรียที่ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์มีจำนวน

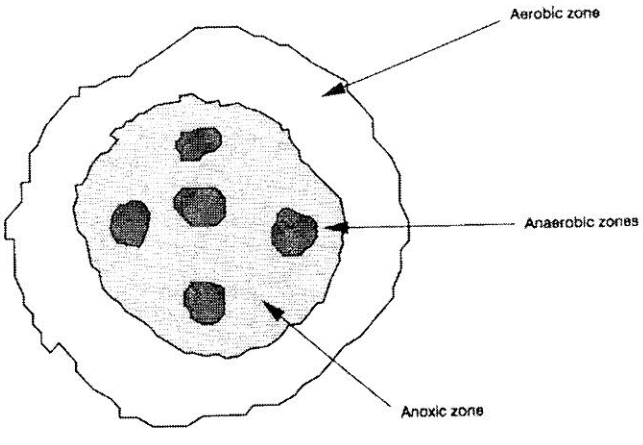
มากถึง 10^9 CFU ต่อ มล. (Lighthart and Loew, 1972) ตัวอย่างแบคทีเรียที่พบในฟล็อกได้แก่ *Zooglea, Pseudomonas, Flavobacterium, Alcaligenes, Achromobacter, Corynebacterium, Comomonas, Brevibacterium, Acinetobacter, Bacillus* spp. เป็นต้น (Bitton, 2005)

นอกจากนี้ Hiraishi และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรียในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งพบว่า แบคทีเรียที่พบมาสุดถึงร้อยละ 50 คือ แบคทีเรียในกลุ่ม *Comamonas-Pseudomonas* ดังแสดงในตาราง 1



ภาพ 4 การเกิดฟล็อกของจุลินทรีย์ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

ที่มา: Wagner and Amann (1996)



ภาพ 5 บริเวณการเข้าถึงของออกซิเจนในฟล็อกของระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

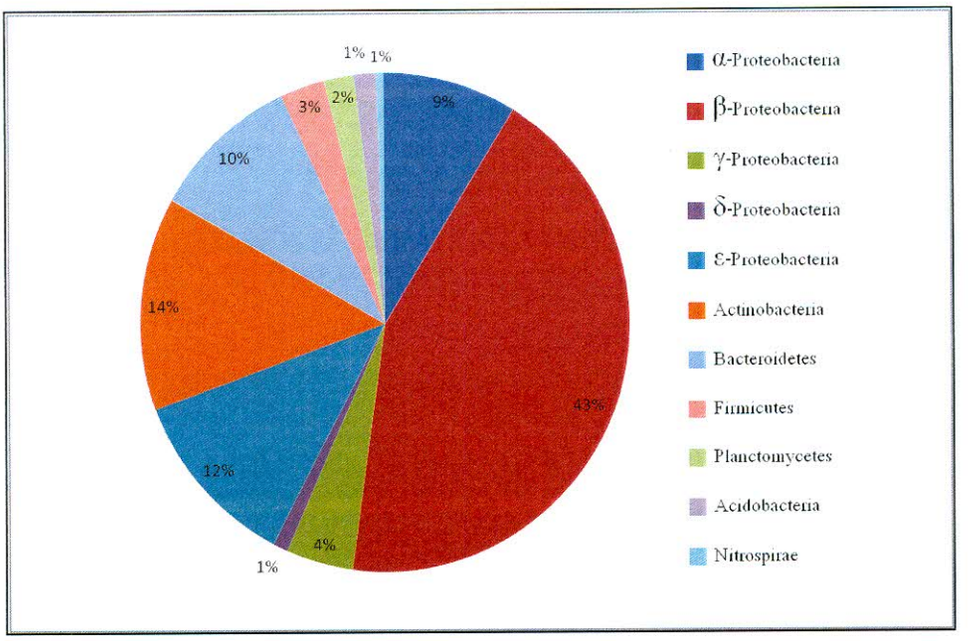
ที่มา: Wu et al., 1987

ตาราง 1 แบคทีเรียกลุ่ม aerobic heterotrophic ที่พบทั่วไปในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

Genus or Group	% Total Isolates
Comamonas-Pseudomonas	50
Alcaligenes	5.8
Pseudomonas (fluorescent group)	1.9
Paracoccus	11.5
Unidentified (gram-negative rods)	1.9
Aeromonas	1.9
Flavobacterium-Cytophaga	13.5
Bacillus	1.9
Micrococcus	1.9
Coryneform	5.8
Arthrobacter	1.9
Aureobacterium-Microbacterium	1.9

ที่มา: Hiraishi et al., 1989

นอกจากนั้นจากการวิจัยของ Christensson และคณะ (1998) ที่ได้ทำการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ด้วยตะกอนจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการกำจัดฟอสเฟตในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ามีแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria มากถึงร้อยละ 50 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wagner และคณะ (2002) ที่ได้มีการรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษากลุ่มแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ซึ่งพบว่า มีการตรวจพบกลุ่ม Proteobacteria มากสุดเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียชนิดเด่นอยู่ในกลุ่ม Bacteroides Acidobacter Actinobacteria และ Firmicutes เป็นต้น (ตารางที่ 2) และจากการวิจัยของ Khan และ Faheem (2013) ที่ได้ใช้เทคนิค fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ในการตรวจสอบตะกอนจุลินทรีย์พบกลุ่มแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ Proteobacteria, Archaea, Cytophaga และ Gram-positive bacteria ตามลำดับ ซึ่งกลุ่มแบคทีเรียข้างต้นเป็นกลุ่มที่พบมากสุดในตะกอนจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับการติดตามกลุ่มแบคทีเรียในระบบบแบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ที่พบแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม β-proteobacteria (Xin-chun et al., 2007)



ภาพ 6 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ระบบ Sequencing batch biofilm reactor ที่มา: ดัดแปลงจาก Jin et al. , 2012

การศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพทำให้ทราบถึงแนวโน้ม และความเป็นไปได้ของกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาจพบในตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสีย โดยทำให้ทราบว่าแบคทีเรียหลายกลุ่มที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพจะมีหน้าที่ในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสียที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 3 นอกจากนี้ในระบบบำบัดน้ำเสียประเภทแอคติเวเตดสลัดจ์มักพบแบคทีเรียในกลุ่ม *Thiothrix eikelboomii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียมีเส้นใยช่วยทำให้เกิดฟล็อกแต่หากมีปริมาณมากเกินทำให้ตะกอนจุลินทรีย์อืด หรืออยู่ในสภาพที่มีความหนาแน่นต่ำ จึงทำให้เกิดการลอยตัวของตะกอนจุลินทรีย์ในขั้นตอนการตกตะกอน (Kanagawa et al., 2000; Pobeheim et al., 2010) ซึ่งมีผลทำให้น้ำทิ้งมีความขุ่น และมีค่าบีโอดีสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนด (สุบัณฑิต, 2548) โดยลักษณะปัญหาการตกตะกอนจุลินทรีย์ ได้สรุปไว้ในตาราง 4 ซึ่งส่วนใหญ่จะพบตอนที่ระบบได้เกิดปัญหาขึ้นมาแล้ว และหลายครั้งได้ลุกลามจนไม่สามารถแก้ไขได้ทันจนกระทั่งระบบเกิดความล้มเหลวขึ้นมา ดังนั้นการศึกษาถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในระบบบำบัดโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาซึ่งมีความรวดเร็วกว่าการศึกษาด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิมน่าจะสามารถช่วยในการทำนายประสิทธิภาพในการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียได้ก่อนที่ปัญหาจะลุกลามจนแก้ไขไม่ได้ เช่น การพบแบคทีเรีย *Thiothrix eikelboomii* ซึ่งมักจะทำให้ระบบเกิดปัญหาตะกอนลอย (sludge bulking) ในสัดส่วนที่มาก หรือการพบแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศในระบบเอสบีอาร์สามารถบอกได้ถึงสภาวะไร้อากาศในระบบซึ่งอาจจะต้องมีการปรับสภาพการควบคุมสภาวะการเติมอากาศของระบบเพื่อให้มีออกซิเจนละลายอย่างเพียงพอ เป็นต้น

ตาราง 2 กลุ่มแบคทีเรียที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

ระบบบำบัดน้ำเสีย	กลุ่มแบคทีเรีย (No. of OTUs)												แหล่งอ้างอิง
	Proteobacteria												
	α	β	γ	Bacteroidetes	Acidobacteria	Firmicutes	Actinobacteria	Nitrospira	Verrucomicrobia	Planctomycetes	Chlorobi	Chloroflexi	
Nitrifying/denitrifying industrial plant	15	9	-	-	3	1	1	1	2	10	1	8	Juretschko et al., 2002
EBPR lab-scale SBR	3	8	2	17	6	-	2	1	3	2	2	-	Dabert et al., 2001
EBPR lab-scale reactor	1	1	2	7	-	1	2	-	-	-	-	-	Lui et al., 2001

SBR= sequencing batch reactor, EBPR= enhanced biological phosphorus removal

OTUs = operational taxonomic unit

ที่มา: ดัดแปลงจาก Wagner et al.,2002

ความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ และสารปนเปื้อนในน้ำเสียของจุลินทรีย์

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นการนำเอาจุลินทรีย์มาใช้เพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือสารปนเปื้อนที่มีอยู่ในน้ำเสีย โดยทั่วไปแล้วน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปการเกษตรมักพบสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียค่อนข้างสูง ส่วนสารปนเปื้อนอื่น ๆ อาจมาจากกระบวนการผลิต เช่น คลอรีน สารลดแรงตึงผิว เป็นต้น โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูปของกากตะกอนเร่งจะเจริญอยู่ภายใต้สภาวะที่ได้รับการควบคุมให้มีความเหมาะสมต่อการทำงานเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ เช่น การเติมอากาศในปริมาณที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ที่แตกต่างชนิดกันมีการสร้างเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ซึ่งชนิดของเอนไซม์มีผลต่อปฏิกิริยาการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสีย แบคทีเรียที่พบมากในระบบบำบัดน้ำเสียอยู่ในกลุ่ม Chemoheterotrophs ซึ่งใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งของพลังงาน โดยระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ จุลินทรีย์จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และเซลล์ใหม่ ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่มีความสารมารถในการในการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือสารปนเปื้อนในน้ำเสียแสดงดังตาราง 3

ตาราง 3 กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และสารปนเปื้อนในน้ำเสีย

ชนิดของแบคทีเรีย	หน้าที่
Pseudomonas	ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสีย ผลิตเมือก และช่วยในการสร้างฟล็อก
Zoogloea	เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญต่อการสร้างฟล็อกโดยการผลิตเมือกที่ช่วยในการสร้างฟล็อก
Bacillus	ย่อยสบายโปรตีน
Arthrobacter	ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต
Microthrix	ย่อยสลายไขมัน
Acinetobacter	ย่อยสลายฟอสฟอรัส
Nitrosomonas	ทำให้เกิดปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน ขั้นที่ 1 หรือแอมโมเนียออกซิเดชัน
Nitrobacter	ทำให้เกิดปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน ขั้นที่ 2 หรือไนไตรท์ออกซิเดชัน

ที่มา: สุบัณฑิต (2548)

กลุ่มจุลินทรีย์ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ โดยจุลินทรีย์มีการสร้างฟล็อกชีวภาพ (bioflocculation) หรือการรวมกลุ่มกันของจุลินทรีย์และทำหน้าที่ในการกำจัดสารอินทรีย์ อย่างไรก็ตามน้ำเสียประกอบด้วยสารอินทรีย์ถึงร้อยละ 40 - 60 ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน (Neilsen et al., 1992; Raunkjaer et al., 1994; Goel et al., 1998; Szilveszter et al., 2010) ซึ่งสารประกอบอินทรีย์เหล่านี้จะถูกย่อยสลายโดย extracellular enzyme ของกลุ่มแบคทีเรีย โดยเอนไซม์หลักทที่พบได้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ได้แก่ α-amylase, α-glucosidase, protease และ alkaline-phosphatase (Szilveszter et al., 2010) ซึ่งจากรายงายวิจัยของ Goel และคณะ (1998) ที่ได้ทำการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก และแอโรบิก ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ ระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่สูงสุด ได้แก่ Protease (87%), α-glucosidase (45%), acid-phosphatase (25%), alkaline-phosphatase (16%), และ dehydrogenase (15%) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเอนไซม์แต่ละชนิดมีกิจกรรมไม่แตกต่างกันในสภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิก แต่ในสภาวะที่มีอากาศพบว่ามีกิจกรรมของ α-glucosidase มีค่าสูงกว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน นอกจากนี้ Li และ Chrost (2006) ได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในตะกอนจุลินทรีย์

ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียชุมชน น้ำเสียจากอุตสาหกรรมนม และปิโตรเลียม ซึ่งในตะกอนจุลินทรีย์ของอุตสาหกรรมทั้งสามพบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์ Leucine - aminopeptidase, β - glucosidase, alkaline phosphatase และ lipase อย่างไรก็ตามพบกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด ในตะกอนจุลินทรีย์จากอุตสาหกรรมนม แต่กิจกรรมของเอนไซม์ lipase สูงสุดในตะกอนจุลินทรีย์จากอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (5,664 $\mu mol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$) ซึ่งจะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำเสียเข้าระบบ เนื่องจากสับสเตรทที่อยู่ในน้ำเสียจะมีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์มาเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์

ปัญหาตะกอนไม่จมตัว (Bulking sludge) และตะกอนลอย (Rising sludge)

วีรานุช (2554) ได้กล่าวถึงตะกอนไม่จมตัวว่า เกิดจากสภาวะที่จุลินทรีย์ที่มีเส้นใย (filamentous organism) เจริญเติบโตมากเกินไป โดยจุลินทรีย์ที่มีเส้นใยจะทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ภายในถังเติมอากาศไม่จับตัวกันเป็นฟล็อค จึงทำให้ตะกอนเหล่านี้ไม่จมตัว และมีลักษณะคล้ายคลื่นเป็นชั้นตลอดทั่วทั้งถังในขั้นตอนของการตกตะกอน สำหรับการควบคุมจุลินทรีย์ที่มีเส้นใยที่มักจะนิยมทำได้แก่ การใช้คลอรีน หรือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงในตะกอนจุลินทรีย์ที่สูบกลับ นอกจากนี้ต้องควบคุมระบบให้มีสภาวะการทำงานที่เหมาะสม เช่น การควบคุมออกซิเจนละลายในน้ำในถังเติมอากาศไม่ให้น้อยกว่า 2 มก. ต่อลิตร และการเติมสารอาหารได้แก่ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่ทำให้มีอัตราส่วน C : N : P ที่เหมาะสาม คือ 100 : 5 : 1 และควบคุมพีเอชไม่ให้ต่ำกว่า 6.5 เป็นต้น

ส่วนตะกอนลอยเกิดจากสภาวะดีไนตริฟิเคชั่นซึ่งเปลี่ยนไนไตรท์ และไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจนซึ่งสะสมอยู่ใต้ชั้นของตะกอนจุลินทรีย์ในถังตกตะกอนจึงดัน และทำให้ตะกอนจุลินทรีย์เหล่านั้นลอยขึ้นมาเป็นก้อนใหญ่ ๆ เมื่อลอยขึ้นจนถึงผิวน้ำจะแตกออกคล้ายกับฟองก๊าซเล็ก ๆ ซึ่งจะลอยขึ้นมาพร้อมกับตะกอน ซึ่งการแก้ไขปัญหาตะกอนลอย ได้แก่ เพิ่มอัตราการสูบตะกอนเพื่อลดระยะเวลาการเก็บกัก หรือลดอายุสลัดจ์ (sludge age) โดย Jenkins และคณะ (1993) ได้สรุปปัญหา และสาเหตุของการแยกของตะกอนจุลินทรีย์ดังตาราง 4

ตาราง 4 สาเหตุ และผลของปัญหาในการแยกของตะกอนจุลินทรีย์

ปัญหา	สาเหตุ	ผล
การเจริญแบบกระจาย (dispersed growth)	จุลินทรีย์ไม่รวมตัวเป็นฟล็อก แต่กระจายอยู่ในรูปกลุ่มเล็ก ๆ หรือเซลล์เดี่ยว	น้ำทิ้งขุ่น
แบบเมือก (nonfilamentous bulikng)	จุลินทรีย์ที่มีเมือกภายนอกเซลล์ปริมาณมาก จนถึงขั้นตะกอนจุลินทรีย์มีลักษณะคล้ายเจล	อัตราการตกตะกอน และการอัดตัวลดลงไม่เกิดการแยกของของแข็ง ทำให้เกิดการไหลล้นของชั้นตะกอนจากถังตกตะกอน มีค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ต่ำ และน้ำทิ้งขุ่น
ฟล็อกเข็มหมุด (pin floc)	ฟล็อกมีขนาดเล็ก แน่น เกือบเป็นทรงกลม ฟล็อกที่มีขนาดเล็กตกตะกอนช้า	ค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ต่ำ ฟล็อกฟุ้ง และน้ำทิ้งขุ่น
แบบเส้นใย (filamentous bulking)	จุลินทรีย์กลุ่มสร้างเส้นใย รบกวนการอัดตัว และการตกตะกอน	SVI สูง ความเข้มข้นของตะกอนเวียนกลับและตะกอนทิ้งต่ำ
การลอยขึ้นของชั้นตะกอน (blanket rising)	เกิดดีไนตริฟิเคชันเป็นแก๊สไนโตรเจนที่ไปยึดกับตะกอนจุลินทรีย์ และลอยขึ้นสู่ผิวหน้าถัง	สกัมของแอคติเวเต็ดสลัดจ์เกิดบนผิวหน้าของถังทำน้ำใสขั้นที่สอง
การเกิดโฟม/สกัม (foaming/scum formation)	เกิดโดย surfactants หรือเชื้อจุลินทรีน์ในกลุ่ม *Nocardia* spp. หรือ *Microthrix parvicella*	โฟมพาตะกอนจุลินทรีย์จำนวนมากลอยขึ้นสู่ผิวหน้าและอาจล้นออกจากถังได้

ที่มา: Jenkins et al (1993)

คุณลักษณะของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพด และอุตสาหกรรมอาหารมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน และฟอสเฟต อีกทั้งยังมีปริมาณของแข็งแขวนลอย และคอลลอยด์โปรตีนในปริมาณสูง (Chunyang et al., 2011; Cancino et al., 2004) นอกจากนี้น้ำเสียจากข้าวโพดยังมีค่าบีโอดีสูง (Cancino et al., 2004 cited by Madariaga et al., 2011) จากรายงานวิจัยของ Rahman และคณะ พบว่า ในเส้นใยของข้าวโพดมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนทั้งหมดมากถึงร้อยละ 27.80 และ 12.96 ตามลำดับ (Rahman et al., 2014) ซึ่งน้ำเสียจากข้าวโพดที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงนี้จำเป็นที่จะต้องมีการบำบัดก่อนการปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของน้ำเสียจากข้าวโพดแสดงดังตาราง 5

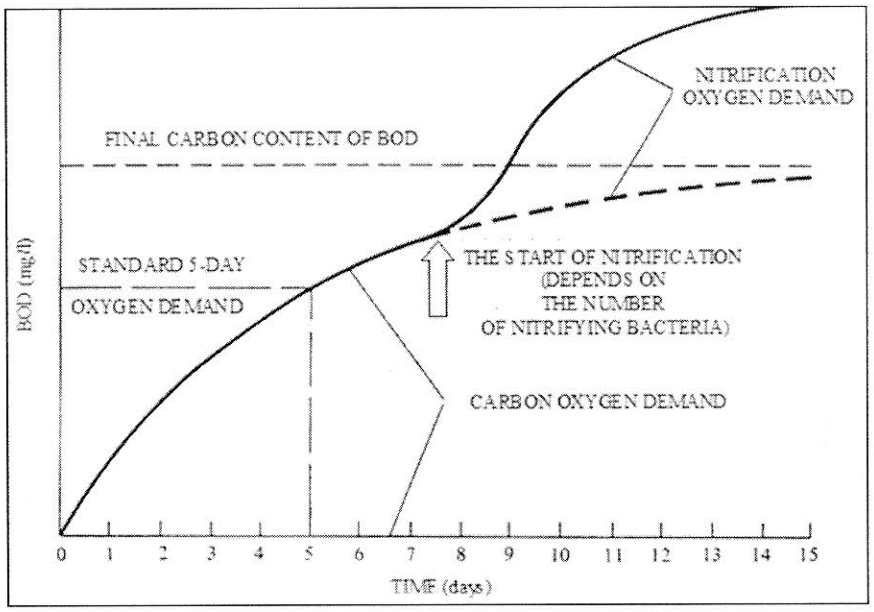
ตาราง 5 คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพด

พารามิเตอร์	ปริมาณ
Chemical oxygen demand (COD)	8,000 - 15,000 mg/L
Suspended Solid (SS)	1000 - 3000 mg/L
Phosphate	15 - 130 mg/L
Total nitrogen	240 - 540 mg/L
pH	4.2 - 5

ที่มา: Chunyang et al., 2011

โดยทั่วไปการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียถูกกำจัดโดยจุลินทรีย์กลุ่ม chemoheterotrophic ซึ่งใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานได้จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารอินทรีย์ (ธงชัย, 2544) จากตาราง 5 จะเห็นได้ว่าน้ำเสียจากข้าวโพดนอกจากมีค่าซีโอดีซึ่งแสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่สูงแล้วในน้ำเสียจากข้าวโพดยังมีปริมาณไนโตรเจน และฟอสเฟตสูงอีกด้วย ดังนั้น กระบวนการบำบัดน้ำเสียจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดธาตุอาหาร คือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสนอกเหนือจากสารอินทรีย์คาร์บอน เพราะการปนเปื้อนในปริมาณมากเกินไปจะส่งผลให้เกิดการเจริญของพืชน้ำ และสาหร่าย เช่น การเกิดสาหร่ายบูม (eutrophication) ทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำจะถูกใช้จนหมด และทำให้เกิดมลพิษทางน้ำได้ (Conley et al., 2009) เมื่อมีการเปรียบเทียบการกำจัดอินทรีย์คาร์บอนกับไนโตรเจนพบว่า

ในสภาวะที่มีการเติมอากาศอย่างสม่ำเสมอสารอินทรีย์คาร์บอนจะถูกกำจัดโดยจุลินทรีย์ chemoheterotrophic หลังจากนั้นไนโตรเจนทั้งหมดถูกกำจัดโดย nitrifying bacteria ดังภาพ 7

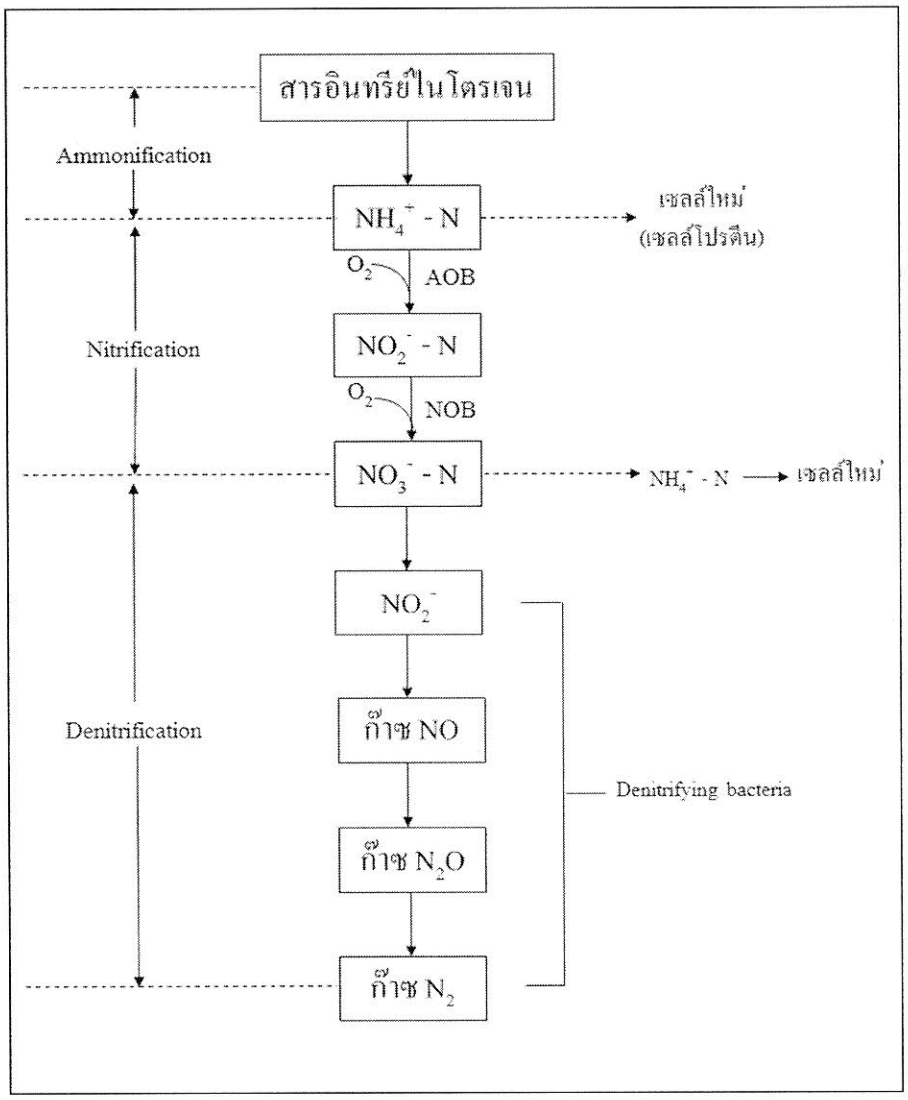


ภาพ 7 ความสัมพันธ์ของค่าบีโอดี และปริมาณออกซิเจนในสภาวะที่มีการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์และไนโตรเจน

ที่มา: Pregun and Juhász (2011)

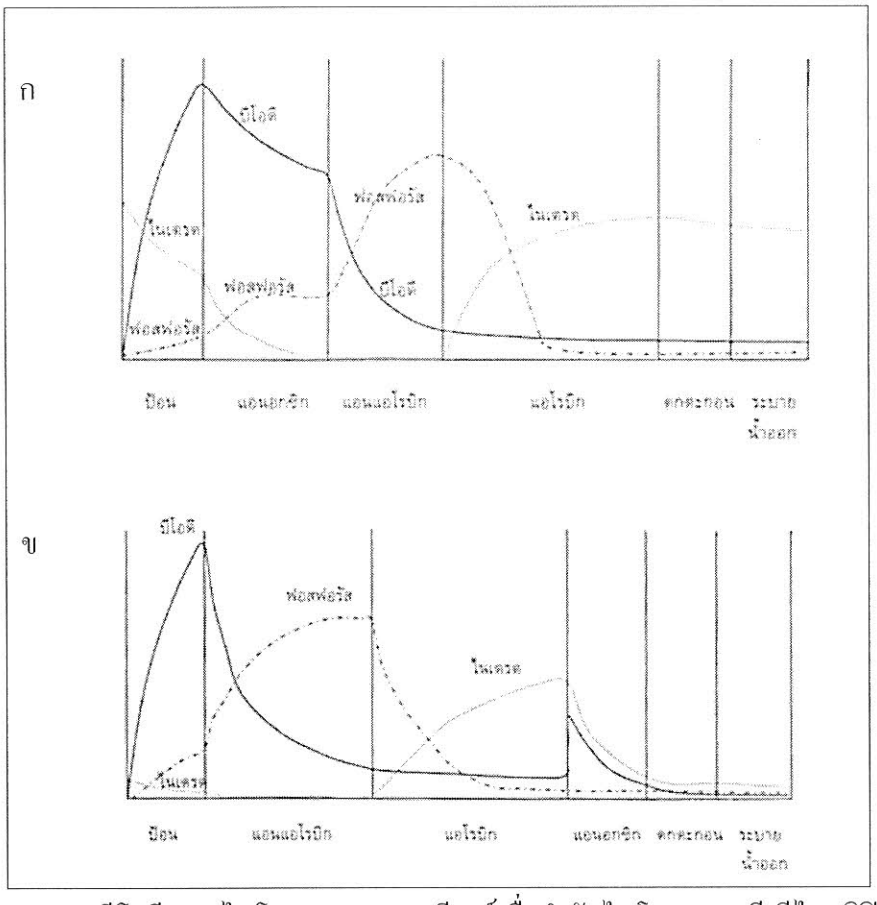
จะเห็นได้ว่าการเกิดกระบวนการ nitrification ในระบบบำบัดจะเกิดขึ้นเมื่อระบบมีปริมาณคาร์บอนต่ำ และใช้เวลา เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม nitrifying bacteria จะเกิดขึ้นช้ากว่าแบคทีเรียกลุ่ม heterotrophic carbon ที่ใช้คาร์บอนอินทรีย์เป็นสับสเตรทโดยบีโอดีที่สูงขึ้นหลังวันที่ 5 เป็นบีโอดีที่เกิดจากย่อยสลายสารอินทรีย์โดย nitrifying bacteria (Dague, 1981 cited by Bitton, 2005) โดยหลักการแล้วกำจัดไนโตรเจนทางชีวภาพจะอาศัยแบคทีเรียสองกลุ่ม ดังภาพ 8 โดยกลุ่มแรกจะทำหน้าที่ออกซิไดซ์ไนโตรเจนในเป็นไนเตรทในสภาวะที่มีออกซิเจน จากนั้นจะถูกแบคทีเรียอีกกลุ่มเปลี่ยนให้อยู่ในรูปก๊าซในสภาวะไม่มีออกซิเจน โดยที่การกำจัดไนโตรเจนทางชีวภาพสามารถเกิดขึ้นได้ในระบบเอสบีอาร์ จากการปรับสภาวะการเดินระบบให้มีขั้นตอนทั้งแอนอกซิก และแอโรบิกอยู่ในถังเดียวกัน ซึ่งการกำจัดไนโตรเจนขึ้นกับช่วงเวลาแอนอกซิก ช่วงเวลาแอโรบิก ปริมาณการเติมอากาศ การควบคุมระดับน้ำในถัง ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์และอายุของสลัดจ์ เป็นต้น (ธงชัย, 2544) นอกจากนั้นรูปแบบกำจัดไนโตรเจนด้วยระบบเอสบีอาร์สามารถควบคุมสภาวะในการเติมอากาศได้สองแบบ คือ แบบพรีดีไนตริฟิเคชัน และแบบโพสต์ดี

ไนตริฟิเคชัน (ภาพ 9) ส่วนการกำจัดฟอสฟอรัสทางชีวภาพด้วยระบบเอสบีอาร์นั้นต้องมีการกำหนดอายุของสลัดจ์ให้มีค่าต่ำ และควบคุมให้เกิดภาวะแอนแอโรบิกก่อนแอโรบิก เนื่องจากขั้นตอนแอนแอโรบิกสารอินทรีย์ และกรดไขมันระเหยง่ายดึงเข้าไปใช้ในเซลล์จึงทำให้สารอินทรีย์ในน้ำลดลงอย่างรวดเร็วแต่ฟอสฟอรัสในน้ำจะเพิ่มมากขึ้นเพราะการปล่อยฟอสฟอรัสของแบคทีเรียกลุ่มพีเอโอ ส่วนปริมาณไนโตรเจนจะลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อจุลินทรีย์ดึงเข้าไปใช้ในการสร้างโพลีเปปไทด์หรือสะสมในเซลล์ (Satoh et al., 1992) แต่ในขั้นตอนแอโรบิกแบคทีเรียกลุ่มพีเอโอมีการดึงฟอสฟอรัสมาเก็บภายในเซลล์อย่างรวดเร็วเป็นผลทำให้ฟอสฟอรัสในน้ำเสียลดลง (ธงชัย, 2544) โดยลักษณะการทำงานของเอสบีอาร์เพื่อกำจัดฟอสฟอรัสแสดงในภาพ 10



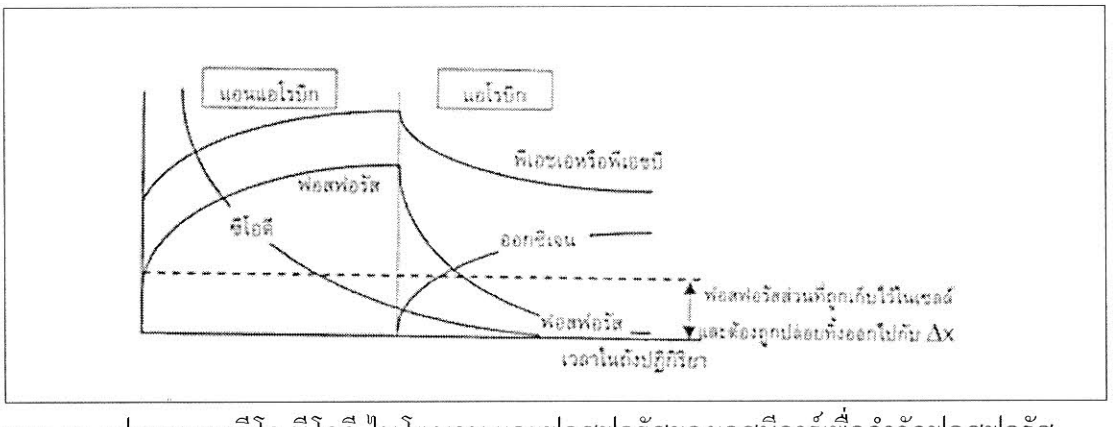
ภาพ 8 กระบวนการกำจัดไนโตรเจนทางชีวภาพ

ดัดแปลงจาก: ธงชัย (2544)



ภาพ 9 รูปแบบของบีโอดี และไนโตรเจนของเอสบีอาร์เพื่อกำจัดไนโตรเจน พรี-ดีไนตริฟิเคชัน (ก) โพสต์-ดีไนตริฟิเคชัน (ข)

ที่มา: ธงชัย (2544)



ภาพ 10 รูปแบบของดีโอ บีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสของเอสบีอาร์เพื่อกำจัดฟอสฟอรัส

ที่มา: ธงชัย (2544)

การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยวิธีทางชีววิทยาโมเลกุล

ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเป็นระบบที่อาศัยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่มในการกำจัดสารอินทรีย์หรือสารปนเปื้อน ซึ่งการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากการวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางด้านเคมี และชีวเคมี ได้แก่ ค่าซีโอดี (COD: Chemical Oxygen Demand) หรือ บีโอดี (BOD: Biochemical Oxygen demand) ไม่สามารถบอกได้ถึงประสิทธิภาพที่แท้จริงของกลุ่มจุลินทรีย์ เนื่องจากมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ใช้ในการควบคุมระบบ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ปริมาณอาหาร (ซีโอดี หรือบีโอดี) สารอาหาร (ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส) รวมถึงสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ ดังนั้น การศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโดยเปรียบเทียบกับค่าซีโอดีหรือบีโอดี จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ช่วยบ่งชี้ถึงความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสียได้อย่างแท้จริง อย่างไรก็ตามการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อยังมีข้อจำกัด เพราะใช้เวลานาน และเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้นั้นมีเพียงร้อยละ 1 (Muyzer et al., 1993) ซึ่งข้อจำกัดดังกล่าวอาจทำให้เกิดความผิดพลาดในการตรวจสอบได้ โดยในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาใช้ในการตรวจติดตามแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมซึ่งช่วยให้ผลที่แม่นยำมากยิ่งขึ้น ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเป็นการศึกษา Ribosomal RNA ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดเพื่อนำมาตรวจสอบ และจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ โดยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลที่นิยมใช้ได้แก่ Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (Chan et al., 2001; Akarsubasi et al., 2006; Buzzini et al., 2006;), Clone library (Ito et al., 2002; Egli et al., 2003) และ Fluorescent *in situ* Hybridization (Onuki et al., 2002; Egli et al., 2001; Guven et al., 2004), Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (Wang et al., 2010; Bae et al., 2011) เป็นต้น ซึ่งเทคนิคข้างต้นมีความถูกต้องแม่นยำสูง และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นเนื่องจากไม่ต้องมีการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Amann et al.,1995) อย่างไรก็ตามแต่ละเทคนิคที่ใช้ศึกษามีข้อดี และข้อจำกัดที่แตกต่างกันไป ดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 เปรียบเทียบความแตกต่างของเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล และการประยุกต์ใช้ในการศึกษาระบบบำบัดน้ำเสีย

	Gene library	DGGE	FISH
1. ระดับความชำนาญในงานทางด้านชีววิทยาโมเลกุล	สูง	ปานกลาง	ต่ำ
2. เครื่องมือที่ใช้	PCR	PCR,DGGE	Fluorescence microscope, confocal laser scaning microscope
3. การหาลำดับเบส	ใช่	ใช่ (ถ้าต้องการแถบดีเอ็นเอที่สนใจ)	ไม่
4. ข้อมูลเชิงปริมาณ	ไม่	ไม่	ใช่
5. ระยะเวลาที่ใช้	สูง	ปานกลาง / ต่ำ (ไม่ต้องการหาลำดับเบส)	ต่ำ
6. ความถูกต้องในการทำ phylogenetic	สูง	ปานกลาง	ต่ำ/ปานกลาง
7. การวิเคราะห์โครงสร้าง 3 มิติ	ไม่	ไม่	ใช่ (confocal laser microscopy)
8. การตรวจสอบแบคทีเรียเฉพาะกลุ่ม หรือสปีชี่ส์	ไม่	ไม่	ใช่
9. การประยุกต์ใช้ในการติดตามระบบบำบัด	ไม่	ไม่/ใช่ (แถบดีเอ็นเอมีรูปแบบที่แตกต่าง)	ใช่

ที่มา: ดัดแปลงจาก Sanz et al., 2007

Ribosomal RNA

อาร์เอ็นเอไรโบโซม เป็นองค์ประกอบหนึ่งของไรโบโซม ซึ่งเป็นอนุภาคหนึ่งที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน โดยทั่วไปโมเลกุลของ rRNA ประกอบไปด้วยโปรตีน และเกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีหน้าที่ในกระบวนการแปรรหัส ซึ่งโปรคาริโอต จะประกอบด้วยโมเลกุลของ rRNA 3 ชนิด ได้แก่ 23S rRNA, 16S rRNA และ 5S rRNA ซึ่งจะเห็นได้ว่าโปรคาริโอตทุกชนิดประกอบด้วยยีนในการสังเคราะห์ไรโบโซม และมีหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีนที่แน่นอน กล่าวคือ จะสร้างโปรตีนชนิดเดิม และมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในแต่ละช่วงวิวัฒนาการ นอกจากนี้ยังมีบริเวณอนุรักษ์ และบริเวณที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดของจุลินทรีย์ จึงทำให้ลำดับเบสบนยีนของ ribosomal RNA สามารถนำมาใช้ศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตได้ (สุกัญญา และวิเชียร, 2547)

การจำแนกแบคทีเรีย และศึกษาความแตกต่างของพันธุกรรมนิยมใช้ส่วนของยีน 16S rRNA เนื่องจากมีขนาดของลำดับเบสที่เหมาะสม (1500 คู่เบส) ส่วนยีน 23S rRNA มีขนาดของลำดับเบสมากเกินไป (2,900 คู่เบส) แม้ว่าจะสามารถให้ข้อมูลที่สมบูรณ์แต่ยากแก่การวิเคราะห์ ส่วนยีนตำแหน่ง 5S rRNA (120 คู่เบส) มีลำดับเบสที่สั้นเกินไปจึงไม่เหมาะที่จะนำมาศึกษาเพราะมีความเชื่อมั่นต่ำ จึงจะเห็นได้ว่ายีน 16S rRNA มีขนาดที่เหมาะสมของลำดับเบสที่ใช้ในการศึกษา นอกจากนี้ยังเป็นบริเวณที่มีลำดับเบสอนุรักษ์ และมีความแตกต่างมากพอที่จะนำมาใช้ในการจำแนก และระบุชนิดของจุลินทรีย์ในระดับสปีชี่ส์ได้ (Amann et al., 1995; Sanz et al., 2007)

การนำเอาเทคนิคทางด้านอณูชีววิทยาเข้ามาประยุกต์ใช้ในการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ เนื่องจากการออกแบบระบบบำบัดยังขาดความเข้าใจอย่างถ่องแท้เกี่ยวกับกลไก และกลุ่มจุลินทรีย์ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการบำบัดน้ำเสีย โดยการศึกษาถึงกลุ่มจุลินทรีย์ และการติดตามการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์อาจสามารถทำให้เข้าใจถึงกลุ่มจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปสู่การปรับปรุงการออกแบบระบบบำบัดเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดียิ่งขึ้น (van Lier et al., 2001; Sanz et al., 2007) ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมอย่างกว้างขวาง (Muyzer et al., 1998) ตัวอย่างเช่น การนำเทคนิค FISH มาใช้ในการติดตามเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในตัวอย่างน้ำเสียจากชุมชน และอุตสาหกรรมซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารที่ตรวจสอบด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงได้ยาก (Moreno et al., 2011) อีกทั้งยังมีการใช้เทคนิค FISH ในการศึกษาประชากรแบคทีเรียมีเส้นใยที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดตะกอนลอยในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ (Mielczarek et al., 2012) นอกจากนี้มีรายงานวิจัยที่ได้

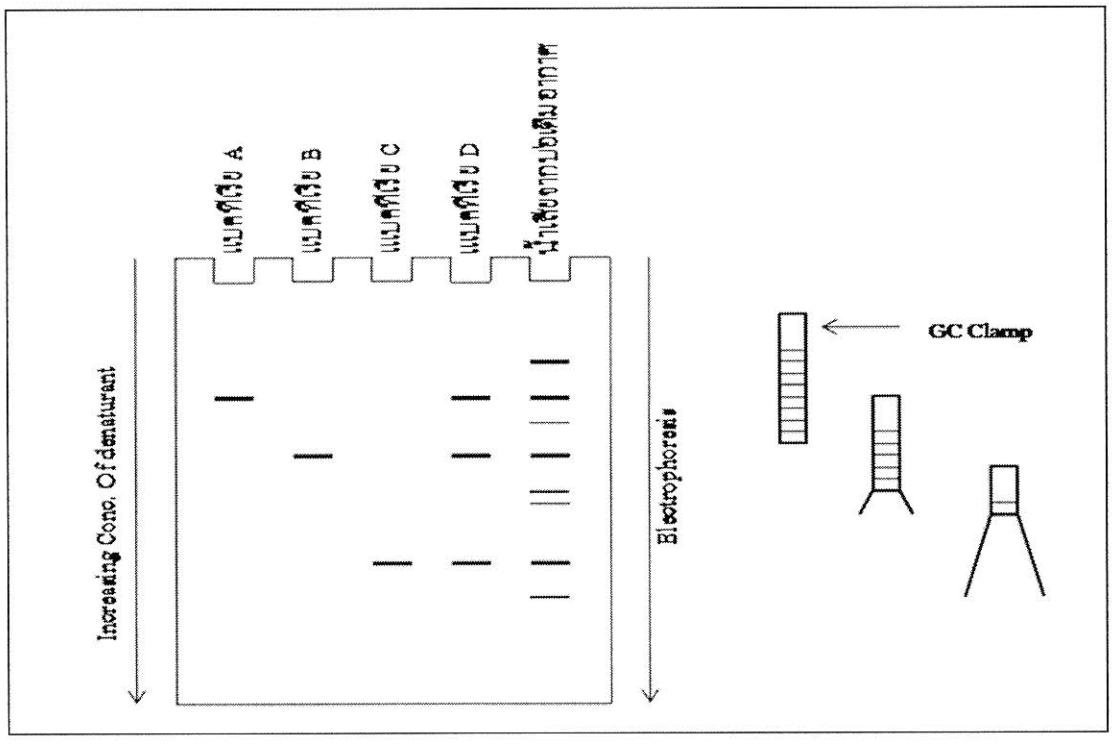
นำเทคนิค T - RFLP มาใช้ศึกษาความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม ammonia oxidizing bacteria ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ membrane operated sequencing batch bioreactor โดยทดสอบในน้ำเสียสังเคราะห์ระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากผลการทดลองทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกลุ่มแบคทีเรียที่นำไปสู่การทำนายถึงประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียได้ (Seshan et al., 2014) และจากรายงานของ Xu และคณะ (2014) ที่ได้รวมเทคนิค PCR-DGGE และ FISH มาใช้ในการศึกษาร่วมกันในการเปรียบเทียบกลุ่มแบคทีเรียในระบบไบโอฟิลเตอร์แบบเดิมและไบโอฟิลเตอร์ที่มีการเติมไส้เดือนซึ่งผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DGGE สามารถบอกถึงความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียพบว่า ระบบที่มีการเติมไส้เดือนดินมีความหลากหลายของแบคทีเรียมากกว่าไบโอฟิลเตอร์แบบเดิม (H_{VF}' = 2.58, H_{BF}' = 1.99) ส่วนผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH ช่วยให้ทราบปริมาณของกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งระบบไบโอฟิลเตอร์ที่มีการเติมไส้เดือนมีแบคทีเรียชนิดเด่นอยู่ในกลุ่ม β - proteobacteria (27±2%) และ γ - proteobacteria (24±1%) ส่วนการทดลองไบโอฟิลเตอร์แบบเดิมพบแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Bacteroidetes (21±1%)

การตรวจติดตามแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยเทคนิค PCR-DGGE

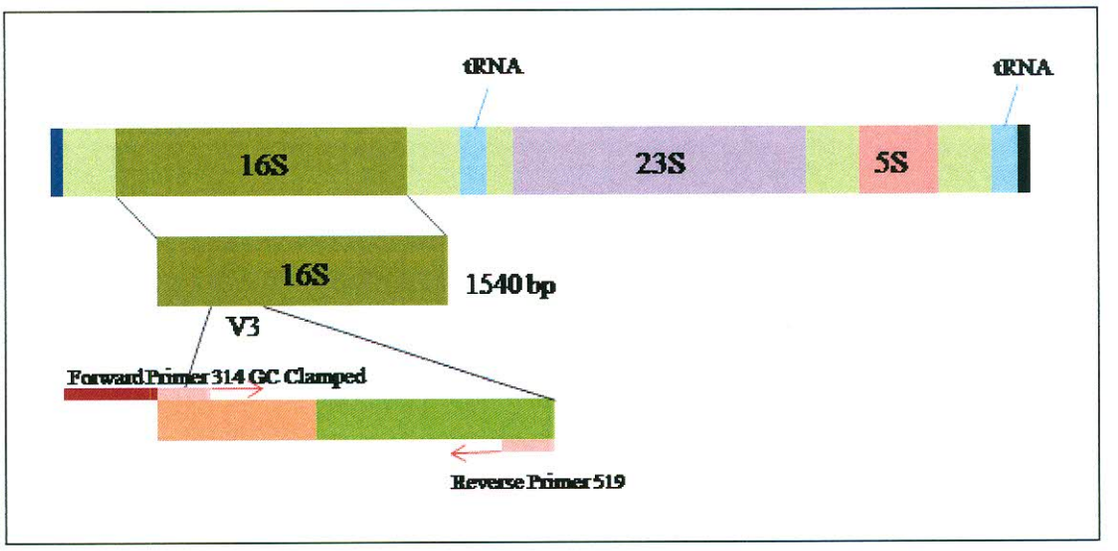
เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) เป็นเทคนิคที่ได้พัฒนามาจากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (Fischer and Lerman, 1983) ซึ่งอาศัยความแตกต่างของปริมาณเบสกวานีน และไซโทซีน (Guanine - Cytosine; GC) ในดีเอ็นเอตัวอย่างแม้ว่าจะมีความยาวเบสเท่ากัน โดยสามารถตรวจสอบจากการแยกสาย และการเคลื่อนที่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบน Polyacrylamide gel ซึ่งมีสารที่ช่วยในการแยกสายของดีเอ็นเอ (denaturant) คือ formamide และ urea ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันจากความเข้มข้นต่ำไปหาความเข้มข้นสูง (gradient) ดังแสดงในภาพ 11

เทคนิค PCR - DGGE เป็นการรวมเอาเทคนิคการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และเทคนิค DGGE เข้าด้วยกัน โดยในการตรวจติดตามแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมได้มีการประยุกต์ใช้เทคนิค DGGE เพื่อศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมหลายแหล่ง ได้แก่ การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในน้ำ ดิน ตะกอนจุลินทรีย์ รากพืช วัตถุดิบในอุตสาหกรรม การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น (Muyzer and Smalla, 1998) ซึ่งเริ่มจากการนำตัวอย่างมาทำการสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำดีเอ็นเอทั้งหมด (Gemonic DNA) มาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ตำแหน่งยีน 16S rRNA ด้วย primer ที่จำเพาะกับกลุ่มแบคทีเรีย โดย forward primer จะมี

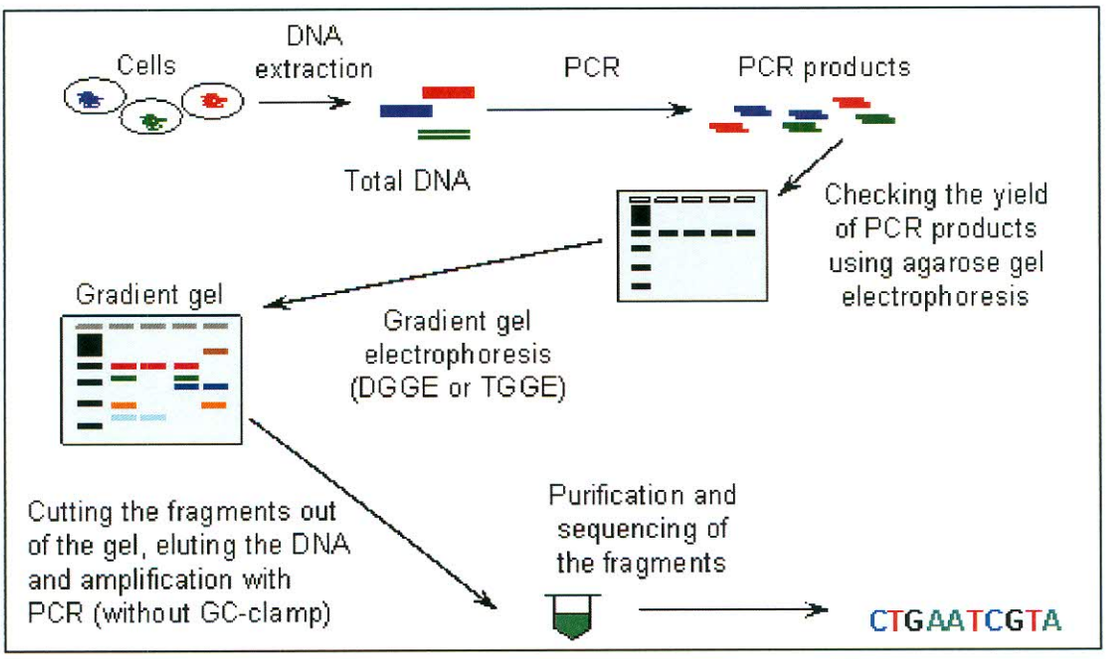
การเติมส่วนของ GC - clamp (Myers et al.,1985) ที่บริเวณปลาย 3' (ภาพ 12) เพื่อทำให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของตัวอย่างแยกสายได้ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้ยังควบคุมไม่ให้เกิดการจับของไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสคล้าย mis – priming (Kwok et al.,1990)



ภาพ 11 ลักษณะการแยกของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบนเจลที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน



ภาพ 12 ตำแหน่งยีน 16S rRNA บนดีเอ็นเอของโปรคาริโอต



ภาพ 13 แผนภาพการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE

ที่มา: Molecular approaches for microbial community analysis

ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้เพิ่มจำนวนจะนำไปวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE ซึ่งผลที่ได้ทำให้ทราบถึงความแตกต่างกันระหว่างจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังสามารถนำส่วนของแถบดีเอ็นเอไปวิเคราะห์หาลำดับเบส และเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบส (data base) เช่น GenBank DDBJ และ EMBL เป็นต้น ดังแสดงในภาพ 13 อย่างไรก็ตามเทคนิค DGGE ไม่เหมาะที่จะนำลำดับเบสที่ได้ไปจัดทำเป็นแผนภูมิวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) แต่ควรทำการโคลนก่อนหาลำดับเบสซึ่งก็ให้ความถูกต้องแม่นยำในระดับปานกลาง (Sanz et al., 2007)

เทคนิค PCR - DGGE มีข้อดีคือ สามารถใช้ในการตรวจสอบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ได้โดยตรงในระยะเวลาที่สั้น และง่ายโดยแสดงในรูปแบบของแถบดีเอ็นเอของแต่ละตัวอย่างนอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นถึงกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดเด่นได้อย่างรวดเร็ว รวมถึงสามารถใช้ศึกษาและเปรียบเทียบประชากรจุลินทรีย์จากตัวอย่างได้ในเวลาเดียวกัน ซึ่งรวดเร็วกว่าวิธีการโคลนยีน อย่างไรก็ตามเทคนิค DGGE ยังคงมีข้อจำกัดบางประการ เช่น ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาต้องผ่านการสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอซึ่งมีโอกาสที่จะทำให้เกิดความผิดพลาด (bias) ในขั้นตอนดังกล่าวได้ นอกจากนี้จุลินทรีย์หลายชนิดยังมี DNA copy number ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอขึ้นหลายตำแหน่งทั้ง ๆ ที่เป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน และขนาดของลำดับเบสที่เหมาะสมควรมีขนาด 200 - 600 คู่เบส จึงทำให้มีความแม่นยำต่ำเมื่อนำไปทำแผนภูมิวิวัฒนาการ (Muyzer and Smalla, 1998; Sanz et al., 2007)

การประยุกต์ใช้เทคนิค PCR - DGGE เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียยกตัวอย่าง เช่น งานวิจัยของ Lapara และคณะ (2000) ได้ใช้ DGGE ในการศึกษาความแตกต่างของกลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ใช้อากาศของอุตสาหกรรมยา ที่มีการควบคุมอุณหภูมิแบบ mesophilic และ thermophilic reactor จากการศึกษาพบว่ามีความหลากหลายของจุลินทรีย์ต่ำในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งสามารถนำผลการทดลองที่ได้ไปปรับการควบคุมระบบดังกล่าวได้ ทั้งนี้ได้มีรายงานของ Pholchan และคณะ (2010) ที่ใช้เทคนิค DGGE ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของระบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ในระดับห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมสภาวะของระบบที่แตกต่างกัน พบว่า กลุ่มจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะ และรูปแบบที่แตกต่างกันของระบบ

นอกจากนี้ยังมีการใช้เทคนิค PCR - DGGE ในการตรวจติดตามความหลากหลายของแบคทีเรียในบ่อเติมอากาศสองบ่อซึ่งบำบัดน้ำเสียชุมชมตลอดทั้งปี จากการศึกษาพบว่าความหลากหลายของแบคทีเรียเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล และพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจนละลายน้ำ และพีเอช เป็นต้น (Moura et al., 2009) นอกจากนั้น Piterina และ Pembroke (2013)

ได้ใช้เทคนิค PCR - DGGE ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียที่ตำแหน่งยีน 23S rRNA หรือยีน universal *rpo*B ของระบบบำบัดบัดน้ำเสียแบบ autothermal thermophilic aerobic digestion ซึ่งพบว่ากลุ่มแบคทีเรียมีเปลี่ยนแปลงซึ่งเกิดจากการปรับตัวในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งจากการศึกษาของ Xin-chun และคณะ (2007) ที่ศึกษาโครงสร้างของกลุ่มแบคทีเรียของระบบบำบัดน้ำเสียที่มีกระบวนการบำบัด และประสิทธิภาพต่างกัน 2 ระบบ (ระบบ Anaerobic/Anoxic/Oxic : A2O และระบบ ammonia-oxidizing: AO) โดยใช้เทคนิค nested PCR-DGGE พบว่า ในช่วงที่มีประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียสูงจะพบแบคทีเรียในกลุ่ม AOB สูงตามไปด้วย และช่วงที่มีประสิทธิภาพการตกตะกอนที่ดีพบว่ามีความหลากหลายต่ำแบคทีเรียชนิดเด่นและแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม β - proteobacteria ยิ่งไปกว่านั้นเทคนิค PCR - DGGE สามารถนำไปใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงกลุ่มแบคทีเรียในฟล็อกของระบบเอสบีอาร์ระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า โครงสร้างของกลุ่มแบคทีเรียเปลี่ยนไปตามลักษณะของฟล็อก และประสิทธิภาพภาพในการตกตะกอน โดยช่วงแรกพบแบคทีเรียชนิดเด่นอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียที่ช่วยให้เกิดการสร้างฟล็อก ถัดมาช่วงที่สองเป็นช่วงที่มีทั้งแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างฟล็อก และแบคทีเรียที่มีเส้นใย อย่างไรก็ตามยังพบว่าฟล็อกมีขนาดที่เหมาะสม และยังคงประสิทธิภาพที่ดีในการตกตะกอน ส่วนช่วงที่สามพบว่าแบคทีเรียชนิดเด่นส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่มีเส้นใย (Gonoreanu et al., 2003)

จึงเห็นได้ว่าการนำเทคนิค PCR - DGGE มาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียทำให้สามารถทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ในการควบคุมระบบ และความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งอาจสามารถนำมาปรับสภาวะการดำเนินระบบให้เหมาะสมกับกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบัดน้ำเสีย

การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียล

การออกแบบการทดลอง เป็นเทคนิคที่ให้ผลที่มีความแม่นยำ และความถูกต้องในการวิเคราะห์ข้อมูลได้สูง เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ค่าออกมาในเชิงสถิติซึ่งแสดงถึงระดับความสำคัญของตัวแปรที่ส่งผลต่อสิ่งที่ต้องการศึกษา (จาตุรนต์, 2554) นอกจากนี้การทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial experiment) เป็นการทดลองแบบหลายปัจจัยประเภทหนึ่งที่ใช้ศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ตั้งแต่ 2 ปัจจัยขึ้นไปในการทดลองเดียวกัน (พิศมัย, 2547)

ปรเมศ (2545) ได้อธิบายว่า การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลแบบ 2^k ที่มีจำนวน ซ้ำ n ซ้ำ จะเป็นการดึงเอาตัวแปรที่ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญออกจากแบบจำลองเต็มรูปแบบและวิเคราะห์ส่วนที่เหลือ (residue) จากนั้นจะเป็นการตรวจสอบความถูกต้องของสมมติฐานที่สร้างขึ้นในรูปแบบของกราฟ และผลหลัก (Main effect) และอิทธิพลร่วม (Interaction) ส่วนการทดลองแบบ 2^{k-1} Fractional Factorial Design หมายถึง การออกแบบการทดลองที่ได้จำนวนการทดลองเท่ากับการทดลองเต็มรูปแบบของการออกแบบ โดยมีจำนวนปัจจัยน้อยกว่า 1 ตัว (k-1) หรือจำนวนชุดการทดลองจะเท่ากับครึ่งหนึ่งของการออกแบบการทดลองแบบเต็มรูปแบบ ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่า ปัจจัยร่วมที่สูงจะมีความสำคัญน้อย และจะนำปัจจัยหลักบางตัวเข้าไปแทนที่ปัจจัยร่วมดังกล่าว

เพ็ญพิสุทธิ์ (2555) ได้อธิบายถึงความแตกต่างของการทดลองแบบ Full factorial และ Fractional factorial ว่า การออกแบบการทดลองด้วยวิธีแฟกทอเรียล หรือ Full factorial ค่าตอบสนองจะถูกวัดค่าในทุก ๆ ค่าระดับของทุกปัจจัย จึงทำให้มีการทำการทดลองจำนวนมากครั้ง และเพื่อเป็นการประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย ผู้ทดลองอาจทำการออกแบบการทดลองให้มีการทดลองเฉพาะบางเงื่อนไข ซึ่งการออกแบบการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่มีการทดลองไม่ครบทุกเงื่อนไขนี้เรียกว่า Fractional factorial design โดยมีความสำคัญอย่างมากในการทดลองเพื่อคัดเลือกปัจจัย (Screening) เนื่องจากมีการลดจำนวนการรันลงเหลือขนาดการทดลองที่สามารถทำได้จริง อย่างไรก็ตามการรันที่ถูกเลือกมาทำการทดลองเป็นรันที่อยู่ในชุดการทดลองแบบ Full factorial แต่ไม่ได้ทำการทดลองครบทุกเงื่อนไขจึงเป็นผลทำให้เกิดอิทธิพลของปัจจัยที่ไม่สามารถทำการประเมินค่าแยกออกมาเดี่ยว ๆ ได้ ซึ่งเรียกว่า คอนฟาวด์ (Confounded)

การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการออกแบบการทดลองเนื่องจากสามารถศึกษาการทดลองที่มีหลายปัจจัยในขณะเดียวกันสามารถบอกได้ถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาได้ (Price et al., 1997) อีกทั้งทำให้สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิด

จากอันตรกิริยาของปัจจัยที่จะก่อให้เกิดข้อสรุปที่ผิดพลาดได้ เนื่องจากเป็นการออกแบบการทดลองที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการทดลองที่ละปัจจัย และทำให้สามารถประมาณผลของปัจจัยที่ระดับหนึ่งที่ระดับต่าง ๆ ของปัจจัยอื่นได้ จึงช่วยให้สามารถสรุปผลได้อย่างสมเหตุสมผล

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีรายงานหลายเรื่องที่ศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสีย และงานทางด้านสิ่งแวดล้อมโดยใช้การออกแบบการทดลองด้วยแฟกทอเรียล โดยมีซึ่งปัจจัยในการศึกษาได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์ สารอาหาร การควบคุมสภาวะของระบบ เป็นต้น

Jasmine และ Mukherji (2014) ได้ทดสอบการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสียจากกระบวนการปิโตรเลียมในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Full factorial ซึ่งมีปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ สารอาหาร (ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส) สารกระตุ้น (Triton x - 100) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำการแยกจากตะกอนน้ำมันประกอบไปด้วย *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp., *Microbacter* sp., *Acinetobacter baumannii,* และ *Stenotrophomonas* sp. ผลการศึกษาพบว่า สารอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัด และการเติมสารกระตุ้น (Bio stimulant) Triton x-100 สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการการกำจัดน้ำมันได้ถึงร้อยละ 90

Mariano และคณะ (2007) ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดปิโตรเลียมที่ปนเปื้อนในดินระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีแฟกทอเรียลในออกแบบการทดลอง และมีปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ การเติมสารอาหารกระตุ้น (ปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัส) และการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากพื้นที่ปนเปื้อนปิโตรเลียม ผลการศึกษาพบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมสารอาหารลงไปให้ประสิทธิภาพในการกำจัดปิโตรเลียมได้ดีที่สุด โดยสามารถกำจัดปิโตรเลียมทั้งหมดได้ร้อยละ 45.5 ในระยะเวลา 55 วัน และในช่วงสุดท้ายของการบำบัดพบจุลินทรีย์ชนิดเด่นคือ *Staphylococus hominis* และ *Kocuria palustris*

Rene และคณะ (2007) ได้ศึกษาการกำจัดสารปนเปื้อนในกลุ่ม BTEX (Toluene, ethyl benzene และ xylene) ด้วยการออกแบบการทดลองแบบ 2^{k-1} fractional factorial design เพื่อหาปัจจัยหลักและปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารปนเปื้อนทั้ง 4 ชนิด โดยกำหนดให้มีความเข้มข้นของสารปนเปื้อนเริ่มต้นตั้งแต่ 15 - 75 มก.ต่อ ลิตร ซึ่งทดสอบด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของ BTEX ผลจากการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดสารปนเปื้อนมีค่าตั้งแต่ร้อยละ 2 - 90 และขึ้นกับความเข้มข้นของสารปนเปื้อน นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มจุลินทรียสามารถกำจัดสารปนเปื้อนแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นต่างกัน โดย

ที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารปนเปื้อน (75 มก.ต่อ ลิตร) พบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัด BTEX ร้อยละ 54, 84, 89 และ 81 ตามลำดับ

Shah และ Patel (2014) ได้ใช้การออกแบบการทดลองแบบ Full factorial เพื่อศึกษาถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนปริมาณของกลุ่มจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย และฟังไจ) พีเอช และความเข้มข้นของ azo dye ซึ่งกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์แยกได้จากดินที่มีการปนเปื้อนของน้ำเสียที่มีสีย้อม โดยในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการพบว่า กลุ่มแบคทีเรียจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมต่ำเมื่อมีความเข้มข้นของสีย้อมที่เพิ่มขึ้นจนถึง 500 มก. ต่อ ลิตร โดยความเข้มข้นของสีย้อมที่ 100 มก. ต่อ ลิตร ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมสูงสุดถึงร้อยละ 93.91 และการเพิ่มปริมาณกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมสูงสุดถึงร้อยละ 88.70 และพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7.2 - 8

Hank และคณะ (2010) ได้ศึกษาปัจจัยในการกำจัดฟีนอลที่ปนเปื้อนในน้ำเสียซึ่งเป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลแบบสอง โดยปัจจัย ที่ศึกษา คือ อุณหภูมิ (30-40 องศาเซลเซียส) และปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น (260.88 - 521.76 มก. ต่อ ลิตร) จากผลการทดลอง พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยโดยที่อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย และความสามารถในการกำจัดฟีนอล

Shatoury และคณะ (2014) ได้ประยุกต์ใช้แฟกทอเรียลเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ปนเปื้อนในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน โดยมีปัจจัยที่ต้องการศึกษาได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ EM (Effective microorganism) ปริมาณสารอินทรีย์ (บีโอดี) อัตราการเติมอากาศ และจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรม ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณสารอินทรีย์ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัด อย่างไรก็ตามพบว่า จุลินทรีย์ที่แยกได้ และ EM ช่วยเพิ่มมีประสิทธิภาพในการกำจัดกำจัดบีโอดีได้สูงสุดถึงร้อยละ 67.3

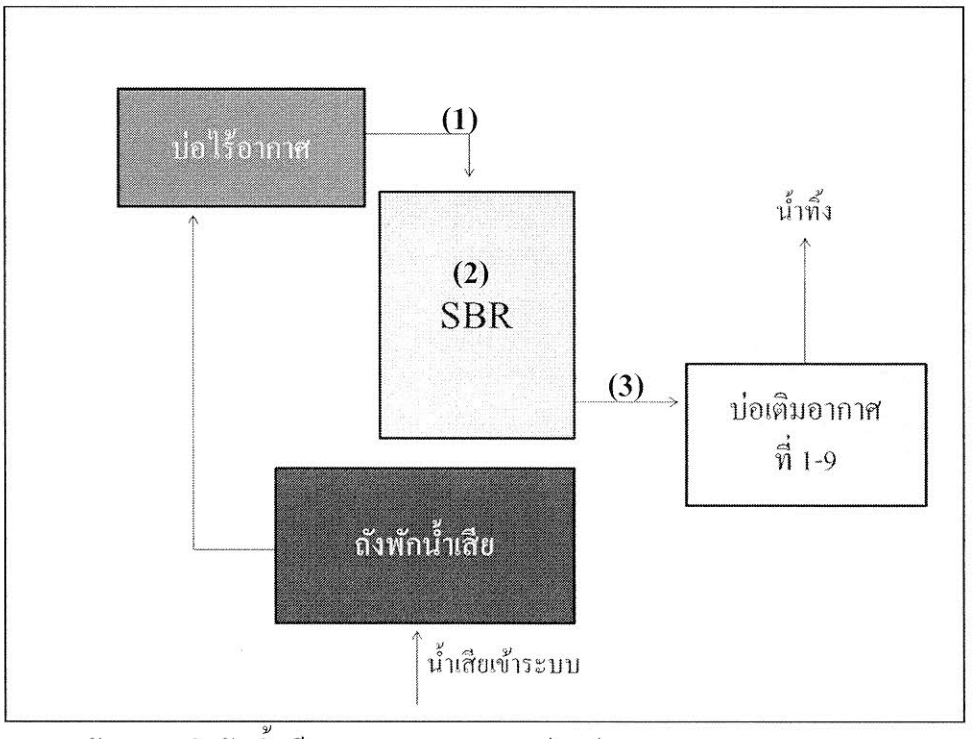
Chen และคณะ (2009)ได้ประยุกต์ใช้การออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลแบบ Fractional factorial design ในการหาสัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมด (Total Organic Carbon: TOC) ของน้ำเสียจากโรงงานกระดาษ โดยในการศึกษาได้ใช้แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในน้ำเสีย 5 ชนิด ได้แก่ *Agrobacterium* sp. *Bacillus* sp. *Gordonia* sp. *Enterobacter cloacae* และ *Pseudomonas putida* จากการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 10 - 15 โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีปฏิสัมพันธ์กันและส่งเสริมการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ คือ *E. cloacae Gordonia* sp. และ *P. putida*

จากการศึกษาวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าการออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลจะช่วยให้ผู้วิจัยสามารถเลือกปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสียได้ นอกจากนี้ยังสามารถบอกปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาได้ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่เกี่ยวกับการออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียลในการศึกษาปัจจัยระหว่างกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดเพื่อใช้ในงานระบบบำบัดน้ำเสียยังขาดการศึกษาในเชิงลึกถึงผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจริง ดังนั้น ในการใช้แฟกทอเรียลเพื่อออกแบบการทดลองเพื่อหาสัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมคาดว่าจะสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรได้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำเสียทางด้านกายภาพ และเคมี โดยจะทำการเก็บตัวอย่างจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร (ภาพ 14) จำนวน 3 จุด ได้แก่ น้ำเสียออกจากบ่อไร้อากาศ จุดเก็บตัวอย่างหมายเลข (1) และน้ำทิ้งที่ผ่านระบบเอสบีอาร์ จุดเก็บตัวอย่างหมายเลข (3) นอกจากนี้จะเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ จุดเก็บตัวอย่างหมายเลข (2) เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ นอกจากนี้ในขั้นตอนการทดสอบกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำเสียจริงจะมีการเก็บตัวอย่างน้ำเสียก่อนเข้าระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ (น้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัด) และน้ำที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์



ภาพ 14 แผนผังระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

อุปกณ์ และเครื่องแก้ว

1. ถ้วยอะลูมิเนียมฟรอยล์
2. กระดาษกรอง GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 ซม. (Whatman)
3. ปากคีบ
4. ปิเปตแก้วขนาด 1, 5 , 10 มล. และลูกยางปิเปต
5. หลอด COD ขนาด 20 x 150 มม.พร้อมฝา
6. ขวดปรับปริมาตรขนาด 25 และ 50 มล.
7. บีกเกอร์ขนาด 50 , 100 มล.
8. ขวดเจลดาห์ล
9. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล. และ 500 มล.
10. บิวเรตต์ขนาด 50 มล.
11. กระบอกตวง ขนาด 100 และ 1,000 มล.
12. โถดูดความชื้น
13. ไมโครปิเปต ขนาด 1-10 ไมโครลิตร (Thermo)
14. ไมโครปิเปต ขนาด 10-100ไมโครลิตร (Discovery)
15. ไมโครปิเปต ขนาด 100-1000ไมโครลิตร (Socorex)
16. Pipette Tips ขนาด 10 , 100 , 1000 ไมโครลิตร
17. Pipette Tips ขนาด 10 มล.
18. Pipette Tips ปลายอ่อนขนาด 10-100 ไมโครลิตร
19. ไมโครทิวบ์ ขนาด 1.5 มล.
20. พีซีอาร์ทิวบ์ ขนาด 150 ไมโครลิตร

เครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hettich zentrifugen)
2. เครื่องกรองสุญญากาศ พร้อมกรวยบุชเนอร์ และขวดกรอง
3. เตาเผาควบคุมอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส (CARBOLITE)
4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (SWISS QUALITY)

5. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 103 – 105 องศาเซลเซียส (BINDER)
6. ตู้บ่ม (incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 ±1 องศาเซลเซียส (BINDER)
7. pH meter (OAKTON)
8. เครื่องย่อยสาร กำจัดไอกรด และเครื่องกลั่นสาร (BUSHI)
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (HACH)
10. เครื่องผสมสาร (Scietific Industries/vortex Genie-2)
11. เครื่องตกตะกอนสารขนาดเล็ก (IKA/ IKAMS 1 minishaker)
12. ตู้ปลอดเชื้อ (Astee Microflow)
13. หม้อนึ่งความดัน (HIRAYAMA)
14. กล้องจุลทรรศน์ (Olympus optical)
15. เครื่องทำความเย็น 4 องศาเซลเซียส (SHARP) และ -20 องศาเซลเซียส (SANYO)
16. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (SWISS QUALITY)
17. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert)
18. เครื่องเขย่าเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิได้
19. เครื่องพีซีอาร์ (Double block PCR thermocycler/MJ Research)
20. ชุดวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ (Bio-Rad, Dcode)
21. ตู้อบลมร้อน (BINDER)
22. เครื่องโซนิเคเตอร์ (CREST ULTRASONICS)
23. ไมโครเวฟ (SHARP)
24. เครื่องวิเคราะห์ดีเอ็นเอภายใต้สนามไฟฟ้า electrophoresis
25. เครื่อง ultraviolet (UV) light transilluminator พร้อมชุดถ่ายภาพ (Syngene)

สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย
   - ชุดวิเคราะห์ไนเตรทสำเร็จรูป NitraVer ®5 Cadmium Reduction Method HR (0.3 – 30.0 mg/L NO_{-3}-N) (ยี่ห้อ HACH/ODYSSEY)
   - ชุดวิเคราะห์ฟอสเฟตสำเร็จรูป PhosVer 3Ascorbic acid Method (0.02 – 2.5 mg/L PO_3^{-4}) (ยี่ห้อ HACH/ODYSSEY)

2. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ
   - ชุดสกัดดีเอ็นเอ NuecleoSpin ®Soil Genomic DNA Purification from Soil
   - Ethanol 99.9 % (Merck)
3. สารละลาย/สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
   - Quick tag (HS DyeMix)
   - Neaclease free water (Thermo science)
   - ไพรเมอร์ F341_GC และ R518 (First base)
   - ดีเอ็นเอมาตรฐาน size marker 100 bp DNA ladder (Thermo science)
4. สารละลาย/สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE
   - 50X TAE buffer (Bio-Rad)
   - 6X loading dye (Thermo science)
   - Urea (Bio-Rad)
   - Formamide (Bio-Rad)
   - 40% Acrylamide (Bio-Rad)
   - Ammonium persulfate,APS (Bio-Rad)
   - N, N, N', N'-tetramethyl ethylene diamine / TEMED (Bio-Rad)
   - Ethidium bromide (Bio-Rad)

ตาราง 7 ลำดับเบสของไพร์เมอร์ F341 และ R534

Target organism	**Primer**	**Sequence (5'-3')**
Bacteria	Primer F341_GC	5'- CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3'
	Primer R534	5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3'

ที่มา: ดัดแปลงจาก Muyzer et al (1993)

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปที่มีความเฉพาะต่อแบคทีเรีย โดย *S. terrae* จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Trypticase soy agar (Difco) ส่วนแบคทีเรีย *F. granuli* ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Nutrient broth (Difco) สำหรับการเพาะเลี้ยง ส่วนแบคทีเรียที่เหลืออีก 3 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas* sp., *A. soli* และ *T. butanivorans* จะเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป R2A agar (Difco)

6. เชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE สามารถคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจได้ 5 ชนิด โดยแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้จากแหล่งเก็บสะสมสายพันธุ์จุลินทรีย์ประเทศญี่ปุ่น (Japan Collection of Microorganism: JCM) ได้แก่ *Sphingomonas terrae* (JCM10195), *Flavobacterium granuli* (JCM21560), *Thauera butanivorans* (JCM20651) และ *Acidovorax soli* (JCM15909) ส่วนแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ได้มาจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

แนวทางในการดำเนินงานวิจัย

ในการทดลองเป็นการหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มแบคทีเรียเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร โดยในเบื้องต้นจะเป็นการติดตามและหาความหลากหลายของแบคทีเรีย และคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นเพื่อนำมาใช้ในการออกแบบสัดส่วนเชื้อที่เหมาะสม โดยมีขั้นตอนการศึกษาวิจัยแสดงดังต่อไปนี้

การศึกษาทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ของน้ำเสีย และตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

↓

คัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์

↓

การออกแบบการทดลองด้วยวิธีแฟกทอเรียลเพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มแบคทีเรีย

↓

ทดสอบ และคัดเลือกสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์

↓

ทดสอบสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มแบคทีเรียในน้ำเสียจริงในระดับห้องปฏิบัติการ

↓

ทดสอบสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มแบคทีเรียในน้ำเสียจริงด้วยถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ

↓

ติดตามประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมในช่วงเริ่มต้นระบบ และเมื่อเวลาผ่านไป 10, 30, 40, 70 และ 90 วัน

จากแผนภาพขั้นตอนการวิจัยสามารถอธิบายขั้นตอนในการวิจัยโดยละเอียด ดังนี้

1. การศึกษาทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ของน้ำเสีย และตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ ที่ใช้บำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

1.1. การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำเสียออกบ่อไร้อากาศ และน้ำทิ้งที่ผ่านระบบเอสบีอาร์ถูกเก็บอย่างละ 1.0 ลิตร และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 % เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางด้านกายภาพและเคมี ส่วนการวิเคราะห์ทางชีวภาพเป็นการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ โดยเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในบ่อเอสบีอาร์ ปริมาตร 25 มล. และรักษาสภาพดีเอ็นเอด้วย 95% เอธานอล (อัตราส่วนของตะกอนจุลินทรีย์ต่อเอธานอล เท่ากับ 1 : 1) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยทั้งตัวอย่างน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ทำการเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง นาน 12 เดือน ตั้งแต่ เดือนกุมภาพันธ์ ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ.2555 และเนื่องจากทางโรงงานมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตเหลือเพียงข้าวโพดหวานและข้าวโพดฝักอ่อนจึงทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มในเดือนพฤศจิกายน และเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556

1.2. วิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ และทางเคมี

1.2.1 การวิเคราะห์สารแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย

นำกระดาษกรอง GF/C พร้อมถ้วยอะลูมิเนียมฟรอยล์อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง (A) ทำการกรองน้ำเสียตัวอย่าง ปริมาตร 20 – 30 มล. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นนำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักกระดาษกรอง (B) จากนั้นนำไปเผาและควบคุมอุณหภูมิที่ 550 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้นอีกครั้ง และชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง (C) การคำนวณดังสมการ

$$\text{Suspended Solid: SS (มก./ลบ.ดม.)} = \frac{B - A}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}} \quad \text{---------- (7)}$$

$$\text{Volatile Suspended Solid: VSS (มก./ลบ.ดม.)} = \frac{B - C}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}} \quad \text{---------- (8)}$$

1.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบ Close Reflux

นำน้ำเสียกรองผ่านกระดาษกรอง GF/A และเจือจางน้ำเสีย โดยค่าการเจือจางให้อยู่ในช่วงค่าซีโอดีที่เหมาะสม เตรียมหลอดซีโอดีโดยใช้ 10 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริก กลั้วหลอดเพื่อกำจัดสารอินทรีย์ที่อาจตกค้างในหลอด จากนั้นปิเปตน้ำตัวอย่างที่เจือจางได้ปริมาตร 10 มล. ใส่ลงในหลอดซีโอดีเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.025 นอร์มัล ปริมาตร 6 มล. จากนั้นเติมสารเร่งปฏิกิริยากรดซัลฟูริก ปริมาตร 14 มล. ลงในหลอดซีโอดีปิดฝาหลอด และนำไปทำการรีฟลักซ์ในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น ทำการไทเทรตการหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน FAS โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 10 มล. จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.025 นอร์มัล ปริมาตร 6 มล. และเติมสารเร่งปฏิกิริยากรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 14 มล. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปไทเทรตกับสารละลาย FAS โดยใช้ Ferroin indicator 2 - 3 หยด ทำการไทเทรตจากสีเหลืองอมส้มจนเป็นสีฟ้าคราม ซึ่งใกล้ถึงจุดยุติ จากนั้นไทเทรตต่อจนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงซึ่งเป็นจุดยุติจากนั้นนำค่าที่ได้จากการไทเทรตมาคำนวณดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของ FAS} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ } K_2Cr_2O_7 \times \text{ปริมาตร } K_2Cr_2O_7}{\text{ปริมาตร FAS ที่ใช้ในการไทเทรต}} \quad \text{---------- (9)}$$

การไทเทรตสารละลายน้ำเสียตัวอย่าง ทำการหยด Ferroin indicator 2 - 3 หยด และนำไปไทเทรตกับสารละลาย FAS ไทเทรตจากสีเหลืองอมส้มเป็นสีฟ้าคราม ซึ่งใกล้ถึงจุดยุติ จากนั้นไทเทรตต่อจนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงซึ่งเป็นจุดยุติจากนั้นนำค่าที่ได้จากการไทเทรตมาคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณซีโอดี (มก. ต่อ ลิตร)} = \frac{(B - A)\,N\,(8 \times 1000) \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}} \quad \text{---------- (10)}$$

โดยที่

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน FAS ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มล.)

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน FAS ที่ใช้ในกรณีของ Blank (มล.)

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน FAS ที่ใช้ไทเทรต

8 = มิลลิกรัมสมมูลของออกซิเจนต่อสารละลายมาตรฐาน FAS 1 มิลลิลิตร (มิลลิกรัม)

1.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในน้ำเสีย ด้วยวิธี Kjeldah

ตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านการกรองปริมาตร 50 มล. เติมลงในหลอดย่อยจากนั้นเติม Catalyst 1 เม็ด และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 % ปริมาตร 15 มล. ทำการย่อยน้ำเสียตัวอย่างเป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง หรือจนกว่าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าใส และไม่มีตะกอน นำมาพักให้เย็น และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มล. จากนั้นเติม 32 % NaOH ปริมาตร 5 มล. และทำการกลั่นโดยใช้ 4 % กรดบอริกเป็นตัวจับแอมโมเนีย ทำการกลั่นอัตโนมัติเป็นเวลา 4 นาที และนำมาไทเทรตด้วย 0.05 นอร์มอล กรดไฮโดรคลอริก จากนั้นนำค่าที่ได้จากการไทเทรตมาคำนวณตามสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ไนโตรเจน-แอมโมเนีย (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{(A - B) \times 1000 \times N \times 14}{\text{ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการกลั่น (มล.)}} \quad \text{---------- (11)}$$

โดยที่

A = ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริก 0.05 นอร์มัล ที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่างน้ำ (มล.)

B = ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัล ที่ใช้ไทเทรตกับ Blank (มล.)

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานที่ใช้ (นอร์มัล)

14 = น้ำหนักสมมูลของไนโตรเจน 1000 มก.

1.2.4 การวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำเสียด้วยการกลั่น

น้ำเสียตัวอย่างที่ผ่านกรองปริมาตร 50 มล. เติมลงในหลอดย่อย หยดสารละลาย phenolphthalein indicator 3 - 4 หยด จากนั้นปรับให้มีพีเอชมากกว่า 9.5 โดยหยด 0.01 นอร์มัล NaOH จนเปลี่ยนเป็นสีชมพู เติมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ปริมาตร 3 มล. จากนั้นนำเข้าเครื่องกลั่น และนำสารละลายกรดบอริกปริมาตร 100 มล. และหยดสารละลายอินดิเคเตอร์ผสม 2 - 3 หยด นำไปกลั่นแบบอัตโนมัติเป็นเวลานาน 4 นาที ถ้าตัวอย่างมีแอมโมเนียสารละลายในขวดรูปชมพูจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน ถ้าไม่มีจะเป็นสีชมพูถึงสีแดง จากนั้นนำสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่มีสีเขียวมาไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริก 0.05 นอร์มัล จนเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนถือเป็นจุดยุติ บันทึกค่าและคำนวณหาปริมาณแอมโมเนียเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

1.2.5 การวิเคราะห์ไนเตรทในน้ำเสีย

นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทโดยวิธี Cadmium Reduction ด้วยชุดวิเคราะห์สำเร็จรูป (HACH/ODYSSEY) จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง HACH/ODYSSEY และบันทึกผล

1.2.6 การวิเคราะห์หาฟอสเฟตในน้ำเสีย

นำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตโดยวิธี Ascorbic acid ด้วยชุดวิเคราะห์สำเร็จรูป (HACH/ODYSSEY) จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง HACH/ODYSSEY และบันทึกผล

1.3 การวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์

1.3.1 การสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จะถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Nucleospin® soil จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค 16S rRNA – PCR โดย Primer 341F_GC และ 518R โดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10 pmol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเตรียมส่วนประกอบในการทำพีซีอาร์โดยผสม Quick Taq 25 ไมโครลิตร เติมไพรเมอร์ที่ทำการเจือจางแล้วอย่างละ 1 ไมโครลิตร น้ำ 22 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอตัวอย่างละ 1 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันและนำเข้าเครื่องพีซีอาร์โดยใช้โปรแกรมดัดแปลงจาก Muyzer *et al.*,1993 ซึ่งมีรายละเอียดโปรแกรมดังนี้

Initial denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	5	นาที
ขั้นตอน Denaturation	94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	0.5	นาที
ขั้นตอนAnnealing	54 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
		ลดลง 1 องศาเซลเซียส ทุก 0.5 นาที		
ขั้นตอนElongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
			35	รอบ
ขั้นตอนDenaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
ขั้นตอนAnnealing	54 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
ขั้นตอนElongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
			14	รอบ
ขั้นตอน Final elongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	5	นาที
Hold	15 องศาเซลเซียส			

เมื่อสิ้นสุดโปรแกรมนำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี Electrophoresis และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.3.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค DGGE โดยใช้ 10% acrylamide และความเข้มข้นของสารที่ทำให้ดีเอ็นเอแยกสาย (denaturant) 30 – 55 % ดังแสดงในตาราง 8 โดยสารละลาย 10 % acrylamide ใช้ปริมาตร 15 มล. จากนั้นเติม APS 150 ไมโครลิตร (0.1 มก. ละลายในน้ำกลั่น 1.0 มล.) และเติม TEMED ปริมาตร 9 ไมโครลิตร ใช้ปั๊มสำหรับเซ็ตเจลลงในแผ่นกระจกที่ได้ประกอบไว้ให้มีสัดส่วนความเข้มข้นของเจลไล่ระดับจากความเข้มข้นน้อยไปหามาก (จากบนลงล่าง) ตั้งทิ้งไว้ 6 - 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติมตัวอย่าง (อัตราส่วน PCR product : loading dye เท่ากับ 1:1) และใช้กระแสไฟฟ้า 180 โวลต์ เวลานาน 5 ชั่วโมง วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอบนเจลด้วยการย้อม Ethidium bromide นาน 15 นาที และสังเกตลักษณะของแถบดีเอ็นเอภายใต้เครื่อง UV transilluminator Genesnap program (SynGene, UK) บันทึกภาพ และตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี unweighted - pair group method using average linkages (UPGMA) โดยโปรแกรมวิเคราะห์ Genetool version 3.02.00 (SynGene, UK)

ตาราง 8 อัตราส่วนสารเคมีที่ใช้ในการเตรียม 10 % Acrylamide (30 - 55% denaturant)

สารเคมี	% Denaturant	
	30 %	55 %
Urea	12.6 กรัม	23.1 กรัม
40%bis Acrylamide	25.0 มล.	25.0 มล.
Formamide	12.0 มล.	22.0 มล.
50X TAE buffer	2.0 มล.	2.0 มล.
ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น	100 มล.	100 มล.

แถบดีเอ็นเอที่สนใจถูกตัดออกมา และทำให้บริสุทธิ์โดยเติมน้ำปราศจากนิวคลีเอส (nuclease free water) 30 ไมโครลิตร จากนั้นบดเจลให้ละเอียด และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน นำส่วนใสที่ได้ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ forward primer ที่ไม่มี GC Clamp จากนั้นนำ PCR product ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดสำเร็จรูป RBC BIOSCIENCE และหาส่งลำดับเบส (First base, Malaysia) จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้ไปวิเคราะห์โดยเทียบกับฐานข้อมูล BLASN/NCBI

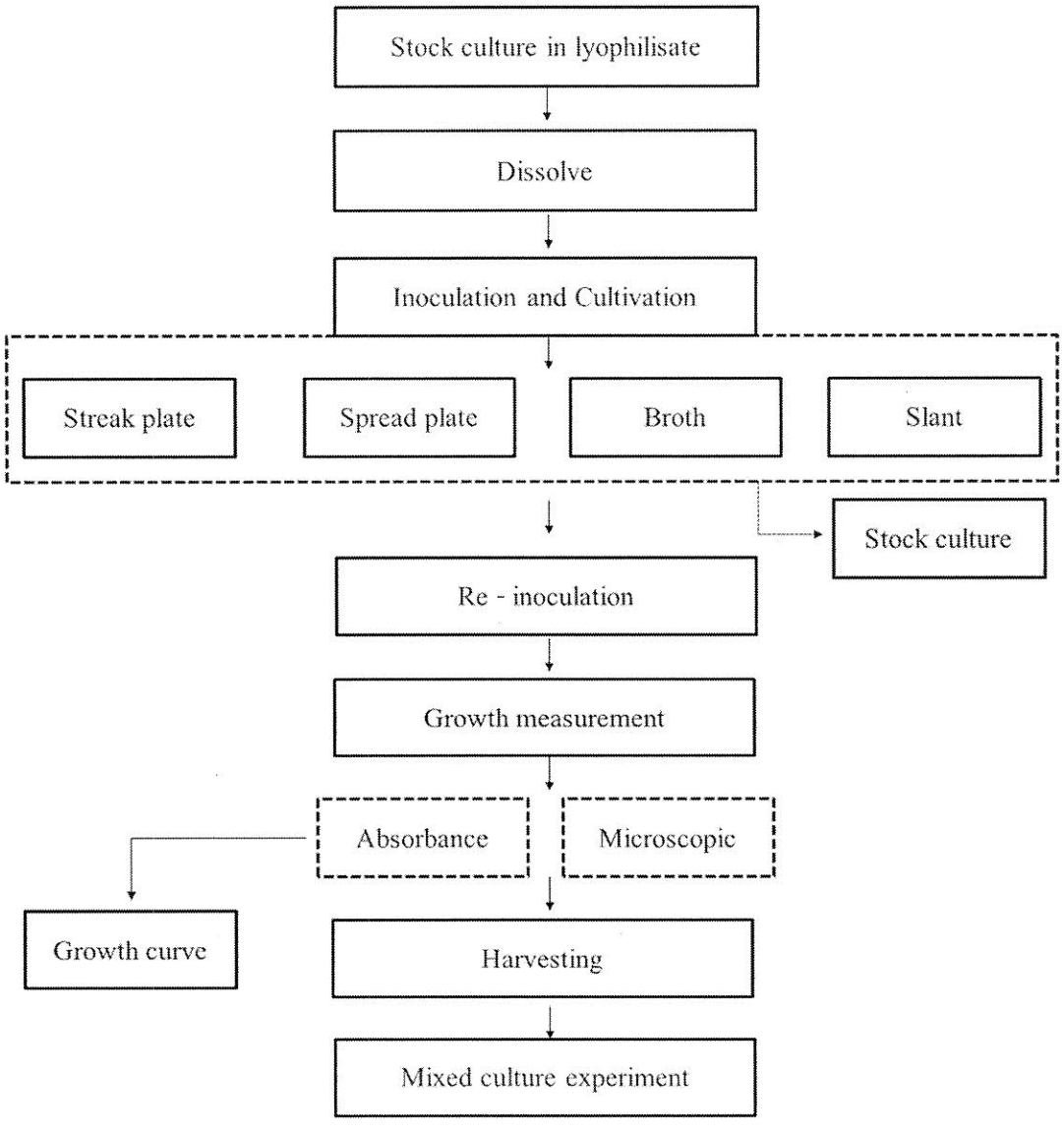
2 การเพาะเลี้ยง ศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรีย และการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolytic enzyme

2.1 การเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณของแบคทีเรีย

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR - DGGE ทำการคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่น คือ แบคทีเรียที่สามารถพบได้ตลอดช่วงเวลาที่มีการเก็บตัวอย่าง เพราะคาดว่าเป็นแบคทีเรียที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ ซึ่งจากการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียสามารถคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นจากตะกอนจุลินทรีย์ได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Sphingomonas terrae, Flavobacterium granuli, Thauera butanivorans Acidovorax soli* และ *Pseudomonas* sp. จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยง และนำมาย้อมสีแกรมเพื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และเก็บรักษาเชื้อตั้งต้นใน 40% กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

2.2 การศึกษาอัตราการเจริญของแบคทีเรีย

แบคทีเรียชนิดเด่นถูกนำมาศึกษาอัตราการเจริญโดยนำโคโลนีเดี่ยวมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวปริมาตร 4 มล. ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเตรียมหัวเชื้อโดยเทียบกับ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์ ต่อ มล. เติมหัวเชื้อที่เตรียมไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด (หัวเชื้อ 1%) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มล. จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างเชื้อทุก 4 ชั่วโมง จนเข้าสู่การเจริญช่วง stationary โดยนำตัวอย่างที่เก็บได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และนับจำนวนโคโลนีด้วยเทคนิค spread plate แผนการทดลองดังแสดงในภาพ 15



ภาพ 15 แผนภาพการทดลองขั้นตอนที่ 2 การแยก และเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

2.3 การศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรีย

แบคทีเรียชนิดเด่น 5 สายพันธุ์จะนำมาศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญในน้ำแป้งสังเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงอัตราการใช้สารอินทรีย์ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยในการทดลองเริ่มจากการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่บริสุทธิ์ในอาหารเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด ปริมาตร 4 มล. นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 rpm นาน

24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นนำหัวเชื้อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเฉพาะที่มีปริมาตรอาหาร 20 มล. นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ได้กล่าวไปข้างต้นจนถึงระยะสุดท้ายของช่วง exponential phase จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 rpm นาน 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง และเติมสารละลาย 0.85% NaCl ปริมาตร 5 มล. จากนั้นทำการปรับหัวเชื้อแบคทีเรียโดยการเติมแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ผ่านการฆ่าแล้วให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) อยู่ในช่วง 0.12 - 0.2 (ดัดแปลงจาก Chen et al., 2009) จากนั้นนำไปเขย่าเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเพื่อนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง น้ำหนักแห้งของเซลล์ (biomass concentration) และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีโดยการนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำส่วนใสที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง GF/A และนำสารละลายตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าซีโอดี และประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี

2.4 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเอสจากแบคทีเรียชนิดเด่น

เตรียมตัวอย่างโดยเริ่มจากเพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหารที่เหมาะสมกับเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยมีการเติมร้อยละ 1 ของตัวกระตุ้น (inducer) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการวัดกิจกรรมอะไมเลสเติม soluble starch ส่วนโปรติเอสใช้ skim milk ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 rpm นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาสเซลเซียส นาน 5 นาที และนำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโพลิแซคคาไรด์ และโปรติเอส โดยมีขั้นตอน ดังนี้

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ย่อยโพลีแซคคาไรด์โดยใช้วิธี DNS method (Senthilkumar et al., 2012) เริ่มจากการเตรียมสารละลายจำนวน 4 หลอด โดยมีโพลิแซคคาไรด์เป็นสับสเตรท ซึ่งเติมสารละลายดังแสดงในตาราง 9 จากนั้นบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติม DNS reagent 0.5 มล. และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 15 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มล. แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์

หมายเหตุ: กิจกรรมของเอนไซม์ 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที และภายใต้สภาวะที่กำหนด

ตาราง 9 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

	Buffer (มล.)	Substrate (มล.)	สารละลายเอนไซม์ (มล.)
Buffer blank	0.5	-	-
Substrate blank	0.25	0.25	-
Enzyme blank	0.25	-	0.25
Enzyme- substrate	-	0.25	0.25

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส (Wongputisin, 2007; Geok et al., 2003) เตรียมสารละลายผสม 4 หลอด โดยมี 0.5 % Casein เป็นตัวกระตุ้น ซึ่งเติมสารละลายในอัตราส่วนดังแสดงในตาราง 9 จากนั้นบ่มแต่ละหลอดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติม 0.4 M Trichloroacetic acid ปริมาตร 1 มล. จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที .ใช้สารละลายส่วนใสปริมาตร 0.25 มล. เติม 0.4 M Na_2CO_3 1.25 มล. และ Folin-ciocalteau reagent 0.15 มล. รอประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm เมตร คำนวณหาปริมาณปริมาณกรดอะมิโน โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Tyrosine และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์

หมายเหตุ: กิจกรรมของเอนไซม์ 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ปลดปล่อย Tyrosine 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที และภายใต้สภาวะที่กำหนด

3 การทดสอบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียสังเคราะห์

การศึกษาสัดส่วนของกลุ่มเชื้อที่เหมาะสมจะใช้โปรแกรม MINITAB ในการออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียล (Factorial design) โดยใช้อัตราส่วนของแบคทีเรียสูงสุด และต่ำสุด ซึ่งได้จากความเข้มของแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DGGE ซึ่งความเข้มของแถบดีเอ็นเอแปรผันตรงกับปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย (ตางราง 10) ร้อยละความเข้มของแถบดีเอ็นเอจะนำมาออกแบบการทดลองเชิงแฟกทอเรียล ซึ่งจะได้การทดลองทั้งหมด 19 การทดลองโดยแบคทีเรียแต่ละชนิดถูกนำมาเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นที่ 1.5×10^8 เซลล์ต่อ มล. ($OD_{600} = 0.095$) จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีสัดส่วนต่างกันโดยมีปริมาตรรวม 20 มล. ดังแสดงในตาราง 11 จากนั้นเติมกลุ่ม

เชื้อลงในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 100 มล. (ซีโอดี 3000 มก. ต่อลิตร) ทำการเพาะเลี้ยงที่ 150 rpm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง การวิเคราะห์หาค่าซีโอดีของแต่ละชุดการทดลองใช้เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ที่ถูกสารเคมีออกซิไดซ์ซึ่งทำการวิเคราะห์เมื่อเริ่มการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 6, 12, 18, 24, 36, และ 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการคำนวณหาประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของกลุ่มจุลินทรีย์ และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม MINITAB โดยคัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้สูงสุดเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงต่อไป

ตาราง 10 ร้อยละความเข้มแถบดีเอ็นเอ (% intensity) ของแบคทีเรียชนิดเด่นจากตะกอนจุลินทรีย์

แบคทีเรีย	ร้อยละความเข้มแถบดีเอ็นเอ (%)	
	ต่ำสุด	สูงสุด
Sphingomonas terrae	2.3	13.0
Flavobacterium granuli	2.0	5.4
Acidovorax soli	6.6	16.0
Thauera bitanivorans	2.5	15.9
Pseudomonas sp.	2.5	15.9

หมายเหตุ: ร้อยละความเข้มแถบดีเอ็นเอ (%) คือ ค่าความเข้มที่เทียบจากแบคทีเรียทั้งหมดที่เกิดขึ้นตลอดทั้งปี

$$\text{ร้อยละความเข้มแถบดีเอ็นเอ (\%)} = \frac{\text{ความเข้มของแถบดีเอ็นเอ} \times 100}{\text{ผลรวมความเข้มแถบดีเอ็นเอทั้งหมด}} \quad \text{---------- (12)}$$

ตาราง 11 การออกแบบการทดลองด้วย วิธี ½ แฟกทอเรียล โดยใช้โปรแกรม MINITAB

Std Order	Run Order	Center Pt	Blocks	*S. terrae*	*F. granuli*	*Pseudomonas* sp.	*A. soli*	*T. butanivorans*
9	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1
6	2	1	1	1	-1	1	-1	1
2	3	1	1	1	-1	-1	-1	-1
3	4	1	1	-1	1	-1	-1	-1
15	5	1	1	-1	1	1	1	-1
8	6	1	1	1	1	1	-1	-1
5	7	1	1	-1	-1	1	-1	-1
14	8	1	1	1	-1	1	1	-1
12	9	1	1	1	1	-1	1	-1
16	10	1	1	1	1	1	1	1
11	11	1	1	-1	1	-1	1	1
4	12	1	1	1	1	-1	-1	1
18	13	0	1	0	0	0	0	0
13	14	1	1	-1	-1	1	1	1
1	15	1	1	-1	-1	-1	-1	1
19	16	0	1	0	0	0	0	0
10	17	1	1	1	-1	-1	1	1
17	18	0	1	0	0	0	0	0
7	19	1	1	-1	1	1	-1	1

ตาราง 12 ร้อยละของสัดส่วนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบหาสัดส่วนของเชื้อที่เหมาะสมด้วยวิธี ½ แฟกทอเรียล

การทดลองที่	สัดส่วนเชื้อแบคทีเรีย (%)				
	S. terrae	*F. glanuli*	*Pseudomonas* sp.	*A. soli*	*T. butanivorans*
1	33	14	6	41	6
2	9	8	10	63	10
3	30	12	36	15	6
4	26	4	5	32	32
5	6	13	6	38	38
6	20	8	24	24	24
7	49	7	10	25	10
8	24	4	30	13	30
9	30	12	6	15	36
10	8	7	9	23	54
11	6	13	38	38	6
12	8	7	54	23	9
13	20	10	21	29	21
14	20	10	21	29	21
15	20	10	21	29	21
16	26	4	32	32	5
17	4	4	30	31	30
18	5	12	34	14	34
19	12	28	13	34	13

ตาราง 13 ปริมาตรของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบหาสัดส่วนของเชื้อที่เหมาะสมในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์จากการออกแบบด้วยวิธี ½ แฟกทอเรียล

การทดลองที่	สัดส่วนเชื้อแบคทีเรีย (มล)				
	S. terrae	*F. glanuli*	*Pseudomonas* sp.	*A. soli*	*T. butanivorans*
1	4	2	4	6	4
2	6	2	1	3	7
3	1	3	8	8	1
4	1	2	7	3	7
5	4	2	5	5	5
6	5	1	6	6	1
7	2	1	2	5	11
8	5	1	1	6	6
9	2	2	2	13	2
10	1	1	6	6	6
11	4	2	4	6	4
12	6	2	7	3	1
13	2	6	3	7	3
14	2	1	11	5	2
15	10	1	2	5	2
16	7	3	1	8	1
17	5	1	6	2	6
18	1	3	1	8	8
19	4	2	4	6	4

4 การทดสอบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

4.1 การทดสอบ และติดตามกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรระดับห้องปฏิบัติการ

สัดส่วนของกลุ่มเชื้อที่เหมาะสมจากการทดสอบในน้ำเสียสังเคราะห์ ซึ่งคือชุดการทดลองที่ 6, 7, 10, 12, และ 18 นำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงระดับห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มต้นจากการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.5 x 10^8 เซลล์ ต่อ มล. (ค่า OD_{600} ขึ้นอยู่กับปริมาณเซลล์ของเชื้อแต่ละชนิด) และเติมเชื้อรวมปริมาตร 40 มล. ลงในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรปริมาตร 200 มล. ซึ่ง 5 ชุดการทดลองจะถูกนำมาทดสอบกับน้ำเสียแบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ น้ำเสียออกจากกระบวนการผลิต น้ำเสียผ่านระบบแอนแอโรบิก และน้ำเสียผ่านระบบแอนแอโรบิกที่มีการเติมตะกอนจุลินทรีย์ปริมาตร 60 มล. ทำการทดสอบโดยเขย่าที่ 150 rpm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์หาค่าซีโอดีของแต่ละชุดการทดลองเมื่อเริ่มการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 6, 12, 18, 24, 36, และ 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการคำนวณหาประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์ทางด้านชีวภาพเพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนกลุ่มจุลินทรีย์ใช้เทคนิค PCR-DGGE โดยคัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้สูงสุดมาทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ในชั่วโมงเริ่มต้น และที่ 48 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองในขั้นตอนนี้จะทำให้สามารถแยกชุดการทดลองของสัดส่วนกลุ่มจุลินทรีย์ที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงสุดเพื่อใช้ในการทดลองในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรด้วยถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการต่อไป

4.2 การทดสอบ และติดตามกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในน้ำเสียจริงจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรนำมาทดสอบ และติดตามประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงด้วยไบโอรีแอคเตอร์ระดับห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มแรกของการดำเนินระบบจะมีการเติมตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรปริมาตร 600 มล. และมีการเติมน้ำเสียจากโรงงานปริมาตร 2000 มล. การควบคุมพารามิเตอร์ และการทำงานของระบบดังแสดงใน ตาราง 14 เมื่อครบหนึ่งสัปดาห์ ทำการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมปริมาตร 600 มล.

ในน้ำเสียปริมาตร 2 ลิตร ดังแสดงในภาพ 16 จากนั้นเติมอากาศ และควบคุมให้มี MLSS ประมาณ 3,000 – 5,000 มก. ต่อ ลิตรโดยในการติดตามผลจะมีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ พารามิเตอร์ทางด้ายกายภาพและเคมีที่วิเคราะห์ ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ออกซิเจนละลาย ของแข็งแขวนลอย ของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย ซีโอดี ทีเคเอ็น แอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสเฟต เป็นต้น ส่วนทางด้านชีวภาพเป็นการวิเคราะห์การติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในแต่ละชุดการทดลองเมื่อเริ่มระบบ และเมื่อเวลาผ่านไป 0, 10, 30, 40, 70, และ 90 วัน

ภาพ 16 การทดสอบกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ

ตาราง 14 พารามิเตอร์ที่ควบคุมในการดำเนินระบบ

พารามิเตอร์		**หน่วย**
ปริมาตรน้ำเสียเข้าระบบ	2	ลิตร ต่อวัน
ปริมาตรถังเติมอากาศ	8	ลิตร
อัตราการเติมอากาศ	22	ชั่วโมง ต่อ วัน
เวลาในการตกตะกอน	2	ชั่วโมง ต่อ วัน
MLSS	3,000 – 5,000	มก. ต่อ ลิตร
Hydraulic retention time	1	วัน
Solid retention time	10 – 15 วัน	วัน

บทที่ 4
ผลและการอภิปรายผลการวิจัย

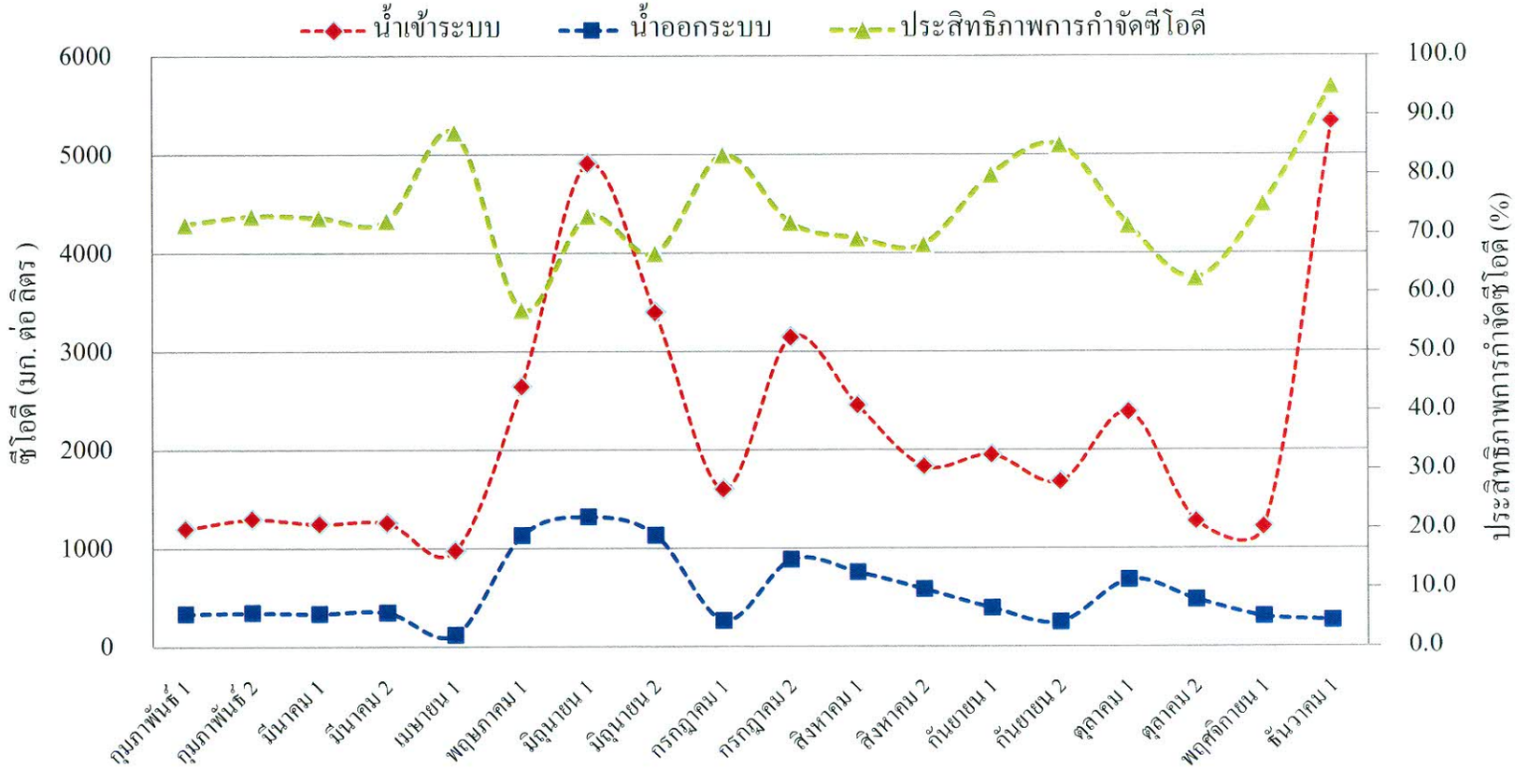
การศึกษาทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ของน้ำเสีย และตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ที่ใช้บำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ และเคมี ของน้ำเสียเข้า และออกระบบเอสบีอาร์

จากการเก็บตัวอย่างน้ำเสียเข้า และออกระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปการเกษตร ตั้งแต่เดือน กุมภาพันธ์ ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ซีโอดีของน้ำเสียเข้าระบบมีความแปรผันตลอดทั้งปีโดยมีค่าซีโอดีตั้งแต่ 980 – 5,333 มก.ต่อ ลิตร และมีค่าสูงสุดในเดือนธันวาคม (5,333 มก.ต่อ ลิตร) ส่วนน้ำเสียออกระบบเอสบีอาร์พบว่า มีค่าซีโอดีของน้ำออกตั้งแต่ 252 - 1,323 มก.ต่อ ลิตร ซึ่งค่าซีโอดีสูงสุดของน้ำเสียออกระบบพบใน เดือนมิถุนายน (1,323 มก.ต่อ ลิตร) จากความแปรผันของค่าซีโอดีสอดคล้องกับรายงานของ Soderquist และคณะ (1975) ที่รายงานว่าค่าซีโอดีของน้ำเสียจากข้าวโพดมีค่าตั้งแต่ 1,493 – 8,400 มก.ต่อ ลิตร อีกทั้งยังมีปริมาณซีโอดีทั้งหมดและซีโอดีละลายน้ำสูงถึง 4,850 และ 3,850 มก.ต่อ ลิตร ตามลำดับ (Ovez et al., 2001)

นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของระบบเอสบีอาร์พบว่า มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 57.1 – 95.0 ซึ่งเดือนที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีต่ำสุด คือ เดือนพฤษภาคม (ร้อยละ 57.1) โดยในเดือนดังกล่าวมีอัตราน้ำเสียเข้าระบบสูงถึง 800 ลบ. ม. ต่อ วัน ดังแสดงในภาพ 16 อย่างไรก็ตาม คุณภาพน้ำเสียในเดือนธันวาคมแม้ว่าจะมีค่าซีโอดีสูงแต่ยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงสุดถึงร้อยละ 95 เนื่องจากมีปริมาตรน้ำเสียเข้าระบบต่ำสุดเท่ากับ 450 ลบ.ม. ต่อวัน

จากการวิเคราะห์ข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นถึงอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และปริมาณน้ำเสียมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kanimozhi และ Vasudevan (2014) ที่ได้ทำการศึกษาผลของอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ของน้ำเสียจากโรงกลั่นที่ผ่านระบบแอนแอบิกพบว่า อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงมีผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ลดลง และอัตราภาระบรรทุกที่เพิ่มขึ้นจาก 3.6 กก. ต่อ ลบ. ม. ต่อวัน เป็น 9.0 กก. ซีโอดี ต่อ ลบ. ม. ต่อวัน มีผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีลดลงจากร้อยละ 74 เหลือเพียงร้อยละ 43 เช่นเดียวกับรายงานผลการวิจัยของ Abdulgader และคณะ (2007) ที่รายงานว่า ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของระบบเอสบีอาร์สามารถสูงถึงร้อยละ 99.5 เมื่ออัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ลดลงต่ำ (0.4 กก. ซีโอดี ต่อ ลบ. ม. ต่อวัน)

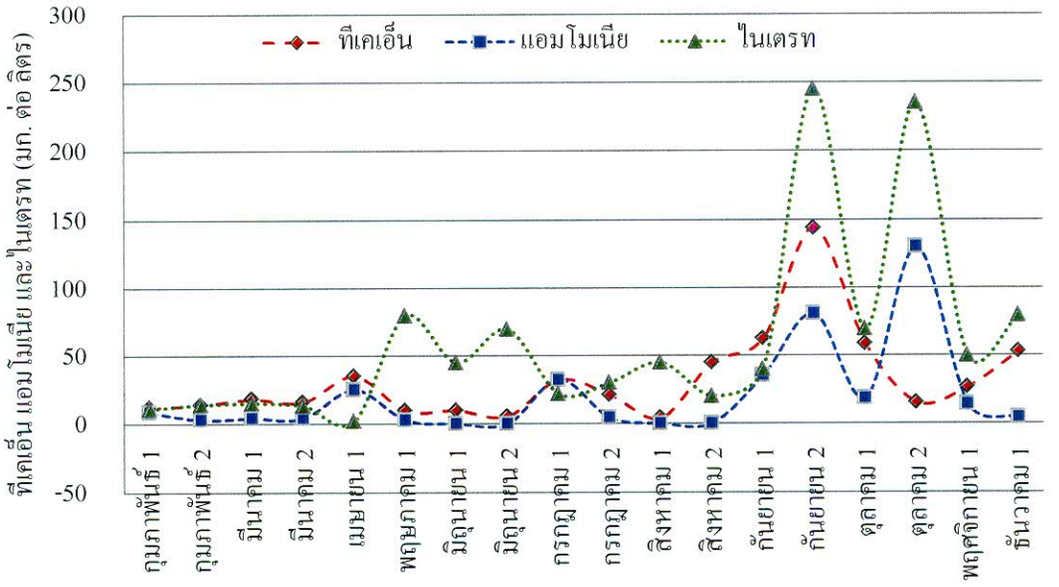


ภาพ 17 ซีโอดีของน้ำเสียเข้า – ออกระบบเอสบีอาร์ และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของระบบเอสบีอาร์

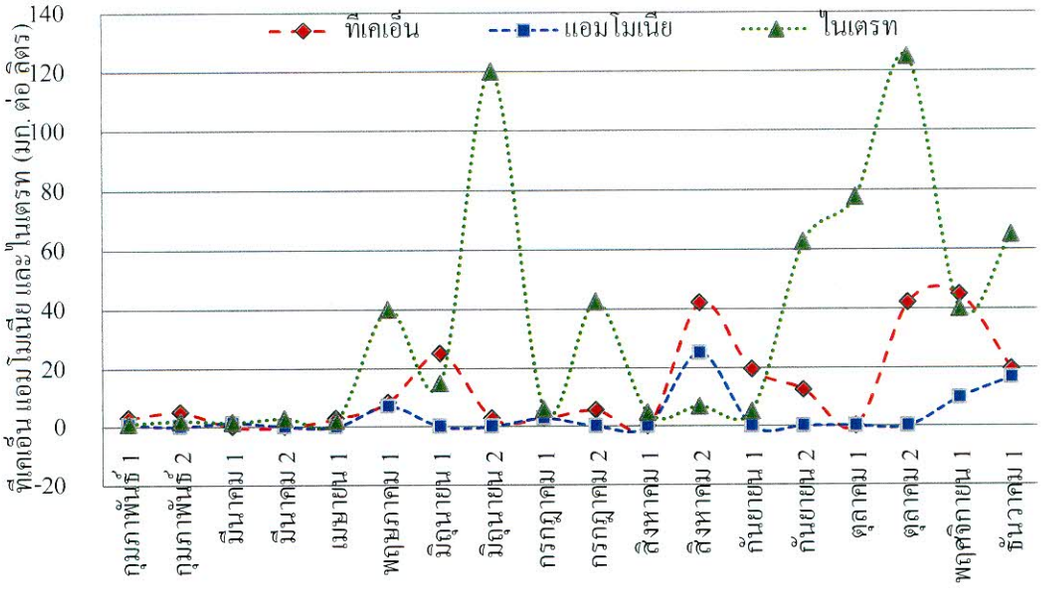
จากการวิเคราะห์ค่าทีเคเอ็นของน้ำเสียเข้าระบบ พบว่า มีค่าผันแปรตลอดทั้งปี เช่นเดียวกับค่าซีโอดี โดยทีเคเอ็นมีค่าตั้งแต่ 4.2 – 144.3 มก.ต่อ ลิตร และมีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน (144.3 มก.ต่อ ลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่ได้ศึกษาปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวาที่พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 30 – 78 มก. ต่อ ลิตร (Jasti et al., 2006) ทั้งนี้จากรายงานของ Fred (1975) ได้รายงานว่าในข้าวโพดหวานประกอบด้วยน้ำ คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ร้อยละ 72.0, 22.1 และ 3.5 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำเสียจากกระบวนการผลิตข้าวโพดหวานจึงมีปริมาณไนโตรเจนสูง นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรท ของน้ำเสียเข้าระบบมีปริมาณตั้งแต่ 0 – 130.3 มก.ต่อ ลิตร และ 2 – 245 มก.ต่อ ลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรท ของน้ำเสียเข้าระบบมีค่าที่สูงสุดในเดือนกันยายน (245 มก.ต่อ ลิตร) ดังแสดงในภาพ 18 โดยคาดว่าสาเหตุที่น้ำเสียออกระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์มีปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรทสูง เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวมีปริมาณน้ำเสียสูงทำให้ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำเสียลดลงเป็นผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดแอมโมเนียและไนเตรทลดลงตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ladu และ Lu (2014) ที่ศึกษาผลของระยะเวลาการกักเก็บน้ำเสีย (1, 2, 3 และ 4 วัน) และอุณหภูมิ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ในการบำบัดน้ำเสียจากชุมชน พบว่า ระยะเวลาการกักเก็บที่สั้นเกินไปส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนีย และไนเตรทลดลง โดยประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียสูงสุดเท่ากับร้อยละ 39 (ระยะเวลาการกักเก็บน้ำเสีย 3 วัน และอุณหภูมิ 30.57 องศาเซลเซียส) และการกำจัดไนเตรทสูงสุดร้อยละ 34 (ระยะเวลาการกักเก็บน้ำเสีย 4 วัน และอุณหภูมิ 30.67 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้จากรายงานของ Tonon และคณะ (2015) ได้พบว่า อัตราการไหลต่อพื้นที่ของน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ที่สูงเกินไปส่งผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ โดยในการทดลองกำหนดให้มี อัตราการไหลของน้ำเสีย ต่อพื้นที่ตั้งแต่ 100 - 800 ลิตร ต่อ ตารางเมตร ต่อ วัน โดยพบว่า เมื่อดำเนินระบบที่อัตราการไหลสูงสุดจะทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ลดลงเหลือร้อยละ 82.6 จากร้อยละ 86.7 อีกทั้งยังทำให้มีปริมาณแอมโมเนียคงเหลือในน้ำเสียสูงขึ้น (31.6 ± 10.8 มก . ต่อ ลิตร)

จากภาพ 19 แสดงถึงค่าทีเคเอ็น แอมโมเนีย และไนเตรทของน้ำเสียออกระบบ โดยทีเคเอ็นของน้ำออกระบบมีค่าตั้งแต่ 0 – 44.8 มก.ต่อ ลิตร และมีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน (44.8 มก.ต่อ ลิตร) ส่วนแอมโมเนียของน้ำออกอยู่มีค่าตั้งแต่ 0 – 25.2 มก.ต่อ ลิตร นอกจากนี้มีปริมาณไนเตรทในช่วง 1.0 – 125.0 มก.ต่อ ลิตร จากผลการวิเคราะห์เห็นได้ว่า เดือนมิถุนายน และเดือนตุลาคม มีปริมาณไนเตรทในน้ำออกสูง เนื่องจากเดือนตุลาคมมีปริมาณไนเตรทของน้ำเสียเข้า

ระบบสูงถึง 245.0 มก.ต่อ ลิตร จึงทำให้น้ำออกยังคงมีปริมาณไนเตรทที่สูงเนื่องจากมีระยะเวลาการกักเก็บน้ำเสียในระบบแอนแอโรบิกลดลงดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น อย่างไรก็ตามเดือนมิถุนายน พบว่า ค่าทีเคเอ็นของน้ำเสียเข้าระบบมีค่าเท่ากับ 6.5 มก.ต่อ ลิตร และเมื่อผ่านการบำบัดด้วยระบบเอสบีอาร์พบว่า มีค่าทีเคเอ็นลดลงเหลือ 2.8 มก.ต่อ ลิตร โดยไม่พบแอมโมเนียในน้ำออกแต่กลับพบว่า ปริมาณไนเตรทในน้ำออกสูงเท่ากับ 120 มก.ต่อ ลิตร ทั้งนี้เนื่องจากเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันที่สมบูรณ์จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียไปอยู่ในรูปของไนเตรททั้งหมด จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า ค่าทีเคเอ็น และแอมโมเนีย แปรผกผันกับไนเตรท เนื่องจากระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์เป็นระบบที่ใช้อากาศ และมีกระบวนการกำจัดไนโตรเจนด้วยปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน โดยสารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายให้อยู่ในรูปของโปรตีน และแอมโมเนีย จากนั้นถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของไนไตรท์ และไนเตรท ตามลำดับ (Zhu et al., 2008 cited by Zeng et al., 2014)

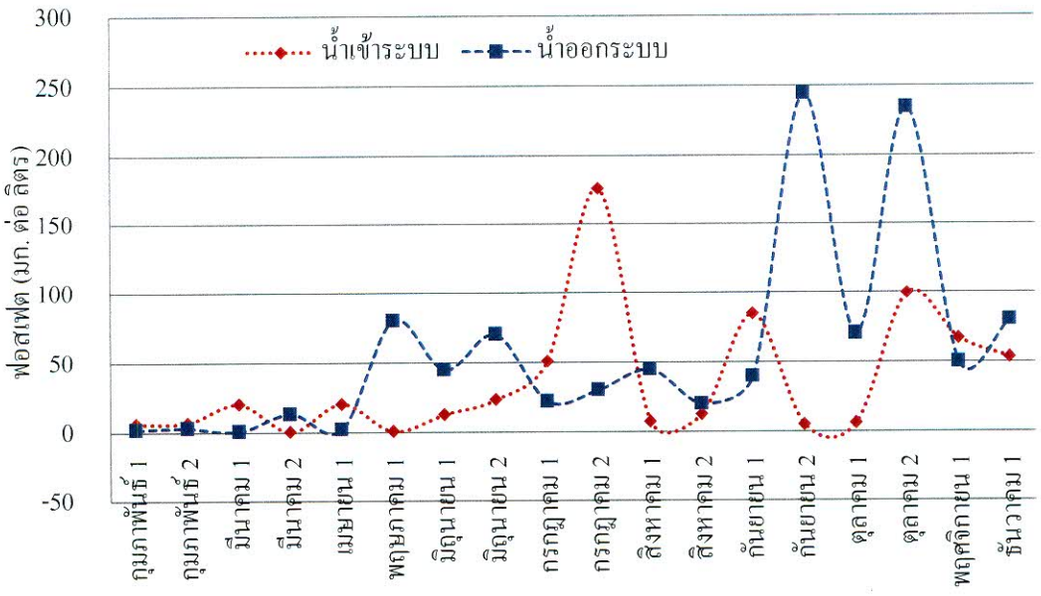


ภาพ 18 ปริมาณทีเคเอ็น แอมโมเนีย และไนเตรท ของน้ำเสียเข้าระบบเอสบีอาร์



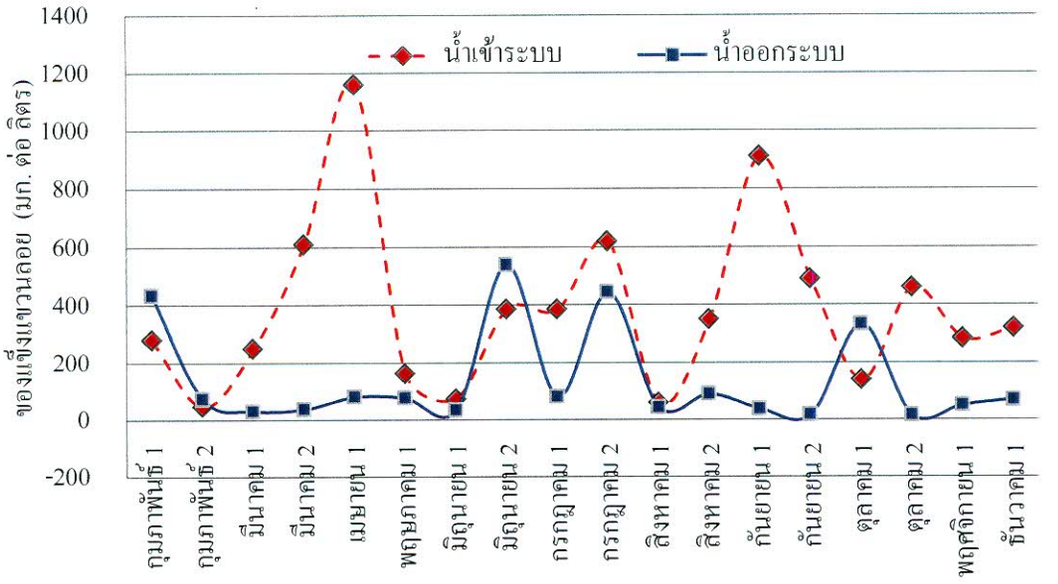
ภาพ 19 ปริมาณทีเคเอ็น แอมโมเนีย และไนเตรท ของน้ำเสียเข้าระบบเอสบีอาร์

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียเข้า และออกระบบ พบว่า น้ำเสียเข้าระบบมีปริมาณฟอสเฟตตั้งแต่ 0.6 – 179.4 มก.ต่อ ลิตร ดังแสดงในภาพ 20 ซึ่งมีค่าสูงสุดในเดือนกรกฎาคม (179.4 มก.ต่อ ลิตร) ส่วนน้ำออกมีปริมาณฟอสเฟตในช่วงตั้งแต่ 0.7 – 245.0 มก. ต่อลิตร ซึ่งในเดือนกันยายน และตุลาคม พบปริมาณฟอสเฟตในน้ำออกสูงที่สุดเท่ากับ 245.0 และ 235.0 มก.ต่อ ลิตร ปริมาณฟอสเฟตที่สูงในน้ำเสียเข้าระบบส่วนหนึ่งมาจากคุณลักษณะของน้ำเสียจากข้าวโพดที่มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดสูงถึง 125 มก. ต่อ ลิตร (Ovez et al., 2001) ส่วนปริมาณฟอสเฟตที่สูงในน้ำเสียออกระบบคาดว่าน่าจะเกิดจากอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูง จึงส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และเมื่อเทียบกับประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในเดือนตุลาคม พบว่ามีประสิทธิภาพลดลงเหลือร้อยละ 62.5 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fernandes และคณะ (2013) พบว่า น้ำออกของระบบบำบัดเอสบีอาร์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากชุมชนมีปริมาณฟอสเฟตสูงซึ่งเกิดจากความเข้มข้นของออกซิเจนละลายน้ำที่ต่ำทำให้จุลินทรีย์ในกลุ่ม PAO มีกิจกรรม หรือความสามารถในการกำจัดฟอสเฟตที่ลดลง

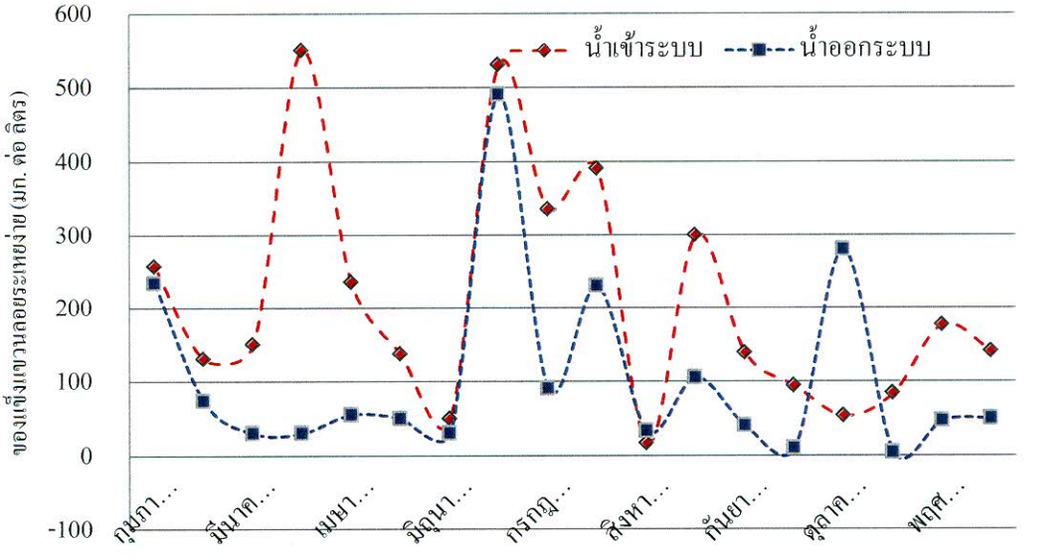


ภาพ 20 ปริมาณฟอสเฟตของน้ำเสียเข้า และออกระบบเอสบีอาร์

จากภาพ 21 และ 22 แสดงถึงปริมาณของแข็งแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายโดยพบว่า ปริมาณของแข็งแขวนลอยของน้ำเสียเข้าระบบ และออกระบบมีปริมาณตั้งแต่ 46.7 -1160.0 และ 14.0 – 540.0 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณสูงที่สุดเดือนเมษายน (1,160 มก. ต่อ ลิตร) ส่วนปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำเสียเข้าระบบที่มีค่าตั้งแต่ 84.0 – 550.0 และ 4.0 – 490.0 มก. ต่อ ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Soderquist และคณะ (1975) รายงานว่าน้ำเสียจากกระบวนการผลิตข้าวโพดมีปริมาณของแข็งแขวนลอยตั้งแต่ 300 – 4,000 มก. ต่อ ลิตร อย่างไรก็ตามเดือนมิถุนายน พบว่า ของแข็งแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำเสียออกระบบมีปริมาณสูงกว่าน้ำเสียเข้าระบบ (540 และ 530 มก. ต่อ ลิตร) โดยปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำเสียสอดคล้องกับปริมาณสารอินทรีย์ และปริมาณน้ำเสียที่สูง ซึ่งในเดือนดังกล่าวมีค่าซีโอดี และปริมาณน้ำเสียเข้าระบบสูงถึง 3,402 มก. ต่อ ลิตร และ 725 ลบ.ม. ต่อวัน หรือมีอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์เท่ากับ 3.08 กก. ซีโอดี ต่อ ลบ.ม. ต่อวัน นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณของแข็งแขวนลอยมีค่าสูงใน เดือนเมษายน กันยายน กรกฎาคม และ ตุลาคม (1160, 910, 620 และ 460 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ) ซึ่งคาดว่าเกิดจากมีปัญหาในขั้นตอนการตกตะกอนที่มีตะกอนจุลินทรีย์ลอยตัว และหลุดออกมากับน้ำทิ้ง ซึ่งมักพบได้ในระบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ โดยการลอยตัวของตะกอนจุลินทรีย์มีสาเหตุจากจุลินทรีย์กลุ่มที่มีเส้นใยมีสัดส่วนสูงที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนละลายน้ำต่ำ และพบในสภาวะที่มีอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูง ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มสร้างเส้นใย ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Thiothrix*, *Microthrix parvicella* เป็นต้น (Lever, 2010)



ภาพ 21 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำเสียเข้า และออกระบบเอสบีอาร์



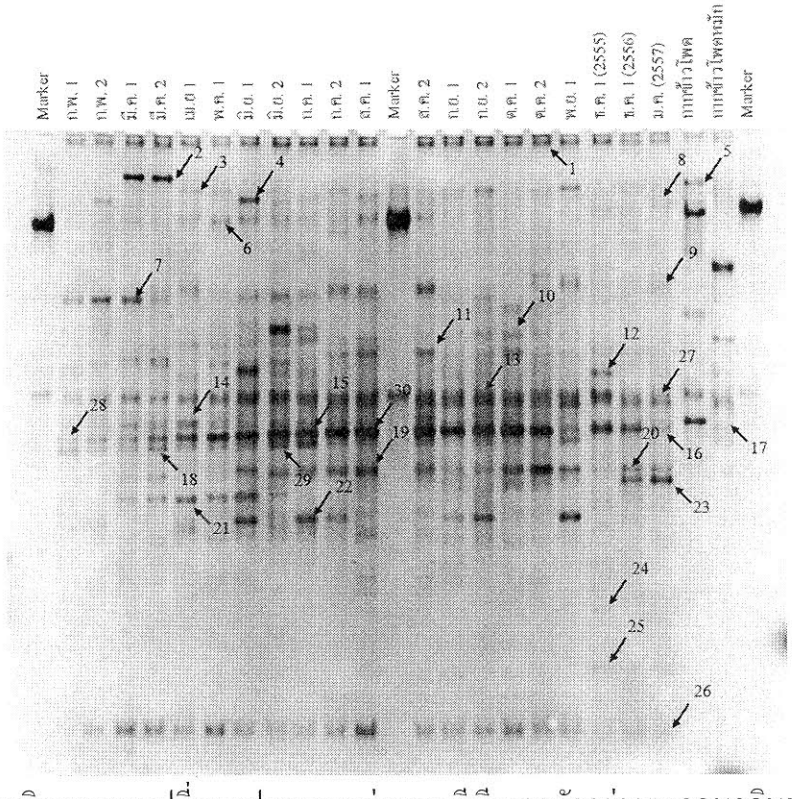
ภาพ 22 ปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำเสียเข้า และออกระบบเอสบีอาร์

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านชีวภาพของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์

จากการนำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์มาทำการศึกษาความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE ซึ่งเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ความหลากหลายของแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงความเข้ม และจำนวนของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏขึ้นบนเจล ซึ่งจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละเดือนมีความหลากหลายตั้งแต่ 9 - 15 แถบ โดยมีแถบดีเอ็นเอบางแถบปรากฏตลอดช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (common band) ได้แก่ แถบดีเอ็นเอหมายเลข 1, 13, 15, 16, 27 และ 30 เป็นต้น ดีเอ็นเอบางแถบปรากฏขึ้นเพียงแค่บางเดือน เช่น แถบดีเอ็นเอหมายเลข 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 เป็นต้น ดังแสดงในภาพ 23 ซึ่งสันนิษฐานว่า แถบดีเอ็นเอที่พบได้ในระบบบำบัดน้ำเสียตลอดทั้งปีเป็นจุลินทรีย์ชนิดเด่นที่มีความสำคัญในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ หรือกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสีย ซึ่งคล้ายคลึงกับการคัดเลือกจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่จะทำการคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นเพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสารปนเปื้อน (Cappello et al., 2007; Peng et al., 2013) อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เกิดจากการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลา หรือฤดูกาล (Moura et al 2009) คุณลักษณะของน้ำเสียเข้าระบบ และปริมาณน้ำเสีย เข้าระบบ (Wilen et al., 2010 cited by Fredriksson, 2013; Briones, and Raskiny, 2003 cited by Wang et al 2014; Yu et al., 2001)

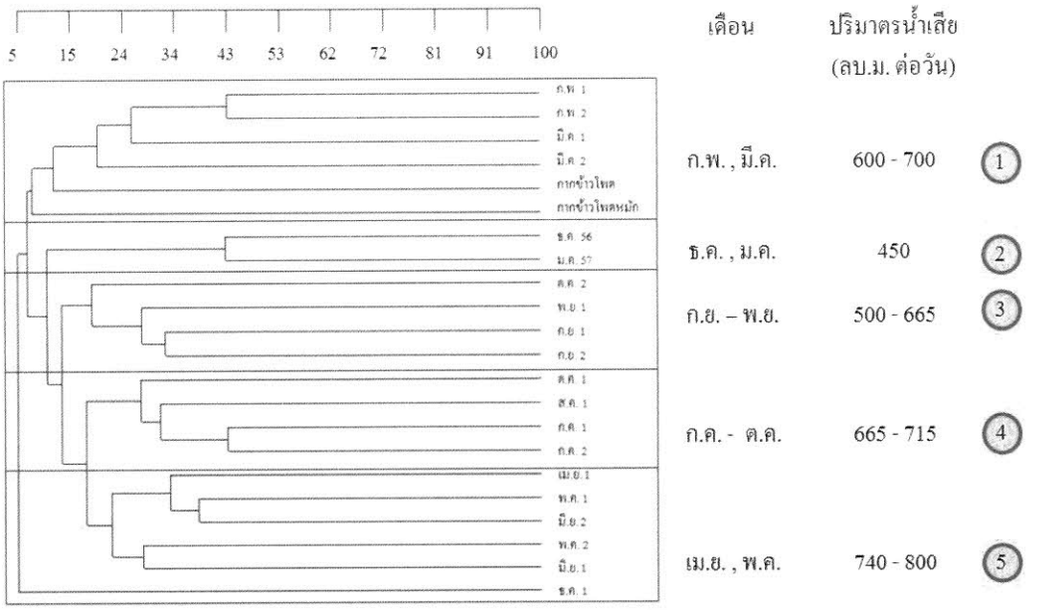
ผลการวิเคราะห์ความคล้ายคลึงของกลุ่มประชากรแบคทีเรียด้วยการเปรียบเทียบตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอ พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันตั้งแต่ 0.07 – 0.43 (ภาพ 24) และจากแผนภาพความคล้ายคลึงกันของประชากรแบคทีเรีย พบว่า โครงสร้างของกลุ่มแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพดมีความคล้ายคลึงต่ำ โดยปัจจัยที่มีผลต่อความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาตรน้ำเสียเข้าระบบ คุณลักษณะน้ำเสีย และอาจเกิดจากปัญหาการควบคุมระบบ อย่างไรก็ตามจากแผนภาพสามารถแบ่งกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ออกได้เป็น 5 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือตัวอย่างในเดือน กุมภาพันธ์ และเดือนมีนาคม กลุ่มที่ 2 คือ ตัวอย่างในเดือนธันวาคม และเดือนมกราคม กลุ่มที่ 3 เป็นตัวอย่างที่เก็บในเดือนกันยายน ตุลาคม และ พฤศจิกายน กลุ่มที่ 4 ตัวอย่างในเดือนสิงหาคม กรกฎาคม และตุลาคม กลุ่มที่ 5 เป็นตัวอย่างในเดือนเมษายน และเดือนพฤษภาคม ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลข้างต้น พบว่า ปริมาตรน้ำเสียเข้าระบบ และอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ โดยพบว่า ตัวอย่างในกลุ่มที่ 1, 4 และ 5 เป็นกลุ่มตัวอย่างที่มีน้ำเสียเข้าระบบสูงตั้งแต่ 600 – 800 ลบ.ม. ต่อวัน ถัดมาคือตัวอย่างกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่อยู่ในช่วงที่ระบบมีปริมาณน้ำ

เสียเข้าระบบในระดับปานกลาง คือ ในช่วง 500 – 665 ลบ.ม. ต่อวัน และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีปริมาณน้ำเสียเข้าระบบต่ำสุด 450 ลบ.ม. ต่อ วัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียมีสาเหตุหลักมาจากปริมาณน้ำเสียเข้าระบบ และอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะ (2008) ที่ได้ทดสอบผลของปริมาณสารอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรีย และการรวมกลุ่มของตะกอนจุลินทรีย์ โดยทดสอบความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ต่างกัน (500, 1000, และ 1500 มก. ซีโอดี ต่อลิตร) ในระบบเอสบีอาร์ระดับห้องปฏิบัติการ และติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารอินทรีย์สูงสุด 1500 มก. ซีโอดี ต่อลิตร ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของตะกอนจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่สุด และใช้เวลาน้อยสุด อีกทั้งยังพบว่า ปริมาณสารอินทรีย์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบประชากรจุลินทรีย์เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Jang และคณะ (2013) ที่พบว่าปริมาณสารอินทรีย์ที่สูงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรีย และส่งผลต่อความหลากหลายของแบคทีเรียที่ลดลง



ภาพ 23 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียจากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรด้วยเทคนิค PCR - DGGE ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 และเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือน มกราคม พ.ศ. 2557

หมายเหตุ: Marker คือ ดีเอ็นเอเครื่องหมาย (*Bacteroides vulgatus, Clostridium amylolyticom, Salmonella enteritidis, Vibrio parahaemolyticus,* และ *Escherichia coli*)\



ภาพ 24 UPGMA dendrogram ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรด้วยเทคนิค PCR-DGGE ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 และเดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2557

ผลการคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่สนใจจากการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE สามารถคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่สนใจจำนวน 30 ตัวอย่าง และนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งผลการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเทียบกับฐานข้อมูลพันธุกรรม NCBI เพื่อตรวจสอบความใกล้เคียงของชนิดพันธุ์จุลินทรีย์ดังแสดงในตาราง 15 พบว่าแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม Proteobacteria Bacteroidetes และ Firmicutes ตามลำดับ โดยกลุ่มแบคทีเรียข้างต้นสามารถพบได้ทั่วไปในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ (Moura et al., 2009; Hesham et al., 2011; Wagner et al., 2002)

จากข้อมูลการเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทำให้สามารถเปรียบเทียบข้อมูลพันธุกรรมของแบคทีเรีย และทราบถึงความใกล้เคียงของชนิดพันธุ์แบคทีเรีย นอกจากนี้ผลการศึกษาจะถูกนำไปใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป โดยจะเลือกจากแถบดีเอ็นเอเด่นที่ปรากฏตลอดทั้งปี เนื่องจากเป็นแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรียชนิดเด่นที่จะสามารถปรับตัวให้เข้ากับการเปลี่ยนแปลงของระบบบำบัด และมีคุณสมบัติในการกำจัดสารอินทรีย์ และรักษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย (Wagner et al., 2002 cited by Wegrzyn and Zabczynski, 2014) นอกจากนี้ในการคัดเลือกแบคทีเรียจะต้องคำนึงถึงสภาวะในการเจริญ และความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์

ของแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียที่ถูกคัดเลือกควรจะเจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศ และมีความสามารถในการย่อยสลายสารละลายที่เป็นโพลิแซคคาร์ไรด์ และสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบมากในน้ำเสียที่มาจากข้าวโพด จากสมมติฐาน และเกณฑ์การคัดเลือกแบคทีเรียข้างต้น ผู้วิจัยจึงสามารถคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Sphingomonas* sp. (Band No. 1), *Flavobacterium* sp. (Band No. 6), *Acidovorax* sp. (Band No. 13), *Pseudomonas butanovora* (Band No. 19) และ *Thauera butanivprans* (Band No. 20) เป็นต้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการสืบค้นข้อมูลชนิดของเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งสะสมสายพันธุ์จุลินทรีย์ โดยผลการคัดเลือกชนิดพันธุ์ และคุณสมบัติของแบคทีเรียที่สนใจในการกำจัดสารอินทรีย์หรือสารปนเปื้อนในน้ำเสียแสดงในตาราง 16

ตาราง 15 ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (BLAST) ของลำดับเบสยีนส่วน 16S rRNA ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สนใจจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE กับดีเอ็นเอจากฐานข้อมูล NCBI

Band No.	Affiliation	GenBank Accession no.	Similarity
1	*Sphingomonas* sp. ME1	FJ377394.1	91
2	Acidobacteria bacterium LX219	KC921167.1	98
3	*Pseudomonas stutzeri*	HF675135.1	98
4	*Prevotellaceae* bacterium WR041	AB298732.2	97
5	*Weissella confusa* strain A3	KJ476186.1	99
6	*Flavobacterium* sp. BF86	AM934679.1	85
7	*Flexibacter elegans* NBRC 15055	NR_113723.1	83
8	*Flavobacterium* sp. BF86	AM934679.1	85
9	*Chitinophaga jiangningensis*	KJ018983.1	91
10	Flavobacteriales bacterium	HQ893826.1	96
11	*Niabella* sp.	AB850943.1	85
12	*Zoogloea* sp.	JN585324.1	98
13	*Acidovorax* sp.	EU177783.1	95
14	*Thermovum composti*	HF952772.1	86
15	ND	-	-

ตาราง 15 (ต่อ)

Band No.	Affiliation	GenBank Accession no.	Similarity
16	Sphingobacteriaceae bacterium	EU370954.1	87
17	ND	-	-
18	*Rhodocyclus* sp.	GU397939.1	90
19	*Pseudomonas butanovora* CIP 107886	EU024130.1	88
20	*Thauera butanivorans* NBRC 103042	NR040797.1	88
21	*Rhodobacter* sp.	KF309178.1	100
22	*Azonexus caeni*	NR041017.1	100
23	*Thiobacillus* sp.	AB210275.1	96
24	Arsenic-oxidizing bacterium	KC527609.1	79
25	*Nitrospira moscoviensis*	AF155153.1	97
26	*Plasticicumulans lactativorans*	JN565849.1	89
27	Soil bacterium Chlo-S1T M1LLLSSL-1	EU515373.1	87
28	*Lysobacter dokdonensis*	NR115948.1	78
29	*Zoogloea oryzae*	NR114069.1	99
30	*Flavobacterium* sp.	KF951045.1	88

หมายเหตุ: ND ไม่สามารถเทียบกับดีเอ็นเอจากฐานข้อมูล NCBI

ตาราง 16 ผลการคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจ และคุณสมบัติการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสีย

Band No.	**แบคทีเรีย**	**ความสามารถในการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสีย**	**แหล่งที่มา**
1	*Sphingomonas terrae*	Nonylphenol	Corvini et al., 2007
		Diethyl phthalate	Fang et al., 2007
6	*Flavobacterium granuli*	คาร์บอนอินทรีย์ (กลูโคส)	Aslam et al., 2005
13	*Acidovorax soli*	คาร์บอนอินทรีย์	Choi et al., 2010
		และไนโตรเจน	Heylen et al., 2008
19	*Pseudomonas* sp.	คาร์บอนอินทรีย์	
		ไนโตรเจน	
		ซัลเฟอร์	Guo et al., 2014
20	*Thauera butanivorans*	n-butane	
		คาร์บอนอินทรีย์	Dubbels et al., 2009

ผลการเพาะเลี้ยง ศึกษาการเจริญ จลนพลศาสตร์ และการวัดกิจกรรมเอนไซม์ของแบคทีเรีย

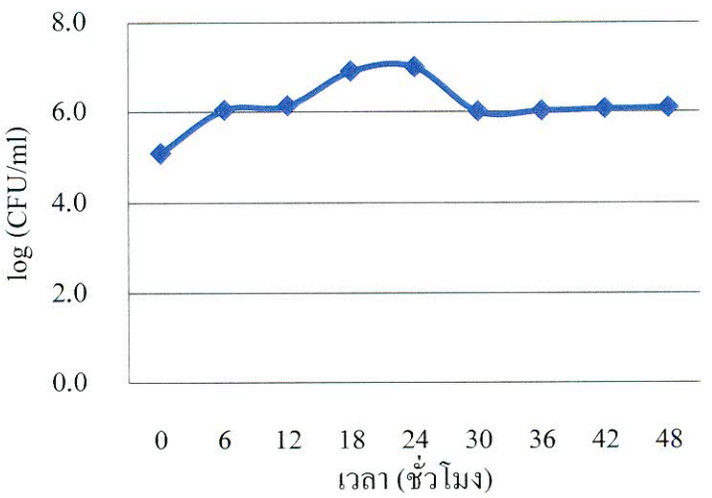
ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และการเจริญของแบคทีเรียที่สนใจ

จากการคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจได้แบคทีเรียทั้งหมด 5 สายพันธุ์ โดยทางผู้วิจัยได้นำมาทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นด้วยการสังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และย้อมสีแบบแกรม โดยผลการศึกษาแสดงในตาราง 17 ซึ่งแบคทีเรียทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน และไม่สร้างสปอร์ การเรียงตัวเป็นแบบเซลล์เดี่ยว

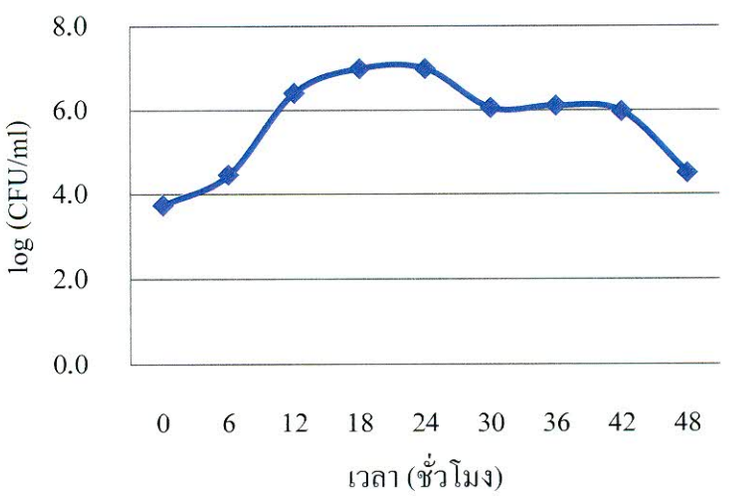
ตาราง 17 ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง และลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์
Sphingomonas terrae	สีเหลือง-ส้ม ขอบเรียบ รูปร่างกลม ไม่มันวาว เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 มม.	ติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น
Flavobacterium granuli	สีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างกลม ไม่มันวาว เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 มม.	ติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น
Pseudomonas sp.	สีขาว ขอบเรียบ โคโลนีคล้ายรูปตา ผิวหน้าเยิ้ม เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 มม.	ติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น
Acidovorax soli	สีขาวครีม ขอบเรียบ รูปร่างกลม ไม่มันวาว เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0 มม.	ติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น
Thauera butanivorans	สีขาวขุ่น ขอบเรียบ รูปร่างกลม ไม่มันวาว เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.0 มม.	ติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น

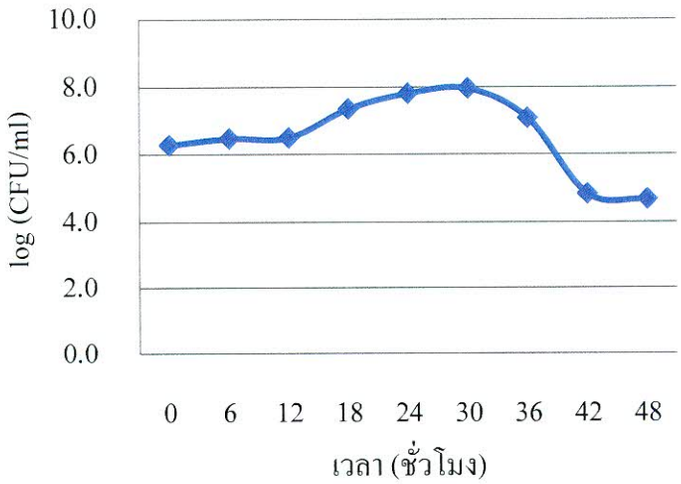
จากภาพ 25 - 29 แสดงถึงการเจริญของแบคทีเรียที่สนใจในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และจากการนับจำนวนเซลล์ด้วยวิธี plate count agar เพื่อดูแนวโน้มการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด พบว่า ช่วง log phase ของแบคทีเรียที่สั้นที่สุด ได้แก่ *Pseudomonas* sp. (12 ชั่วโมง) *Flavobacterium granuli* (12 ชั่วโมง) *Acidovorax soli* (18 ชั่วโมง) *Thauera butanivorans* (18 ชั่วโมง) และ *Shingomonas terrae* (18 ชั่วโมง) ซึ่งข้อมูลการเจริญของแบคทีเรียในช่วง log phase นี้จะนำไปใช้ในการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นเพื่อให้มีปริมาณของเซลล์เริ่มต้นที่เท่ากันในขั้นตอนของการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ และน้ำเสียจริง



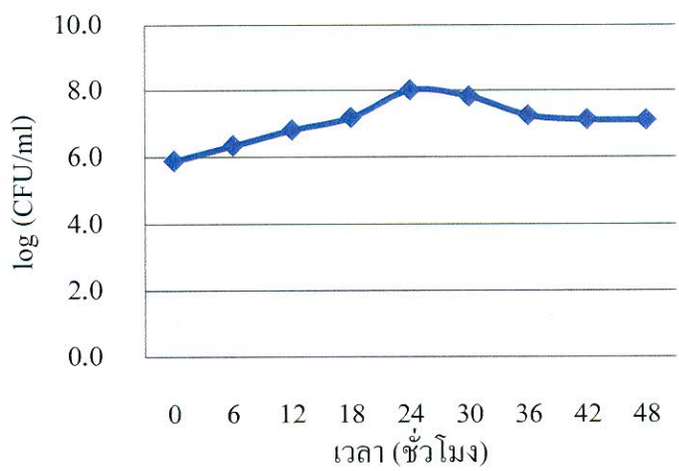
ภาพ 25 การเจริญของแบคทีเรีย *Shingomonas terrae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB



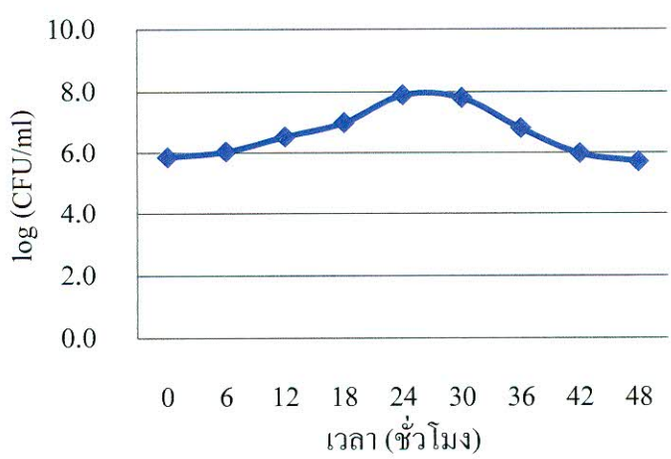
ภาพ 26 การเจริญของแบคทีเรีย *Flavobacterium granuli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ R2A broth



ภาพ 27 การเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB



ภาพ 28 การเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax soli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB

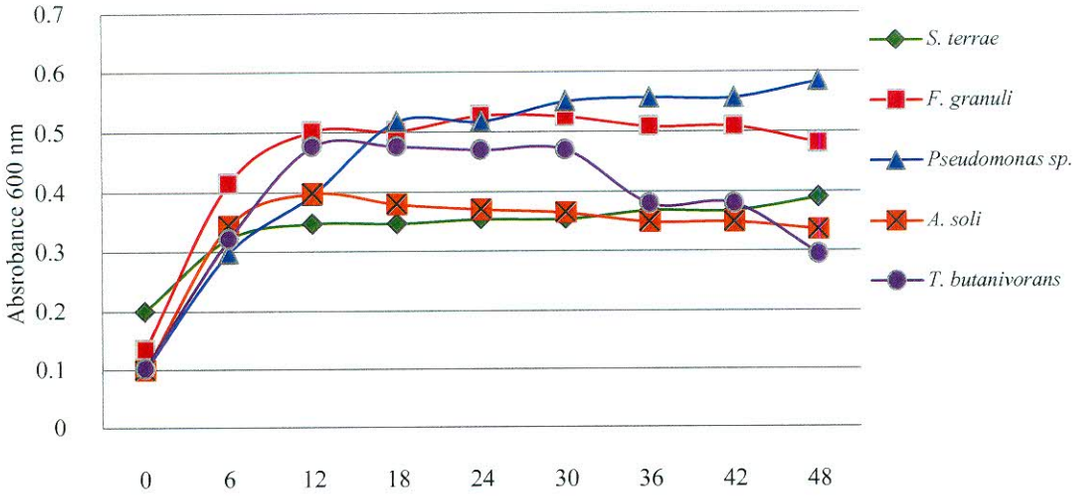


ภาพ 29 การเจริญของแบคทีเรีย *Thauera butanivorans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB

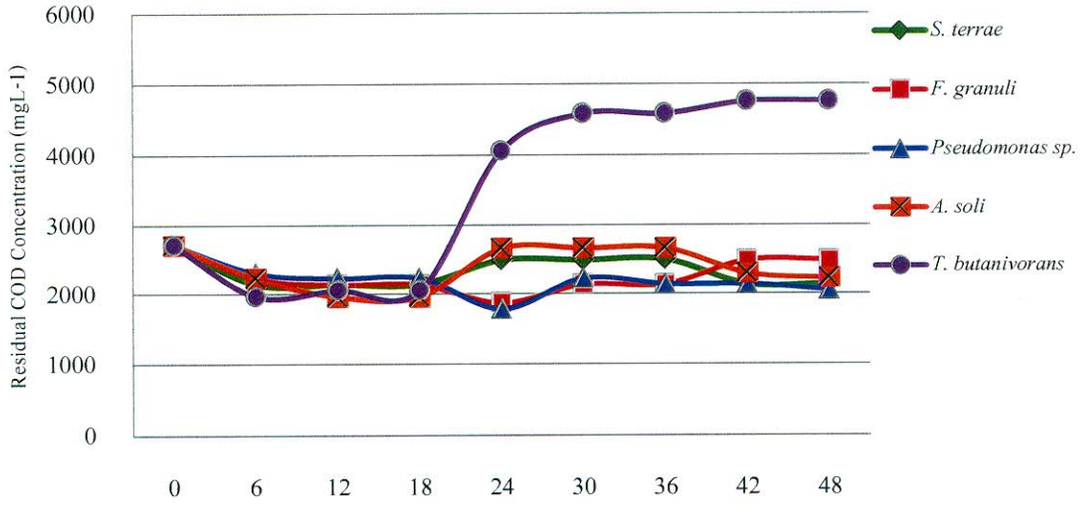
ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียที่สนใจ

จากการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียที่สนใจ ด้วยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชนิดเดี่ยวในน้ำเสียสังเคราะห์ (น้ำแป้งข้าวโพด) เพื่อศึกษาอัตราการเจริญโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร วัดน้ำหนักเซลล์ และวัดอัตราการใช้สารอินทรีย์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ค่าซีโอดี ของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด พบว่า การเจริญของแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในช่วง 6 -18 ชั่วโมง จากนั้นการเจริญเริ่มคงที่ ดังแสดงในภาพ 30 ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการใช้สารอินทรีย์ (ซีโอดีเริ่มต้น 2,700 มก. ต่อ ลิตร) อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดสามารถใช้สารอินทรีย์ได้ค่อนข้างดีในชั่วโมงที่ 6 – 24 ซึ่งแบคทีเรียที่ลดค่าซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ได้มากที่สุด คือ *Pseudomonas* sp., *F.granuli*, *A. soli*, *T. butanivorans*, และ *S.terrae* ตามลำดับ โดยมีค่าซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียเท่ากับ 1,790 1,878 1,965 1,965 และ 2,140 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 31) อย่างไรก็ตาม ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไปพบว่า ค่าซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนรูป หรือสะสมสารอินทรีย์ได้เพียงร้อยละ 15 ในเวลา 24 ชั่วโมง (Eliosov and Argaman, 1995 cited by Morgenroth et al., 2002) อีกทั้งแบคทีเรียยังมีการย่อยสลายสับสเตรท และมีการปลดปล่อยผลิตภัณฑ์ หรืออนุภาคสารระหว่างช่วงที่มีอัตราการตาย หรือที่เรียกว่า Death phase (Morgenroth et al., 2002)

จากตาราง 18 แสดงถึงค่าอัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรีย 5 ชนิด ซึ่งจะเห็นได้ว่า แบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ได้แก่ *T. butanivorans, F. granuli, Pseudomonas* sp., *S.terrae*, และ *A. soli* ตามลำดับ โดยค่าอัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียที่สนใจมีค่าเท่ากับ 0.0038, 0.0033, 0.0022, 0.0019 และ 0.0012 ตามลำดับ ซึ่งอัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด มีค่าต่ำกว่าอัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศที่มีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.5 ต่อวัน หรือ 0.02 ต่อชั่วโมง (Bitton, 2005) ส่วนแบคทีเรียที่มีอัตราการใช้สับสเตรทสูงสุด คือ *T. butanivorans* (q_{max}= 0.0164 gCOD/ (d-gVSS)) ถัดมาคือ *F.granuli*, *Pseudomonas* sp., *S.terrae* และ *A. soli* ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุด ได้แก่ *Pseudomonas* sp., *F.granuli*, *A. soli*, *T. butanivorans*, และ *S.terrae* โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเท่ากับร้อยละ 33.9, 30.6, 27.4, 27.4, และ 21.0 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hesnawi และคณะ (2014) ที่พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas putida* และ *Pseudomonas aeroginosa* ในการบำบัดน้ำเสียให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์เท่ากับร้อยละ 25.88 และ 42.57 ตามลำดับ



ภาพ 30 การเจริญของแบคทีเรียที่สนใจในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร



ภาพ 31 ค่าซีโอดีคงเหลือจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่สนใจในน้ำเสียสังเคราะห์

ตาราง 18 อัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการใช้สับสเตรทสูงสุด และร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุด ของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ที่ทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์

Parameter	*S. terrae*	*F. granuli*	*Pseudomonas* sp.	*A. soli*	*T. butanivorans*
μ_{max} (h^{-1})	0.0019	0.0033	0.0022	0.0012	0.0038
q_{max} (gCOD/(d-gVSS))	0.0008	0.0050	0.0047	0.0004	0.0164
r_{max} (%)	21.0	30.6	33.9	27.4	27.4

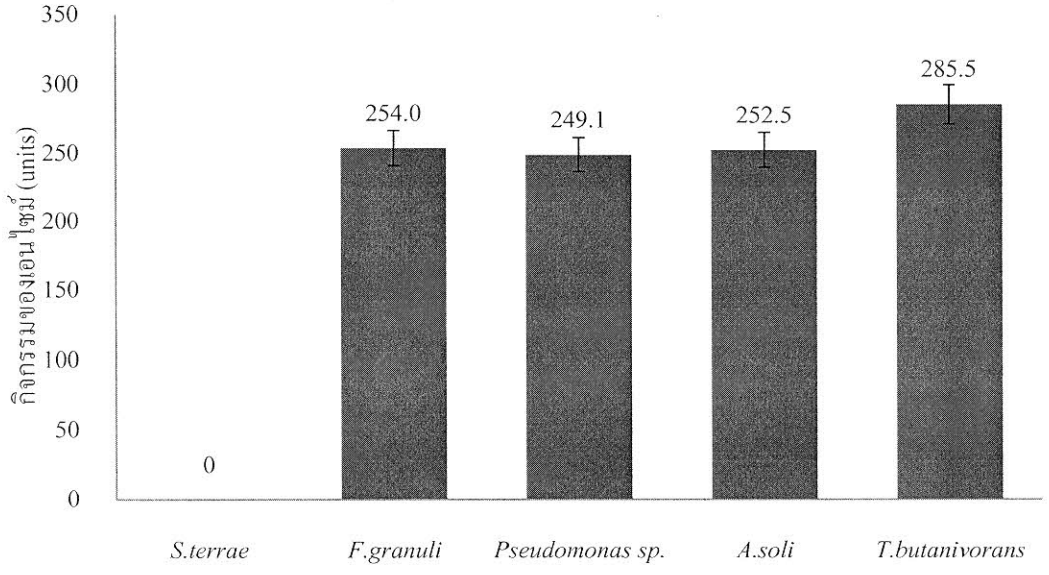
ผลการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเอสจากแบคทีเรียที่สนใจ

กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสของแบคทีเรียชนิดเด่นที่สนใจทั้ง 5 ชนิด แสดงดังภาพ 32 โดยแบคทีเรียที่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสสูงสุด คือ *T. butanivorans*, *F. granuli*, *A. soli*, และ *Pseudomonas* sp. โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 285.0, 254.0, 252.0, 249.0 ไมโครโมล ต่อนาที ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า *S. terrae* ไม่มีการสร้างกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เนื่องจากไม่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนในรูปของโพลีแซคคาร์ไรด์ได้ โดย *S. terrae* จะใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และไม่สามารถย่อยแป้งได้จึงจะออกซิไดซ์แหล่งคาร์บอนชนิดอื่น เช่น Maltose Manose Manitol และ Ribose เป็นต้น (Garrity, 2001) อย่างไรก็ตามในกระบวนการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพดน้ำเสียจะผ่านระบบบำบัดแบบไร้อากาศทำให้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้ง (starch-hydrolyzing organism) ทำหน้าที่ย่อยแป้งให้มีโมเลกุลที่เล็กลงซึ่งอยู่ในรูปของ malto - oligosaccharide มอลโทส และกลูโคส ตามลำดับ (Karahan et al., 2006 cited by Xia et al., 2008) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แบคทีเรีย *S. terrae* ที่สามารถใช้มอลโทส (Garrity, 2005) เจริญได้ในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของแป้งสูง

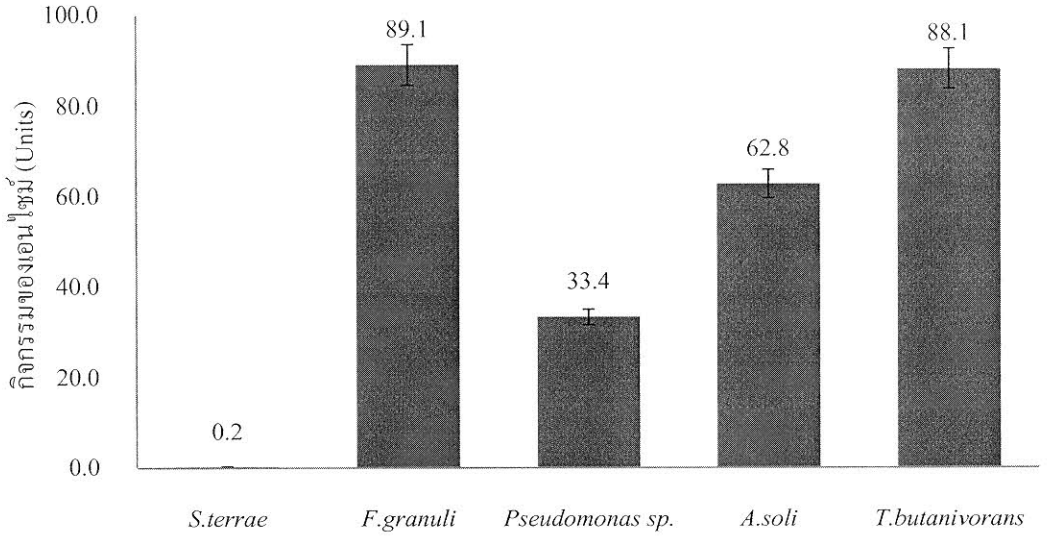
จากภาพ 33 แสดงถึงกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งแบคทีเรียที่มีกิจกรรมเอนไซม์สูงสุด คือ *F. granuli*, *T. butanivorans*, *A. soli*, *Pseudomonas* sp. และ *S. terrae* โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส เท่ากับ 89.10, 88.12, 62.85, 33.37 และ 0.23 ไมโครโมล ต่อนาที ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า *S.terrae* มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสน้อยที่สุด เนื่องจาก *S.terrae* เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีองค์ประกอบของเคซีน และถั่วเหลืองที่ถูกย่อยแล้วเป็นแหล่งโปรตีน จึงสามารถนำกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม เพราะ *S.terrae*

สามารถใช้กรดอะมิโนได้หลายชนิด เช่น L (-) malate, D (-) tartrate, d-(Alanine) และ succinate (Garrity, 2005)

จากผลการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเอส ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด พบว่ามีความสอดคล้องกับผลอัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการใช้สับสเตรท และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี โดยแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด คือ *T. butanivorans* และ *F. granuli* ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเอสสูงกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น จึงจะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์มีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะ เนื่องจากแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ เช่น โพลิแซคคาไรด์ และโปรตีน เป็นต้น และนำสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลเล็กลงไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (Morgenroth et al., 2002) นอกจากนี้การผลิตเอนไซม์ยังสัมพันธ์กับอัตราการใช้สับสเตรท และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี เนื่องจากเอนไซม์ที่แบคทีเรียผลิตออกมาภายนอกเซลล์มีหน้าที่ในการย่อย หรือเปลี่ยนรูปของสารชีวโมเลกุลให้มีขนาดเล็กลงเพื่อให้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมได้ (Fujita and Ike, 1994)



ภาพ 32 กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่สนใจ 5 ชนิด



ภาพ 33 กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่สนใจ 5 ชนิด

ผลการทดสอบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียสังเคราะห์

จากภาพ 34 แสดงสัดส่วนของแบคทีเรียซึ่งได้จากการออกแบบการทดลองแบบ fractional factorial design โดยใช้โปรแกรม MINI TAB สำหรับสัดส่วนสูง – ต่ำ ของแบคทีเรียได้มาจากความเข้มของแถบดีเอ็นเอซึ่งวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE ทั้งนี้จากจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 5 ชนิด เมื่อนำมาออกแบบการทดลองจะได้การทดลองทั้งหมด 19 ชุดการทดลอง โดยจะนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีค่าซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 1,500 ± 24 มก. ต่อลิตร โดยจะใช้เวลาในการทดสอบ 48 ชั่วโมง ตามอัตราการเจริญสูงสุดของแบคทีเรียที่ได้ศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ จากผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีมีค่าที่แปรผันตลอดช่วงเวลาของการทดลอง โดยค่าซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียแต่ละชุดการทดลองแสดงดังภาพ 35 เนื่องจากใช้เวลาในการทดสอบสั้น ดังนั้นในการทดสอบกลุ่มแบคทีเรียอาจเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อทำให้มีผลต่ออัตราการเจริญที่มีการเปลี่ยนแปลงได้

จากการวิเคราะห์ถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียในแต่ละชุดการทดลองด้วยโปรแกรม MINI TAB (ตาราง 19 และ 20) พบว่า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มแบคทีเรียที่ให้ผลเชิงบวกหรือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีในช่วง 6 ชั่วโมงแรก ได้แก่ *S. terrae, F. granuli* และ *T. butanivorans* โดยชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียข้างต้นในอัตราส่วนที่สูง และสามารถให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสูงสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 2 และ 6 ซึ่งมีประสิทธิภาพการ

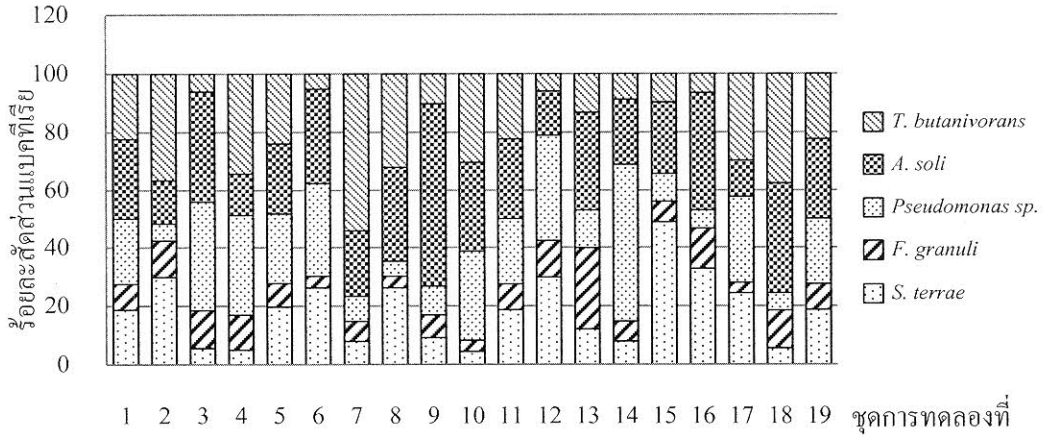
กำจัดซีโอดีร้อยละ 50 และ 25 ตามลำดับ เช่นเดียวกับชั่วโมงที่ 12 ที่พบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่มีปฏิสัมพันธ์เชิงบวก หรือมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ *S. terrae, F. granuli*, *Pseudomonas* sp. และ *T. butanivorans* โดยชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของแบคทีเรียข้างต้นสูง และให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดซีโอดี ช่วงชั่วโมงที่ 12 ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6, 10, 17 และ 18 โดยให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับร้อยละ 83 อย่างไรก็ตามพบว่า ในชุดการทดลองที่มีสัดส่วนสูงสุดของแบคทีเรีย *S. terrae* และ *T. butanivorans* จะให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ที่พบว่า หากมีสัดส่วนของแบคทีเรียทั้งสองสูงจะทำให้มีผลเชิงลบต่อการบำบัด (effect = -16.11)

ผลการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ของกลุ่มแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 18 พบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ได้แก่ *S. terrae, Pseudomonas* sp. และ *A. soli* ซึ่งชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของแบคทีเรียข้างต้นสูง และให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6 และ 7 โดยให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับร้อยละ 83 ส่วนผลการทดลองเมื่อช่วงเวลาการทดสอบผ่านไป 24 ชั่วโมง พบว่ามีการเกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างแบคทีเรียสองชนิด คือ *A. soli* กับ *T. butanivorans*, และ *Pseudomonas* sp. กับ *A. soli* ซึ่งชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของแบคทีเรียสูง และให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงสุดถึงร้อยละ 94 ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 10 และชุดการทดลองที่ 18

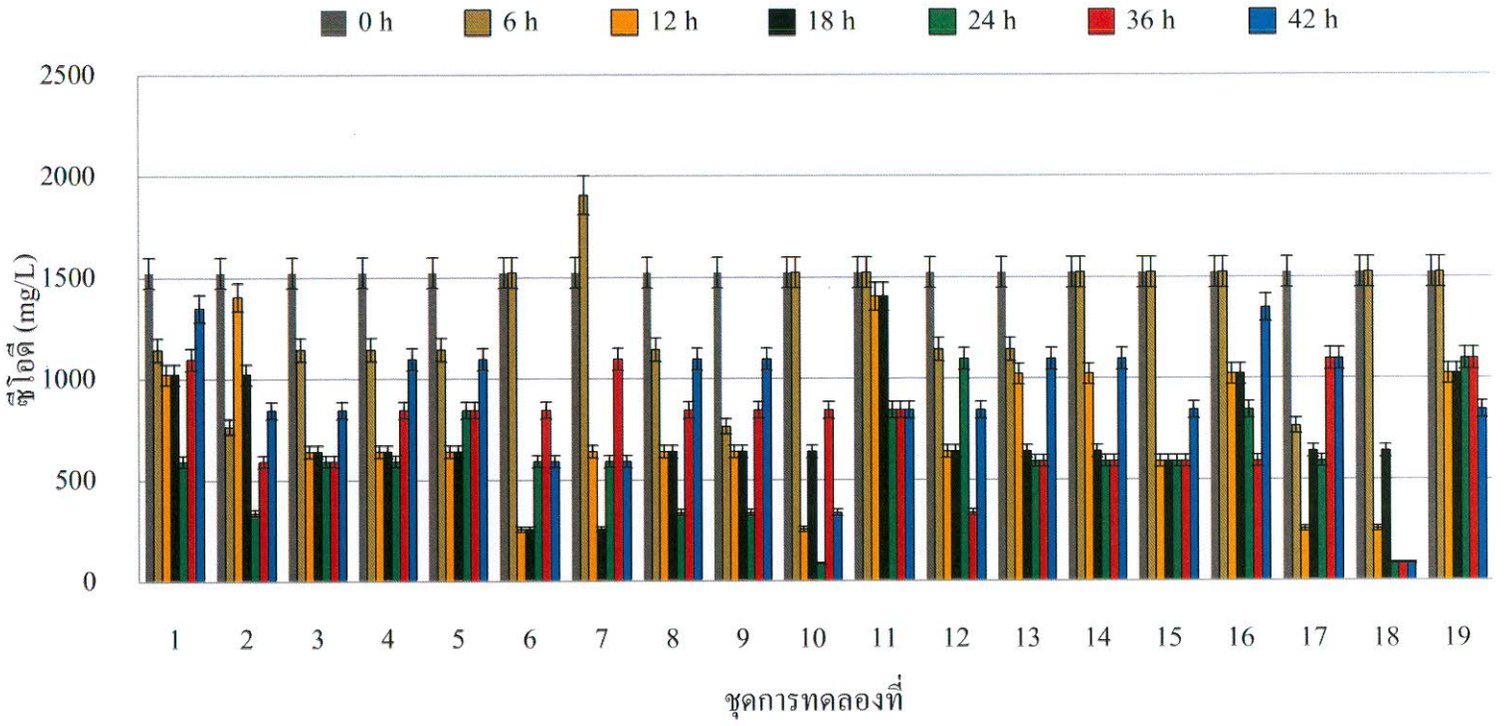
อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป36 ชั่วโมง ยังคงพบปฏิสัมพันธ์เชิงบวกของแบคทีเรีย *A. soli* กับ *T. butanivorans* โดยชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดในช่วงเวลาดังกล่าว ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 12 และ 18 โดยมีร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเท่ากับ 78 และ 94 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงสัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในแต่ละชุดการทดลองข้างต้น พบว่า ชุดการทดลองที่ 18 มีสัดส่วนของแบคทีเรีย *A. soli* และ *T. butanivorans* สูง ซึ่งสอดคล้องกับปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรียทั้งสองชนิดที่ให้ผลเชิงบวก (effect = 14.50) อีกทั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดยังคงมีผลเชิงบวก และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในชั่วโมงที่ 48 (effect = 8.29) ซึ่งชุดการทดลองที่ยังคงรักษาประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดได้แก่ ชุดการทดลองที่ 10 และชุดการทดลองที่ 18 (ร้อยละ 87 และ 94 ตามลำดับ)

จากการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ของกลุ่มแบคทีเรีย และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี (ภาพ 36) ในเบื้องต้นสามารถคัดเลือกชุดการทดลองได้ 5 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6, 7, 10, 12 และ 18 ซึ่งแต่ละชุดการทดลองมีสัดส่วนของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดในปริมาณสูง ได้แก่ ชุดที่มี *S. terrae* สูง (ชุดการทดลองที่ 6 และ 12) ชุดที่มี *Pseudomonas* sp. สูง (ชุดการทดลองที่ 6, 10 และ 12), ชุดที่มี *A. soli* สูง (ชุดการทดลองที่ 6, 10 และ 18) และชุดที่มี

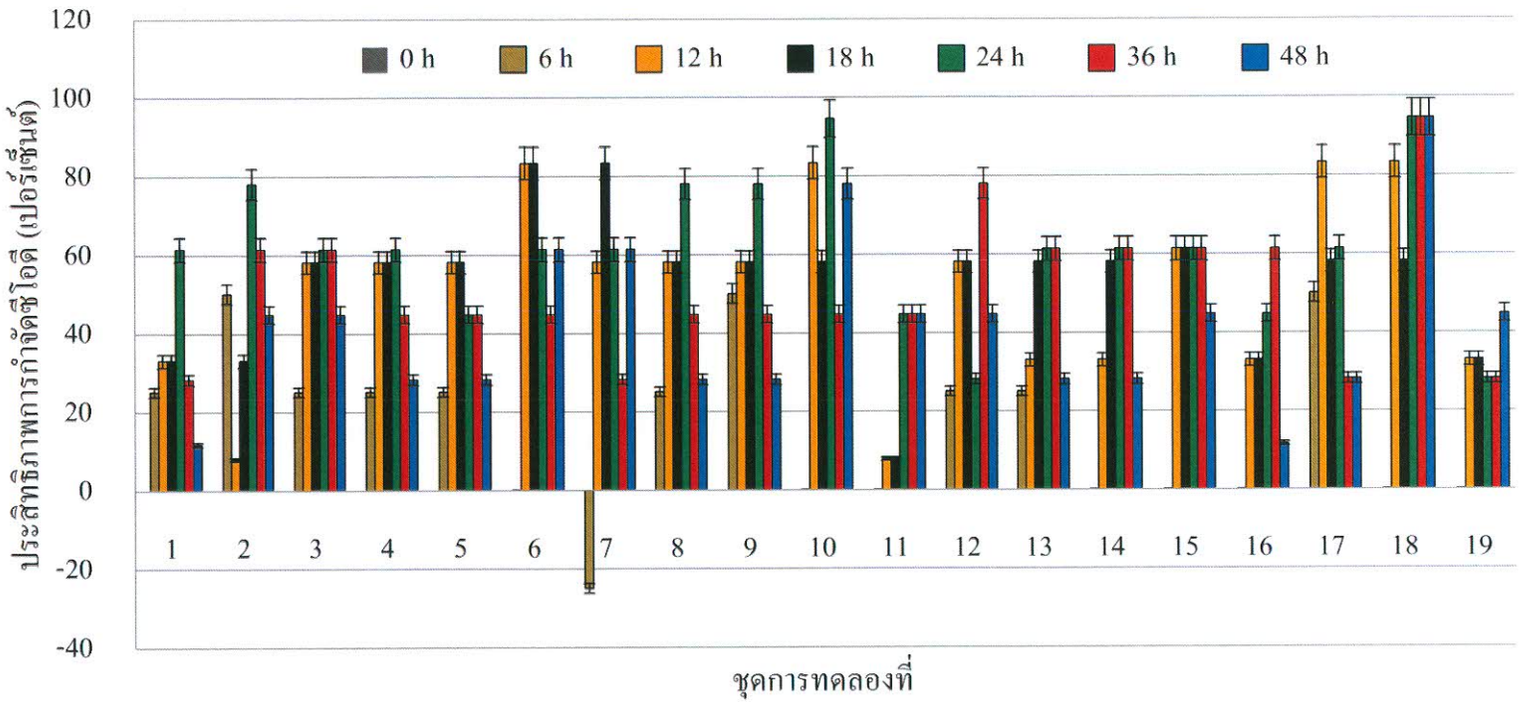
T. butanivorans สูง (ชุดการทดลองที่ 7, 10 และ 18) โดยทั้ง 5 ชุดการทดลองนี้ถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรและคัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป



ภาพ 34 ร้อยละสัดส่วนของแบคทีเรีย 5 ชนิด ในการทดลองทั้งหมด 19 ชุดการทดลอง



ภาพ 35 ค่าซีโอดีของ 19 ชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของแบคทีเรียแตกต่างกัน ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 48



ภาพ 36 ร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของ 19 ชุดการทดลองที่มีสัดส่วนของแบคทีเรียแตกต่างกัน ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 – 48

ตาราง 19 ปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรียชนิดเดี่ยวที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ทั้งหมด 19 ชุดการทดลอง ทุก 6 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 - 48

แบคทีเรีย	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	6	12	18	24	36	48
S. terrae	ND	+	-	-	-	-	-
F. granuli	ND	+	-	-	-	-	-
Pseudomonas sp.	ND	+	+	+	-	-	-
A. soli	ND	-	+	-	+	+	+
T. butanivorans	ND	+	+	-	+	-	+

หมายเหตุ: (+) บวก หมายถึง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี

(-) ลบ หมายถึง ลดประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี

ND (No data) คือ ไม่มีข้อมูลเนื่องจากในชั่วโมงที่ 0 ยังไม่มีประสิทธิภาพในการบำบัด

ตาราง 20 ปฏิสัมพันธ์ของกลุ่มแบคทีเรีย 5 ชนิด ในการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ทั้งหมด 19 ชุดการทดลอง ทุก 6 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 - 48

ปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรีย	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	6	12	18	24	36	48
S. terrae * *F. granuli*	ND	-	-	-	-	-	-
S. terrae * *Pseudomonas* sp.	ND	+	+	+	-	-	+
S. terrae * *A. soli*	ND	-	-	+	-	-	-
S. terrae * *T. butanivorans*	ND	+	-	-	+	-	-
F. granuli * *Pseudomonas* sp.	ND	+	+	+	-	-	+
F. granuli * *A. soli*	ND	-	+	+	-	+	+
F. granuli * *T. butanivorans*	ND	+	-	+	+	+	+
Pseudomonas sp. * A. soli	ND	-	-	+	+	-	+
Pseudomonas sp. * *T. butanivorans*	ND	+	+	-	-	-	-
A. soli * *T. butanivorans*	ND	-	+	+	+	+	+

หมายเหตุ: (+) บวก หมายถึง ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี

(-) ลบ หมายถึง ลดประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี

ND (No data) คือ ไม่มีข้อมูลเนื่องจากในชั่วโมงที่ 0 ยังไม่มีประสิทธิภาพในการบำบัด

ผลการทดสอบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

ผลการทดสอบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจริงที่ยังไม่ผ่านกระบวนการบำบัด น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับการเติมตะกอนจุลินทรีย์

จากการทดสอบสัดส่วนของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมในการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ก่อนหน้านี้สามารถคัดเลือกชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีได้ 5 ชุดการทดลอง ซึ่งได้ถูกนำมาทดสอบในน้ำเสียจริงซึ่งแบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ 1)การทดสอบกับน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านกระบวนการบำบัด หรือน้ำเสียที่ออกจากกระบวนการผลิต 2)น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ 3)น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับการเติมตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ เนื่องจากในการบำบัดน้ำเสียจริงของอุตสาหกรรมน้ำเสียต้องผ่านการบำบัดแบบแอนแอโรบิก จากนั้นจึงบำบัดต่อโดยวิธีใช้อากาศด้วยระบบเอสบีอาร์ อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ต้องการตรวจสอบสมมติฐานว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีการเติมตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์สามารถกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียเข้าระบบได้

จากผลการทดสอบในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด พบว่า ชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพการบำบัดได้สูงสุด คือ ชุดการทดลองที่ 6 และ 12 ซึ่งมีร้อยละการกำจัดซีโอดีสูงสุดเท่ากับ 66.7 ดังแสดงในภาพ 37 ส่วนการทดสอบการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่ผ่านระบบแอนแอโรบิกที่มีค่าซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 1,050 ± 2 มก. ต่อ ลิตร พบว่า ชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6, 12 และ 18 โดยมีร้อยละการกำจัดซีโอดีเท่ากับร้อยละ 67.0 หรือมีค่าซีโอดีลดลงต่ำสุดเท่ากับ 350 มก. ต่อ ลิตร ดังแสดงในภาพ 38 อย่างไรก็ตามพบว่าในการทดลองนี้มีความแปรผันของค่าซีโอดี เนื่องมาจากระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบสั้นจึงทำให้ค่าซีโอดีที่ได้จากการทดลองมีค่าไม่คงที่ ส่วนการทดสอบกับน้ำเสียที่ผ่านระบบแอนแอโรบิก ร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งมีค่าซีโอดีของน้ำเสียเท่ากับ 1050 ± 2 มก. ต่อลิตร พบว่าชุดการทดลองที่ 6, 12, 18 และชุดควบคุม ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดไม่แตกต่างกัน (ANOVA, P value > 0.05) โดยมีร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดของแต่ละชุดการทดลองเท่ากับร้อยละ 66.7 และเมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการบำบัด พบว่า ชุดการทดลองที่ 6 สามารถลดค่าซีโอดีเหลือ 670 มก. ต่อลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และค่าซีโอดีคงเหลือเท่ากับ 349.5 เมื่อเวลาผ่านไป 48

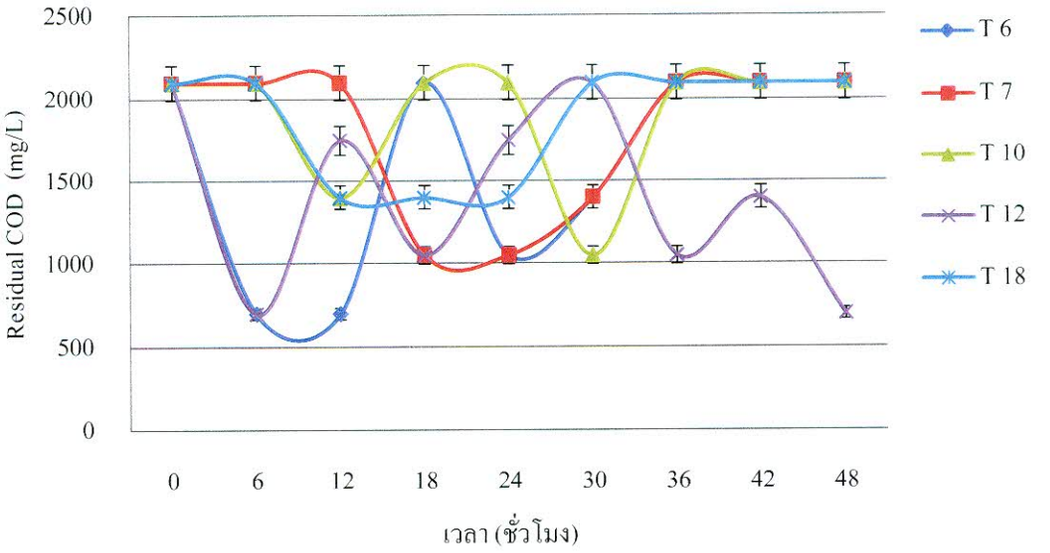
ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำเสียเหลือ 349.5 มก. ต่อ ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 30 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพ 39

จากการวิเคราะห์ถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียแต่ละชนิดพบว่า ในชุดการทดลองที่ 6 และ 12 มีสัดส่วนที่สูงของแบคทีเรีย *S. terrae* และ *Pseudomonas* sp. ทั้งยังพบว่ามีปฏิสัมพันธ์เชิงบวกที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี เนื่องจาก *Pseudomonas* sp. สามารถเจริญได้ดี และรวดเร็ว ทำให้สามารถสร้างเอ็นไซม์ออกมาเพื่อย่อยสารอินทรีย์ให้มีโมเลกุลเล็กลง หลังจากนั้น *S. terrae* ซึ่งมีอัตราการเจริญช้ากว่าจะสามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลเล็กได้และเจริญเติบโตได้ ชุดการทดลองที่ 18 ที่มีสัดส่วนของแบคทีเรีย *A. soli* และ *T. butanivorans* สูงพบว่าระบบใช้เวลาในการกำจัดซีโอดีที่ลดลง เนื่องจาก *A. soli* และ *T. butanivorans* มีอัตราการเจริญที่ช้ากว่า *Pseudomonas* sp. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fujita และ Ike (1994) ที่ได้ทำการศึกษาผลของระยะเวลาการกักเก็บตะกอนจุลินทรีย์ (SRT = 2, 5, 10, และ 15 วัน) ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรแบคทีเรียประจำถิ่น (Bacteria flora) ในระบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ โดยแบคทีเรียประจำถิ่นชนิดเด่นที่มักพบในระบบบำบัดน้ำเสีย ได้แก่ *Pseudomonas* sp., Flavobacterium และแบคทีเรียกลุ่ม Coryneform (Arthrobacter) ซึ่งจะทำการทดสอบกับน้ำเสียสังเคราะห์ระดับห้องปฏิบัติการผลการทดลองพบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถใช้สารอินทรีย์ได้โดยตรงจากน้ำเสียเข้าระบบ หรือเรียกว่าแบคทีเรียกลุ่ม Primary utilizers ซึ่งจะทำหน้าที่ในการย่อยสลาย หรือเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้มีขนาดเล็กลง โดยแบคทีเรียกลุ่ม Secondary utilizers จะนำสารเมแทบอไลต์ หรือผลิตภัณฑ์จากเซลล์ที่ตายของแบคทีเรียกลุ่มแรกมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่อไปซึ่งแบคทีเรีย Flavobacterium และแบคทีเรียในกลุ่ม Coryneform (Arthrobacter) จัดเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม Secondary utilizers นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียชนิดเดียวให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์เพียงร้อยละ 50 แต่ตะกอนจุลินทรีย์สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ได้มากว่าร้อยละ 90 ทั้งนี้เนื่องจากเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างชนิดแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ จากผลการทดลองในขั้นตอนนี้จึงสามารถคัดเลือกชุดการทดลองที่ 6 และ 12 เพื่อใช้ทดสอบกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในไบโอรีแอคเตอร์ระดับห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

ภาพ 40 แสดงถึงการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ของชุดการทดลองที่ 6 และ 12 ที่ช่วงเวลาเริ่มต้นการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง จากภาพจะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่ 6 และ 12 มีสัดส่วนสูงสุดของแบคทีเรีย *S. terrae* และ *Pseudomonas* sp. จึงมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอในช่วงเริ่มต้นการทดลองที่สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน และยังพบว่ามีแถบดีเอ็นเอตรงกับตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ แต่เมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง พบว่า ชุดการ

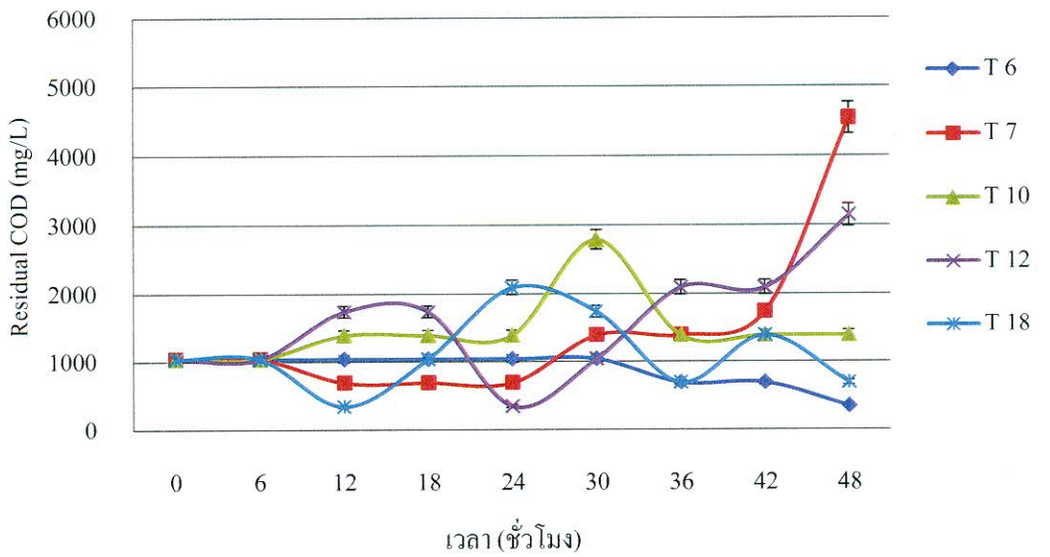
ทดลองที่ 6 ยังคงความเข้มของแถบดีเอ็นเอของ *S. terrae* ใกล้เคียงกับช่วงเริ่มต้นการทดลอง แต่ในชุดการทดลองที่ 12 กลับพบว่า มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอจางลง ส่วนการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. พบว่ามีแถบดีเอ็นเอตรงกับตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่มาจากระบบบำบัดน้ำเสียจริง และมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเล็กน้อย สำหรับชุดการทดลองที่ 6 พบว่า ความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับช่วงเริ่มต้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการทดสอบกับน้ำเสียผ่านระบบแอนแอโรบิก ร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอของเชื้อดังกล่าวที่จางลง ส่วนชุดการทดลองที่ 12 พบว่า ความเข้มของแถบดีเอ็นเอของการทดสอบกับน้ำเสียทั้ง 3 แบบ จางลงเมื่อครบ 48 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามในแต่ละชุดการทดลองจะเติมแบคทีเรีย *F. granuli* และ *T. butanivorans* ในสัดส่วนที่น้อยสุดทำให้ความเข้มของแถบดีเอ็นเอของเชื้อดังกล่าวมีค่าต่ำตั้งแต่เริ่มต้น ส่วนแบคทีเรีย *A. soli* ที่มีการเติมในสัดส่วนสูง และปานกลางสำหรับชุดการทดลองที่ 12 และ 6 ตามลำดับ พบว่า ความเข้มของแถบดีเอ็นเอยังคงใกล้เคียงกับช่วงเริ่มการทดลอง ยกเว้นชุดการทดลองที่ใช้น้ำเสียร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์ที่พบว่ามีความเข้มของแถบดีเอ็นเอจางลงเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจาก *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียกลุ่ม primary utilizers ส่วน *F. granuli* และ *T. butanivorans* เป็นแบคทีเรียกลุ่ม secondary utilizers ดังนั้นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม primary utilizers จะมีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นทำให้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ลดลง จากนั้นแบคทีเรียกลุ่ม primary utilizers จึงเข้าสู่สภาวะแข่งขัน และทำให้เกิดการตายของเซลล์ จึงเป็นผลทำให้แบคทีเรียกลุ่ม secondary utilizers ใช้สารเมแทบอไลต์จากแบคทีเรียกลุ่มแรก และมีอัตราการเจริญขึ้นเพิ่มขึ้นจากเดิม (Fujita and Ike, 1994)

นอกจากนี้ยังพบว่า เกิดการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในชุดควบคุมโดยความเข้มของแถบดีเอ็นเอบางแถบมีค่าเพิ่มขึ้น เช่น แถบดีเอ็นเอหมายเลข 3 และ 5 เป็นต้น และแถบดีเอ็นเอบางแถบมีความเข้มจางลง เช่น แถบดีเอ็นเอหมายเลข 1, 2, 4, และ 6 เป็นต้น โดยคาดว่าแถบดีเอ็นเอที่จางลงอาจเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ไม่ใช้อากาศ หรือแฟคัลเททีฟแอนแอโรบิก เพราะเมื่อมีการนำมาเพาะเลี้ยง และมีการเขย่าให้อากาศทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้มีอัตราการเจริญลดลง นอกจากนี้สาเหตุที่มีการตรวจพบแบคทีเรียเหล่านี้ในตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ เนื่องจากในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงที่ระบบมีปัญหาอัตราภาระบรรทุกสูง ตะกอนลอยตัว และมีประสิทธิภาพในการบำบัดลดลง จึงคาดว่าเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีการเขย่าเลี้ยงเชื้อ และได้รับอากาศอย่างทั่วถึงจึงทำให้แบคทีเรียไม่ใช้อากาศไม่สามารถเจริญได้ จึงส่งผลทำให้แถบดีเอ็นเอจางลงเมื่อเวลาผ่านไป



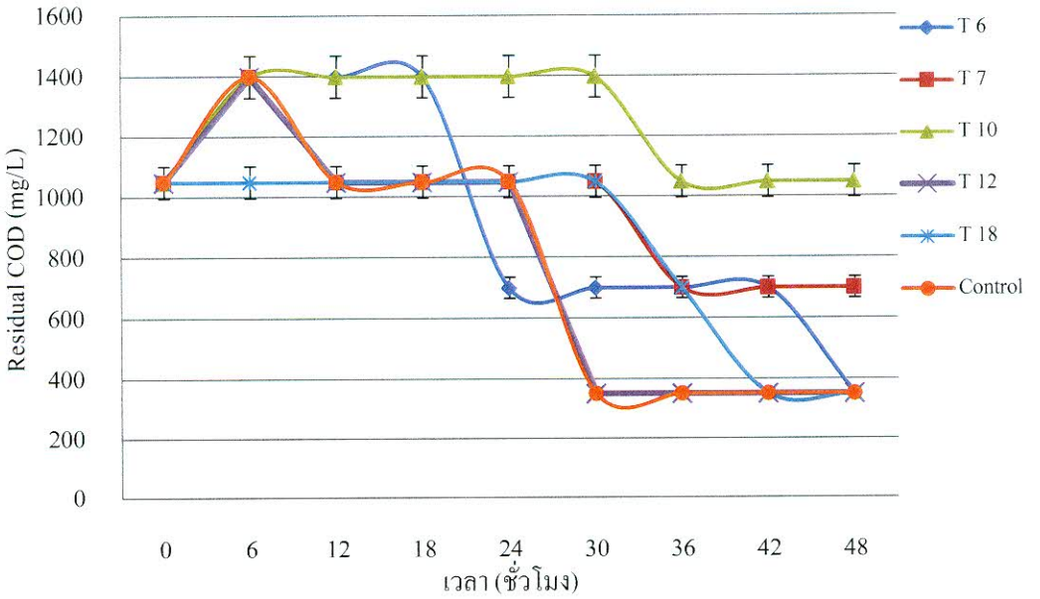
ภาพ 37 ซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียของ 5 ชุดการทดลองที่ทดสอบด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในน้ำเสียจริงที่ยังไม่ผ่านกระบวนการบำบัด

หมายเหตุ: T6 คือ ชุดการทดลองที่ 6, T7 คือ ชุดการทดลองที่ 7, T10 คือ ชุดการทดลองที่ 10, T12 คือ ชุดการทดลองที่ 12 และ T18 คือ ชุดการทดลองที่ 18



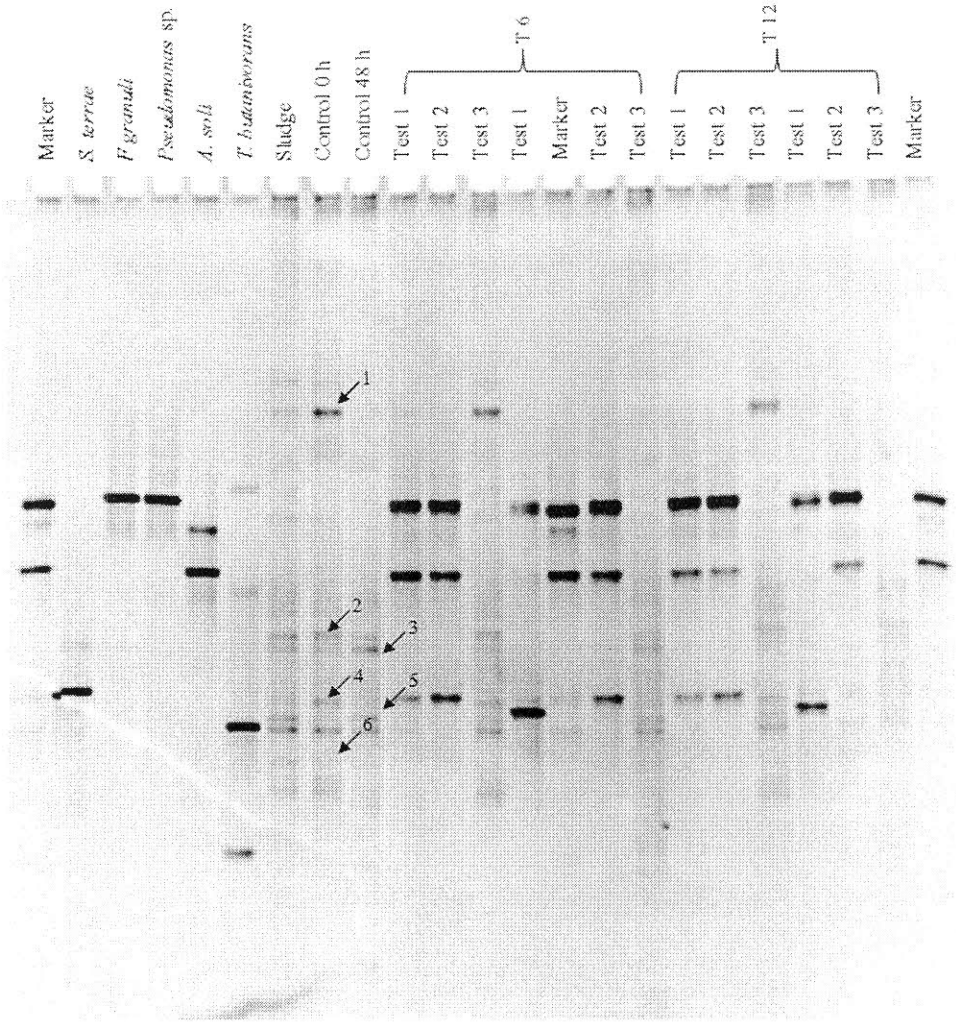
ภาพ 38 ซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียของ 5 ชุดการทดลองที่ทดสอบด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในน้ำเสียจริงที่ยังไม่ผ่านระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์

หมายเหตุ: T6 คือ ชุดการทดลองที่ 6, T7 คือ ชุดการทดลองที่ 7, T10 คือ ชุดการทดลองที่ 10, T12 คือ ชุดการทดลองที่ 12 และ T18 คือ ชุดการทดลองที่ 18



ภาพ 39 ซีโอดีคงเหลือในน้ำเสียของ 5 ชุดการทดลองที่ทดสอบด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในน้ำเสียจริงน้ำที่ยังไม่ผ่านระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับการเติมตะกอนจุลินทรีย์

หมายเหตุ: T6 คือ ชุดการทดลองที่ 6, T7 คือ ชุดการทดลองที่ 7, T10 คือ ชุดการทดลองที่ 10, T12 คือ ชุดการทดลองที่ 12 และ T18 คือ ชุดการทดลองที่ 18



ภาพ 40 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมจากชุดการทดลองที่ 6 (T6) และ 12 (T12) โดยทดสอบในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด (Test 1) น้ำเสียผ่านระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ (Test 2) และน้ำเสียผ่านระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ เมื่อช่วงเวลาเริ่มต้นการทดลอง (0 ชั่วโมง) และเมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง

Marker: ดีเอ็นเอเครื่องหมาย (*Sphingomonas terrae, Flavobacterium glanuli, Pseudomonas* sp., *Acidovorax soli* และ *Thauera butanivorans*)

Control 0 h: ชุดควบคุมของการทดสอบด้วยเสียผ่านระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ ที่เริ่มต้นการทดลอง (0 ชั่วโมง)

Control 48 h: ชุดควบคุมของการทดสอบด้วยเสียผ่านระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ ที่ 48 ชั่วโมง

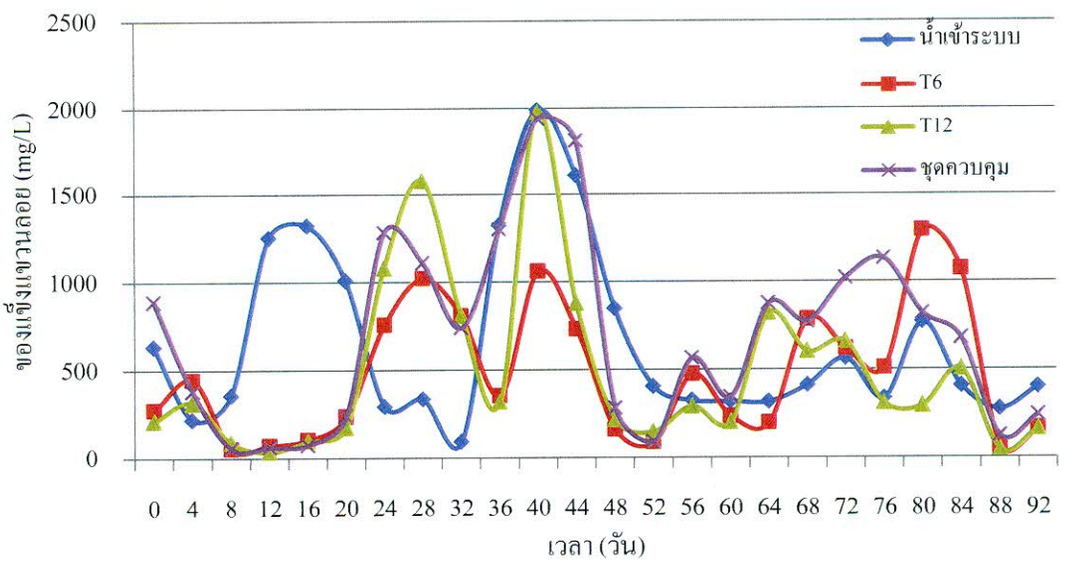
การทดสอบ และติดตามกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายของน้ำเสียเข้า และออกระบบผ่านถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์

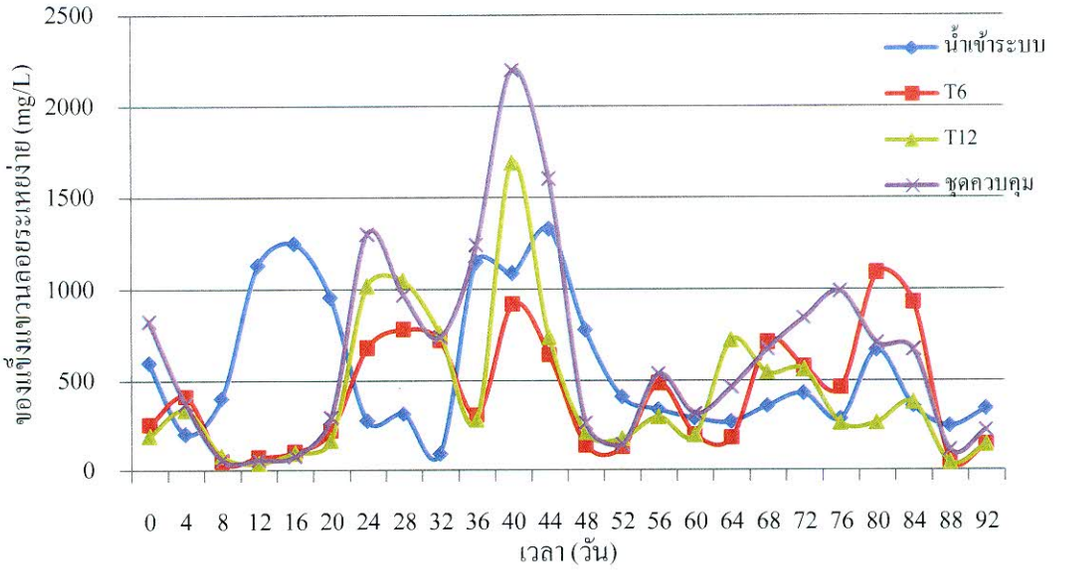
ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำเสียเข้าระบบพบว่า มีค่าตั้งแต่ 93 – 1,990 มก. ต่อลิตร และ 93 – 1,330 มก. ต่อลิตร ตามลำดับ โดยช่วงเวลาที่ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำเสียเข้าระบบที่ค่าสูงสุด คือ ช่วงตั้งแต่ 12 – 20 วัน (1,010 – 1,320 มก. ต่อ ลิตร) และ 36 – 44 วัน (1,320 – 1,610 มก. ต่อ ลิตร) ดังแสดงในภาพ 41 และ 42 ซึ่งประมาณของแข็งแขวนลอย และของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายที่สูงในน้ำเสียเข้าระบบเกิดจากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบแอนแอโรบิกหลุดออกมากับน้ำทิ้ง เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวมีอัตราน้ำเสียเข้าระบบ และอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูง ส่งผลให้ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำเสียของระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ลดลง ดังนั้นจึงมีประสิทธิภาพในการบำบัดขั้นต้นที่ลดลง (Kanimozhi and Vasudevan, 2014; Abdulgader et al., 2007) อีกทั้งยังทำให้เกิดตะกอนหลุดออกมากับน้ำทิ้งในปริมาณที่สูงกว่าปกติ

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอยในชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม (ภาพ 41) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 482, 494 และ 702 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าในช่วง 24 - 44 วัน และ 64 - 74 วัน น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบจำลองเอสบีอาร์มีปริมาณของแข็งแขวนลอยสูงกว่าน้ำเสียเข้าระบบ ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวมีปัญหาในการควบคุมปริมาณตะกอนจุลินทรีย์โดยในช่วง 24 - 32 วัน ซึ่งปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ของทั้งสามชุดการทดลองเฉลี่ยเท่ากับ 2,103 1,967 และ 2,037 มก. ต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพ 44) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าปริมาณตะกอนจุลินทรีย์โดยทั่วไปที่ต้องควบคุมให้อยู่ในช่วง 3,000 – 5,000 มก. ต่อลิตร อีกทั้งยังมีลักษณะของตะกอนสีน้ำตาลอ่อน ตกตะกอนได้ช้า มีการฟุ้งกระจาย และมีตะกอนจุลินทรีย์หลุดออกไปกับน้ำทิ้ง จึงเป็นสาเหตุให้ตะกอนจุลินทรีย์มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการจะย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียเข้าระบบ ส่วนในช่วง 64 - 76 วัน เป็นช่วงที่ทั้งสามชุดการทดลองมีปริมาณตะกอนจุลินทรีย์สูงที่สุดถึง 5,410 5,020 และ 4,870 มก. ต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่ 6 และ 12 มีปริมาณสูงเกินกำหนดจึงส่งผลให้มีตะกอนจุลินทรีย์หลุดออกไปกับน้ำทิ้งสูง อย่างไรก็ตามแม้ว่าชุดควบคุมมีปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ไม่เกิน 5,000 มก. ต่อ ลิตร แต่ผลการศึกษาพบว่ามีปริมาณของแข็งแขวนลอยออกไปน้ำทิ้งมากที่สุด (775 - 1,130 มก. ต่อ ลิตร) จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นจึงได้มีการถ่ายตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินออกจากระบบของชุดการทดลองที่

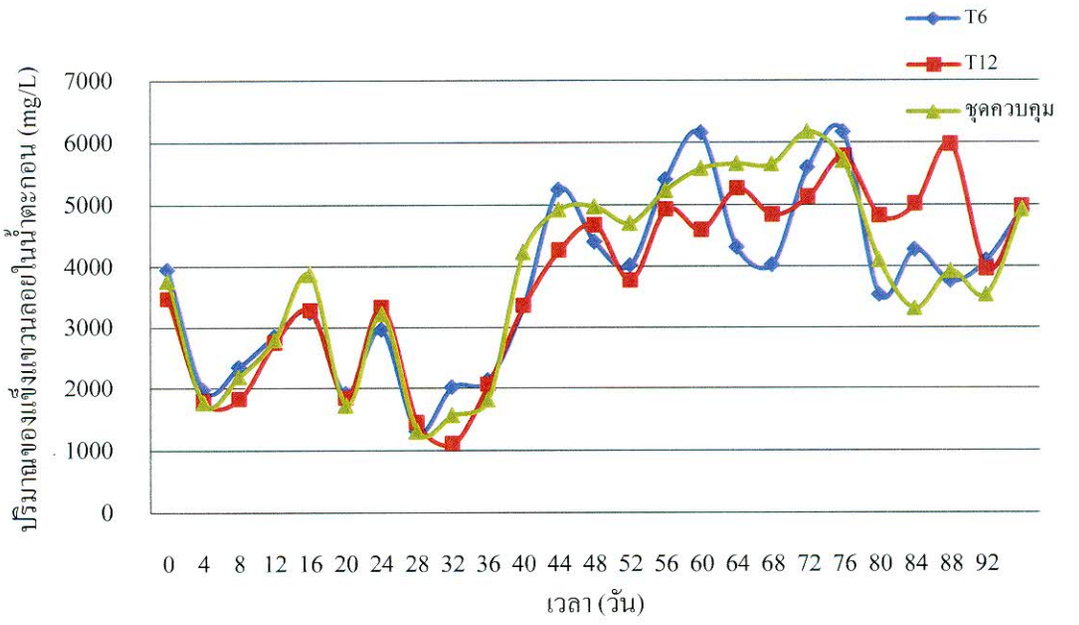
6 และ 12 โดยควบคุมปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ให้อยู่ในช่วง 3,000 - 5,000 มก. ต่อ ลิตร เพื่อให้สามารถคงประสิทธิภาพของการกำจัดสารอินทรีย์ในระบบได้ ผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Kumar และคณะ (2013) ที่พบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี และสีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสิ่งทอจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีค่าปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ และระยะเวลาการกักเก็บเพิ่มขึ้น(2,500 3,500 และ 5,000 มก. ต่อ ลิตร) โดยพบว่าที่ระยะเวลาการกักเก็บสูงสุด 36 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเท่ากับร้อยละ 77, 85 และ 91 ตามลำดับ นอกจากนี้หากพิจารณาช่วงวันที่ 40 เป็นต้นไป พบว่า ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบของทั้งสามชุดการทดลองเริ่มมีค่าเกิน 3,000 มก. ต่อลิตร ซึ่งถ้าช่วงเวลาดังกล่าวมีการถ่ายตะกอนส่วนเกินทิ้ง และควบคุมให้มีค่าประมาณ 3,000 มก. ต่อลิตร คาดว่าจะทำให้ระบบมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ที่คงที่ และใช้เวลาในการปรับสภาพของระบบน้อยกว่าการควบคุมให้ตะกอนจุลินทรีย์มีค่าสูงกว่า 3,000 มก. ต่อ ลิตร แต่ไม่เกิน 5,000 มก. ต่อ ลิตร



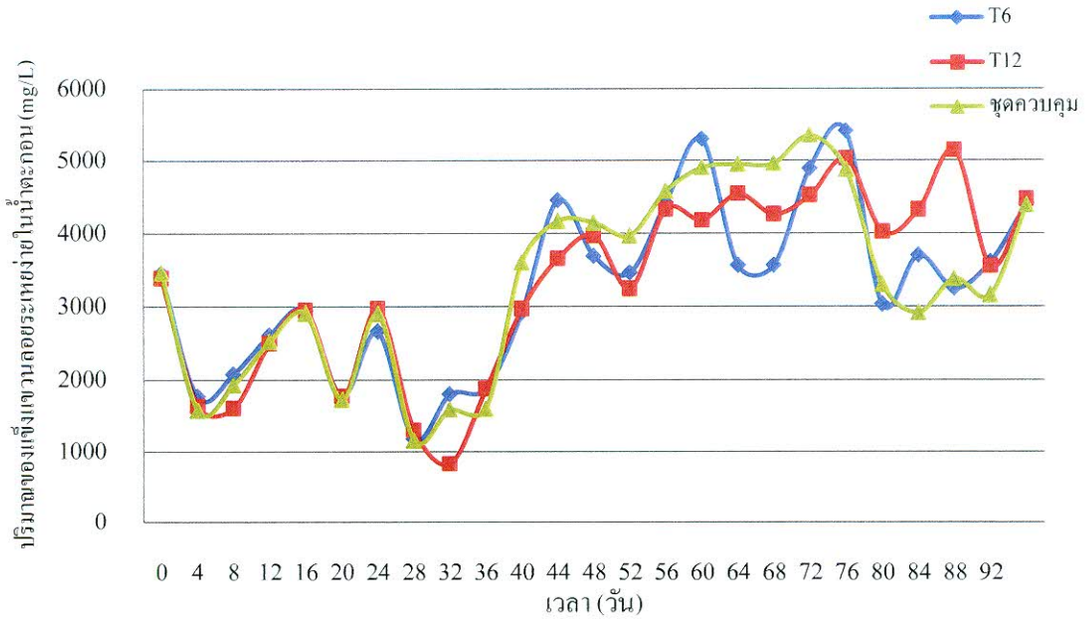
ภาพ 41 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม



ภาพ 42 ปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม



ภาพ 43 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำตะกอนของระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม



ภาพ 44 ปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำตะกอนของระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม

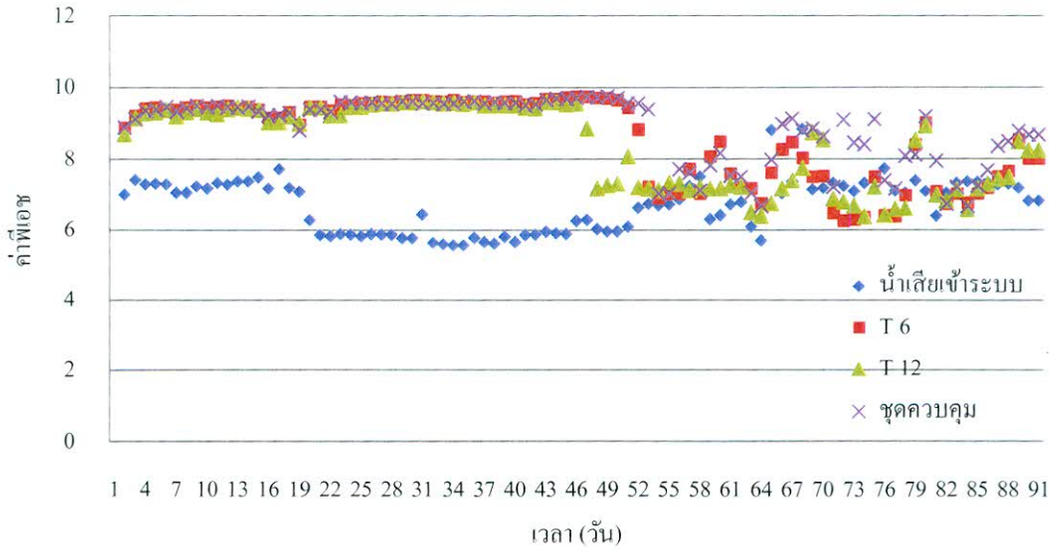
ผลการวัดค่าพีเอชของน้ำเสียเข้า และออกระบบผ่านถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์

จากการติดตาม และวัดค่าพีเอชของน้ำเสียที่ผ่านระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพด พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 4.75 – 6.30 (ภาพ 45) ซึ่งมีสภาวะที่เป็นกรดคล้ายคลึงกับค่าพีเอชของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารที่มีค่าตั้งแต่ 5.64 – 7.10 ดังนั้นในการทดลองจึงมีการปรับพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ± 0.5 เนื่องจากพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียควรอยู่ในช่วง 6.5 - 7.5 (Metcalf and Eddy, 2004 cited by Lateef et al., 2013) โดยในช่วงแรกของการทดลอง (0 - 20 วัน) พบว่า น้ำออกระบบของชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม มีค่าพีเอชเฉลี่ยสูงถึง 9.33 9.24 และ 9.32 ตามลำดับ ดังนั้นในช่วง 21 – 60 วัน จึงไม่มีการปรับพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบ โดยพบว่าค่าพีเอชของน้ำเสียที่ออกระบบของทั้งสามชุดการทดลองมีค่าลดลง เท่ากับ 8.98 8.57 และ 9.02 ตามลำดับ ซึ่งค่าพีเอชในระบบที่สูงนี้เกิดจากน้ำเสียเข้าระบบมีค่าความเป็นด่างสูง (HCO_3^- เท่ากับ 590 มก. ต่อลิตร) และมีค่าความเป็นด่างในน้ำทิ้งเพิ่มขึ้น (CO_3^{2-} เท่ากับ 25 มก. ต่อ ลิตร และ HCO_3^- เท่ากับ 4,350 มก. ต่อลิตร)

เนื่องจากน้ำเสียเข้าระบบแอนแอโรบิกจำเป็นต้องมีการปรับค่าความเป็นด่างไม่ต่ำกว่า 1,000 มก. ต่อ ลิตร เพื่อทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ และควบคุมพีเอชไม่ให้ต่ำเกินไปเมื่อมีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น อีกทั้ง methanogen bacteria ยังมีการผลิตไบคาร์บอเนตออกมาเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ (Bitton, 2005) นอกจากนั้นในการทดลองได้มีการปรับอัตราส่วนของสารอาหาร(C : N : P) โดยมีการเพิ่มแหล่งไนโตรเจนด้วยการเติมยูเรียในน้ำเสียเข้าระบบทำให้เมื่อเติมอากาศจึงเกิดการเปลี่ยนรูปของยูเรียเป็นแอมโมเนียที่มีผลต่อค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น (Luklema, 1969; Rittstieg et al., 2001) อย่างไรก็ตามเมื่อมีค่าพีเอชที่สูงเกิน 9.0 จะทำให้แอมโมเนียอยู่ในรูปของแก๊สที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ (Bitton, 2005) แต่ข้อดีของค่าความเป็นด่างก็คือจะช่วยให้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการกำจัดไนโตรเจนเจริญเติบโต และเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันได้ ซึ่งค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันควรอยู่ในช่วง 7.5 – 8.5 ซึ่งแบคทีเรียไนตริไฟเออร์จะไม่สามารถเจริญได้หากมีค่าพีเอชที่ต่ำกว่า 6.0 ดังนั้นในระบบบำบัดน้ำเสียจึงมีการใช้แคลเซียมคาร์บอเนตในการปรับค่าความเป็นด่าง (Bitton, 2005)

ค่าพีเอชของทั้งสามชุดการทดลองเริ่มเป็นกลาง (พีเอชใกล้เคียง 7) ในวันที่ 51 เป็นต้นไป โดยชุดการทดลองที่มีค่าพีเอชใกล้เคียง 7.0 และใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ 12 (pH = 7.21 วันที่ 51) ชุดการทดลองที่ 6 (pH = 7.22 วันที่ 51) และชุดควบคุม (pH = 7.02 วันที่ 52) จากแนวโน้มของค่าพีเอชในระบบบำบัดที่มีค่าใกล้เคียง 7.0 จึงได้มีการปรับค่าพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบ (ช่วง 60 - 90 วัน) ซึ่งพบว่า ค่าพีเอชของน้ำออกระบบในชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุด

ควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.32, 7.37 และ 8.19 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่ 6 และ 12 พีเอชที่ใกล้เคียง 7 ซึ่งมีความเป็นกลางโดยอาจเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของกลุ่มจุลินทรีย์ (Ravishankar et al., 2015; Prakash, 2001)



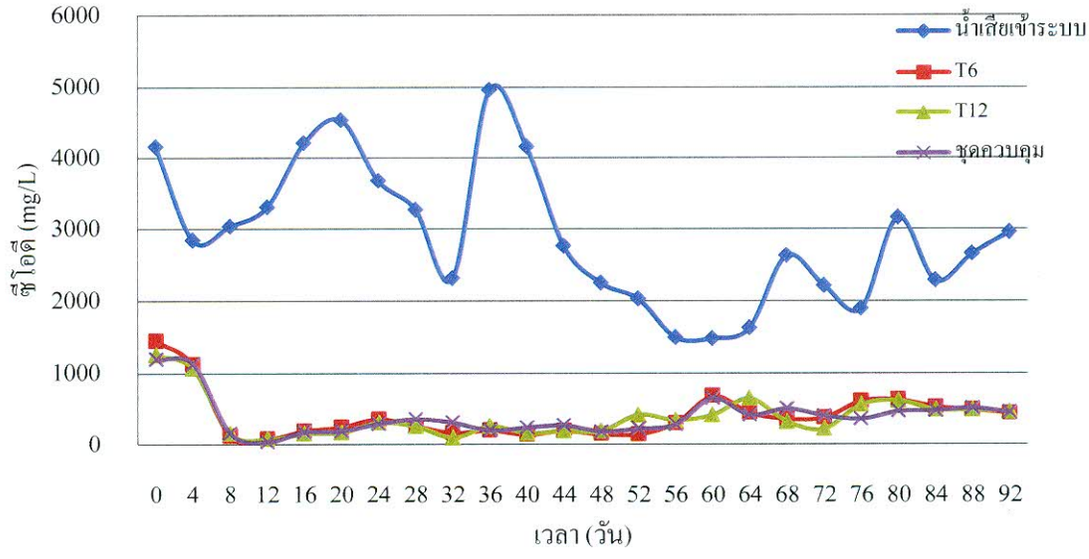
ภาพ 45 ค่าพีเอชน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม

ผลการวัดค่าซีโอดีของน้ำเสียเข้า และออกระบบบำบัด และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์

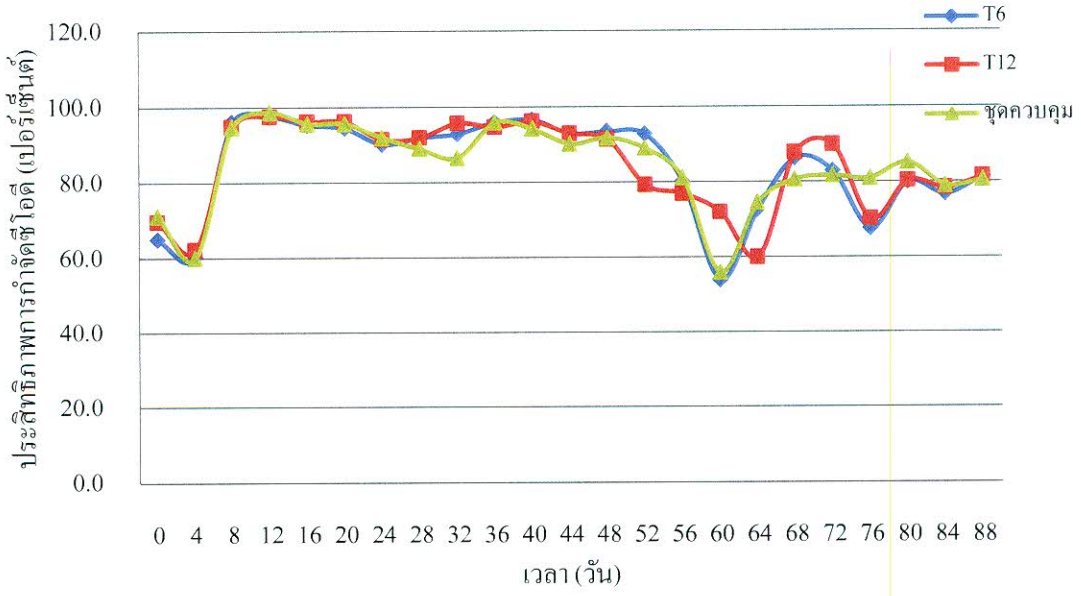
จากการติดตามประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์โดยวัดค่าซีโอดีของน้ำเสีย ได้แก่ น้ำเสียเข้าระบบ (น้ำเสียที่ผ่านระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร) น้ำเสียออกจากระบบจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม โดยน้ำเสียเข้าระบบมีค่าซีโอดีตั้งแต่ 1,481 – 4,958 มก. ต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงสุดในช่วง 0 - 40 วัน (ซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 3,676 มก. ต่อลิตร) และผลการวิเคราะห์ซีโอดีของน้ำออกของแต่ละชุดการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ 6 มีค่าซีโอดีอยู่ในช่วง 79 – 1,452 มก. ต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 12 มีค่าซีโอดีอยู่ในช่วง 79 – 1,258 มก. ต่อลิตร และชุดควบคุมมีค่าซีโอดีอยู่ในช่วง 40 – 1,195 มก. ต่อลิตร ดังแสดงในภาพ 46 และจากภาพ 47 ที่แสดงถึงประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยสูงสุดได้แก่ ชุดการทดลองที่ 12 ชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ 6 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 84.7 ± 11.4, 84.6 ± 10.9 และ 84.3 ± 12.5 ตามลำดับ ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของทั้งสามชุดการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ (ANOVA) พบว่าทั้งสามชุดการทดลองให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาที่ช่วงเวลาต่างๆ พบว่า การเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเริ่มมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นหลังการดำเนินระบบเป็นเวลาประมาณ 8 วันนอกจากนี้ในช่วง 40 วันแรก ของการทดลองพบมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีค่อนข้างคงที่ โดยชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยสูงสุด คือ ชุดการทดลองที่ 12 (ร้อยละ 89.7) ชุดการทดลองที่ 6 (ร้อยละ 88.8) และชุดควบคุม (ร้อยละ 88.6) ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามช่วงเวลา 56 – 64 วัน มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีลดลงต่ำสุดทั้งสามชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีต่ำสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6 (ร้อยละ 54.0) ชุดควบคุม (ร้อยละ 56.0) และชุดการทดลองที่ 12 (ร้อยละ 60.0) ตามลำดับ เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวน้ำเสียเข้าระบบมีค่าซีโอดีต่ำ (1,536 ± 81.3 มก. ต่อ ลิตร) ซึ่งเมื่อเทียบสัดส่วนของ F/M พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.2 ซึ่งค่อนข้างต่ำ F/M ที่เหมาะสมในช่วง 0.2 - 0.5 (Bitton, 2005) จึงทำให้อาหารมีปริมาณจำกัดต่อการใช้ของจุลินทรีย์ และส่งผลให้ตะกอนจุลินทรีย์มีลักษณะกระจายตัว มีการตกตะกอนต่ำ จึงทำให้มีตะกอนจุลินทรีย์หลุดออกไปกับน้ำทิ้ง ซึ่งทางผู้วิจัยได้มีการควบคุมปริมาณตะกอนให้คงอยู่ในระบบจึงไม่มีการถ่ายตะกอนทิ้ง

นอกจากนี้จากการพิจารณาแนวโน้มการกำจัดซีโอดีจะเห็นได้ว่าชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีที่ลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 60 ซึ่งต่างจากชุดการทดลองที่ 12 ที่ค่อย ๆ มีประสิทธิภาพลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากกลุ่มจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่ 12 มีการปรับให้เข้ากับสภาวะการเปลี่ยนแปลงของระบบ เพราะกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์ในภาวะที่มีสับสเตรท และสภาวะที่เหมาะสมจะสามารถคงเสถียรภาพ และมีกระบวนการเมตาบอลิซึมที่มีประสิทธิภาพ (Bastone et al., 2001 cited by Muda et al., 2013) จึงคาดว่ากลุ่มตะกอนจุลินทรีย์ที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะการเปลี่ยนแปลงของน้ำเสียเข้าระบบจะช่วยรักษาเสถียรภาพของระบบบำบัดน้ำเสียได้



ภาพ 46 ค่าซีโอดีของน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม



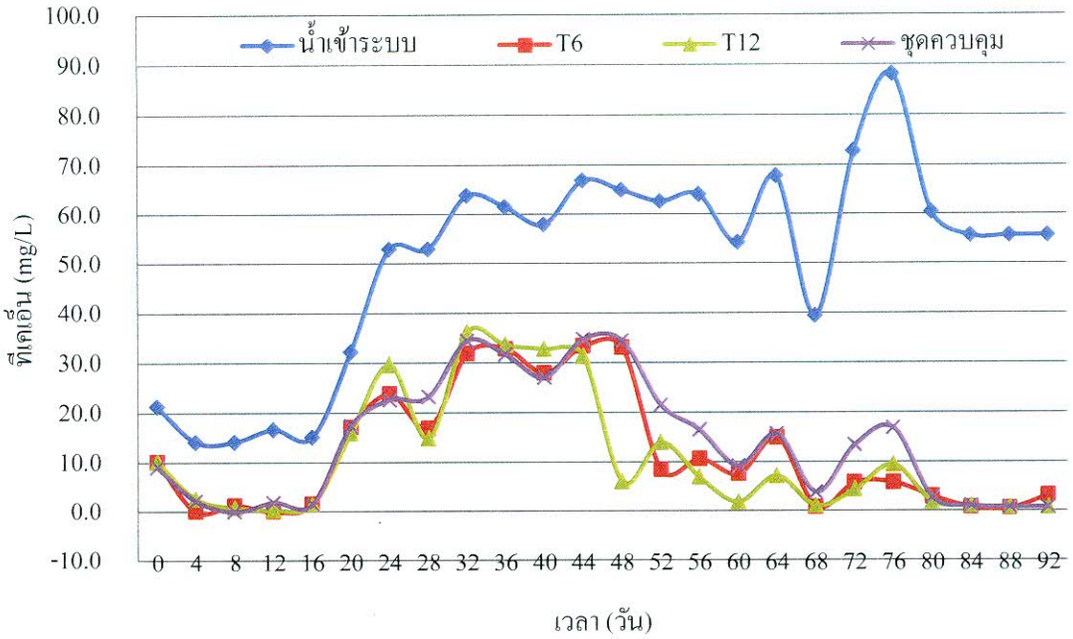
ภาพ 47 ร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ทั้งหมด (ทีเคเอ็น) แอมโมเนีย และไนเตรทของน้ำเสียเข้าและออกระบบถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์

จากการวิเคราะห์ค่าทีเคเอ็นของน้ำเสียเข้าระบบพบว่า ช่วง 0 – 16 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 ± 3 มก. ต่อลิตร เมื่อเทียบอัตราส่วน C:N:P มีค่าเท่ากับ 3,500 : 16 : 105 หรือสัดส่วนอย่างต่ำเท่ากับ 35 : 0.1 : 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าสัดส่วนของคาร์บอน และไนโตรเจนมีปริมาณน้อยกว่าสัดส่วนที่ควรจะเป็น คือ 100 : 5 : 1 และน้ำเสียเข้าระบบมีปริมาณฟอสเฟตมากเกินพอสำหรับระบบแบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์ จึงต้องมีการปรับสัดส่วนของคาร์บอน และไนโตรเจนให้เหมาะสม อย่างไรก็ตามสัดส่วนของคาร์บอนอินทรีย์ไม่สามารถปรับให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากเป็นการเพิ่มสารอินทรีย์ให้กับระบบ ดังนั้น จึงได้มีการปรับเพิ่มปริมาณไนโตรเจนด้วยการเติมยูเรียลงในน้ำเสียเข้าระบบ ตั้งแต่วันที่ 17 เป็นต้นไป ซึ่งจากการปรับสัดส่วนของไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นทำให้มีอัตราส่วน C : N : P มีค่าเท่ากับ 2,750 : 60 : 1 (50 : 1 : 1) ทั้งนี้จะเห็นได้ว่ายังคงมีสัดส่วนของคาร์บอนอินทรีย์ และไนโตรเจนที่ยังคงต่ำกว่าค่าที่กำหนด อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้คำนึงถึงค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของยูเรียลงไปมาก เมื่อมีการย่อยสลายแบบใช้อากาศทำให้มีค่าพีเอชในระบบ และน้ำออกที่เพิ่มสูงขึ้น

จากภาพ 48 แสดงถึง ค่าทีเคเอ็นของน้ำเสียเข้าระบบ และน้ำออกที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของทั้งสามชุดการทดลอง โดยพบว่าในช่วงแรกน้ำเสียเข้าระบบมีค่าทีเคเอ็นต่ำ ทำให้ในน้ำออกมีทีเคเอ็นคงเหลือต่ำสุดถึง 0.0 มก. ต่อลิตร ซึ่งในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้อากาศมีความจำเป็นต้องใช้สารอาหารที่เหมาะสม เนื่องจากจุลินทรีย์นำสารอาหารเหล่านี้ไปใช้ในการสร้างเซลล์ ดังนั้น หากมีสารอาหารในสัดส่วนที่ไม่เหมาะสม หรือต่ำเกินไปจึงส่งผลต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ และประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์

หลังจากที่มีการเพิ่มปริมาณของไนโตรเจนลงไปในน้ำเสียเข้าระบบ พบว่า ในช่วง 20 – 48 วัน ค่าทีเคเอ็นคงเหลือในน้ำออกระบบของทั้งสามชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.2, 27.8 และ 27.3 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีปริมาณไนโตรเจนคงเหลือ อย่างไรก็ตามพบว่า วันที่ 48 ค่าทีเคเอ็นในน้ำออกระบบของชุดการทดลอง ที่ 12 มีค่าลดลงต่ำสุด เท่ากับ 6.2 มก. ต่อลิตร ส่วนชุดการทดลองที่ 6 เริ่มมีค่าทีเคเอ็นลดลงใน วันที่ 52 (8.4 มก. ต่อ ลิตร) และชุดควบคุมมีการลดลงของค่าทีเคเอ็นช้าที่สุดเมื่อเทียบกับทั้งสองชุดการทดลอง โดยเริ่มมีค่าลดลงในวันที่ 56 (16.5 มก. ต่อ ลิตร)



ภาพ 48 ค่าทีเคเอ็นของน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในน้ำเสียเข้าระบบ พบว่า แอมโมเนียมีค่าตั้งแต่ช่วง 3.2 – 12.0 มก. ต่อ ลิตร ซึ่งสูงสุดในวันที่ 0 (12.0 มก. ต่อ ลิตร) ส่วนน้ำเสียออกระบบของทั้งสามชุดการทดลองพบว่า ในช่วง 0 – 16 วัน มีปริมาณแอมโมเนียของน้ำเสียออกระบบต่ำสุดเท่ากับ 0.0 มก. ต่อ ลิตร และมีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 20 – 56 วัน ดังแสดงในภาพ 49 อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณแอมโมเนียในน้ำเสียออกระบบของชุดการทดลองที่ 12 เริ่มมีปริมาณลดลงตั้งแต่วันที่ 44 เป็นต้นไป ตามด้วยชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม ที่มีปริมาณแอมโมเนียเริ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 52 เป็นต้นไป และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอมโมเนียในช่วงวันที่ 52 – 92 พบว่าชุดการทดลองที่มีปริมาณแอมโมเนียคงเหลือในน้ำออกต่ำสุด คือ ชุดการทดลองที่ 12 ชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม โดยมีปริมาณแอมโมเนียคงเหลือเฉลี่ยเท่ากับ 4.6, 5.6 และ 9.3 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ

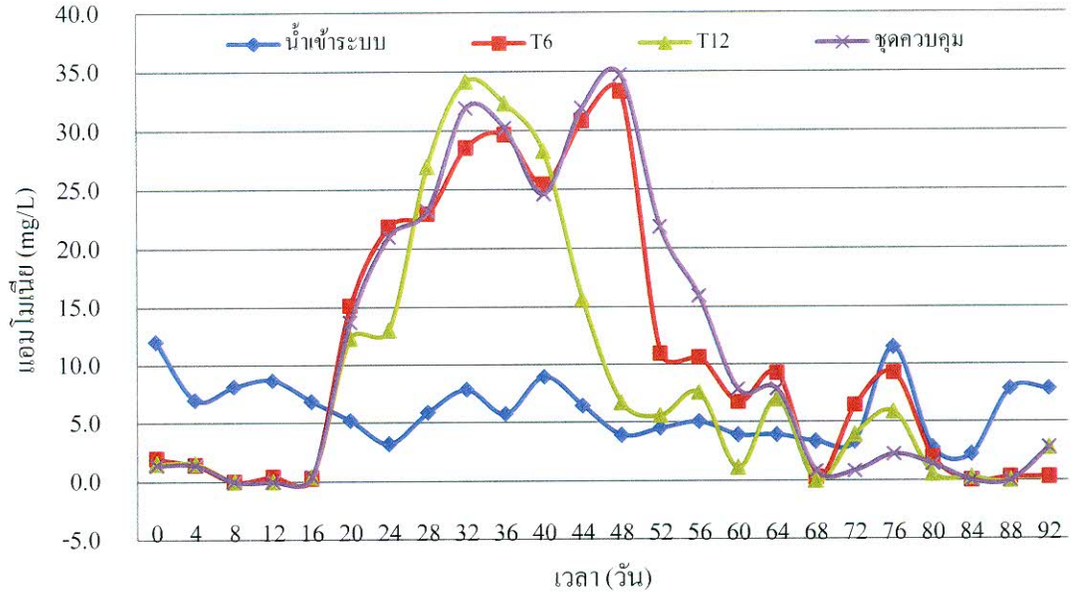
จากภาพ 50 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทของน้ำเสียเข้า และออกระบบ ซึ่งจะเห็นได้ว่า ปริมาณไนเตรทตลอดช่วงการทดลองมีปริมาณต่ำ (10.8 – 49.0 มก. ต่อ ลิตร) ยกเว้นในบางช่วงเวลาที่ไนเตรทในน้ำเสียเข้าระบบสูง เช่น ช่วง 8 - 12 วัน (277.5 ± 25 มก. ต่อ ลิตร) ช่วงวันที่ 58 - 64 (97.5 ± 25 มก. ต่อ ลิตร) และช่วงวันที่ 76-80 (135.0 ± 14 มก. ต่อ ลิตร) เนื่องจาก

ในช่วงเวลาดังกล่าวเกิดปัญหาปริมาณน้ำเสียเข้าระบบมากทำให้ระยะเวลาในการกักเก็บของน้ำเสียในระบบแอนแอโรบิกลดลง จึงคาดว่าทำให้เกิดไนเตรทขึ้นในน้ำเสียออกระบบแอนแอโรบิก ส่วนชุดการทดลองที่มีปริมาณไนเตรทของน้ำเสียออกระบบในช่วง 0 – 44 วัน ต่ำสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6 ชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ 13 โดยมีปริมาณไนเตรทในน้ำออกเฉลี่ยเท่ากับ 27.2, 28.3 และ28.9 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของปริมาณไนเตรทไม่แตกต่างกัน (ANOVA, P value > 0.05)

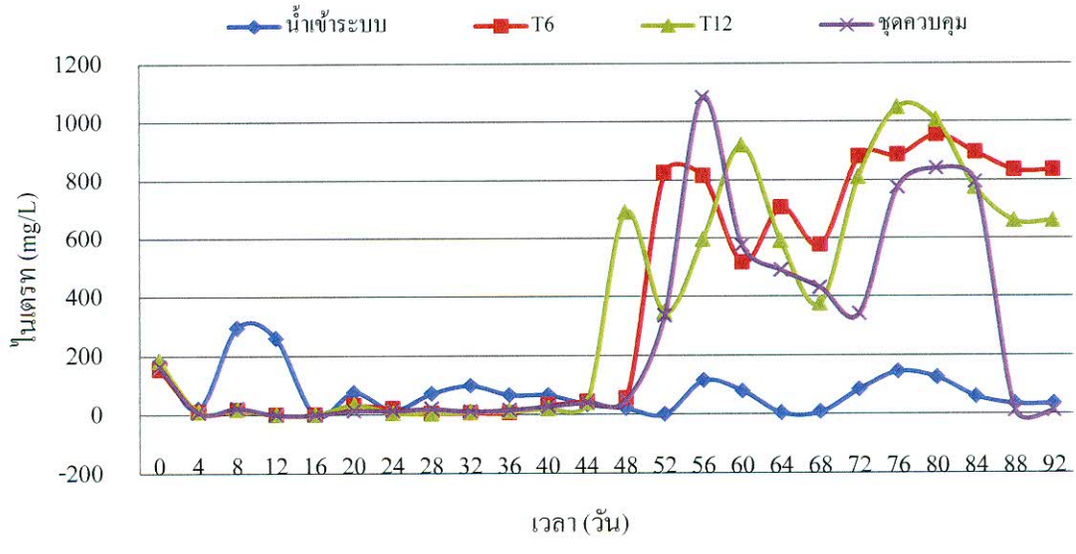
อย่างไรก็ตามพบว่า ปริมาณไนเตรทมีค่าแปรผกผันกับปริมาณแอมโมเนียโดยในช่วงแรกของการเริ่มต้นระบบมักจะพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม chemoheterotrophic ซึ่งทำหน้าที่ในการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ จากนั้นเมื่อแหล่งคาร์บอนลดลงทำให้แบคทีเรียในกลุ่มไนตริไฟเออร์สามารถเจริญเติบโตขึ้นมา และทำหน้าที่ในการกำจัดแหล่งไนโตรเจนในน้ำเสีย จึงจะเห็นได้ว่าในช่วงเริ่มต้นระบบการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนไปเป็นไนเตรทเกิดขึ้นยังไม่สมบูรณ์จึงทำให้ยังคงมีอินทรีย์ไนโตรเจน และแอมโมเนียในน้ำออกระบบ อย่างไรก็ตามในช่วงตั้งแต่วันที่ 48 เป็นต้นไปปริมาณไนเตรทในน้ำเสียออกระบบมีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่แอมโมเนียมีค่าลดลงโดยชุดการทดลองที่มีปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นในระยะเวลาสั้นสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 12 (48 วัน) ชุดการทดลองที่ 6 (52 วัน) และชุดควบคุมตามลำดับ (56 วัน) ตามลำดับ และในช่วง 56 – 92 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่มีค่าเฉลี่ยปริมาณไนเตรทสูงสุด ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6 (789.5 มก. ต่อ ลิตร) ชุดการทดลองที่ 12 (744.0 มก. ต่อ ลิตร) และชุดควบคุม (535.2 มก. ต่อ ลิตร) ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบช่วงเวลาที่มีค่าทีเคเอ็น และแอมโมเนียในน้ำทิ้งลดลง และปริมาณไนเตรทที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในน้ำทิ้ง จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมลงไปสามารถลดค่าทีเคเอ็น และแอมโมเนียได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าชุดควบคุม ซึ่งกระบวนการไนตริฟิคชันจะเกิดขึ้นภายหลังจากเริ่มระบบ 4 - 8 สัปดาห์ Kumar et al., 2013) กระบวนการไนตริฟิเคชั่นจะคงที่หลังจากเวลาผ่านไป 5 สัปดาห์ (Hoffmann et al., 2007) เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่มีสภาวะเหมาะสมในการส่งเสริมให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทำงาน โดยจากรายงานก่อนหน้านี้ยังได้กล่าวเพิ่มเติมอีกว่าได้มีการใช้กลุ่มแบคทีเรียไนตริไฟเออร์ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. *Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp., และ *Sarcina* sp. สามารถช่วยลดปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียได้ (Mihailova et al., 2008 cited by Muter et al., 2014) นอกจากนี้ *Pseudomonas* sp. และ *Acidovorax* sp. สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูง (Jie et al., 2009) ซึ่งจะเห็นได้ว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีส่วนช่วยในการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ที่ถือว่าเป็นการปรับสภาวะให้เหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟเออร์ อีกทั้งยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์ *Flavobacterium* sp. ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน

และออกซิไดซ์แอมโมเนียต่าง ๆ ได้ด้วยกระบวนการที่เรียกว่า co-metabolism (Arp et al., 2001; Wahman et al., 2006; Sayavedra-Soto et al., 2010; Kumar et al., 2013)



ภาพ 49 ปริมาณแอมโมเนียในน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม



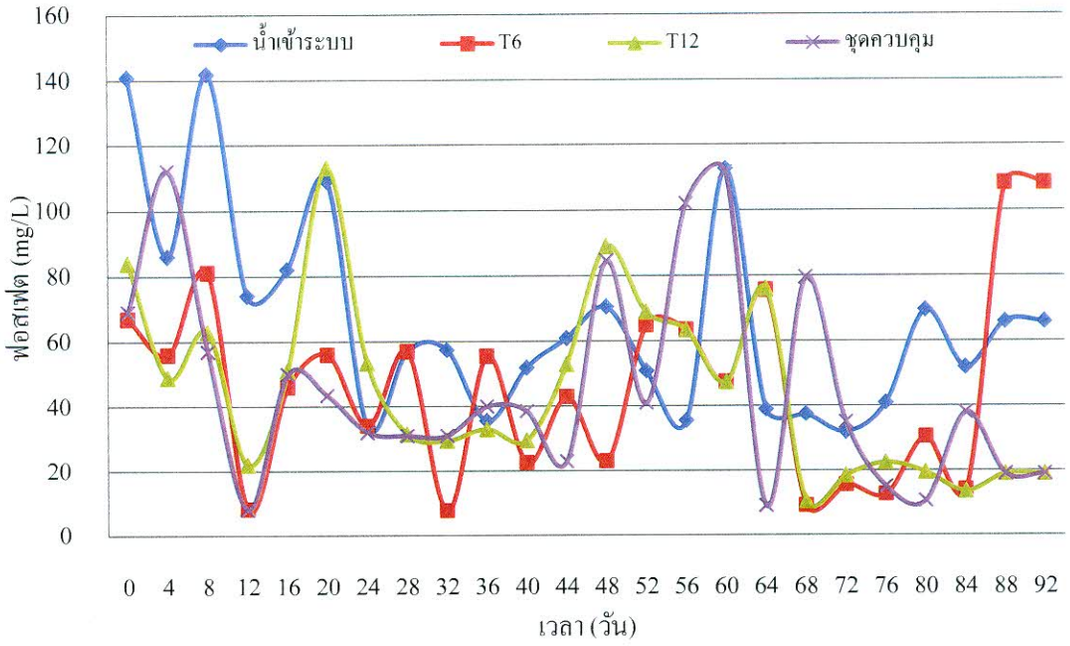
ภาพ 50 ปริมาณไนเตรทในน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตของน้ำเสียเข้า และออกระบบถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียเข้าระบบ พบว่า มีฟอสเฟตอยู่ในช่วง 34 – 141 มก. ต่อลิตร ซึ่งจะมีค่าสูงสุดในวันที่ 8 ของการทดลอง โดยมีปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียเข้าระบบเท่ากับ 142.0 มก. ต่อ ลิตร และจากแนวโน้มของปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียเข้าระบบพบว่ามีความแปรผันตลอดช่วงการทดลอง ดังแสดงในภาพ 51 โดยจะมีความผันแปรตามอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์เข้าระบบ นอกจากนี้จากการติดตามปริมาณฟอสเฟตคงเหลือในน้ำออกของทั้งสามชุดการทดลอง พบว่า ชุดการทดลองที่ 6 มีปริมาณฟอสเฟตคงเหลือในน้ำทิ้งตั้งแต่ 8.0 – 108.0 มก. ต่อลิตร ส่วนชุดการทดลองที่ 12 มีปริมาณฟอสเฟต 10.5 – 89.0 มก. ต่อลิตร และชุดควบคุมมีค่าตั้งแต่ 8.0 – 111.5 มก. ต่อลิตร ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตลอดช่วงการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสเฟตได้ดี คือ ชุดการทดลองที่ 12 ชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม โดยมีร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตเท่ากับ 25.6, 23.0 และ 22.0 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามพบว่าในบางช่วงของการทดลองปริมาณฟอสเฟตออกระบบมีค่าสูงกว่าน้ำเสียเข้าระบบ เช่น ในช่วง 48 – 56 วัน โดยพบว่าทั้งสามชุดการทดลองมีปริมาณฟอสเฟตในน้ำออกระบบเฉลี่ยเท่ากับ 50.5, 73.8 และ 75.8 มก. ต่อ ลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าชุดควบคุมมีปริมาณฟอสเฟตในน้ำออกระบบสูงสุด อีกทั้งยังพบว่า น้ำเสียออกระบบจำลองของชุดควบคุมมีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่าน้ำเข้าระบบในวันที่ 4, วันที่ 32 - 36 และวันที่ 68 – 72

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตของชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากมีกลุ่มแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการกำจัดฟอสเฟต เช่น *Pseudomonas* sp. ซึ่งมีรายงานว่าสามารถกำจัดฟอสเฟตได้สูงสุดถึงร้อยละ 68.2 (Krishnawamy et al., 2009) และมีความสามารถในการสะสมฟอสเฟตได้ร้อยละ 1 – 3 ของมวลเซลล์แห้ง (Bitton, 1994 cited by Krishnawamy et al., 2009) นอกจากนี้จากรายงานของ Paul และ Sinha (2015) พบว่า การใช้กลุ่มแบคทีเรียที่ประกอบไปด้วย *Pseudomonas* sp. *Enterobacter* sp. และ *Flavobacterium* sp. จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตในน้ำเสียสังเคราะห์ระดับห้องปฏิบัติการได้สูงถึงร้อยละ 82.5 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้แบคทีเรียเพียงชนิดเดียวที่มีประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตเท่ากับร้อยละ 50.1 – 61.8 ทั้งนี้คาดว่าประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสเฟตของกลุ่มแบคทีเรียอาจเกิดจากการทำงานร่วมกัน (synergistic activity) ของแบคทีเรียแต่ละชนิด



ภาพ 51 ปริมาณฟอสเฟตในน้ำเสียเข้าระบบ น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดจำลองเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6, 12 และชุดควบคุม

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์จำลองระบบเอสบีอาร์

การติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรีย จะเริ่มจากการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์จำลองระบบเอสบีอาร์ของชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม ตั้งแต่ช่วงเริ่มการทดลอง (วันที่ 0) และเมื่อเวลาผ่านไป 10, 30, 40, 70 และ 90 วัน โดยในระยะเวลาเริ่มระบบได้มีการเพาะเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปการเกษตร และทำการเติมน้ำเสียที่ผ่านระบบแอนแอโรบิกฟิลเตอร์ ซึ่งควบคุมการเติมอากาศเป็นเวลานาน 22 ชั่วโมง ตามการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียจริงของอุตสาหกรรม จากนั้นเมื่อครบ 1 สัปดาห์ได้ทำการเติมกลุ่มแบคทีเรียในสัดส่วนที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้านี้ลงไปในชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 12 ซึ่งมีสัดส่วนของแบคทีเรีย 5 ชนิด ดังแสดงในภาพ 34 ส่วนชุดควบคุมไม่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรีย โดยสัดส่วนของแบคทีเรีย *S. terrae* และ *Pseudomonas* sp. มีสัดส่วนสูงสุดในทั้งสองชุดการทดลอง และ *A. soli* มีสัดส่วนสูงในชุดการทดลองที่ 6 ส่วนแบคทีเรีย *F. granuli* และ *T. butanivorans* มีสัดส่วนต่ำในทั้งสองชุดการทดลอง โดยในการทดลองได้ควบคุมอัตราการเติมอากาศ และปริมาณน้ำเสียเข้าระบบให้คงที่

จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR - DGGE แสดงดังภาพ 52 โดยพบว่า ในช่วงเริ่มต้นระบบมีลักษณะแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. เกิดขึ้นอย่างชัดเจนโดยสังเกตได้จากความเข้มของแถบดีเอ็นเอ เนื่องจากมีสัดส่วนที่สูง ส่วนแบคทีเรีย *S. terrae* ที่มีสัดส่วนสูงเช่นเดียวกันกลับพบว่า มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอมาก แต่ความเข้มน้อยกว่า *Pseudomonas* sp. และเมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่ 6 ซึ่งมีสัดส่วนที่สูงของแบคทีเรีย *S. terrae*, *Pseudomonas* sp. และ *A. soli* จะมีแถบดีเอ็นเอที่เข้มน้อยลง ซึ่งประสิทธิภาพกำจัดซีโอดีเฉลี่ยในช่วงเวลาดังกล่าวมีค่าเท่ากับร้อยละ 73.9 นอกจากนี้ในช่วงเวลาดังกล่าวยังมีค่าพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบสูง แต่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ จึงคาดว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้ความเข้มของแถบดีเอ็นเอและความหลากหลายของแบคทีเรียลดลงจากเดิม จากนั้นในช่วงเวลา 30 - 70 วัน พบว่า *A. soli* มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอมากขึ้นจากเดิม ส่วน *Pseudomonas* sp. มีแถบดีเอ็นเอที่จางลง ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 89.0 และพีเอชภายในระบบมีค่าเป็นกลาง รวมถึงเป็นช่วงที่มีกระบวนการไนตริฟิเคชั่น ซึ่งทราบได้จากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำออกเริ่มลดลง แต่มีปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรทที่เพิ่มขึ้น ส่วนแบคทีเรีย *S. terrae* นั้นจะพบความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นในช่วง 30 และ 90 วัน ซึ่งคล้ายคลึงกับ *T. butanivorans* ที่พบว่า มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาตั้งแต่ 70 - 90 วัน ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 79.0 และเกิดกระบวนการ

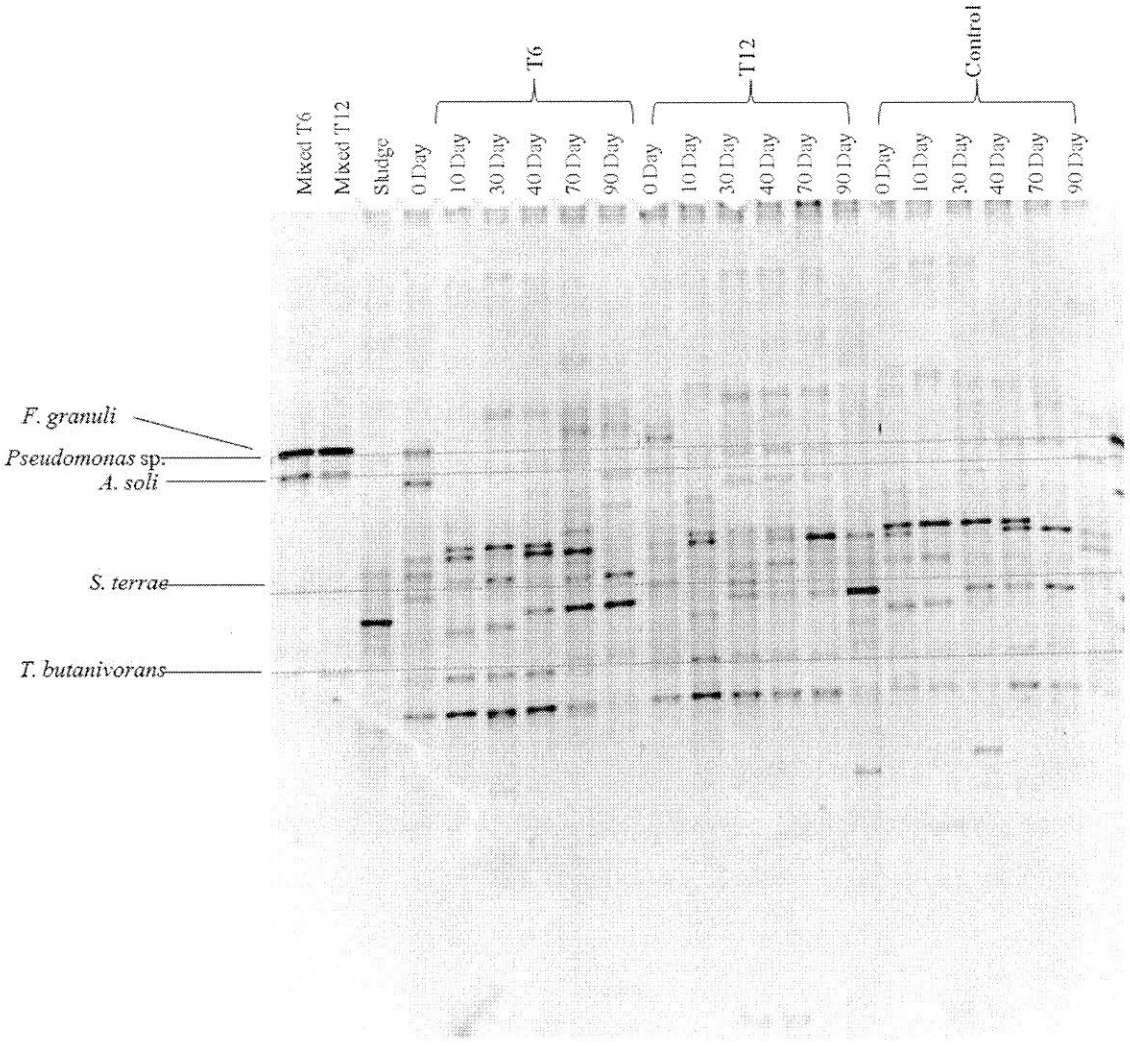
ไนตริฟิเคชั่นที่ค่อนข้างสมบูรณ์ โดยพบว่า ปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียออกระบบมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0 มก. ต่อลิตร และมีปริมาณไนเตรทสูงถึง 789.5 มก. ต่อ ลิตร ซึ่งคาดว่าสภาวะดังกล่าวมีความเหมาะสมต้องการเจริญของ *S. terrae* และ *T. butanivorans* จึงทำให้พบแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าว

การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่ 12 พบว่า ช่วงเริ่มต้นการทดลองแถบดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *S. terrae* มีความเข้มน้อยแม้ว่าจะมีสัดส่วนที่สูง จากนั้นตั้งแต่ 10 วัน เป็นต้นไปจะสังเกตว่ามีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าวมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเพิ่มจากช่วงเริ่มต้นการทดลอง (ร้อยละ 92.0) โดยประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีที่สูงนี้คาดว่าเกิดจากกลุ่มจุลินทรีย์มีการปรับตัว และสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ดีกว่าช่วงเริ่มต้น จึงทำให้แบคทีเรีย *S. terrae* ซึ่งเป็น secodary utilzer สามารถเจริญได้ดีในช่วงหลังของระบบ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียข้างต้นคงอยู่ในระบบตลอดจนถึง 90 วัน ส่วนแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ซึ่งมีสัดส่วนสูง และมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอมากในช่วงเริ่มต้นกลับมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอลดลงในช่วงวันที่ 10 และมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงวันที่ 30 - 70 ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของความเข้มแถบดีเอ็นเอคาดว่าเกิดจาก *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถกำจัดไนโตรเจน และฟอสฟอเฟต ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวพบว่า ปริมาณไนโตรเจน และฟอสเฟตของน้ำเสียออกระบบของชุดการทดลองที่ 12 คงเหลือต่ำสุด เท่ากับ 0.5 และ 10.5 มก.ต่อ ลิตร ส่วนแบคทีเรีย *A. soli* และ *T. butanivorans* มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นจากช่วงเริ่มต้นการทดลอง เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่ม secondary utilizer จึงทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงหลังจากการเริ่มระบบ

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ที่เหมาะสมพบว่า ในช่วงเริ่มการทดลองแถบดีเอ็นเอที่มีตำแหน่งใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *S. terrae* ซึ่งมาจากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ จากนั้นมีความเข้มมากที่สุดในช่วง 10 วัน โดยในช่วงระยะเวลา 30 – 70 วัน แถบดีเอ็นเอจะมีความเข้มที่จางลงจากก่อนหน้านี้ และกลับมาเข้มมากขึ้นในวันที่ 90 โดยประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยในช่วงวันที่ 10, 30 และ 90 วัน มีค่าเท่ากับร้อยละ 75.4, 83.8 และ 82.0 ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *T. butanivorans* ซึ่งมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอน้อยในช่วง 30 วันแรก กลับพบว่ามีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นในช่วง 40 – 70 วัน และจางลงอีกครั้งในช่วง 90 วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าแถบดีเอ็นเอที่มีความคล้ายคลึงกับ *T. butanivorans* และ *A. soli* จะเกิดขึ้นในช่วงเวลาที่แบคทีเรีย *S. terrae* มีความเข้มของแถบดีเอ็นเอจางลง ซึ่งสอดคล้องกับปฏิสัมพันธ์ของแบคทีเรียในการทดลองที่ 3 ที่แสดงถึงปฏิสัมพันธ์เชิงลบของแบคทีเรียทั้งสองชนิด

อย่างไรก็ตามไม่พบแบคทีเรียที่มีตำแหน่งใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ในตะกอนจุลินทรีย์ และในชุดควบคุม

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นถึงปฏิสัมพันธ์ของกลุ่มแบคทีเรียที่แตกต่างกันตามสภาวะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระบบ โดยเฉพาะ *Pseudomonas* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดเด่น และมีสัดส่วนสูงในช่วงเริ่มต้นการทดลอง แต่กลับมีสัดส่วนที่ลดลงซึ่งสังเกตได้จากความเข้มของแถบดีเอ็นเอลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน สำหรับแบคทีเรีย *S. terrae* นั้นพบว่า ยังคงมีสัดส่วนแปรผันตามช่วงเวลาซึ่งคาดว่าเกิดจากการเปลี่ยนแปลงตามคุณลักษณะของน้ำเสียเข้าระบบ ได้แก่ ค่าพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบที่มีค่าความเป็นด่างสูงในช่วงแรก ปริมาณไนโตรเจนอินทรีย์ของน้ำเสียเข้าระบบ เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังคงพบแบคทีเรีย *S. terrae* คงอยู่ในระบบตลอดช่วงการทดลอง เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้สารเมตาบอไลท์กลุ่มที่สอง โดยน้ำเสียเข้าระบบที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยโดยแบคทีเรียกลุ่มแรกได้เป็น maltose manose manitol และ ribose จากนั้นแบคทีเรียกลุ่มที่สองใช้สารอินทรีย์ที่ย่อยโดยกลุ่มแรกในกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงทำให้สามารถเจริญ และยังคงอยู่ในระบบได้ในระยะยาว เช่นเดียวกับแบคทีเรีย *A. soli* ที่มีสัดส่วนสูงในชุดการทดลองที่ 6 ที่พบว่ามีสัดส่วนลดลงหลังผ่านไป 10 วัน และเริ่มมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 30 เป็นต้นไป ซึ่งตรงกันข้ามกับชุดการทดลองที่ 2 ที่มีสัดส่วนของแบคทีเรีย *A. soli* ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 6 กลับพบว่ามีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 10 เป็นต้นไป นอกจากนี้แบคทีเรีย *T. butanivorans* ที่มีสัดส่วนต่ำกลับมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าการลดลงของกลุ่มแบคทีเรียที่มีสัดส่วนสูงเกิดจากตอนเริ่มต้นแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโต และใช้สารอินทรีย์ที่มาจากน้ำเสียได้โดยตรง และมีการสร้างสารเมตาบอไลท์ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถใช้สารเมตาบอไลท์กลุ่มที่สองจะมีการเจริญเติบโตขึ้นมาในระบบ ทำให้มีความหลากหลายของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น และส่งผลให้แบคทีเรียขั้นต้นมีจำนวนลดลง (Fujita and Ike, 1994)โดยแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และ *Flavobacterium* sp. เป็นแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มของตะกอนจุลินทรีย์ (Jenkins et al., 1993)



ภาพ 52 ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียผสมของชุดการทดลองที่ 6 และ 12 ตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตร และตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์แบบจำลองระบบเอสบีอาร์ช่วงเริ่มต้นการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไป 10, 30, 40, 70 และ 90 วัน วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค PCR - DGGE

หมายเหตุ: Mixed T6 คือ กลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมตามสัดส่วนของ ชุดการทดลองที่ 6

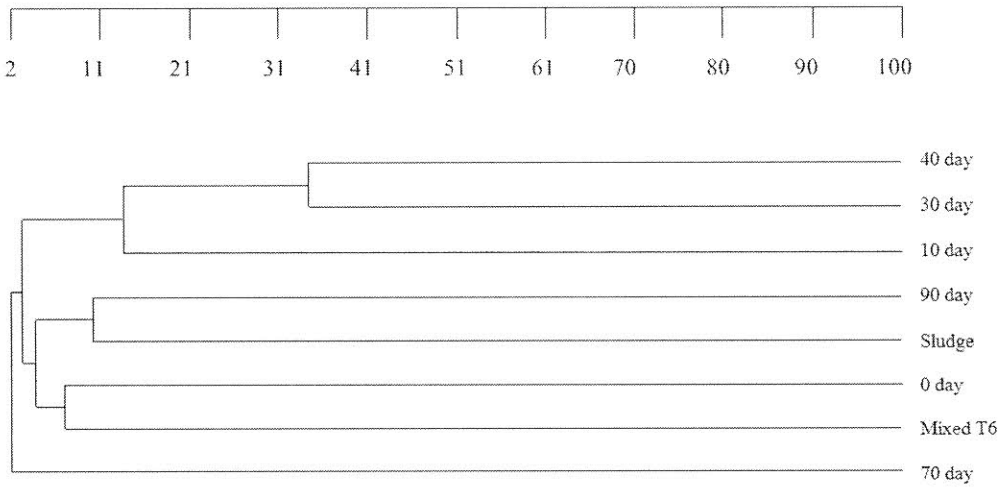
Mixed T12 คือ กลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมตามสัดส่วนของ ชุดการทดลองที่ 12

Sludge คือ ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์

T 6 คือ ตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 6

T 12 คือ ตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 12

Control คือ ตะกอนจุลินทรีย์จากชุดควบคุม



ภาพ 53 UPGMA dendrogram ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่ 6

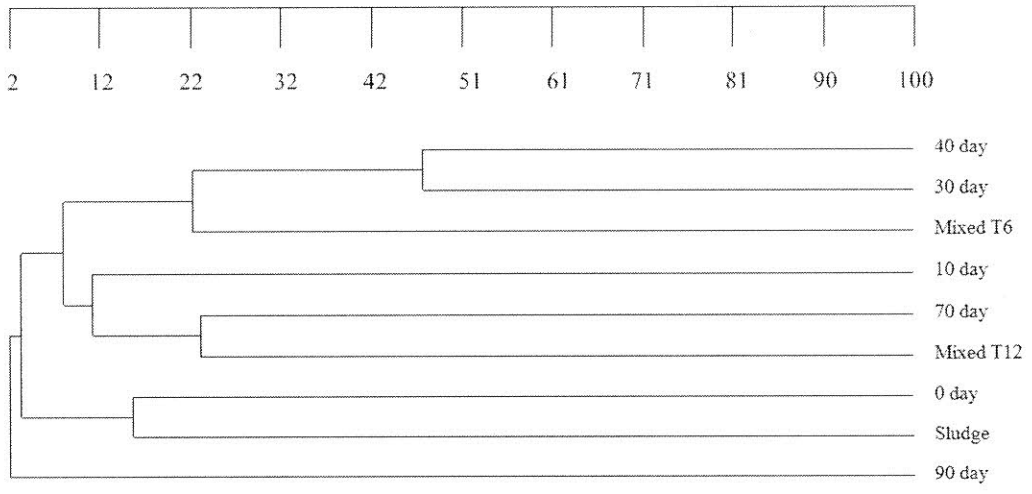
ตาราง 21 ค่า Shannon index (*H'*) และ richness (S) ของตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียผสม ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ และตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 6

ตัวอย่าง	Shannon index (*H'*)	Richness (S)
Mixed T6	1.871	8
Mixed T12	1.958	8
Sludge	2.973	21
0 day, T6	2.580	14
10 day, T6	2.232	10
30 day, T6	2.034	8
40 day, T6	2.406	12
70 day, T6	2.572	14
90 day, T6	2.497	13

จากภาพ 53 แสดงถึงการวิเคราะห์ความคล้ายคลึงกันของความหลากหลายของแบคทีเรีย หรือการเปรียบเทียบตำแหน่งแถบดีเอ็นเอบนเจล DGGE ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 6 ด้วยวิธี unweight pair group method with arithmetic (UPGMA) dendrogram พบว่า ความคล้ายคลึงของความเข้มแถบดีเอ็นเอ และตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอในแต่

ละตัวอย่างแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก คือ ช่วงเวลา 10, 30 และ 40 วัน มีค่าความคล้ายคลึงน้อยกว่าร้อยละ 20 ส่วนกลุ่มที่สอง คือ ตัวอย่างที่เก็บในช่วง 0 และ 90 วัน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ และกลุ่มแบคทีเรียผสมของชุดการทดลองที่ 6 อย่างไรก็ตามพบว่า ชุดการทดลองที่ 6 มีค่าความคล้ายคลึงกันของกลุ่มแบคทีเรียตลอดช่วงเวลาที่ศึกษาต่ำกว่าร้อยละ 10 นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างในช่วงเวลา 70 วัน มีความแตกต่างออกไปจากสองกลุ่มแรก ซึ่งสอดคล้องกับค่าพีเอชภายในระบบบำบัดน้ำเสียที่สามารถแบ่งได้ คือ กลุ่มแรก ช่วงเวลา 10, 30 และ 40 วัน พบว่าเป็นช่วงเวลาที่มีค่าพีเอชสูงเท่ากับ 8.49, 9.62 และ 9.55 กลุ่มที่สอง คือ ตัวอย่างที่เก็บในช่วง 0 และ 90 วัน พบมีค่าพีเอชเอท่ากับ 8.88 และ 9.01 ส่วนกลุ่มที่สาม ช่วง 70 วัน พบว่า มีค่าพีเอชต่ำเท่ากับ 6.27 จากผลการทดลองข้างต้นคาดว่าพีเอชมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในระบบบำบัดที่มีการเติมสัดส่วนแบคทีเรียผสมตามชุดการลองที่ 6

เมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละช่วงเวลาโดยคำนวณจากค่า Shannon index (H') และ Richness (S) พบว่า ตัวอย่างในช่วงเริ่มต้นการทดลอง (0 วัน) มีค่า Shannon index สูงสุด ($H'_{0\ day}$ = 2.580) และมีค่า Richness ของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 14 แถบ อย่างไรก็ตามหากเปรียบเทียบค่า Shannon index และ Richness กับตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นและที่ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นมีค่า Shannon index และค่า Richness สูงสุดถึง 2.973 และ 21 ตามลำดับ จากนั้นเมื่อมีการปรับสภาพระบบก่อนการเติมกลุ่มจุลินทรีย์พบว่า ดัชนีข้างต้นมีค่าที่ลดลงซึ่งจะเห็นได้จากในวันที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมของชุดการทดลองที่ 6 อีกทั้งยังมีค่าที่ลดลงตั้งแต่ช่วง 10 – 30 วัน และมีค่าเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วง 70 วันเป็นต้นไป ดังแสดงในตาราง 21 โดยความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียที่สูงในช่วงเริ่มต้นการทกลอง หรือช่วงที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียที่สนใจลงไป เกิดจากกลุ่มแบคทีเรียที่สนใจต่างชนิดกับแบคทีเรียที่มีอยู่ในตะกอนจุลินทรีย์ก่อนหน้านี้ ซึ่งเป็นตะกอนในช่วงที่ระบบมีปัญหา แต่เมื่อเวลาผ่านไปพบความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียลดลง ซึ่งคาดว่าเกิดจากแบคทีเรียภายในระบบมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ซึ่งแบคทีเรียให้กลุ่ม secondary utilizer จะเจริญขึ้นมาแทนที่แบคทีเรียกลุ่มแรกจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ความหลากหลายของแบคทีเรียลดลง



ภาพ 54 UPGMA dendrogram ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่ 12

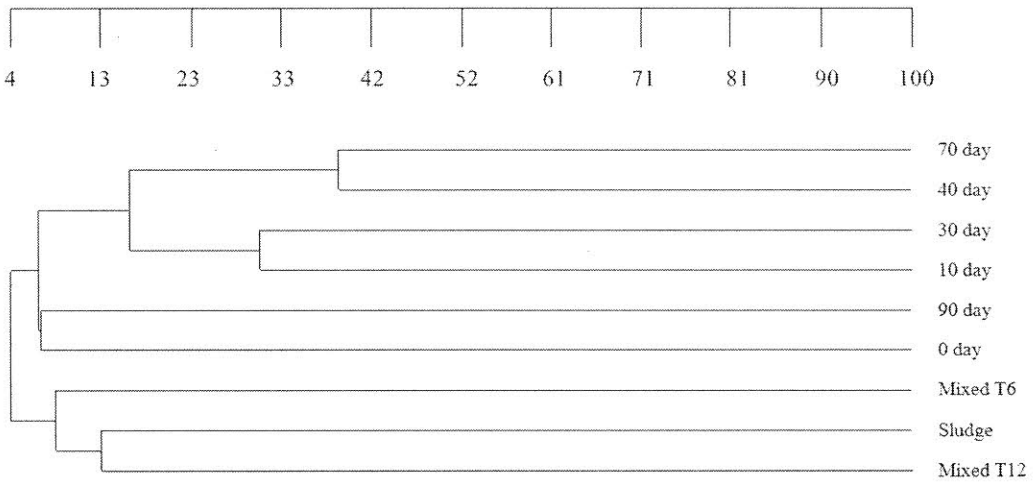
ตาราง 22 ค่า Shannon index (*H'*) และ richness (S) ของตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียผสม ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ และตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 12

ตัวอย่าง	Shannon index (*H'*)	Richness (S)
Mixed T6	1.871	8
Mixed T12	1.958	8
Sludge	2.973	21
0 day, T12	2.677	15
10 day, T12	2.339	11
30 day, T12	2.602	14
40 day, T12	2.446	12
70 day, T12	2.438	13
90 day, T12	2.102	11

จากภาพ 54 แสดงถึงการวิเคราะห์ความคล้ายคลึงกันของความหลากหลายของแบคทีเรีย หรือการเปรียบเทียบตำแหน่งแถบดีเอ็นเอบนเจล DGGE ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 12 ด้วยวิธี unweight pair group method with arithmetic (UPGMA) dendrogram พบว่า ความคล้ายคลึงของความเข้มแถบดีเอ็นเอ และตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอในแต่

ละตัวอย่างแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก คือ ช่วงเวลา 10, 30, 40 และ 70 วัน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับกลุ่มแบคทีเรียผสมของชุดการทดลองที่ 6 และ 12 อย่างไรก็ตามพบว่า กลุ่มตัวอย่างดังกล่าวมีค่าความคล้ายคลึงน้อยกว่าร้อยละ 10 ส่วนกลุ่มที่สอง คือ ตัวอย่างที่เก็บในช่วง 0 จะจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์มีค่าความคล้ายคลึงที่ต่ำกว่าร้อยละ 10 ส่วนตัวอย่างในช่วงเวลา 90 วัน มีความแตกต่างออกไปจากสองกลุ่มแรก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียสัมพันธ์กับค่าพีเอชภายในระบบ และประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี โดยกลุ่มแรก (10, 30, 40 และ 70 วัน) มีค่าพีเอชสูงสุดถึง 9.59 ส่วนกลุ่มที่สอง (0 วัน) และกลุ่มที่สาม (90 วัน) มีค่าพีเอชเท่ากับ 8.71 และ 8.25 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีพบว่ากลุ่มที่หนึ่งมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 94.88 ส่วนกลุ่มที่สองมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีต่ำสุดเท่ากับ 69.8 และกลุ่มที่สามมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีปานกลางเท่ากับร้อยละ 84.3 จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นคาดว่าค่าพีเอชภายในระบบ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรีย และประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียชุดการทดลองที่ 12

เมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่โดยคำนวณจากค่า Shannon index (H') และ Richness (S) พบว่า ตัวอย่างในวันที่ 0 มีค่า Shannon index สูงสุด ($H'_{90\ day}$ = 2.677) และมีค่า Richness ของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 15 แถบ ส่วนในช่วงวันที่ 90 มีค่า Shannon index และมีค่า Richness ต่ำสุด คือ $H'_{10\ day}$ = 2.102 และ $S_{30\ day}$ = 11 ดังแสดงในตาราง 22 โดยความหลากหลายของแบคทีเรียที่ลดลงภายหลังการเติมกลุ่มแบคทีเรียเกิดจากการปรับสภาวะเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 6



ภาพ 55 UPGMA dendrogram ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในชุดควบคุม

ตาราง 23 ค่า Shannon index (*H'*) และ richness (S) ของตัวอย่างกลุ่มแบคทีเรียผสม ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเอสบีอาร์ และตะกอนจุลินทรีย์จากชุดควบคุม

ตัวอย่าง	Shannon index (*H'*)	Richness (S)
Mixed T6	1.871	8
Mixed T12	1.958	8
Sludge	2.973	21
0 day, Control	2.083	10
10 day, Control	1.790	8
30 day, Control	2.307	14
40 day, Control	2.133	11
70 day, Control	2.040	10
90 day, Control	2.392	12

เมื่อทำการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละช่วงเวลาจากค่า Shannon index (*H'*) และ Richness (S) พบว่า ตัวอย่างในช่วง 30 วัน มีค่า Shannon index สูงสุด ($H'_{0\ day}$ = 2.307) และมีค่า Richness ของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏจำนวน 14 แถบ อย่างไรก็ตามหากเปรียบเทียบค่า Shannon index และ Richness กับตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น และที่ช่วงเวลาต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นมีค่า Shannon index และค่า Richness สูงสุดถึง 2.973 และ 21 ตามลำดับ ส่วนช่วงวันที่ 10 มีค่า Shannon index และ Richness ต่ำสุด คือ $H'_{0\ day}$ = 1.790 และ $S_{10\ day}$ = 8 ดังแสดงในตาราง 23

จากภาพ 55 แสดงถึงการวิเคราะห์ความคล้ายคลึงกันของความหลากหลายของแบคทีเรีย จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบจำลองเอสบีอาร์ชุดควบคุม ด้วยวิธี unweight pair group method with arithmetic (UPGMA) dendrogram พบว่า ความคล้ายคลึงของความเข้มแถบดีเอ็นเอ และตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอในแต่ละตัวอย่างแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก คือ ช่วงเวลา 10, 30, 40 และ 70 วัน ที่พบว่ามีค่าความคล้ายคลึงน้อยกว่าร้อยละ 20 ส่วนกลุ่มที่สอง คือ ตัวอย่างที่เก็บในช่วง 0 และ 90 วัน ที่พบว่ามีค่าความคล้ายคลึงน้อยกว่าร้อยละ 10 และกลุ่มที่ 3 คือ ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ของระบบเอสบีอาร์ แบคทีเรียผสมของชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 12 จากผลการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียเปลี่ยนแปลงตามค่าพีเอช

ภายในระบบ โดยกลุ่มที่หนึ่งพบว่าเป็นกลุ่มที่มีค่าพีเอชสูง เฉลี่ยเท่ากับ 9.42 ส่วนกลุ่มที่สองมีค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ 8.79

จากผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียข้างต้นจะเห็นได้ว่าค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงภายในระบบบำบัดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหลากหลาของประชากรแบคทีเรียของทั้งสามชุดการทดลอง ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ได้กล่าวว่า กิจกรรมของจุลินทรีย์อาจได้รับผลกระทบจากค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของสภาวะของระบบทางกายภาพ และเคมีจึงส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน (Yu and Mohn, 2001)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

จากการติดตามประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปการเกษตร พบว่า ประสิทธิภาพของระบบจะมีความแปรผันตามคุณลักษณะของน้ำเสียเข้าระบบ ปริมาณสารอินทรีย์ และน้ำเสียเข้าระบบ นอกจากนี้จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรแบคทีเรียของตะกอนจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR - DGGE พบว่า ลักษณะของกลุ่มแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณน้ำเสีย และอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์เข้าระบบ

จากผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียสามารถคัดเลือกแบคทีเรียชนิดเด่นที่พบได้ตลอดทั้งปี และมีความสามารถในการกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสียได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Sphingomonas terrae*, *Flavobacterium granuli*, *Pseudomonas* sp., *Acidovorax soli* และ *Thuaera butanivorans* ซึ่งถูกนำมาศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะ และอัตราการใช้สับสเตรทในน้ำเสียสังเคราะห์ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด คือ *Thuaera butanivorans*

ผลการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และโปรติเอส พบว่าแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูงสุด คือ *T. butanivorans* (285.0 ไมโครโมล ต่อนาที) ส่วน *F. granuli* มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดเท่ากับ 89.10 ไมโครโมล ต่อนาที

แบคทีเรียที่สนใจถูกนำมาออกแบบการทดลองแบบ ½ factorial design ได้จำนวนชุดการทดลองทั้งหมด 19 ชุดการทดลอง และนำสัดส่วนที่ได้จากการออกแบบไปทดสอบการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่มีความสามารถในการกำจัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์สูงสุดร้อยละ 83 ได้แก่ ชุดการทดลองที่ 6, 7, 10, 12 และ 18

การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงร่วมกับตะกอนจุลินทรีย์ระดับห้องปฏิบัติการของชุดการทดลองที่ 6, 7, 10, 12 และ 18 พบว่า ชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลอง12 ให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงสุดร้อยละ 67.7 เนื่องจากมีสัดส่วนของแบคทีเรีย *S. terrae* และ *Pseudomonas* sp. สูง โดยแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีปฏิสัมพันธ์ร่วมเชิงบวกที่ในการกำจัดสารอินทรีย์

การทดสอบ และติดตามประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจริงภายใต้ถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ ของสัดส่วนแบคทีเรียในชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 12 ซึ่งเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสัดส่วนแบคทีเรีย พบว่า ทั้งสามชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 84.7 ± 11.4, 84.6 ± 10.9 และ 84.3 ± 12.5 ตามลำดับ ซึ่งประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของทั้งสามชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน (ANOVA, P value > 0.05) อย่างไรก็ตามในสภาวะที่น้ำเสียเข้าระบบมีความผันแปรของอัตราส่วน F/M ratio ที่ลดลง พบว่า ชุดการทดลองที่ 12 สามารถรักษาเสถียรภาพของระบบได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม อีกทั้งยังพบว่าชุดการทดลองที่ 12 และชุดการทดลองที่ 6 ช่วยส่งเสริมกระบวนการกำจัดไนโตรเจนในระยะเวลาที่สั้นกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ชุดการทดลองที่ 12 ชุดการทดลองที่ 6 มีประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตสูงกว่าชุดควบคุม

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียด้วยเทคนิค PCR-DGGE ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์จำลองระบบเอสบีอาร์ พบว่า ชุดการทดลองที่ 6 และชุดการทดลองที่ 12 มีความหลากหลายของแบคทีเรียในระบบสูงกว่าชุดควบคุม โดยชุดการทดลองที่มีค่า Shannon index (*H'*) สูงสุดได้แก่ ชุดการทดลองที่ 12 ชุดการทดลองที่ 6 และชุดควบคุม (2.677, 2.580 และ 2.392 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามพบว่า แบคทีเรียชนิดเด่นที่เติมลงไปมีความเข้มของแถบดีเอ็นเอจางลงซึ่งคาดว่าเกิดจากกลไกการอยู่ร่วมกันของกลุ่มจุลินทรีย์ จากผลการวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าการเติมกลุ่มแบคทีเรียที่เหมาะสมเพิ่มในระบบสามารถปรับสภาวะของระบบให้มีความเสถียรภาพ และเพิ่มความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมแปรรูปเกษตรได้

บรรณานุกรม

กรมควบคุมมลพิษ. 2539. มาตรฐานคุณภาพน้ำ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html. (12 สิงหาคม 2558).

กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2547. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.diw.go.th/hawk/law/water/00054468.pdf. (12 สิงหาคม 2558).

จาตุรนต์ จันทร์ดี และ ณฐา คุปตัษเฐียร. 2554. การวิเคราะห์ปัจจัยในการเจาะแผ่นวงจรอิเล็กทรอนิกส์ด้วยเทคนิคการออกแบบการทดลอง. น. 927-934. ใน **การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการประจำปี 2554.**

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. **การกำจัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสทางชีวภาพ**. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 663 น.

ธีระ เกรอต. 2539. **วิศวกรรมน้ำเสีย การบำบัดทางชีวภาพ**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 606 น.

ปรเมศ ชุติมา. 2545. **การออกแบบการทดลองทางวิศวกรรม**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 542 น.

พิศมัย หาญมงคลพิพัฒน์. 2547. **สถิติและการวางแผนการทดลองทางการเกษตร**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 314 น.

เพ็ญพิสุทธิ์ ทองหยวก. 2555. **การศึกษาปัจจัยในการพ่นพอกด้วยความร้อนที่เหมาะสมต่อสมบัติเชิงกลของผิวงานพ่นพอกด้วยความร้อนชนิด WIRE ARC SPRAY ด้วยวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 420.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปกร. 105 น.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2542. **เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 245 น.

วีรานุช หลาง. 2554. **จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 166 น.

สุกัญญา สุนทรรส และ วิเชียร ริมพาณิชยกิจ. 2547. **ชีวโมเลกุล**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 305 น.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2548. **จุลชีววิทยาของน้ำเสีย**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 266 น.

Abdulgader, M. E., Q. J. Yu, P. Williams and A. A. L. Zinatizadeh. 2007. A review of the performance of aerobic bioreactors for treatment of food processing wastewater. 1131-1136 pp. In. **Proceedings of the International Conference on Environmental Management, Engineering, Planning and Economics**. Skiathos.

Akarsubasi, A. T., O. Ince, N. A. Oz, B. Kirdar and B. K Ince. 2006. Evaluation of performance, acetoclastic methanogenic activity and archaeal composition of full-scale UASB reactors treating alcohol distillery wastewaters. **Process Biochemistry** 41, 1: 28-35.

Amann, R. I., W. Ludwig and K. H. Schleifer. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. 59 (1) : 143-179.

Andersson, S. 2009. **Characterization of Bacterial Biofilm for Wastewater Treatment**. Stockholm: Royal Institute of Technology. 63 p.

Anggraaeni, P. N., I. B. W Gunam and Kawuri, R. 2014. Potential bacterial consortium to increase the effectiveness of beer wastewater treatment. **Current World Environment** (9)2: 312-320.

Arp, D. J., C. M.Yeager and Hyman, M. R. 2001. Molecular and cellular fundamentals of aerobic cometabolism of trichloroethylene. **Biodegradation** 12: 81-103.

Aslam, Z., W. T. Im, M. K. Kim and Lee, S. T. 2005. *Flavobacterium granuli* sp. nov., isolated from granules used in a wastewater treatment plant. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 55: 747-751.

Batstone., D. J., J. Keller and L. L. Blackall. 2004. The influence of substrate kinetics on the microbial community structure in granular anaerobic biomass. **Water Research** 38: 1390-1404.

Bae, H., J. H. Park, K. S. Jun and J. Y. Jung. 2011. The community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in wastewater treatment plants revealed by the combination of double labeled T-RFLP and sequencing. **Journal of Environmental Science and Health** (46)4: 345-354.

Bitton, G. 2005. **Wastewater Microbiology**. 3 rd ed. Wiley Liss, Hoboken, NJ., 746 p.

Bitton, G. 1994. **Wastewater Microbiology**. John Wiley and Sons, Inc., New York, 478 p. Cited by Krishnaswamy, U., M. Muthusamy and L. Perumalsamy. 2009. Studies on the efficiency of the removal of phosphate using bacterial consortium for the biotreatment of phosphate wastewater. **European Journal of Applied Sciences** 1(1): 6-15.

Briones, A. and L. Raskiny. 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability. **Current Opinion in Biotechnology** (14)3: 270-276.

Buzzini, A. P., I. K. Sakamoto, M. B. Varesche and E. C. Pires. 2006. Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. **Process Biochemistry** (41)1: 168-176.

Cancino, B., L. Silva and J. Contreras. 2004. In. Membrane and chemical–physical treatment in the waste of corn starch. **Euromembrane Congress**. Hamburg, Germany. Cited by Madariaga, B. C. and J. Aguirre. 2011. Combination treatment of corn starch wastewater by sedimentation, microfiltration and reverse osmosis. **Desalination** 279: 285-290.

Cappello, S., R. Denaro, M. Genovese, L. Giuliano and M. M. Yakimov. 2007. Predominant growth of Alcanivorax during experiments on oil spill bioremediation in mesocosms. **Microbiological Research** 162: 185-190.

Chan, O. C., W. T. Liu and H. H. P. Fang. 2001. Study of microbial community of brewery-treating granular sludge by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rRNA gene. **Water Science and Technology** 43: 77-82.

Chamorro, S., C. R. Xavier, V. Hernández, J. Becerra and G. Vidal. 2009. Aerobic removal of stigmasterol contained in kraft mill effluents. **Electronic Journal of Biotechnology** 12(2): 1-7.

Choi, J. H., M. S. Kim, S. W. Roh and J. W. Bae. 2010. *Acidovorax soli* sp. nov., isolated from landfill soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 60: 2715-2718.

Chen, Y., C. J. Lin, G. Jones, S. Fu and H. Zhan. 2009. Enhancing biodegradation of wastewater by microbial consortia with fractional factorial design. **Journal of Hazardous Materials** 171: 948-953.

Christensson, M., L. L. Blackall and T. Welander. 1998. Metabolic transformations and characterisation of the sludge community in an enhanced biological phosphorus removal system. **Applied Microbiology and Biotechnology** 49: 226-234.

Chunyang, Z., Z. Congju, L. Jianguang and H. Lichao. 2011. Research progress on corn starch wastewater treatment process. **New Technology of Agricultural Engineering (ICAE)**. 620-625.

Cloete, T. E. and N. Y. O. Muyima. 1997. Biodiversity and microbial interaction in the biodegradation of organic compound. *Microbial Community Analysis, The key to the design of biological wastewater treatment system*. In. England: Internaitional Association on water quality.

Conley, D. J., H. W. Paerl, R. W. Howarth, D. F. Boesch, S. P. Seitzinger, K. E. Havens, C. Lancelot and G. E. Likens. 2009. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. **Science** 324: 1014-1015.

Corvini, P. F. X., R. Meesters, M. Mundt, A. Schäffer, B. Schmidt, H. F. Schröder, W. Verstraete, R. Vinken and J. Hollender. 2007. Contribution to the detection and identification of oxidation metabolites of nonylphenol in Sphingomonas sp Strain TTNP3. **Biodegradation** 18(2): 233-245.

Dagley, S. 1975. A biochemical approach to some problems of environmental pollution. **Essays in Biochemistry**. 11: 81-138. Cited by Cloete, T. E. and N. Y. O. Muyima. 1997. Biodiversity and microbial interaction in the biodegradation of organic compound. *Microbial Community Analysis, The key to the design of biological wastewater treatment system*. In. England: Internaitional Association on water quality.

Dague, R. E. 1981. Inhibition of nitrogenous BOD and treatment plant performance evaluation. **Water Pollution Control Federation** 53(12): 1738-1741. Cited by Bitton, G. 2005. **Wastewater Microbiology** 3 rd. Edition, Wiley Liss, Hoboken, NJ., 746 p.

Dolinsek, J., L. I. Fau, W. Wolfgang, W. Michael and D. Holger. 2013. Interactions of nitrifying bacteria and heterotrophs: identification of a Micavibrio-like putative predator of Nitrospira spp. **Applied and Enviromental Microbiololy** 79(6): 1098-5336.

Dubbels, B. L., L. A. Sayavedra-Soto, P. J. Bottomley and D. J. Arp. 2009. *Thauera butanivorans* sp. nov., a C2-C9 alkane-oxidizing bacterium previously referred to as *Pseudomonas butanovora.* **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 59: 1576-1578.

Egli, K., F. Bosshard, C. Werlen, P. Lais, H. Siegrist and A. J. Zehnder. 2003. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. **Microbial Ecology** 45: 419-432.

Egli, K., U. Fanger, P. J. Alvarez, H. Siegrist, J. R. Meer and A. J. Zehnder. 2001. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. **Arch Microbiology** 175: 198-207.

Eliosov, B. and Y. Argaman. 1995. Hydrolysis of particulate organics in activated-sludge systems. **Water Research** 29(1): 155-163. Cited by Morgenroth, E., R. Kommedal and P. Harremoës. 2002. Processes and modeling of hydrolysis of particulate organic matter in aerobic wastewater treatment a review. **Water Science and Technology** 45(6): 23-40.

EPA. 1999. **Wastewater Technology Fact Sheet Sequencing Batch Reactors**. [Online]. Available http://water.epa.gov/scitech/wastetech/upload/2002_10_31_mtb_sbr_new.pdf. (5 Agust 2015).

Fang, H. H. P., D. W. Liang and T. Zhang. 2007. Aerobic degradation of diethylphthalate by Sphingomonas sp. **Bioresource Technology** 98: 717-720.

Fernandes, H., M. K. Jungles, H. Hoffmann, R. V. Antonio and R. H. R. Costa. 2013. Full-scale sequencing batch reactor (SBR) for domestic wastewater: Performance and diversity of microbial communities. **Bioresource Technology** 132: 262-268.

Fischer, S. G. and L. S. Lerman. 1983. DNA fragments differing by single base pair substitutions are separated in denaturing gradient gels: correspondence with melting theory. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 80: 1579-1583.

Fred, D. **What' s our Food Made of ?** ***Food for Live*** 1975. New York: Plenum Press. 113 p.

Fredriksson, J. 2013. **Investigations of the microbial diversity and dynamics in activated sludge using molecular methods.** Doctoral of Philosophy. Chalmers University of Technology. 27 p.

Fujita, M. and Ike, M. 1994. Wastewater treatment using genetically engineered microorganisms, U.S.A.: Technomic Publishing Co., 177 p.

Garrity, G. M. and J. G. Holt. 2001. **The Road Map to the Manual. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2nd ed. Springer, New York. 119-155 p.

Geok, L. P., C. N. A. Razak, R. N. Z.Abd Rahman, M. Basri and A. B. Salleh. 2003. Isolation and screening of an extracellular organic solvent-tolerant protease producer. **Biochemical Engineering Journal** 13(1): 73-77.

Goel, R., T. Mino, H. Satoh and T. Matsuo. 1998. Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor. **Water Research** 32(7): 2081-2088.

Goncalves, I. C., S. Penha, M. Matos, A. l. R. Santos, F. Franco and H. M. Pinheiro. 2005. Evaluation of an integrated anaerobic/aerobic SBR system for the treatment of wool dyeing effluents. Purification of wool dyeing effluent in a SBR. **Biodegradation**. 16(1): 81-89.

Guven, D., K. v. d. Pas-Schoonen, M. C. Schmid, M. Strous, M. S. Jetten and S. Sozen. 2004. Implementation of the anammox process for improved nitrogen removal. **Journal of Environmental Science and Health** 39: 1729-1738.

Govoreanu, R., D. Seghers, I. Nopens, B. D. Clercq, H. Saveyn, C. Capalozza, P. V. d. Meeren, W. Verstraete, E. Top and P. A. Vanrolleghem. 2003. Linking floc structure and settling properties to activated sludge population dynamics in an SBR. **Water Science and Technology** 47(12): 9-18.

Guo, Q., W. Kong, S. Jin, L. Chen, Y. Xu and K. Duan. 2014. PqsR-dependent and PqsR-independent regulation of motility and biofilm formation by PQS in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Journal of Basic Microbiology** 54(7): 633–643.

Hank, D., N. Saidani, A. Namane and A. Hellal. 2010. Batch phenol biodegradation study and application of factorial experimental design. **Journal of Engineering Science and Technology Review** 3(1):123-127.

Hesham, A. E. L., R. Qia and M. Yang. 2011. Comparison of bacterial community structures in two systems of a sewage treatment plant using PCR-DGGE analysis. **Journal of Environmental Sciences** 23(12): 2049-2054.

Heylen, K., L. Liesbeth and D. V. Paul. 2008. *Acidovorax caeni* sp. nov., a denitrifying species with genetically diverse isolates from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 58(1): 73-77.

Hesnawia, R., K. Dahmanib, A. Al-Swayahb, S. Mohamedb and S. A. Mohammed. 2014. Biodegradation of municipal wastewater with local and commercial bacteria **Procedia Engineering** 70: 810-814.

Hiraishi, A., K. Masamune and H. Kitamura. 1989. Characterization of the bacterial population structure in an anaerobicaerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles. **Applied Environmental Microbilogy** 55: 897–901.

Hoffmann, H., T. B. Costa, D. B. Wolff, C. Platzer and R. H. R. Costa. 2007. The potential of denitrification for the stabilization of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50(2): 329-337.

Ito, T., S. Okabe, H. Satoh and Y. Watanabe. 2002. Successional development of sulfate-reducing bacterial populations and their activities in a wastewater biofilm growing under micro-aerophilic conditions. **Applied Environmental Microbiology** 68: 1392-1402.

Jadhav, S. U., U. U. Jadhav, V. V. Dawkar and S. P. Govindwar. 2008. Biodegradation of disperse dye brown 3REL by microbial consortium of Galactomyces Geotrichum TCC 1360 and *Bacillus* sp. **Biotechnology and Bioprocess Engineering** 13: 232-239. Cited by Anggraaeni, P. N., I. B. W Gunam and Kawuri, R. 2014. Potential

bacterial consortium to increase the effectiveness of beer wastewater treatment. **Current World Environment** (9)2: 312-320.

Jang, H. M., J. W. Lee, J. H. Ha and J. M. Park. 2013. Effects of organic loading rates on reactor performance and microbial community changes during thermophilic aerobic digestion process of high-strength food wastewater. **Bioresource Technology** 148: 261-269.

Jasmine, J. and S. Mukherji. 2014. Evaluation of bioaugmentation and biostimulation effects on the treatment of refinery oily sludge using 2(n) full factorial design. **Environmental Science Processes and Impacts** 18 (8): 1889-1896.

Jasti, N., S. K. Khanal, A. L. Pometto and J. H. van Leeuwen. 2006. Fungal treatment of corn processing wastewater in an attached growth system. **Water Practice andTechnology** 1 (3): 1-8.

Jenkins, D., M. G. Richard and G. T. Daigger. 1993. **Manual on the Causes and Control of Activated sludge Bulking, Foaming, and other Solids Separation Problems.** 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publisher. 236 p.

Jie, H., L. Daping, L. Qiang, T. Yong, H. Xiaohong, W. Xiaomei, L. Xudong and G. Ping. 2009. Effect of organic carbon on nitrification efficiency and community composition of nitrifying biofilms. **Journal of Environmental Sciences** 21: 387-394.

Jin, Y. X., D. H. Ding, C. P. Feng, S. Tong, T. Suemura and F. Zhang. 2012. Performance of sequencing batch biofilm reactors with different control systems in treating synthetic municipal wastewater. **Bioresource Technology** 104: 12-18.

Juretschko, S., A. Loy, A. Lehner, and M. Wagner. 2002. The microbial community composition of a nitrifying-denitrifying activated sludge from an industrial sewage treatment plant analyzed by the full cycle rRNA approach. **Systematic and Applied Microbiology** 25: 84-99.

Kanagawa, T., Y. Kamagata, S. Aruga, T. Kohno, M. Horn and M. Wagner. 2002. Phylogenetic analysis of and oligonucleotide probe development for Eikelboom type 021N filamentous bacteria isolated from bulking activated sludge. **Applied Environmental Microbilogy** 66: 5043-5052.

Kanimozhi, R. and N. Vasudevan. 2014. Effect of organic loading rate on the perfperformance of aerobic SBR treating anaaerobically digested distillery wastewater. **Clean Technology and Environmental Policy** 16: 467-476.

Karahan, O., M. C. M. van Loosdrecht and D. Orhon. 2006. Modeling the utilization of starch by activated sludge for simultaneous substrate storage and microbial growth. **Biotechnology and Bioengineering** 94: 43-53. Cited by Xia, Y., Y. Kong and P. H. Nielsen. 2008. In situ detection of starch-hydrolyzing microorganisms inactivated sludge. **Federation of European Microbiological** 66: 462-471.

Khan, M. A. and S. M. Faheem. 2013. Monitoring bacterial diversity in a full-scale municipal wastewater treatment plant in Dubai by fluorescence in situ hybridization technique. **International Journal of Envoronmental Research** 7(2): 479-484.

Krishnaswamy, U., M. Muthusamy and L. Perumalsamy. 2009. Studies on the efficiency of the removal of phosphate using bacterial consortium for the biotreatment of phosphate wastewater. **European Journal of Applied Sciences** 1(1): 6-15.

Kumar, V. J. R., V. Sukumaran, C. Achuthan, V. Joseph, R. Philip and I. S. B. Singh. 2013. Molecular characterization of the nitrifying bacterial consortia employed for the activation of bioreactors used in brackish and marine aquaculture systems. **International Biodeterioration and Biodegradation** 78: 74-81.

Kwok, S., D. E. Kellogg and N. McKinney. 1990. Effects of primertemplate mismatches on the polymerase chain reaction: human immunodeficiency virus type 1 model studies. **Nucleic Acids Research** 18: 999-1005.

Ladu, J. L. C. and L. Xiwu. 2014. Effect of hydraulic retention time and wastewater temperature on treatment efficiency of upflow anaerobic filter treating campus domestic wastewater. **Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology** 7: 1184-1190.

LaPara, T. M., C. H. Nakatsu, L. Pantea and J. E. Alleman. 2000. Phylogenetic analysis of bacterial communities in mesophilic and thermophilic bioreactors treating pharmaceutical wastewater. **Applied Environmental Microbilogy** 66: 3951-3959.

Lever, M. (2010). **Operator's Giude to Activated Sludge Bulking.** [Online]. Available http://www.wioa.org.au/conference_papers/10_qld/documents/michaellever.pdf (5 August 2015).

Li, A. j., S. f. Yang, X. y. Li and J. d. Gu. 2008. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. **Water Research** 42: 3552-3560.

Li, Y. and R. J. Chrost. 2006. Microbial enzymatic activities in aerobic activated sludge model reactors. **Enzyme and Microbial Technology** 39: 568–572.

Lighthart, B. and G. A. Loew. 1972. Identification key for bacteria clusters from an activated sludge plant. **Water Pollution Control Federation** 44(11): 2078-2085.

Liu, W, A. T. Nielsen, J. Wu, C. Tsai, Y. Matsuo and S. Molin. 2001. *In situ* identification of poly-P and polyhydroxyalkanoate-accumulating traits for microbial populations in a biological phosphorus removal process. **Environmental Microbiology** 2: 110–22.

Lukiema, L. 1969. Factos affecting pH change in alkaline watewater treatment plant. **Water Research Pergamon Press** 3: 913-930.

Mariano, A. P., A. P. d. A. G. Kataoka and D. d. F. d. Angelis. 2007. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. **Brazlian Journal of Microbiology** 38: 346-353.

Metcalf and Eddy. (2004). Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse. 4th ed. New York: McGraw-Hill. 716 p. Cited by Lateef, A., M. N. Chaudhry and S. Ilyas. 2013. Biological treatment of dairy wastewater using activated sludge. **Science Asia** 39: 179-185.

Mielczarek, A. T., C. Kragelund, P. S. Eriksen and P. H. Nielsen. 2012. Population dynamics of filamentous bacteria in Danish wastewater treatment plants with nutrient removal. **Water Reaerch** 46: 3781-3795.

Mihailova, A., O. Muter, S. Strikauska, B. Limane and U. Berzins. 2008. Comparison of the effect of various amendments on the growth of the targeted bacteria association and ammonia biodegradation. In International Conference Environmental Engineering 7th. Vilnius Gediminas Technical University. Cited by Muter, O., A. Mihailova, A. Berzins, K. Shvirksts, A. Patmalnieks, S. Strikauska and M. Grube. 2014. Optimization of nitrification process by a bacterial consortium in the submerged biofiltration system with ceramic bead carrier. **Microbial and Biochemical Technology** 6(3): 148-153.

Molecular approaches for microbial community analysis. [Online]. Available http://wiki.biomine.skelleftea.se/biomine/molecular/index_11.htm (14 August 2015).

Morgenroth, E., R. Kommedal and P. Harremoës. 2002. Processes and modeling of hydrolysis of particulate organic matter in aerobic wastewater treatment a review. **Water Science and Technology** 45(6): 23-40.

Moreno, Y., L. Ballesteros, J. Garcıa-Hernandez, P. Santiago, A. Gonzalez and M. A. Ferrus. 2011. Specific detection of viable Listeria monocytogenes in Spanish wastewater treatment plants by Fluorescent In Situ Hybridization and PCR. **Water Reaerch** 45: 4634-4640.

Moura, A., T. Marta, I. Henriques, J. Dias, P. Ferreira and A. Correia. 2009. Characterization of bacterial diversity in two aerated lagoons of a wastewater treatment plant using PCR–DGGE analysis. **Microbiological Research** 164: 560-569.

Muda, K., A. Aris, M. R. Salim and Z. Ibrahim. 2013. Sequential Anaerobic-Aerobic Phase Strategy Using Microbial Granular Sludge for Textile Wastewater Treatment. Biomass Now - Sustainable Growth and Use. [Online]. Available http://www.intechopen.com/books/biomass-now-sustainable-growth-and use/sequential-anaerobic-aerobic-phase-strategy-using-microbial-granular sludgefor-textile-wastewater-t

Muyzer, G. and K. Smalla. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. **Antonie Van Leeuwenhoek** 73(1): 127-141.

Muyzer, G., E. C. d. Waal and A. G. Uitterlinden. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied Environmental Microbilogy** 59(3): 659-700.

Myers, R. M., S. G. Fischer, T. Maniatis and L. S. Lerman. 1985. Modification of the melting properties of duplex DNA by attachment of a GC-rich DNA sequence as determined by denaturing gradient gel electrophoresis. **Nucleic Acids Research** 13: 3111-3129.

Nielsen, P. H., K. Raunkjñr, N. H. Norsker, N. A. Jensen and T. H. Jacobson. 1992. Transformation of wastewater in sewer systems-a review. **Water Science and Technology** 25: 17-31.

Onuki, M., H. Satoh, and T. Mino. 2002. Analysis of Microbial community that performs enhanced biological phosphorus removal in activates sludge. **Water Science and Technology** 46: 145 - 154.

Ovez, S., G. Eremektar, F. G. Babuna and D. Orhon. 2001. Pollution profile of a corn wet mill. **Fresenius Environmental Bulletin** 10(12): 539-544.

Paul, D. and S. N. Sinha. 2015. Biological removal of phosphate using phosphate solubilizing bacterial consortium from synthetic wastewater: a laboratory scale. **The international journal published by the Thai Society of Higher Education Institutes on Environment**. 8(1): 1-8).

Peng, J., Zhang, Y., Su, J., Qiu, Q., Jia, Z. and Zhu, Y.-G. 2013. Bacterial communities predominant in the degradation of 13C-4, 5, 9, 10-pyrene during composting. **Bioresource Technology** 143: 608-614.

Piterina, A. V. and J. T. Pembroke. 2013. Use of PCR-DGGE based molecular methods to analyse microbial community diversity and stability during the thermophilic stages of an ATAD wastewater sludge treatment process as an aid to performance monitoring. **ISRN Biotechnology** 2013: 1-13.

Pholchan, M. K., J. d. C. Baptista, R. J. Davenport and T. P. Curtis. 2010. Systematic study of the effect of operating variables on reactor performance and microbial diversity in laboratory-scale activated sludge reactors. **Water Research** 44(5): 1341-1352.

Pobeheim, H., B. Munk, J. Johansson and G. M. Guebitz. 2010. Influence of trace elements on methane formation from a synthetic model substrate for maize silage. **Bioresource Technology** 101: 836-839.

Pollard, P. C. and P. F. Greenfield. 1997. Measuring in situ bacterial specific growth rates (μ) and population dynamics in wastewater. **Water research** 31: 1074-1082.

Poltalk, R. F. 2005. **Sequencing batch reactor design and operational consideration**. [Online]. Available https://www.neiwpcc.org/neiwpcc_docs/sbr_manual.pdf. (12 August 2015)

Prakash, N. B. 2001. Biokinetic studies of Tannery effluent under aerobic oxidation process. **Journal of Scientific and Industrial Research** 60: 334-347.

Pregun, C. and C. Juhász. 2011. **Water Resources Management and Water Quality Protection**. [Online]. Available http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_vizkeszletgazdalkodas_es_vizminoseg/ch14s05.html. (12 August 2015)

Price, C. J., C. J. Moore and K. J. Friston. 1997. Subtraction, Conjunctions, and Interactions in experimental design of activation studies. **Human Brain Mapping** 5: 264-272.

Rahman, M. M., M. A. M. Salleh, U. Rashid, A. Ahsan, M. M. Hossain and C. S. Ra. 2014. Production of slow release crystal fertilizer from wastewaters through struvite crystallization – A review. **Arabian Journal of Chemistry** 7(1): 139-155.

Raunkjñr, K., T. H. Jacobson and P. H. Nielsen. 1994. Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipids in domestic wastewater. **Water Research** 28, 2: 251-262.

Ravishankar, R., P. Sindhu, M. Gnanadesigan, N. Manivannan and T. Saravannan. 2015. Peliminary analysis of tannery effluent treatment using microbial consortia. **Indian Journal of Microbiology Research** 2(1): 40-45.

Rene, E. R., M. S. Jo, S. H. Kim and H. S. Park. 2007. Statistical analysis of main and interaction effects during the removal of BTEX mixtures in batch conditions, using wastewater treatment plant sludge microbes. **International Journal of Environment Science and Technology** 4(2): 177-182.

Rittstieg, K., K. H. Robra and W. Somitsch. 2001. Aerobic treatment of a concentrated urea wastewater with simultaneous stripping of ammonia. **Applied Microbiology and Biotechnolog** 56: 820-825.

Sanz, J. L. and T. Kochling. 2007. Molecular biology techniques used in wastewater treatment: An overview. **Process Biochemistry** 42: 119-133.

Satoh, H., T. Mino and T. Matsuo. 1992. Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes. **Water Science and Technology** 26(6): 933-942.

Sayavedra-Soto, L. A., B. Gvakharia, P. J. Bottomley, D. J. Arp and M. E. Dolan. 2010. Nitrification and degradation of halogenated hydrocarbons e a tenous balance for ammonia oxidizing bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology** 86: 435-444.

Senthilkumar, P. K., C. Uma and P. Saranraj. 2012. Amylase production by *Bacillus* sp. using Cassava as substrate. **International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives** 3(2): 300-306.

Seshan, H., M. K. Goyal, M. W. Falk and S. Wuertz. 2014. Support vector regression model of wastewater bioreactor performance using microbial community diversity indices: Effect of stress and bioaugmentation. **Water Reaerch** 53: 282-296.

Shah, M. P. and K. A. Patel. 2014. Microbial decolorization and degradation of remazol black and mordant orange by microbial consortia isolated from common effluent treatment plant. **International Journal of Environmental Bioremediation and Biodegradation** 2(3): 117-124.

Shatoury, S. E., A. E. Baz, M. A. Daiem and D. E. Moayeri. 2014. Enhancing wastewater treatment by commercial and native microorganism inocula with factorial design. **Life Science Journal** 11, 7: 736-742.

Soderquist, M. R., G. I. Blanton and D. W. Taylor. 1972. **Characterization of Fruit and Vegetable Processing Wastewater**. Proceedings 3rd National Symposium on Food Processing Waste. National Environmental Research Centre.

Szilveszter, S., I. Miklossy, A. Meszaros, B. Abraham, B. Raduly, D. N. Robescu and S. Lanyi. 2010. Enzyme activity and distribution in activated sludge in a lab-scale sequencing batch reactor (SBR). **UPB Scientific Bulletin, Series B**. 72(2): 141-150.

Thompson, I. P., C. J. v. d. Gast, L. Ciric and A. C. Singer. 2005. Bioaugmentation for bioremediation the challenge of strain selection. **Environmental Microbiology** 7(7): 909-915. Cited by Anggraaeni, P. N., I. B. W Gunam and Kawuri, R. 2014. Potential bacterial consortium to increase the effectiveness of beer wastewater treatment. **Current World Environment** (9)2: 312-320.

Tonon, D., A. L. Tonetti, B. C. Filho and D. A. C. Bueno. 2015. Wastewater treatment by anaerobic filter and sand filter: Hydraulic loading rates for removing organic matter, phosphorus, pathogens and nitrogen in tropical countries. **Ecological Engineering** 82: 583-589.

van Lier J. B., F. P. van der Zee, N. C. Tan, S. Rebac, R. Kleerebeze. 2001. Advances in high-rate anaerobic treatment: staging of reactor systems. **Water Science and Technology** 44(8): 15-25.

Wagner, M., and R. Amann. 1996. In Microbial Community Analysis, T.E. Cloete, and N.Y.O. Muyima, Eds., IAWQ, London, pp. 61 - 72.

Wagner, M., A. Loy, R. Nogueira, U. Purkhold, N. Lee and H. Daims. 2002. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. **Antonie Van Leeuwenhoek** 81(1-4): 665-680.

Wahman, D. G., A. E. Henry, L. E. Katz and J. G. E. Speitel. 2006. Cometabolism of trihalomethanes by mixed culture nitrifiers. **Water Research** 40: 3349-3358.

Wang, X., X. Wen, C. Criddle, H. Yan, Y. Zhan and K. Ding. 2010. Bacterial community dynamics in two full-scale wastewater treatment systems with functional stability. **Journal of Applied Microbilogy** 109(4): 1218-1226.

Wang, X., Y. Xia, X. Wen, Y. Yang and J. Zhou. 2014. Microbial community functional structures in wastewater treatment plants as characterized by GeoChip. **PLOS ONE**. 9(3): 1-10.

Wegrzyn, A. and S. Zabczynski. 2014. Mornitroing of bacterial biodiversity in anaaerobic membrane bioreactor (AnMBRs) dealing with wastewater containing x-ray contrast media conpounds. **Environment Protection Engineering** 40(1): 151-164.

Wilén, B. M., D. Lumley, A. Mattsson and T. Mino. 2010. Dynamics in flocculation and settling properties studied at a full scale activated sludge plant. **Water Environment Research** 82(2): 155-168.

Wongputtisin, P., C. Khanongnuch, P. Pongpiachan and S. Lumyong. 2007. Antioxidant activity of soybean meal by microbial fermentation. **Microbiology** 2: 577-583.

Wu, W., J. Hu, X. Gu, Y. Zhao and H. Zhang. 1987. Cultivation of anaerobic granular sludge in UASB reactors with aerobic activated sludge as seed. **Water research** 21(7): 789-999.

Xin-chun, L., Z. Yu, Y. Min, W. Zhen-yu and L. V. Wen-zhou. 2007. Analysis of bacterial community structures in two sewage treatment plants with different sludge properties and treatment performance by nested PCR-DGGE method. **Journal of Environmental Sciences** 19: 60-66.

Xinkai, L., L. Qingbiao and C. Wenmou. 2004. Process conditions for synthetic starch wastewater treatment by SBR method. **Journal of Xiamen University(Natural Science)** 43(3): 376-380.

Xu, T., M. Xing, J. Yang, B. Lv, T. Duan and J. Nie. 2014. Tracking the composition and dominant components of the microbial community via polymerase chain reaction–denaturing gradient gel electrophoresis and fluorescence in situ hybridization during vermiconversion for liquid-state excess sludge stabilization. **Bioresource Technology** 167: 100-107.

Yang, S., F. Yang, Z. Fu and R. Lei. 2009. Comparison between a moving bed membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor on organic carbon and nitrogen removal. **Bioresource Technology** 100: 2369-2374.

Yu, Z. and W. W. Mohn. 2001. Bacterial diversity and community structure in an aerated lagoon revealed by ribosomal intergenic spacer analyses and 16S Ribosomal DNA sequencing. **Applied and Environmental Microbiology** 67(4): 1565-1574.

Yu, Z. and W. W. Mohn. 2001. Bacterial diversity and community structure in an aerated lagoon revealed by ribosomal intergenic spacer analyses and 16S Ribosomal DNA sequencing. **Applied and Environmental Microbiology** 67(4): 1565-1574. Cited by Moura, A., T. Marta, I. Henriques, J. Dias, P. Ferreira and A. Correia. 2009. Characterization of bacterial diversity in two aerated lagoons of a wastewater treatment plant using PCR–DGGE analysis. **Microbiological Research** 164: 560-569.

Zhu, G., Y. Peng, B. Li, J. Guo, Q. Yang and S. Wang. 2008. Biological removal of nitrogen from wastewater. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology** 192: 159-195. Cited by Zeng, W., X. Bai, L. Zhang, A. Wang and Y. Peng. 2014. Population dynamics of nitrifying bacteria for nitritation achieved in Johannesburg (JHB) process treating municipal wastewater. **Bioresource Technology** 162:30-37.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การสร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐานค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

1. เตรียมสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัม ต่อ มล. โดยการชั่ง L-tyrosine 0.10 กรัม และละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มล. จนละลาย จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 1,000 มล.

2. เติมสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัม ผสมกับน้ำกลั่นในหลอดการทดลองให้มีความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในตารางภาคผนวก ก1

3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.4 M ปริมาตร 5 มล. ลงในหลอดทดลองที่มี สารละลาย L-tyrosine และเขย่าให้เข้ากัน

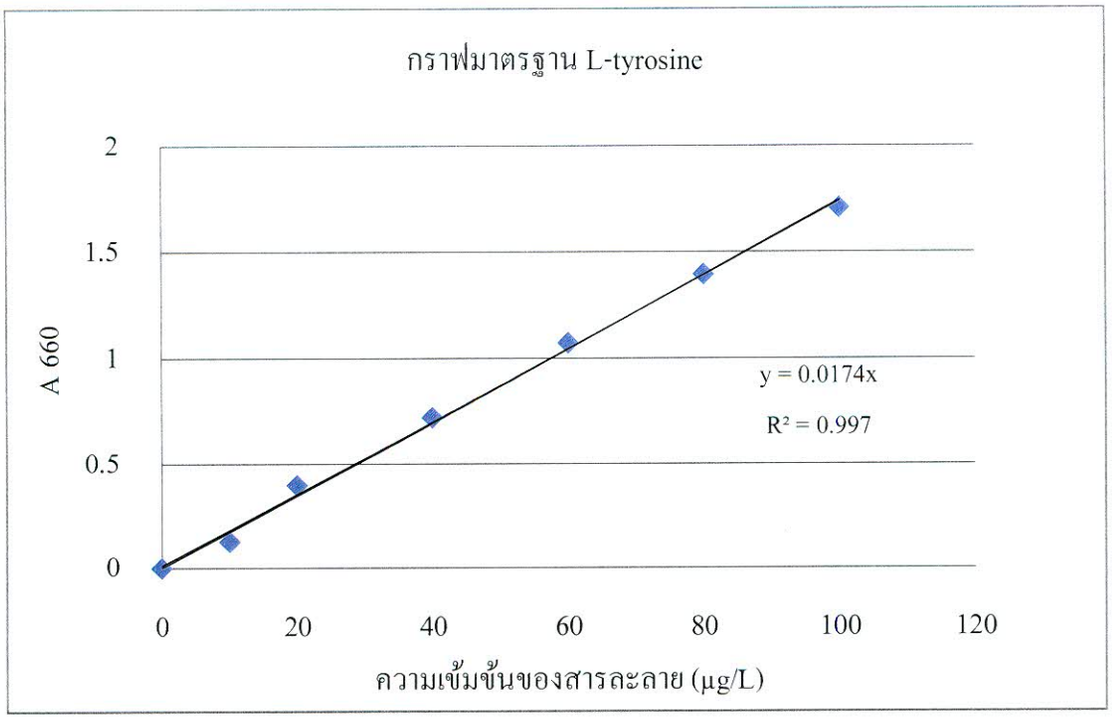
4. เติมสารละลายฟอลินปริมาตร 1 มล. และปล่อยให้ทำปฏิกิริยานาน 10 นาที

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยใช้หลอดที่เติมน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียวเป็นชุดควบคุม

6. สร้างกราฟมาตรฐานโดยกำหนดให้ แกน X คือ ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine และแกน Y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

ตารางภาคผนวก 1 การเตรียมสารละลาย L-tyrosine ความเข้มข้นต่าง ๆ

ปริมาณสารละลาย L-tyrosine (มล.)	ปริมาณน้ำกลั่น (มล.)	ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine (ไมโครกรัม ต่อ มล.)
0	1.0	0
0.2	0.8	20
0.4	0.6	40
0.6	0.4	60
0.8	0.2	80
1.0	0	100



ภาพภาคผนวก 1กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส

การสร้างกราฟมาตรฐานค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

1. เตรียมสารละลาย D-glucose เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม ต่อ มล. โดยชั่ง D-glucose 0.10 กรัม และละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มล. จนละลาย จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวม 100 มล.

2. เติมสารละลาย D-glucose เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม ผสมกับน้ำกลั่นในหลอดการทดลองให้มีความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในตารางภาคผนวก ก2

3. เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 2 มล.

4. ต้มให้เดือดนาน 15 นาที และทำให้เย็นลงทันที

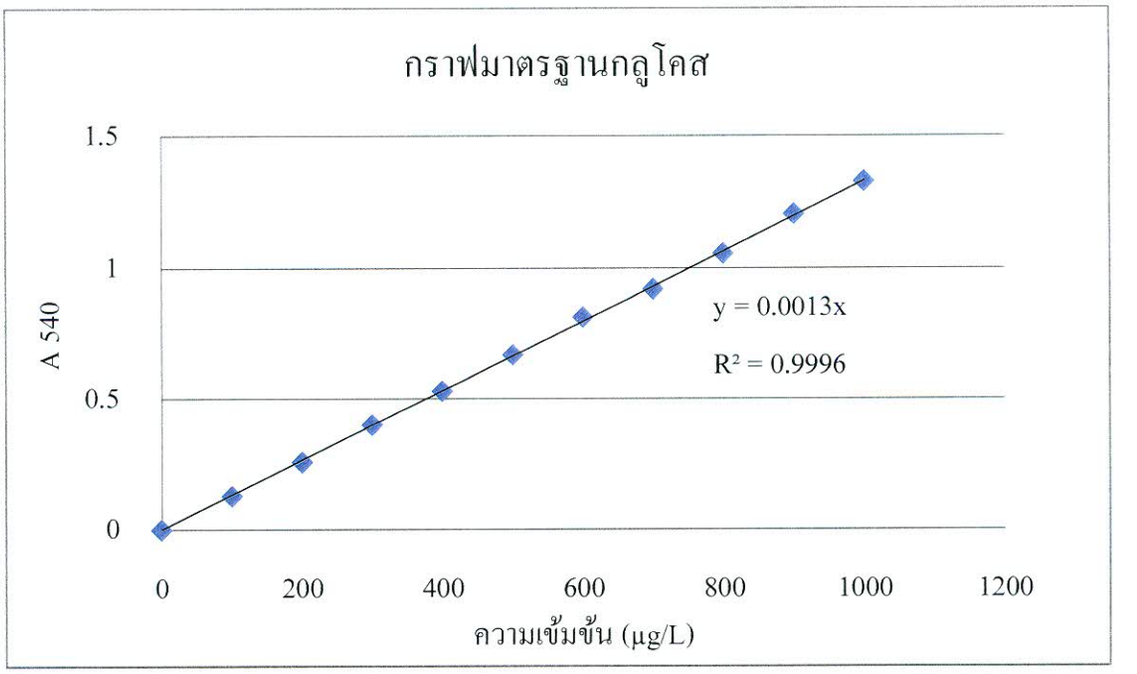
5. เติมสารละลาย 40% K-tartrate 1 มล.

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้หลอดที่เติมน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียวเป็นชุดควบคุม

7. สร้างกราฟมาตรฐานโดยกำหนดให้ แกน X คือ ความเข้มข้นของสารละลาย D-glucose และแกน Y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

ตารางภาคผนวก 2 การเตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ

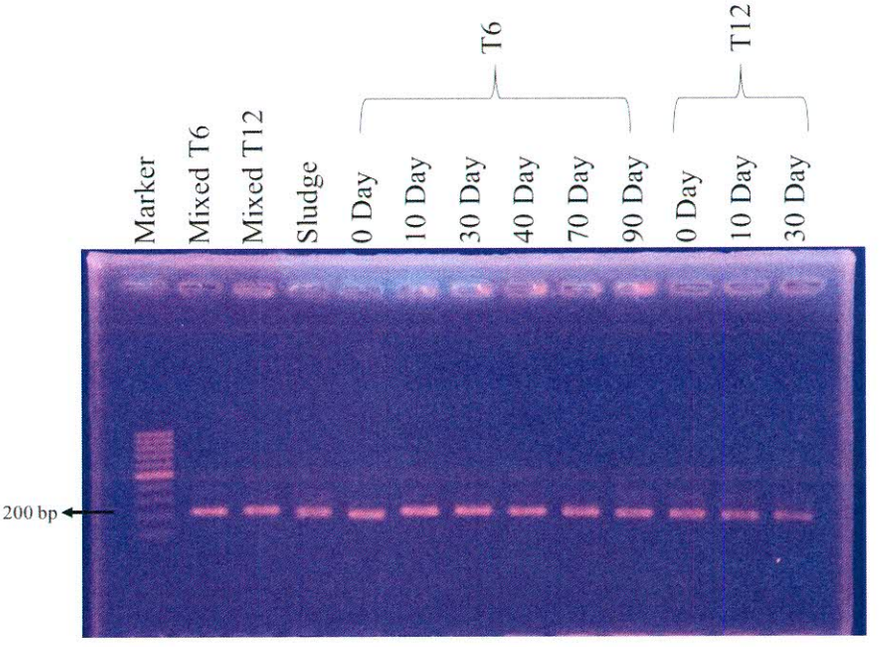
ปริมาณสารละลาย D-glucose (มล.)	ปริมาณน้ำกลั่น (มล.)	ความเข้มข้นของสารละลาย D-glucose (ไมโครกรัม ต่อ มล.)
0	1.0	0
0.1	0.9	100
0.2	0.8	200
0.3	0.7	300
0.4	0.6	400
0.5	0.5	500
0.6	0.4	600
0.7	0.3	700
0.8	0.2	800
0.9	0.1	900
1.0	0	1000



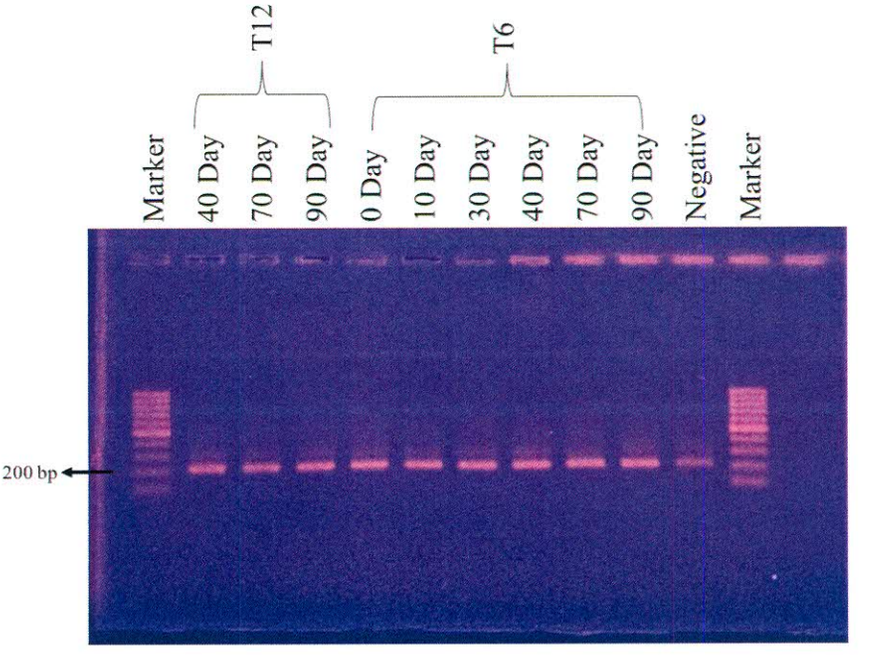
ภาพภาคผนวก 2 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์คุณภาพ และปริมาณ PCR-Product ด้วยเทคนิค Gel Electrophoresis



ภาพภาคผนวก 3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพ และปริมาณ PCR-product ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ ในการทดสอบในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Gel-Electrophoresis

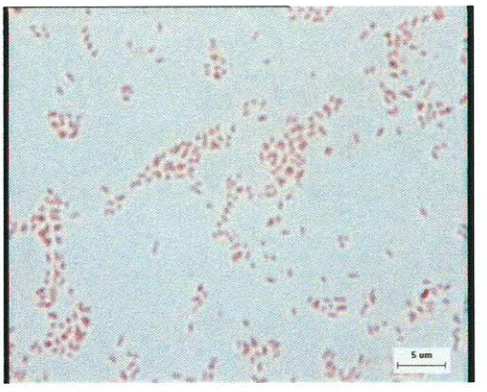


ภาพภาคผนวก 4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพ และปริมาณ PCR-product ของตัวอย่าง ตะกอนจุลินทรีย์ ในการทดสอบในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Gel-Electrophoresis

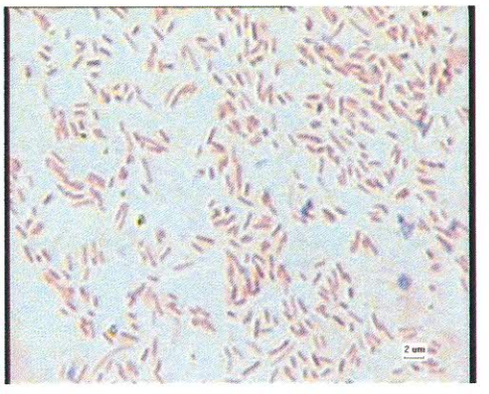
ภาคผนวก ค

ลักษณะรูปร่างเซลล์ของแบคทีเรียชนิดเด่น

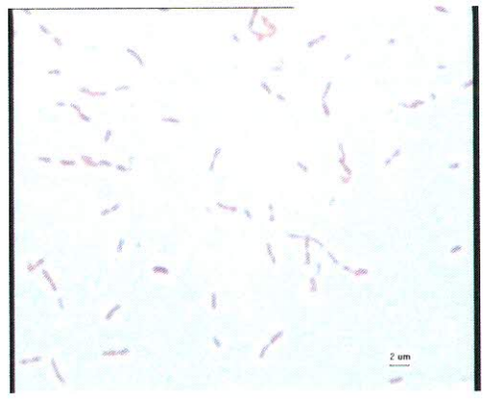
ภาพภาคผนวก 5 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *S. terrae* กำลังขยาย 1000 เท่า



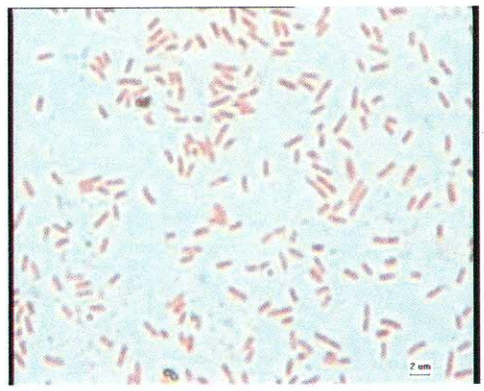
ภาพภาคผนวก 6 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *F. granuli* กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพภาคผนวก 7 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพภาคผนวก 8 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *A. soli* กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพภาคผนวก 9 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *T. butanivorans* กำลังขยาย 1000 เท่า

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

Results for: 19 treatment interaction.MTW

Factorial Fit: 0 h, 6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 36 h, 48 h

Factorial Fit: 0 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 0 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		0.012498	0	*	*
S. terrae	0.000000	0.000000	0	*	*
F. granuli	0.000000	0.000000	0	*	*
Pseudomonas sp	0.000000	0.000000	0	*	*
A. soli	0.000000	0.000000	0	*	*
T. butanivorans	0.000000	0.000000	0	*	*
S. terrae*F. granuli	0.000000	0.000000	0	*	*
S. terrae*Pseudomonas sp	-0.000000	-0.000000	0	*	*
S. terrae*A. soli	0.000000	0.000000	0	*	*
S. terrae*T. butanivorans	0.000000	0.000000	0	*	*
F. granuli*Pseudomonas sp	0.000000	0.000000	0	*	*
F. granuli*A. soli	-0.000000	-0.000000	0	*	*
F. granuli*T. butanivorans	0.000000	0.000000	0	*	*
Pseudomonas sp*A. soli	0.000000	0.000000	0	*	*
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-0.000000	-0.000000	0	*	*
A. soli*T. butanivorans	-0.000000	-0.000000	0	*	*
Ct Pt		-0.000000	0	*	*

S = 0 PRESS = *
R-Sq = *% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = *%

Analysis of Variance for 0 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	0	0.00000000	0.00000000	*	*
S. terrae	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
F. granuli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
Pseudomonas sp	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
A. soli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
T. butanivorans	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
2-Way Interactions	10	0	0.00000000	0.00000000	*	*
S. terrae*F. granuli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
S. terrae*Pseudomonas sp	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
S. terrae*A. soli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
S. terrae*T. butanivorans	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
F. granuli*Pseudomonas sp	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
F. granuli*A. soli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
F. granuli*T. butanivorans	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
Pseudomonas sp*A. soli	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
A. soli*T. butanivorans	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
Curvature	1	0	0.00000000	0.00000000	*	*
Residual Error	2	0	0.00000000	0.00000000		
Pure Error	2	0	0.00000000	0.00000000		
Total	18	0				

Unusual Observations for 0 h

Obs	StdOrder	0 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
3	15	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
4	7	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
5	16	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
6	14	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
7	1	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
8	10	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
9	9	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
10	13	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
12	8	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
13	3	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
14	5	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
15	2	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
16	12	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
17	6	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X
18	11	0.012498	0.012498	0.000000	0.000000	*	X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 0 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	0.0124984
S. terrae	-2.13042E-34
F. granuli	1.26099E-34
Pseudomonas sp	-4.13338E-34
A. soli	9.40008E-35
T. butanivorans	3.11776E-34
S. terrae*F. granuli	1.03015E-35
S. terrae*Pseudomonas sp	-6.59634E-36
S. terrae*A. soli	2.11472E-35
S. terrae*T. butanivorans	2.87476E-36
F. granuli*Pseudomonas sp	5.76160E-35
F. granuli*A. soli	-5.77278E-35
F. granuli*T. butanivorans	3.17971E-36
Pseudomonas sp*A. soli	2.61272E-35
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-2.97440E-36
A. soli*T. butanivorans	-2.41369E-35
Ct Pt	-2.49881E-33

* NOTE * The normal plot of effects is not displayed because the standard error
for effects is 0.

Effects Pareto for 0 h

* NOTE * The critical value line is not displayed on the pareto chart of effects because the standard error for effects is 0.

Factorial Fit: 6 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 6 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		17.198	3.608	4.77	0.041
S. terrae	9.374	4.687	3.608	1.30	0.324
F. granuli	9.374	4.687	3.608	1.30	0.324
Pseudomonas sp	3.125	1.562	3.608	0.43	0.707
A. soli	-3.125	-1.562	3.608	-0.43	0.707
T. butanivorans	3.125	1.562	3.608	0.43	0.707
S. terrae*F. granuli	-3.125	-1.562	3.608	-0.43	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	3.125	1.562	3.608	0.43	0.707
S. terrae*A. soli	-15.623	-7.812	3.608	-2.17	0.163
S. terrae*T. butanivorans	28.121	14.061	3.608	3.90	0.060
F. granuli*Pseudomonas sp	3.125	1.562	3.608	0.43	0.707
F. granuli*A. soli	-15.623	-7.812	3.608	-2.17	0.163
F. granuli*T. butanivorans	3.125	1.562	3.608	0.43	0.707
Pseudomonas sp*A. soli	-9.374	-4.687	3.608	-1.30	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	9.374	4.687	3.608	1.30	0.324
A. soli*T. butanivorans	-9.374	-4.687	3.608	-1.30	0.324
Ct Pt		-8.853	9.080	-0.98	0.432

S = 14.4320 PRESS = *
R-Sq = 94.63% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 51.69%

Analysis of Variance for 6 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	820.11	820.11	164.02	0.79	0.642
S. terrae	1	351.47	351.47	351.47	1.69	0.324
F. granuli	1	351.47	351.47	351.47	1.69	0.324
Pseudomonas sp	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
A. soli	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
T. butanivorans	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
2-Way Interactions	10	6326.54	6326.54	632.65	3.04	0.273
S. terrae*F. granuli	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
S. terrae*A. soli	1	976.32	976.32	976.32	4.69	0.163
S. terrae*T. butanivorans	1	3163.27	3163.27	3163.27	15.19	0.060
F. granuli*Pseudomonas sp	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
F. granuli*A. soli	1	976.32	976.32	976.32	4.69	0.163
F. granuli*T. butanivorans	1	39.05	39.05	39.05	0.19	0.707
Pseudomonas sp*A. soli	1	351.47	351.47	351.47	1.69	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	351.47	351.47	351.47	1.69	0.324

A. soli*T. butanivorans	1	351.47	351.47	351.47	1.69
0.324					
Curvature	1	198.00	198.00	198.00	0.95
0.432					
Residual Error	2	416.56	416.56	208.28	
Pure Error	2	416.56	416.56	208.28	
Total	18	7761.22			

Unusual Observations for 6 h

Obs	StdOrder	6 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	50.0062	50.0062	14.4320	0.0000	*	X
3	15	25.0094	25.0094	14.4320	-0.0000	*	X
4	7	25.0094	25.0094	14.4320	-0.0000	*	X
5	16	25.0094	25.0094	14.4320	0.0000	*	X
6	14	0.0125	0.0125	14.4320	0.0000	*	X
7	1	-24.9844	-24.9844	14.4320	-0.0000	*	X
8	10	25.0094	25.0094	14.4320	0.0000	*	X
9	9	50.0062	50.0062	14.4320	0.0000	*	X
10	13	0.0125	0.0125	14.4320	-0.0000	*	X
12	8	25.0094	25.0094	14.4320	0.0000	*	X
13	3	25.0094	25.0094	14.4320	-0.0000	*	X
14	5	0.0125	0.0125	14.4320	-0.0000	*	X
15	2	0.0125	0.0125	14.4320	0.0000	*	X
16	12	0.0125	0.0125	14.4320	-0.0000	*	X
17	6	50.0062	50.0062	14.4320	-0.0000	*	X
18	11	0.0125	0.0125	14.4320	0.0000	*	X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 6 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-53.6969
S. terrae	0.97747
F. granuli	12.3310
Pseudomonas sp	0.11920
A. soli	8.34007
T. butanivorans	-2.57785
S. terrae*F. granuli	-0.169260
S. terrae*Pseudomonas sp	0.044127
S. terrae*A. soli	-0.312411
S. terrae*T. butanivorans	0.397145
F. granuli*Pseudomonas sp	0.135306
F. granuli*A. soli	-0.957940
F. granuli*T. butanivorans	0.135306
Pseudomonas sp*A. soli	-0.149845
Pseudomonas sp*T. butanivorans	0.105826
A. soli*T. butanivorans	-0.149845
Ct Pt	-8.85306

Factorial Fit: 12 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 12 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		56.74	3.628	15.64	0.004
S. terrae	-2.74	-1.37	3.628	-0.38	0.742
F. granuli	-16.11	-8.05	3.628	-2.22	0.157
Pseudomonas sp	15.31	7.65	3.628	2.11	0.169
A. soli	15.31	7.65	3.628	2.11	0.169
T. butanivorans	9.02	4.51	3.628	1.24	0.340
S. terrae*F. granuli	-16.11	-8.05	3.628	-2.22	0.157
S. terrae*Pseudomonas sp	15.31	7.65	3.628	2.11	0.169
S. terrae*A. soli	-9.83	-4.91	3.628	-1.35	0.308
S. terrae*T. butanivorans	-16.11	-8.05	3.628	-2.22	0.157
F. granuli*Pseudomonas sp	3.54	1.77	3.628	0.49	0.674
F. granuli*A. soli	3.54	1.77	3.628	0.49	0.674
F. granuli*T. butanivorans	-2.74	-1.37	3.628	-0.38	0.742
Pseudomonas sp*A. soli	-2.74	-1.37	3.628	-0.38	0.742
Pseudomonas sp*T. butanivorans	3.54	1.77	3.628	0.49	0.674
A. soli*T. butanivorans	3.54	1.77	3.628	0.49	0.674
Ct Pt		-32.14	9.129	-3.52	0.072

S = 14.5103 PRESS = *
R-Sq = 95.77% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 61.95%

Analysis of Variance for 12 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	3268.11	3268.11	653.62	3.10	0.261
S. terrae	1	30.04	30.04	30.04	0.14	0.742
F. granuli	1	1037.98	1037.98	1037.98	4.93	0.157
Pseudomonas sp	1	937.19	937.19	937.19	4.45	0.169
A. soli	1	937.19	937.19	937.19	4.45	0.169
T. butanivorans	1	325.71	325.71	325.71	1.55	0.340
2-Way Interactions	10	3660.21	3660.21	366.02	1.74	0.420
S. terrae*F. granuli	1	1037.98	1037.98	1037.98	4.93	0.157
S. terrae*Pseudomonas sp	1	937.19	937.19	937.19	4.45	0.169
S. terrae*A. soli	1	386.18	386.18	386.18	1.83	0.308
S. terrae*T. butanivorans	1	1037.98	1037.98	1037.98	4.93	0.157
F. granuli*Pseudomonas sp	1	50.20	50.20	50.20	0.24	0.674
F. granuli*A. soli	1	50.20	50.20	50.20	0.24	0.674
F. granuli*T. butanivorans	1	30.04	30.04	30.04	0.14	0.742
Pseudomonas sp*A. soli	1	30.04	30.04	30.04	0.14	0.742
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	50.20	50.20	50.20	0.24	0.674

A. soli*T. butanivorans	1	50.20	50.20	50.20	0.24
0.674					
Curvature	1	2609.59	2609.59	2609.59	12.39
0.072					
Residual Error	2	421.10	421.10	210.55	
Pure Error	2	421.10	421.10	210.55	
Total	18	9959.01			

Unusual Observations for 12 h

Obs	StdOrder	12 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	7.8475	7.8475	14.5103	0.0000	*	X
3	15	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
4	7	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
5	16	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
6	14	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X
7	1	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
8	10	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
9	9	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
10	13	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X
12	8	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
13	3	32.9800	32.9800	14.5103	-0.0000	*	X
14	5	32.9800	32.9800	14.5103	-0.0000	*	X
15	2	61.3206	61.3206	14.5103	0.0000	*	X
16	12	32.9800	32.9800	14.5103	0.0000	*	X
17	6	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X
18	11	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 12 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	13.2177
S. terrae	5.28242
F. granuli	-0.74943
Pseudomonas sp	-0.93952
A. soli	2.21118
T. butanivorans	1.84569
S. terrae*F. granuli	-0.872616
S. terrae*Pseudomonas sp	0.216170
S. terrae*A. soli	-0.196483
S. terrae*T. butanivorans	-0.227496
F. granuli*Pseudomonas sp	0.153406
F. granuli*A. soli	0.217216
F. granuli*T. butanivorans	-0.118675
Pseudomonas sp*A. soli	-0.043809
Pseudomonas sp*T. butanivorans	0.0399939
A. soli*T. butanivorans	0.056630
Ct Pt	-32.1397

Factorial Fit: 18 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 18 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		58.31	3.628	16.07	0.004
S. terrae	-5.88	-2.94	3.628	-0.81	0.503
F. granuli	-12.97	-6.48	3.628	-1.79	0.216
Pseudomonas sp	5.88	2.94	3.628	0.81	0.503
A. soli	-0.40	-0.20	3.628	-0.06	0.961
T. butanivorans	-0.40	-0.20	3.628	-0.06	0.961
S. terrae*F. granuli	-6.68	-3.34	3.628	-0.92	0.454
S. terrae*Pseudomonas sp	12.17	6.08	3.628	1.68	0.236
S. terrae*A. soli	5.88	2.94	3.628	0.81	0.503
S. terrae*T. butanivorans	-6.68	-3.34	3.628	-0.92	0.454
F. granuli*Pseudomonas sp	6.68	3.34	3.628	0.92	0.454
F. granuli*A. soli	0.40	0.20	3.628	0.06	0.961
F. granuli*T. butanivorans	0.40	0.20	3.628	0.06	0.961
Pseudomonas sp*A. soli	6.68	3.34	3.628	0.92	0.454
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-5.88	-2.94	3.628	-0.81	0.503
A. soli*T. butanivorans	0.40	0.20	3.628	0.06	0.961
Ct Pt		-33.71	9.129	-3.69	0.066

S = 14.5103 PRESS = *
R-Sq = 92.77% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 34.97%

Analysis of Variance for 18 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	950.68	950.68	190.14	0.90	0.600
S. terrae	1	138.40	138.40	138.40	0.66	0.503
F. granuli	1	672.60	672.60	672.60	3.19	0.216
Pseudomonas sp	1	138.40	138.40	138.40	0.66	0.503
A. soli	1	0.64	0.64	0.64	0.00	0.961
T. butanivorans	1	0.64	0.64	0.64	0.00	0.961
2-Way Interactions	10	1585.54	1585.54	158.55	0.75	0.692
S. terrae*F. granuli	1	178.71	178.71	178.71	0.85	0.454
S. terrae*Pseudomonas sp	1	591.97	591.97	591.97	2.81	0.236
S. terrae*A. soli	1	138.40	138.40	138.40	0.66	0.503
S. terrae*T. butanivorans	1	178.71	178.71	178.71	0.85	0.454
F. granuli*Pseudomonas sp	1	178.71	178.71	178.71	0.85	0.454
F. granuli*A. soli	1	0.64	0.64	0.64	0.00	0.961
F. granuli*T. butanivorans	1	0.64	0.64	0.64	0.00	0.961
Pseudomonas sp*A. soli	1	178.71	178.71	178.71	0.85	0.454
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	138.40	138.40	138.40	0.66	0.503

A. soli*T. butanivorans	1	0.64	0.64	0.64	0.00
0.961					
Curvature	1	2870.90	2870.90	2870.90	13.64
0.066					
Residual Error	2	421.10	421.10	210.55	
Pure Error	2	421.10	421.10	210.55	
Total	18	5828.22			

Unusual Observations for 18 h

Obs	StdOrder	18 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	32.9800	32.9800	14.5103	-0.0000	*	X
3	15	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
4	7	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
5	16	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
6	14	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X
7	1	83.2450	83.2450	14.5103	0.0000	*	X
8	10	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
9	9	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
10	13	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
12	8	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
13	3	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
14	5	58.1125	58.1125	14.5103	-0.0000	*	X
15	2	61.3206	61.3206	14.5103	0.0000	*	X
16	12	32.9800	32.9800	14.5103	0.0000	*	X
17	6	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X
18	11	58.1125	58.1125	14.5103	0.0000	*	X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 18 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	95.9749
S. terrae	-1.25946
F. granuli	-4.06966
Pseudomonas sp	-2.53404
A. soli	-2.07333
T. butanivorans	1.16523
S. terrae*F. granuli	-0.362080
S. terrae*Pseudomonas sp	0.171803
S. terrae*A. soli	0.117623
S. terrae*T. butanivorans	-0.094397
F. granuli*Pseudomonas sp	0.289447
F. granuli*A. soli	0.024589
F. granuli*T. butanivorans	0.017365
Pseudomonas sp*A. soli	0.106849
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-0.0664060
A. soli*T. butanivorans	0.006410
Ct Pt	-33.7105

Factorial Fit: 24 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 24 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		64.43	4.144	15.55	0.004
S. terrae	-14.50	-7.25	4.144	-1.75	0.222
F. granuli	-10.36	-5.18	4.144	-1.25	0.338
Pseudomonas sp	-10.36	-5.18	4.144	-1.25	0.338
A. soli	10.36	5.18	4.144	1.25	0.338
T. butanivorans	14.50	7.25	4.144	1.75	0.222
S. terrae*F. granuli	-6.22	-3.11	4.144	-0.75	0.531
S. terrae*Pseudomonas sp	-6.22	-3.11	4.144	-0.75	0.531
S. terrae*A. soli	-10.36	-5.18	4.144	-1.25	0.338
S. terrae*T. butanivorans	2.07	1.04	4.144	0.25	0.826
F. granuli*Pseudomonas sp	-10.36	-5.18	4.144	-1.25	0.338
F. granuli*A. soli	-6.22	-3.11	4.144	-0.75	0.531
F. granuli*T. butanivorans	6.22	3.11	4.144	0.75	0.531
Pseudomonas sp*A. soli	2.07	1.04	4.144	0.25	0.826
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-2.07	-1.04	4.144	-0.25	0.826
A. soli*T. butanivorans	2.07	1.04	4.144	0.25	0.826
Ct Pt		-19.69	10.429	-1.89	0.200

S = 16.5769 PRESS = *
R-Sq = 90.91% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 18.18%

Analysis of Variance for 24 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	2971.20	2971.20	594.24	2.16	0.346
S. terrae	1	841.55	841.55	841.55	3.06	0.222
F. granuli	1	429.36	429.36	429.36	1.56	0.338
Pseudomonas sp	1	429.36	429.36	429.36	1.56	0.338
A. soli	1	429.36	429.36	429.36	1.56	0.338
T. butanivorans	1	841.55	841.55	841.55	3.06	0.222
2-Way Interactions	10	1545.71	1545.71	154.57	0.56	0.782
S. terrae*F. granuli	1	154.57	154.57	154.57	0.56	0.531
S. terrae*Pseudomonas sp	1	154.57	154.57	154.57	0.56	0.531
S. terrae*A. soli	1	429.36	429.36	429.36	1.56	0.338
S. terrae*T. butanivorans	1	17.17	17.17	17.17	0.06	0.826
F. granuli*Pseudomonas sp	1	429.36	429.36	429.36	1.56	0.338
F. granuli*A. soli	1	154.57	154.57	154.57	0.56	0.531
F. granuli*T. butanivorans	1	154.57	154.57	154.57	0.56	0.531
Pseudomonas sp*A. soli	1	17.17	17.17	17.17	0.06	0.826
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	17.17	17.17	17.17	0.06	0.826
A. soli*T. butanivorans	1	17.17	17.17	17.17	0.06	0.826
Curvature	1	978.95	978.95	978.95	3.56	0.200
Residual Error	2	549.59	549.59	274.79		
Pure Error	2	549.59	549.59	274.79		
Total	18	6045.44				

Unusual Observations for 24 h

Obs	StdOrder	24 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	77.8975	77.8975	16.5769	0.0000	*	X
3	15	61.3206	61.3206	16.5769	0.0000	*	X
4	7	61.3206	61.3206	16.5769	0.0000	*	X
5	16	44.7437	44.7437	16.5769	-0.0000	*	X
6	14	61.3206	61.3206	16.5769	-0.0000	*	X
7	1	61.3206	61.3206	16.5769	-0.0000	*	X

8	10	77.8975	77.8975	16.5769	-0.0000	* X
9	9	77.8975	77.8975	16.5769	0.0000	* X
10	13	94.4744	94.4744	16.5769	-0.0000	* X
12	8	28.1669	28.1669	16.5769	0.0000	* X
13	3	61.3206	61.3206	16.5769	0.0000	* X
14	5	61.3206	61.3206	16.5769	-0.0000	* X
15	2	61.3206	61.3206	16.5769	0.0000	* X
16	12	44.7437	44.7437	16.5769	0.0000	* X
17	6	61.3206	61.3206	16.5769	0.0000	* X
18	11	94.4744	94.4744	16.5769	-0.0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 24 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	22.0039
S. terrae	2.75691
F. granuli	5.54416
Pseudomonas sp	1.38638
A. soli	3.48045
T. butanivorans	-0.28496
S. terrae*F. granuli	-0.336739
S. terrae*Pseudomonas sp	-0.087790
S. terrae*A. soli	-0.207178
S. terrae*T. butanivorans	0.029263
F. granuli*Pseudomonas sp	-0.448647
F. granuli*A. soli	-0.381159
F. granuli*T. butanivorans	0.269188
Pseudomonas sp*A. soli	0.033124
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-0.0233930
A. soli*T. butanivorans	0.033124
Ct Pt	-19.6850

Factorial Fit: 36 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 36 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		54.07	2.393	22.60	0.002
S. terrae	-2.07	-1.04	2.393	-0.43	0.707
F. granuli	18.65	9.32	2.393	3.90	0.060
Pseudomonas sp	-6.22	-3.11	2.393	-1.30	0.324
A. soli	2.07	1.04	2.393	0.43	0.707
T. butanivorans	-10.36	-5.18	2.393	-2.17	0.163
S. terrae*F. granuli	-2.07	-1.04	2.393	-0.43	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	-2.07	-1.04	2.393	-0.43	0.707
S. terrae*A. soli	-10.36	-5.18	2.393	-2.17	0.163
S. terrae*T. butanivorans	-6.22	-3.11	2.393	-1.30	0.324
F. granuli*Pseudomonas sp	-6.22	-3.11	2.393	-1.30	0.324
F. granuli*A. soli	2.07	1.04	2.393	0.43	0.707
F. granuli*T. butanivorans	6.22	3.11	2.393	1.30	0.324
Pseudomonas sp*A. soli	-6.22	-3.11	2.393	-1.30	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-10.36	-5.18	2.393	-2.17	0.163
A. soli*T. butanivorans	14.50	7.25	2.393	3.03	0.094
Ct Pt		-20.38	6.021	-3.38	0.077

S = 9.57066 PRESS = *
R-Sq = 96.74% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 70.62%

Analysis of Variance for 36 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	2009.42	2009.42	401.88	4.39	0.196
S. terrae	1	17.17	17.17	17.17	0.19	0.707
F. granuli	1	1391.14	1391.14	1391.14	15.19	0.060
Pseudomonas sp	1	154.57	154.57	154.57	1.69	0.324
A. soli	1	17.17	17.17	17.17	0.19	0.707
T. butanivorans	1	429.36	429.36	429.36	4.69	0.163
2-Way Interactions	10	2370.09	2370.09	237.01	2.59	0.311
S. terrae*F. granuli	1	17.17	17.17	17.17	0.19	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	1	17.17	17.17	17.17	0.19	0.707
S. terrae*A. soli	1	429.36	429.36	429.36	4.69	0.163
S. terrae*T. butanivorans	1	154.57	154.57	154.57	1.69	0.324
F. granuli*Pseudomonas sp	1	154.57	154.57	154.57	1.69	0.324
F. granuli*A. soli	1	17.17	17.17	17.17	0.19	0.707
F. granuli*T. butanivorans	1	154.57	154.57	154.57	1.69	0.324
Pseudomonas sp*A. soli	1	154.57	154.57	154.57	1.69	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	429.36	429.36	429.36	4.69	0.163

A. soli*T. butanivorans	1	841.55	841.55	841.55	9.19
0.094					
Curvature	1	1048.85	1048.85	1048.85	11.45
0.077					
Residual Error	2	183.20	183.20	91.60	
Pure Error	2	183.20	183.20	91.60	
Total	18	5611.56			

Unusual Observations for 36 h

Obs	StdOrder	36 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	61.3206	61.3206	9.5707	-0.0000	*	X
3	15	61.3206	61.3206	9.5707	-0.0000	*	X
4	7	44.7437	44.7437	9.5707	-0.0000	*	X
5	16	44.7437	44.7437	9.5707	-0.0000	*	X
6	14	44.7437	44.7437	9.5707	0.0000	*	X
7	1	28.1669	28.1669	9.5707	-0.0000	*	X
8	10	44.7437	44.7437	9.5707	-0.0000	*	X
9	9	44.7437	44.7437	9.5707	0.0000	*	X
10	13	44.7437	44.7437	9.5707	0.0000	*	X
12	8	77.8975	77.8975	9.5707	-0.0000	*	X
13	3	61.3206	61.3206	9.5707	-0.0000	*	X
14	5	61.3206	61.3206	9.5707	0.0000	*	X
15	2	61.3206	61.3206	9.5707	0.0000	*	X
16	12	61.3206	61.3206	9.5707	0.0000	*	X
17	6	28.1669	28.1669	9.5707	0.0000	*	X
18	11	94.4744	94.4744	9.5707	0.0000	*	X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 36 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	24.6114
S. terrae	3.63629
F. granuli	4.79621
Pseudomonas sp	2.94687
A. soli	0.11680
T. butanivorans	-2.64423
S. terrae*F. granuli	-0.112246
S. terrae*Pseudomonas sp	-0.0292633
S. terrae*A. soli	-0.207178
S. terrae*T. butanivorans	-0.0877898
F. granuli*Pseudomonas sp	-0.269188
F. granuli*A. soli	0.127053
F. granuli*T. butanivorans	0.269188
Pseudomonas sp*A. soli	-0.0993706
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-0.116965
A. soli*T. butanivorans	0.231865
Ct Pt	-20.3757

Factorial Fit: 48 h versus S. terrae, F. granuli, ...

Estimated Effects and Coefficients for 48 h (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		42.67	4.785	8.92	0.012
S. terrae	-12.43	-6.22	4.785	-1.30	0.324
F. granuli	-4.14	-2.07	4.785	-0.43	0.707
Pseudomonas sp	-0.00	-0.00	4.785	-0.00	1.000
A. soli	8.29	4.14	4.785	0.87	0.478
T. butanivorans	12.43	6.22	4.785	1.30	0.324
S. terrae*F. granuli	-4.14	-2.07	4.785	-0.43	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	8.29	4.14	4.785	0.87	0.478
S. terrae*A. soli	-16.58	-8.29	4.785	-1.73	0.225
S. terrae*T. butanivorans	-20.72	-10.36	4.785	-2.17	0.163
F. granuli*Pseudomonas sp	-8.29	-4.14	4.785	-0.87	0.478
F. granuli*A. soli	0.00	0.00	4.785	0.00	1.000
F. granuli*T. butanivorans	4.14	2.07	4.785	0.43	0.707
Pseudomonas sp*A. soli	12.43	6.22	4.785	1.30	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-16.58	-8.29	4.785	-1.73	0.225
A. soli*T. butanivorans	8.29	4.14	4.785	0.87	0.478
Ct Pt		-8.98	12.043	-0.75	0.534

S = 19.1413 PRESS = *
R-Sq = 90.85% R-Sq(pred) = *% R-Sq(adj) = 17.69%

Analysis of Variance for 48 h (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	5	1580.06	1580.06	316.01	0.86	0.614
S. terrae	1	618.28	618.28	618.28	1.69	0.324
F. granuli	1	68.70	68.70	68.70	0.19	0.707
Pseudomonas sp	1	0.00	0.00	0.00	*	*
A. soli	1	274.79	274.79	274.79	0.75	0.478
T. butanivorans	1	618.28	618.28	618.28	1.69	0.324
2-Way Interactions	10	5495.86	5495.86	549.59	1.50	0.465
S. terrae*F. granuli	1	68.70	68.70	68.70	0.19	0.707
S. terrae*Pseudomonas sp	1	274.79	274.79	274.79	0.75	0.478
S. terrae*A. soli	1	1099.17	1099.17	1099.17	3.00	0.225
S. terrae*T. butanivorans	1	1717.45	1717.45	1717.45	4.69	0.163
F. granuli*Pseudomonas sp	1	274.79	274.79	274.79	0.75	0.478
F. granuli*A. soli	1	0.00	0.00	0.00	*	*
F. granuli*T. butanivorans	1	68.70	68.70	68.70	0.19	0.707
Pseudomonas sp*A. soli	1	618.28	618.28	618.28	1.69	0.324
Pseudomonas sp*T. butanivorans	1	1099.17	1099.17	1099.17	3.00	0.225
A. soli*T. butanivorans	1	274.79	274.79	274.79	0.75	0.478
Curvature	1	203.68	203.68	203.68	0.56	0.534
Residual Error	2	732.78	732.78	366.39		
Pure Error	2	732.78	732.78	366.39		
Total	18	8012.38				

Unusual Observations for 48 h

Obs	StdOrder	48 h	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	4	44.7437	44.7437	19.1413	-0.0000	*	X
3	15	44.7437	44.7437	19.1413	0.0000	*	X
4	7	28.1669	28.1669	19.1413	0.0000	*	X
5	16	28.1669	28.1669	19.1413	-0.0000	*	X
6	14	61.3206	61.3206	19.1413	-0.0000	*	X
7	1	61.3206	61.3206	19.1413	0.0000	*	X

8	10	28.1669	28.1669	19.1413	-0.0000	* X
9	9	28.1669	28.1669	19.1413	-0.0000	* X
10	13	77.8975	77.8975	19.1413	0.0000	* X
12	8	44.7437	44.7437	19.1413	-0.0000	* X
13	3	28.1669	28.1669	19.1413	-0.0000	* X
14	5	28.1669	28.1669	19.1413	0.0000	* X
15	2	44.7437	44.7437	19.1413	0.0000	* X
16	12	11.5900	11.5900	19.1413	0.0000	* X
17	6	28.1669	28.1669	19.1413	0.0000	* X
18	11	94.4744	94.4744	19.1413	0.0000	* X

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Estimated Coefficients for 48 h using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	2.6879
S. terrae	5.01900
F. granuli	2.17095
Pseudomonas sp	-0.09666
A. soli	0.36858
T. butanivorans	2.73210
S. terrae*F. granuli	-0.224492
S. terrae*Pseudomonas sp	0.117053
S. terrae*A. soli	-0.331484
S. terrae*T. butanivorans	-0.292633
F. granuli*Pseudomonas sp	-0.358918
F. granuli*A. soli	0.000000
F. granuli*T. butanivorans	0.179459
Pseudomonas sp*A. soli	0.198741
Pseudomonas sp*T. butanivorans	-0.187144
A. soli*T. butanivorans	0.132494
Ct Pt	-8.9791

Effects Pareto for 48 h

Alias Structure
I + S. terrae*F. granuli*Pseudomonas sp*A. soli*T. butanivorans
S. terrae + F. granuli*Pseudomonas sp*A. soli*T. butanivorans
F. granuli + S. terrae*Pseudomonas sp*A. soli*T. butanivorans
Pseudomonas sp + S. terrae*F. granuli*A. soli*T. butanivorans
A. soli + S. terrae*F. granuli*Pseudomonas sp*T. butanivorans
T. butanivorans + S. terrae*F. granuli*Pseudomonas sp*A. soli
S. terrae*F. granuli + Pseudomonas sp*A. soli*T. butanivorans
S. terrae*Pseudomonas sp + F. granuli*A. soli*T. butanivorans
S. terrae*A. soli + F. granuli*Pseudomonas sp*T. butanivorans
S. terrae*T. butanivorans + F. granuli*Pseudomonas sp*A. soli
F. granuli*Pseudomonas sp + S. terrae*A. soli*T. butanivorans
F. granuli*A. soli + S. terrae*Pseudomonas sp*T. butanivorans
F. granuli*T. butanivorans + S. terrae*Pseudomonas sp*A. soli
Pseudomonas sp*A. soli + S. terrae*F. granuli*T. butanivorans
Pseudomonas sp*T. butanivorans + S. terrae*F. granuli*A. soli
A. soli*T. butanivorans + S. terrae*F. granuli*Pseudomonas sp

ค่าทางสถิติของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของ ชุดการทดลองที่ 6 ชุดการทดลองที่ 12 และชุดควบคุม ในการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจริงในถังปฏิกรณ์

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	2	2	1	0.01	0.993
Error	69	9361	136		
Total	71	9363			

S = 11.65 R-Sq = 0.02% R-Sq(adj) = 0.00%

Level	N	Mean	StDev	Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev
T6	24	84.30	12.52	(----------*----------)
T12	24	84.68	11.43	(----------*----------)
ชุดควบคุม	24	84.57	10.93	(----------*----------)

```
--+---------+---------+---------+-------
80.0      82.5      85.0      87.5
```

Pooled StDev = 11.65

ภาคผนวก จ

ลำดับเบสของยีนส่วน 16SrRNA ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE ในขั้นตอนการวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียจาก ตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์

>MT_1

GCAGCCTGATCAGCATGCCGCGTGAGTGATG
AGGTTTCGGGTTGTAACTTCCTTTATAGGAAC
GATTCCCGTCGGTTCTTTTTAGCCATTCAACG
AAGTTTACTTCCTAAAAAATTCTTCCTTCACG
CACCATTACTGGCCAGGATTTCACCATTGG

>MT_2

AATTTTGGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCCA
GCAACGCCGCGTGAAGGATGAAGTATTTCGG
TATGTAAACTTCGAAAGAATAGGAAGAATTA
ATGACGGTACTATTTATAAGGTCCGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAGTAGACTGCT
GCCTCCCGTAGGC

>MT3_341F

AGCTGAGCAGCCATGCCGCGTGGGTGTTGAA
GGCCCTCGCGGTTGAAGGCCTTTTGCGAGGA
GGATTGGGCGTATTTAATATCTGCTGCTCCCG
TAGGTAGAATAAGCATCGGCTAACTTCATGC
CAGCAGCCGCGGTAATAAC

>MT_4

AGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGGCGGAA
GCCTGAACCAGCCAAGTAGCGTGCAGGATGA
CGGCCCTATGGGTTGTAAACTGCTTTTATACA
GGAATAAAGTTAGCCACGTGTGGTTATTTGT
AGGTACTGTATGAATAAGGACCGGCTAATTC
CGTGCCAGCANGNCCGCGGTAATAAAA

>MT_5

GGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGAT
GGAGCACCGCCGCGTGTGTGATGAAGGGTTT
CGGCTCGTAAAACACTGTTGTAAGAGAAGAA
TGACATTGAGAGTAACTGTTCAATGTGTGAC
GGTATCTTACCAGAAAGGAACGGCTAAATAC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATAA

>MT_6

AGGAATATTGGTCAATGGAGGAAAGTCTGATC
NGCATGCCAGGCGGGGTGGAGTGATGAAGGT
CCTTTGGTTTGTAAACTTTTTTTATATGGGAGG
AAAAACCGGCTTTCTAGGAGATCGTCTGACGG
TACCATATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTG
CCAGCAGCCGC

>MT_7

AGGCAGCAGTAAGGAATATTGCGCAATGGAC
GAAAGTCTGACGCAGCAACGCCGCGTGCAGG
ATGAAGGCCCTTTGGGTTGTAAACTGTTGTAG
AAAGGGAATAATAGTTTGTCGCGGGTGAACTT
GAAGGTACCTTTAAAGTAAGCGCCGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAAAA

>MT_8

TATTACCGCGGCTGCTGGCATGGAGTTAGCCG
GTGCTTATTCCGCAGATACCGTCACTCTCTCAT
AAATGAAAGGTCTTCGTCTCTGCTAAAAGCAG
TTTACAATCCATAGGACCTTCTTCCTGCACGCG
GGATGGCTGGTTCAGACTTCCGTCCATAGACC
AATATTCCTTACTGCTGCCT

>MT_9

AGGCAGCAGTAAGGAATATTGGTCAATGGTCG
CAAGTCTGAACCAGCCATGCCGCGTGCAGGAT
GAAGGTCCTCTGGATTGTAAACTGCTTTTATA
GGGGAAGAAACCCTTTCATTTGTGGGAGCTTG
ACGGTTCTGGATGAATAAGCATCGGCTAACTC
CATGCCAGCAGCCGCGGTAATAAAAT

>MT10

GCGCAGCTGATCAGCCACGCCGCGTGCAGGAT
GAAGGCCTCTGGTTTGTAAACTGCTTTTGTTTG
AGACGAAACCCCCGGACTTATCCCGGGTTGAC
GGGATCTGAAAAATAAACGCCGGCCAAGCTTC
TTCCCTCCCCCCCGGTAATTAAATAAG

>MT_11

CACGGAGTTAGCCGGTGCTTATTCTCATGGTA
CCGTCAGTCCAAGATAAATACTCGCGGTTTTT
CGTCCCATGCAAAAACAGTTTACAAAACAAA
GCCCCTTCATCCTGCACCCCGGCATGGCTGA
GTCAGAGTTTCCTCCATTGACCAATATTCCTT
ACTGCTGCCTCCCCTA

>MT_12

CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAAT
GGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTG
AGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCT
TTCTGACGGAAAGAAATCGGTGTGTCTAATA
CGCGCAGTGGATGACGGTACCGTAAGAAGAA
GCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
AAATAAA

>MT13_341F

CGCAGTCTGATGCAGCCATGCCGCGTGCAGT
GATGAAGGCCTTCTGGTTGTAAACTGCTTTTA
TACGGGAGAAACCCCCGGT

>MT_14

TTAGGGGGGGCAGCAGTGGGGAATTTTAGCC
AATGGGGGAAACGCAGCTGATCTAGCAATGC
CGGGTGAGTGATGAAGTTTTTGGGGTTGTAG
AGCTCTTTTAGACTGGGAAGATAATGACGGT
ACCCGCAGAAGAAGCCCCGGCT

>MT_15

TAAGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGGGCT
TAATGGGTGCAAGCTTTATCCAAGCCATGCC
GGGTGCAGTGATGAAGGCCCTCTGGTTTGTA
AATTGTTTTTATAGGGGGCAAAACCCCTGGT
CGTGCATCGGGGTTGATGGTACTGTAAGAAT
AAGGGTCGGCTAACTTCTTGCCGGCCGCCGC
GGTATAA

>MT_16

TTTATTACCGCGGCTGCTGGCACTAAGTTAGC
CGACCCTTATTCTTACAGTACCATCAACCCCG
ATGCACGACCGGGGGTTTTGTCCCGTATAAAA
GCAGTTTACGAACCATAGGTCCTTCATCACTG
CACGCGGCATGGCTGGATAAAGCTTGCGCCCA
TTATCCAATATTCCTTACTGCTGCCTCCCGTA

>MT17_341F

GCGCAGCTGATCAGCATGCCGCGTGCAGTGAA
GAAGGCCCTCTGGTTGGAAAGCTGTTTTTATA
CGGAAGATAACCCCTTGACCTGCATCCGGTTT
GATGGACCTGTAA

>MT18_341F

CGCAGTCTGATCAGCATGCCGCGTGAGTGAGA
GGCCTTCGGGTTGTAAGTGTTTCAGTGAGAGA
ATCCCTTTGTTTATGCCCTGTGACGATGTCTGT
CCATTAAGCACCGCCTAACTCCATGC

>MT19_341F

GTCTGATCAGCCTGCCGCGTGCAGTGTGAAGG
ACTTCGGTTGTTAAGCTCTTTTTATACGGAAAG
AATACCCC

>MT_20

AATTTTGGGCAATGGGGCGCAAGCGTGATCCA
GCCATGTGGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGG
TTGTAAAGCTCTTTCGGTGGGGAAGATATCGC
CTTGTCTAGCAGGAGATGTGGATGACGGTACC
TGAAGAAGAACCGCCGGCTTACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGAAATAC

>MT_21

TACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATCTTAGACA
ATGGGGGAAACCCTGATCTAGCCATGCCGCGT
GAGCGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGCTCT
TTCAGCTGGGAAGATAATGACGGTACCAGCAG
AAGAAG

CCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAT

>MT_22

TACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAAT
GGGGGCAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAG
TGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCGG
CCGGGAAGAAATCGTGTGGGCTAATACCCTGCA
TGGATGACGGTACCGGAATAAGAAGCACCGGCT
AACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAAAA

>MT_23

TTTATTATCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCG
GTGCTTCTTCTGCCGGTACCGTCATTAGCCCCCT
ATGTTAGAGAGAACCGTTTCCTTCCGGCCGAAA
GAGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACTCACG
CGGAATGGCTGGATCAGGGTTGCCCCCATTGTCC
AAAATT

>MT_24

TACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAAT
GGGAGCAATCCTGAACCAGCAATGCCGCGTGTG
GGATGACAGGGCTTCAGCCTTGTAAAGCACTGT
CGGATGGGACGAGAGGGGGTCTTAGGCCCCTGT
GACGGTACCATCAAAGGAAGGGTCGGCTAACTA
CGTACCAGCAGCCGCGGTAATA

>MT_25

TACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGCGCAAT
GGGCGACAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGG
GGATGAAGGTCTTCGGATTGTAAACCCCTTTCGG
CAGGGAAGATGGAACGGGTAACCGTTCGGACGG
TACCTGCAGAAGCAGCCACGNGCTTAACTTCGT
GCCAGNCNAGCCGCGGTAATA

>MT_26

TATATTATCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTAGCCG
GTGCTTACTNTCCGCGGGTAACGTCAGATCGGCA
CACTATTCGCACGCACGCCGTTCCTCCCCGCCTA
AAGGGCTTTACAACCCGC
AGGCCGTCTTCACCCACGCGGCATTGCTGG
ATCACGCTTGCGCCCATTGTCCAATATTCC
CCACTGCTGCCTCCCGTA

>MT_27

TTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGC
CCAATGGGGGAAAGTCCTGATGCAGCACT
GCCGCGTGTGTGAGGAAGTCTTTCGGTTTG
TAAAGCTCTTTTGTCGGGGAGGAAGGGGG
TAAGGTTAATAACTTATTTGTTTTGACGTT
ACTCTACCAATAAGCACCGGCTAACTCCGT
GCCCGCAGCCGCGGTAATAAC

>MT28_341F

AATGGACGNAGTCTGATCAGCCATGCCGC
GTGCAGGATGAGGCCTNTGGGTTGTAACTG
CTTTTATCCGAGAAAAACCCCTTCATTTGT
ACCAGGGTGGATGGACCGGTCGAATAAGC
ACCGGCTAACTTCGTGCCAGCCCCCCCGGT
AATAAAATAT

>MT_29

TACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGA
CAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGC
CGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGT
AAAGCTCTTTCTGACGGAAAGAAATCGGT
GTGTCTAATACACGCACTGGATGACGGTAC
CGTAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTG
CCAGCAGCCGCGGTAATAAAA

>MT_30

TACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGGG
CAATGGGCGCAAGCTTGATCCAGCCATGCC
GCGTGCAGGATGAAGGACCTATGGTTCGT
AAACTGCTTTTTATACGGGACAAAACCCCC
GGTCGTGCATCGGGGTTGATGGTACTGTAA
GAATAAGGGTCGGCTAACTTAGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATAAA

ภาคผนวก ฉ

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวสิรินันท์ ทาเจริญ

เกิดเมื่อ 20 กันยายน 2533

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556 สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

พ.ศ. 2552 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนแม่หอพระวิทยาคม อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

การเข้าร่วมงานประชุมวิชาการ

พ.ศ.2557 การนำเสนองานวิจัยในงาน

The 3rd International Conference on Environmental Engineering, Science and Management

เรื่อง Monitoring Bacterial Community Shifts in the SBR Treating Agricultural Processing Wastewater

วันที่ 26-28 มีนาคม 2557 ณ โรงแรมทวินทาวน์เวอร์กรุงเทพ

พ.ศ. 2556 การนำเสนองานวิจัยในงาน

The 25th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference

เรื่อง Monitoring Bacterial Community Shifts in the Aerated Lagoon Treating Agricultural Processing wastewater

วันที่ 16-19 ตุลาคม 2556 ณ โรงแรมดิเอ็มเมอร์รัลกรุงเทพ