

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์อัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร
ในสภาวะไร้ออกซิเจน

พัชรีย์ สุแพง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการ

ทรัพยากรการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2551

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์อัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร
ในสภาวะไร้ออกซิเจน

พัชรีย์ สุแพง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการ
ทรัพยากรการเกษตรและสิ่งแวดล้อม
สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2551

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ชื่อเรื่อง

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์อัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ในสถานะไร้ออกซิเจน

โดย

พัชรีย์ สุแพง

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุปน ชื่นบาล)

วันที่ 22 เดือน ๗.๗ พ.ศ. ๕๖

กรรมการที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์บรรพต ตันติเสรี)

วันที่ 22 เดือน ๗ พ.ศ. ๕๖

กรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)

วันที่ 22 เดือน ๗.๗ พ.ศ. ๒๕๕๖

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรินทร์ ทองวิทยา)

วันที่ 22 เดือน ๗.๗ พ.ศ. ๒๕๕๖

สำนักงานบัณฑิตศึกษารับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.เทพ พงษ์พานิช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 23 เดือน ๘.๘ พ.ศ. ๒๕๕๖

ชื่อเรื่อง	การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์อัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในสภาวะไร้ออกซิเจน
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพัชรีย์ สุแพง
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากร การเกษตรและสิ่งแวดล้อม
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลัก คือ การคัดเลือกและผลิตจุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจนแบบเม็ด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรแบบไม่ใช้ออกซิเจน จุลินทรีย์ที่นำมาผลิตจุลินทรีย์แบบเม็ดได้ทำการคัดแยกจากแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำเสียฟาร์มสุกร ลำไส้สุกร และดิน จำนวน 67 ไอโซเลต จากนั้นคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย โดยศึกษาประสิทธิภาพการลดค่าเอฟซีโอดี (FCOD), ของแข็งทั้งหมด (TS), ของแข็งระเหยได้ (TVS) และของแข็งแขวนลอย (SS) ของตัวอย่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกร พบว่า แบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสูงสุด เมื่อศึกษาสภาวะการเจริญร่วมกันของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า ไอโซเลต S5-3 ไม่สามารถเจริญร่วมกับ S5-2 และ BP1-7 ได้ เมื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต พบว่า S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 มีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 22, 26, 32, และ 22 ตามลำดับ

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของแบคทีเรียในรูปเซลล์แขวนลอย โดยใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1, BP1-7 และเชื้อผสม (เชื้อ S5-2 + S5-7.1 + BP1-7) พบว่า แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาพักเก็บ 21 วัน ได้สูงที่สุด คือ เชื้อไอโซเลต S5-2 ลดค่า COD, FCOD, SS, TS และ TVS ได้ 69.0, 72.0, 81.9, 67.1 และ 85.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อไอโซเลต S5-7.1 ลดค่า COD, FCOD, SS และ TS ได้ 67.0, 69.0, 76.3, 65.9 และ 83.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 มาทำให้อยู่ในรูปแบบเม็ด และนำไปบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเติมแบคทีเรียรูปแบบเม็ด 5, 10 และ 15 กรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อแบคทีเรีย S5-2 รูปแบบเม็ด 15 กรัมต่อลิตร สามารถลดค่า TS, TVS, SS, COD และ FCOD ได้ 76.1, 97.7, 98.0, 81.3 และ 73.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถผลิตก๊าซได้ 644.2 ลิตรต่อ

กิโกรัมของแฉ่งระเหยได้ จากนั้นทำการศึกษาระยะเวลาการเติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดของเชื้อ
ไอโซเลต S5-2 ที่ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร โดยเติมเชื้อทุก 7, 14 และ 30 วัน ในน้ำเสีย 6 ลิตร พบว่า
การเติมเชื้อแบคทีเรีย S5-2 รูปแบบเม็ดทุก 14 วัน มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร
ดีที่สุด โดยสามารถลดค่า TS, TVS, SS, COD และ FCOD ได้ 71.2, 83.9, 76.9, 80.0 และ 73.9
เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ 878.8 ลิตรต่อกิโกรัมของแฉ่ง
ระเหยได้ ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรีย S5-2
รูปแบบเม็ด 15 กรัมต่อลิตร ซึ่งเติมเชื้อทุก 14 วัน นาน 30 วัน โดยใช้น้ำเสียปริมาตร 12 ลิตร พบว่า
สามารถในการลดค่า TS, TVS, SS, COD และ FCOD ได้ 69.1, 82.3, 79.4, 77.5 และ 68.2
เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถผลิตก๊าซได้ถึง 721.3 ลิตรต่อกิโกรัมของแฉ่งระเหยได้

Title	A Study on Efficiency of Granular Microorganisms for Piggery Wastewater Treatment in Anaerobic Condition
Author	Miss Patcharee Supaeng
Degree of	Master of Science in Agricultural Resources and Environmental Management
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Tapana Cheunbarn

ABSTRACT

The main objective of this research was to screen and produce granular anaerobic microorganisms for piggery wastewater treatment in anaerobic condition. Microorganisms for granular form production were screened from natural water, piggery wastewater, pig intestines and soil. A total of 67 isolates were initially found to be capable of treating wastewater and as indicated by the reduction in FCOD, TS, TVS and SS of the sample wastewater from the piggery, four bacterial isolates were selected, S5-2, S5-3, S5-7.1 and BP1-7, which were found to be highly capable of treating wastewater. When the study on growth condition was conducted, results indicated that S5-3 isolates was unable to grow when combined with S5-2 and BP1-7. Later, when the growth rates of these isolates were investigated, results showed highest growth rate at the 22nd, 26th, 32nd and 22nd hours, respectively, as exhibited by these four isolates.

The study on the efficiency in treating piggery wastewater using suspended cells of S5-2, S5-3, S5-7.1 and BP1-7 together with mixed cultures (S5-2+S5-7.1+BP1-7), results showed that S5-2 isolate had the highest efficiency in wastewater treatment during retention time (21 days) as indicated by the reduction in COD, FCOD, SS, TS and TVS to 69.0, 72.0, 81.9, 67.1 and 85.8 percent, respectively. The S5-7.1 isolate was also found to reduce COD, FCOD, SS, TS and TVS to 67.0, 69.0, 76.3, 65.9 and 83.2 percent, respectively.

When bacterial isolates S5-2 and S5-7.1 were transformed into granular form and then used to treat piggery wastewater by adding the amount of granular bacterial at 5, 10 and 15 g/L, results indicated that granular S5-2 at 15 g/L was most efficient in treating piggery wastewater by having the ability to reduce TS, TVS, SS, COD and FCOD (76.1, 97.7, 98.0, 81.3

and 73.8 percent, respectively), and also to produce biogas at 644.2 L/kg-TVS. Later, the study on the interval time of adding 15 g/L of granular bacterial in 6 L of wastewater at every 7, 14, and 30 day, was followed. Results showed that the interval time of 14 day gave the best results in reducing TS, TVS, SS, COD, and FCOD (71.2, 83.9, 76.9, 80.0, and 73.9 percent), and also in producing biogas at 878.8 L/kg-TVS. Further results showed that 15 g/L of granular S5-2 added every 14 days for 30 days with 12 L of wastewater could reduce TS, TVS, SS, COD, and FCOD to 69.1, 82.3, 79.4, 77.5, and 82.2 percent, respectively, and also produce biogas at 721.3 L/kg-TVS.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์ และรองศาสตราจารย์บรรพต ดันติเสรี กรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในการทำงานวิจัย ตลอดจนนักศึกษาทุกคนในห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการอนุเคราะห์น้ำเสียตัวอย่างจากฟาร์มสุกร

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อโอ สุแพง คุณแม่อุดม สุแพง และญาติพี่น้องทุกคนที่คอยอบรมสั่งสอน เป็นกำลังใจ ตลอดจนสนับสนุนทุนการศึกษาแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

พัชรีย์ สุแพง

ธันวาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
สารบัญตารางผนวก	(13)
สารบัญภาพผนวก	(16)
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
ลักษณะน้ำเสียจากฟาร์มสุกร	3
กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน	6
ปฏิกิริยาชีวเคมีการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน	7
ปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน	11
การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์รูปแบบเม็ด	15
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร	16
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	19
อุปกรณ์ในการวิจัย	19
วิธีการดำเนินการวิจัย	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	68
ข้อเสนอแนะ	69
บรรณานุกรม	71

	หน้า
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก กอาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม	76
ภาคผนวก ขการเตรียมสารเคมี	78
ภาคผนวก คค่าพารามิเตอร์ของการวิเคราะห์น้ำ และการคัดแยกเชื้อ	81
ภาคผนวก ง ลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วน 16S rRNA	102
ภาคผนวก จ ประวัติผู้วิจัย	109

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ปริมาณสิ่งขับถ่ายของสัตว์ต่าง ๆ ในแต่ละวัน	4
2	ลักษณะทั่วไปของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร	5
3	มาตรฐานน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	5
4	ชุดการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก	26
5	แหล่งที่มา ลักษณะของตัวอย่าง และจำนวนไอโซเลตที่คัดแยกได้	32
6	คุณลักษณะของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้	36
7	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 26 ไอโซเลต	38
8	ชุดการทดลองของการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อที่คัดเลือก	46
9	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของการใช้เชื้อในรูปแบบเซลล์แขวนลอย	51
10	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรีย S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด	58
11	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 5, 10 และ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลา 30 วัน	59
12	ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลากักเก็บ 30 วัน โดยเดิมเชื้อเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน	61
13	ประสิทธิภาพของการเติมเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วันในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ที่ระยะเวลากักเก็บ 30 วัน	64
14	การจัดจำแนกแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยการหาลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA	65

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ไคอะแกรมการทดลอง	23
2 แผนภาพชุดอุปกรณ์การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร	26
3 ลักษณะและจุดเก็บตัวอย่างน้ำเสียฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว มหาวิทยาลัยแม่โจ้	36
4 การทดสอบการเจริญร่วมกันของเชื้อโดยเทคนิค agar disc diffusion	39
5 ค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลตที่ระยะเวลาต่างกัน	41
6 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	42
7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2	43
8 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-3 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	43
9 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-3	44
10 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	44
11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1	45
12 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย BP1-7 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	45
13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต BP1-7	46
14 ของแข็งทั้งหมดของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย	47
15 ของแข็งระเหยของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย	48
16 ของแข็งแขวนลอยของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์ แขวนลอย	49
17 ซีโอดีของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย	50
18 เอฟซีโอดีของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย	50
19 ชุดอุปกรณ์การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร	52
20 ของแข็งทั้งหมด ภายหลังการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด เป็นเวลา 30 วัน	53

ภาพ	หน้า
21 ของแข็งระเหยได้ ภายหลังจากการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด เป็นเวลา 30 วัน	54
22 ของแข็งแขวนลอยที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน	55
23 ค่าซีไอดีที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน	56
24 เอฟซีไอดีที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน	56
25 ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน	57
26 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ในระยะเวลา 30 วัน	63
27 การเกิดก๊าซของการทดลองใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรในระยะเวลา 30 วัน	63
28 ขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ในส่วนของยีน 16S rRNA	65
29 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่จะนำไปเทียบความเหมือนใน GeneBank ซึ่งได้จากการนำลำดับเบสที่ได้จาก primer 3 คู่ คือ 27F และ 520R, 357F และ 1080R และ 920F และ 1522R ไปเทียบกันในโปรแกรม BioEdit	66
30 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต S5-2	67

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวก		หน้า
1	ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสียที่ใช้จุลินทรีย์ทั้ง 26 ไอโซเลต ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร เป็นระยะเวลา 7 วัน	82
2	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน	83
3	ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน	83
4	ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน	84
5	ประสิทธิภาพการลดลงของค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน	84
6	การลดค่าเอฟซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน	85
7	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	85
8	ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	85
9	ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	86
10	ค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	86
11	ค่าเอฟซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน	86
12	ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน	87
13	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ดปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	87

ตารางผนวก

หน้า

14	ปริมาณของแฉ่งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	88
15	ปริมาณของแฉ่งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	88
16	ค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกัน บำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	89
17	ค่าเอฟซีโอดี ที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสีย ปริมาณต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน	89
18	ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน	90
19	ปริมาณของแฉ่งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสีย ที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน	90
20	ปริมาณของแฉ่งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน	90
21	ปริมาณของแฉ่งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน	91
22	ค่าซีโอดี ที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน	91
23	ค่าเอฟซีโอดี ที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน	91
24	ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน	92
25	ประสิทธิภาพการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 ในรูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ที่มีการเติมเชื้อทุก 14 วัน ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน	93

ตารางผนวก

หน้า

26	ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 ในรูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ที่มีการใส่เชื้อทุก 14 วัน ในการบำบัดน้ำเสีย เป็น ระยะเวลา 30 วัน	94
27	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อทั้ง 4 ไฮโซเลตที่ระยะเวลาต่างกัน	95
28	ลักษณะรูปร่างโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย	96
29	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยวิธี Gram's staining	99

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวก		หน้า
1	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 27F	103
2	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 520R	104
3	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 357F	105
4	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 1080R	106
5	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 920F	107
6	ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 1522R	108

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันปัญหาสิ่งแวดล้อมทางน้ำเป็นปัญหาที่มีความสำคัญในทุกประเทศ ประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก ทำให้มีปริมาณของเสียที่เกิดจากฟาร์มปศุสัตว์มาก ของเสียที่เกิดจากการเลี้ยงสัตว์ประกอบด้วยเศษอาหาร มูล ปัสสาวะ น้ำล้างคอก ก๊าซต่าง ๆ และสารระเหยที่มีกลิ่นจากการสลายตัวของมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายแล้ว ของเสียดังกล่าวทำให้น้ำเสียมีความสกปรกสูง เป็นสาเหตุของการเกิดปัญหากลิ่นเหม็นและแมลงรบกวน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการจัดการที่ดี เพื่อป้องกันปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้

สุกรถือเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง มีการเลี้ยงทั้งระดับเกษตรกรรายย่อยและการเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม ของเสียที่เกิดขึ้นจึงมีปริมาณมาก การนำของเสียมาหมักในสภาวะไม่ใช้อากาศ เป็นการกำจัดของเสียทางเลือกหนึ่งที่มีผู้นิยมนำไปใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งนอกจากจะทำให้น้ำเสียมีคุณภาพดีขึ้นแล้วยังมีการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งนำไปใช้เป็นพลังงานได้ด้วยการบำบัดแบบนี้เหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีค่าความสกปรกสูง และไม่ผลิตตะกอนในระบบมากจนเป็นภาระในการกำจัดต่อไป แต่น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วยังคงมีสารอินทรีย์เหลืออยู่มาก ทำให้มีปัญหาในการบำบัดขั้นต่อไป ฟาร์มสุกรบางแห่งปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการหมักจากบ่อหมักออกสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดปัญหาน้ำเน่าเสีย กลิ่นเหม็น และเป็นแหล่งสะสมของเชื้อโรค และมีการร้องเรียนตามมา ในปัจจุบันกรมควบคุมมลพิษจึงได้มีการควบคุมให้ฟาร์มสุกรต้องมีการบำบัดน้ำเสียให้มีประสิทธิภาพ ก่อนที่จะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม การศึกษานี้จึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียในสภาวะไร้ออกซิเจน มาผลิตเป็นจุลินทรีย์รูปแบบเม็ด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียให้ดีขึ้น และช่วยให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดขั้นต่อไปได้อีกด้วย ซึ่งการใช้จุลินทรีย์รูปแบบเม็ดมีความสะดวกในการเก็บรักษาและนำไปใช้งาน มีระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าจุลินทรีย์รูปแบบน้ำที่มีขายในปัจจุบัน และประหยัดต้นทุนการผลิตได้ด้วย เนื่องจากวัสดุที่ใช้หาได้จากธรรมชาติและมีราคาถูก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในสภาวะไร้ออกซิเจน
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในสภาวะไร้ออกซิเจน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในสภาวะไร้ออกซิเจน
2. เป็นแนวทางในการนำเชื้อจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสียอื่น ๆ ที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง เช่น น้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์
3. สามารถประยุกต์ใช้กับฟาร์มเลี้ยงสุกร ทั้งในระดับเกษตรกรรายย่อยและในระดับอุตสาหกรรม

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลักษณะน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ในฟาร์มสุกรของเสียเกิดขึ้นในรูปแบบต่าง ๆ คือ เศษอาหาร มูล ปัสสาวะ น้ำล้างคอกกัวต่าง ๆ และสารระเหยที่มีกลิ่นจากการสลายตัวของมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายแล้วปริมาณของ สิ่งขับถ่ายและลักษณะน้ำเสียที่เกิดขึ้นในฟาร์มแต่ละวัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ขนาดของฟาร์มหรือจำนวนสัตว์ขุนคอก ลักษณะอาหารและวิธีการให้อาหาร ขนาด ชนิดของสัตว์และประเภทสัตว์ที่เลี้ยง ลักษณะโรงเรือนและระบบการจัดการของเสีย วิธีการทำความสะอาดคอกและปริมาณน้ำที่ใช้ล้างหรือทำความสะอาด โดยปริมาณสิ่งขับถ่ายของสุกรในแต่ละวันจะแตกต่างกันตามขนาดของสุกรด้วย เช่น แม่สุกรกับสุกรขุนที่มีน้ำหนักเท่ากัน คือ 90 - 120 กิโลกรัม จะขับถ่ายของเสียเท่ากับ 4 และ 12 ลิตรต่อวัน ตามลำดับ (ตาราง 1) และเมื่อเปรียบเทียบกับการขับถ่ายของสัตว์ชนิดอื่น ปรากฏว่าสุกรขับถ่ายมากกว่าม้าและโค กระบือถึงสองเท่า (เมื่อคิดต่อหน่วยน้ำหนัก) (นิพนธ์, 2526) ขณะที่กรมปศุสัตว์ (2533) รายงานว่า ส่วนประกอบทางเคมีและปริมาณมูลสุกรที่ขับถ่ายออกมาขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อายุ น้ำหนักตัว พันธุ์ อาหาร ปริมาณน้ำที่กิน ความสามารถในการย่อยอาหาร สิ่งแวดล้อมและการจัดการเกี่ยวกับของเสีย ซึ่งลักษณะน้ำเสียของฟาร์มสุกรโดยทั่วไป แสดงไว้ดังตาราง 2

น้ำเสียจากฟาร์มสุกรจะมีความเข้มข้นสูงมาก ทั้งในรูปของบีโอดีและธาตุอาหาร (ธงชัย, 2544) ซึ่งเมื่อปล่อยน้ำเสียลงสู่แม่น้ำ จะทำให้เกิดปัญหายูโทรฟิเคชัน จากการมีธาตุอาหารไนโตรเจน และ/หรือฟอสฟอรัสมากเกินไปในแหล่งน้ำปิด ในประเทศไทยพบปัญหายูโทรฟิเคชันหรือสาหร่ายสะพรั่ง ที่เรียกกันว่า ซีปลาวาพ ในหลายพื้นที่แล้ว เช่น ศรีราชา ชะอำ หัวหิน กว๊านพะเยา บึงแก่นนคร (ขอนแก่น) เมื่อต้นปี พ.ศ. 2543 เกิดปัญหาแพลงตอนพืชสะพรั่งขึ้นที่บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ เป็นบริเวณกว้างกว่า 3 กิโลเมตร ตามชายฝั่งทะเลปากแม่น้ำ (ธงชัย, 2544) จึงได้มีการควบคุมการปล่อยน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยกรมควบคุมมลพิษ เพื่อให้มีการบำบัดน้ำเสียให้มีคุณภาพดีก่อนปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งมาตรฐานน้ำทิ้งมีค่ากำหนดดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 1 ปริมาณสิ่งขบถ่ายของสัตว์ต่าง ๆ ในแต่ละวัน

ชนิดสัตว์ที่ขบถ่าย	น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)	ร้อยละของความขึ้น	ปริมาตร (ลิตรต่อวัน)
โคนม	450-650	90	57
โคเนื้อ	200-450	90	27
แม่สุกรท้องว่าง	90-120	90	4
สุกรขุน อาหารแห้ง	90-120	90	12
สุกรขุน อาหารเหลว (4:1)	40-75	90	4
ไก่ไข่ (1000 ตัว)			
-มูลสด	2000	70	115
-มูลแห้ง	2000	30	49
ไก่เนื้อ (1000 ตัว)			
มูลและวัสดุรองพื้น	1000	30	36

ที่มา : สถานเทคโนโลยีก๊าซชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (2549: ระบบออนไลน์)

เมื่อของเสียจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ที่มีสารอินทรีย์ในระดับสูงไหลลงแหล่งน้ำ จะมีกลไกทางธรรมชาติในการบำบัดสารอินทรีย์เกิดขึ้น คือ จุลินทรีย์ที่ใช้อากาศจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในน้ำ เพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียมากขึ้น ทำให้ออกซิเจนในแหล่งน้ำถูกใช้ในการย่อยสลาย และสารเคมีเชิงซ้อนที่เป็นส่วนประกอบอยู่ จะถูกเปลี่ยนเป็นสารออกไซด์เชิงเดี่ยวจำพวก CO_2 , NO , SO_4 , PO_4^{+} และสารอื่น ๆ ออกซิเจนจึงน้อยลงตามลำดับจนหมด ส่งผลให้ปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ขาดออกซิเจนที่จำเป็นต่อชีวิตและตายในที่สุด ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่ต่ำจะส่งผลให้อัตราการเกิด ปฏิกริยาไนตริฟิเคชันต่ำ และเกิดปฏิกริยาดีไนตริฟิเคชันสูงขึ้น (Adav *et al.*, 2008) การปนเปื้อนของไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมอิสระหรือแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^{+}$) ก็เพิ่มการใช้ออกซิเจนโดยไนตริฟายอิงแบคทีเรีย เพื่อเปลี่ยน $\text{NH}_3/\text{NH}_4^{+}$ เป็นไนไตรท์ (NO_2^{-}) และไนเตรท (NO_3^{-}) ในขบวนการไนตริฟิเคชัน ส่วน blue-green algae ที่ได้รับไนโตรเจนสูงในน้ำที่ไหลช้า สามารถเป็นพิษต่อผู้ใช้น้ำได้ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2548)

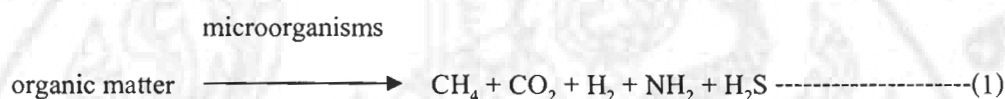
กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน

ระบบบำบัดน้ำเสียมีอยู่ 2 ระบบ คือ ระบบบำบัดแบบใช้ออกซิเจนกับระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจน การบำบัดแบบไร้ออกซิเจนถูกนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารอาหารและสารอินทรีย์ในปริมาณที่สูงที่มีของแข็งอยู่ด้วย และระหว่างการบำบัดก็จะผลิตก๊าซมีเทนขึ้นโดยไม่ต้องใช้พลังงาน (Feng *et al.*, 2007) และผลิตก๊าซไฮโดรเจนด้วย (Dermirel and Scherer, 2008) เช่น น้ำเสียจากฟาร์มสุกร แต่ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบของถังปฏิกริยาขึ้นมาเรื่อย ๆ จนสามารถบำบัดน้ำเสียที่มีค่าบีโอดีต่ำ ๆ เช่น น้ำเสียจากชุมชน (เกรียงศักดิ์, 2539) เนื่องจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนเป็นระบบที่ไม่ต้องมีการเติมอากาศ จึงทำให้ประหยัดพลังงานและ ยังสามารถผลิตก๊าซชีวภาพ เพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนในรูปของพลังงานไฟฟ้าหรือพลังงานความร้อนได้อีกด้วย (สุวิมล, 2548) ซึ่งองค์ประกอบหลักของแก๊สชีวภาพประกอบด้วยก๊าซต่าง ๆ คือ มีเทน (CH_4) ประมาณร้อยละ 60 - 70 คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณร้อยละ 30 - 40 ไฮโดรเจน ประมาณร้อยละ 5 - 10 และแก๊สอื่น ๆ เช่น ไนโตรเจน (N_2) ประมาณร้อยละ 2 - 3 และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ประมาณร้อยละ 1 - 2 (จตุพร และคณะ, 2548)

กระบวนการย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digestion) หมายถึง การเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำเสียหรือในสลัดจ์ให้กลายเป็นก๊าซมีเทน โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน มักหมายถึงการย่อยแบบไม่ใช้อากาศนั่นเอง โดยสารอินทรีย์ที่อยู่ในของเสียจะถูกกำจัดไปพร้อมกับการผลิตพลังงาน ซึ่งของเสียจากปศุสัตว์และสุกรเป็นแหล่งที่จะผลิต

ก๊าซชีวภาพที่มีความสำคัญมากกว่าของเสียอื่น ๆ (Hansen *et al.*, 1997) ซึ่งก๊าซมีเทนเป็นผลผลิตของกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนนี้เสมอ (สุชาติ, 2536) และยังสามารถกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้อีกด้วย (Ndegwa *et al.*, 2007)

กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพในสภาพที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจะย่อยสลายสารอินทรีย์ ผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการประกอบด้วยก๊าซมีเทน คาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซอื่น ๆ ดังสมการ (1)



ปฏิกิริยาชีวเคมีการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน

ขั้นตอนในการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน สามารถแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ

ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis)

กระบวนการนี้อาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า กระบวนการการแตกสลายโพลีเมอร์ (polymer break-down) ในขั้นนี้เป็นขั้นตอนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยอาศัยเอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลของปฏิกิริยาจะได้สารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนและละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส กรดอะมิโน ในกระบวนการนี้เป็นเพียงการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนไปเป็นสารประกอบอินทรีย์อย่างง่ายเท่านั้น ยังไม่มีการลดซีโอดี (เพ็ชรพร, 2538)

ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการอะซิโดเจเนซิส (acidogenesis)

สารประกอบอินทรีย์อย่างง่ายที่ละลายน้ำ ที่สร้างขึ้นโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จะถูกแบคทีเรียที่ดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจนอิสระ (facultative bacteria) ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานโดยกระบวนการเฟอร์เมนเตชัน (fermentation) ผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะได้กรดไขมันที่มีคาร์บอนไม่เกิน 5 ตัว เช่น กรดอะซิติก (acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) กรดบิวทิริก (butyric acid) กรดวาเลอริก (valeric acid) แบคทีเรียจำพวกนี้เรียกว่า

แบคทีเรียพวกสร้างกรด (acid former หรือ non-methanogenic bacteria) ซึ่งชนิดของแบคทีเรียจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และสภาพแวดล้อมของปฏิกิริยาดัง (เพ็ชรพร, 2538)

การย่อยสลายในขั้นตอนนี้มีแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง 2 ประเภท คือ พวกที่สามารถดำรงชีพในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนได้ (facultative anaerobic bacteria) และอีกประเภทหนึ่งคือ พวกที่สามารถดำรงชีพโดยไม่ใช้ออกซิเจนเลย (obligate anaerobic bacteria) ซึ่งพบมากกว่าพวกแรก การย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนนี้สามารถเกิดได้ 2 แบบคือ

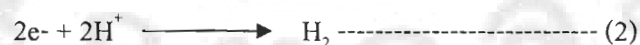
- การย่อยสลายภายนอกเซลล์

การย่อยสลายภายนอกเซลล์นี้จะเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียพวก fermentative bacteria ซึ่งจะปล่อยเอนไซม์ออกจากเซลล์ เพื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและลิควิฟแฟรคชันกับสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ให้อยู่ในรูปที่เซลล์ของแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ ตัวอย่างเช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันจะถูกย่อยสลายเป็น กรดอะมิโน กลูโคส และกรดไขมัน ตามลำดับ

- การย่อยสลายภายในเซลล์

สารอินทรีย์โมเลกุลเล็กที่ผ่านการย่อยสลายภายนอกมาแล้ว จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย เพื่อทำการย่อยสลายภายในเซลล์ ซึ่งผลผลิตสุดท้ายจะได้กรดระเหยง่ายโมเลกุลต่ำ เช่น พวกกรดอะซิติก กรดไพรูวิก เป็นต้น ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดกรดเรียกว่า อะซิโดเจเนซิส (acidogenesis)

การย่อยสลายในขั้นตอนนี้ จะไม่มีการลดการะสารอินทรีย์ของน้ำเสียที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำเสีย แต่เมื่อมีการสร้างไฮโดรเจน อิเล็กตรอนจะถูกส่งให้กับไฮโดรเจนไอออน เปลี่ยนเป็นก๊าซออกจากระบบ ทำให้สภาวะออกซิเดชันลดลง ซึ่งเป็นการลดการะสารอินทรีย์ ดังสมการ (2)



ขั้นตอนที่ 3 กระบวนการอะซิโดเจเนซิส (acetogenesis)

แบคทีเรียอะซิโดเจนิค (แบคทีเรียสร้างอะซิเตท) มีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวเชื่อมระหว่างขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างมีเทน แบคทีเรียสร้างมีเทนต้องการสับสเตรต (substrate) เฉพาะเจาะจงมาก ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน เมทานอล และเมทิลามีน (methylamine) กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม ไม่อาจใช้เป็นสับสเตรตในการผลิตก๊าซมีเทนได้โดยตรง แบคทีเรียอะซิโดเจนิค (ผลิตไฮโดรเจนได้) มี

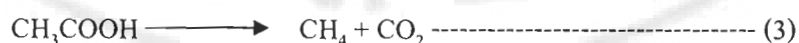
ความสามารถในการย่อยสลายกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอะซิติก และไฮโดรเจนภายใต้สภาวะที่ไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลต่ำกว่า 2×10^{-3} บรรยากาศ และต่ำกว่า 9×10^{-3} บรรยากาศ สำหรับการย่อยสลายกรดบิวทริกและกรดโพรพิโอนิก (สุบัญญัติ, 2548)

กรดโวลไทล์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการอะซิโดเจเนซิส (acedogenesis) จะเปลี่ยนให้เป็นอะซิเตท (acetate), ฟอร์เมท (formate), ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยแบคทีเรียไฮโมอะซิโตเจนิก (homoacetogenic bacteria) ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน ปฏิกิริยานี้ถือเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการหลีกเลี่ยงการสะสมของกรดโวลไทล์และไฮโดรเจนในปริมาณที่สูงพอที่จะยับยั้งการสร้างก๊าซมีเทนได้ (เพ็ชรพร, 2538)

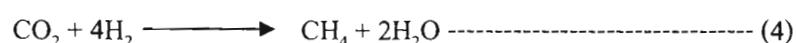
แบคทีเรียกลุ่มนี้อาจเรียกว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจน (hydrogen forming bacteria) เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนมักสร้างกรดอินทรีย์ได้ แต่ตัวที่สร้างกรดได้อาจไม่สามารถสร้างไฮโดรเจน จึงถือว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเป็นแบคทีเรียที่สร้างกรด แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้อาจรวมเรียกว่า เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน (non - methanogenic bacteria) (เพ็ชรพร, 2538)

ขั้นตอนที่ 4 กระบวนการสร้างมีเทน (methanogenesis)

ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ กรดฟอร์มิก และกรดอะซิติก ซึ่งเป็นผลปฏิกิริยาของแบคทีเรียสร้างกรดและไฮโดรเจนจะถูกใช้โดยแบคทีเรียอีกประเภทหนึ่งเพื่อสร้างมีเทน แบคทีเรียประเภทนี้เรียกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน (methanogenic bacteria) ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียที่สร้างมีเทน จะทำหน้าที่ย่อยสลายผลผลิตจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ ในขั้นตอนการย่อยสลายภายในเซลล์ อันได้แก่ กรดอินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์และอื่น ๆ การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะเป็นการลดภาวะสารอินทรีย์และได้ก๊าซมีเทนขึ้น กลไกการย่อยสลายในขั้นตอนนี้ ส่วนใหญ่มาจากปฏิกิริยาชีวเคมีของการย่อยกรดอะซิติกดังสมการ (3)



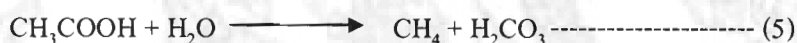
นอกจากนี้ยังมีก๊าซมีเทนเกิดมาจากปฏิกิริยาชีวเคมีระหว่าง ไฮโดรเจนกับก๊าซคาร์บอนได ออกไซด์ ดังสมการ (4)



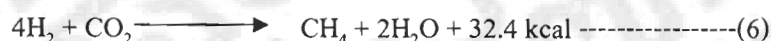
ในการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนนี้พลังงานที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ประมาณร้อยละ 90 จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของก๊าซมีเทน (เพ็ชรพร, 2538) การเกิดก๊าซมีเทนในปริมาณที่สูงมีสาเหตุมาจากการมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงซึ่งมีการแตกตัวไปอยู่ในรูปไบคาร์บอเนต ซึ่งจะเป็นบัฟเฟอร์ในถังหมักก๊าซมีเทน (Feng *et al.*, 2007) ทำให้ปฏิกิริยาการผลิตมีเทนเกิดได้สูง นอกจากนี้ในกระบวนการหมักมีเทน ของเสียที่มีแอมโมเนียสูงที่อุณหภูมิสูงจะง่ายต่อการถูกขัดขวางมากกว่าที่อุณหภูมิปานกลาง (Hansen *et al.*, 1997)

แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนจำแนกได้เป็น 3 ชนิด ตามชนิดของสารตั้งต้น ดังนี้คือ

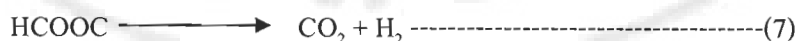
1. แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทนจากกรดอะซิติก (obligate acetoclastic methanogen) คือ แบคทีเรียที่สามารถใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้เพียงสารเดียว ปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนจากกรดอะซิติกแสดงดังในสมการ (5)



2. แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทนจากก๊าซไฮโดรเจน (obligate hydrogenotrophic methanogen) คือ แบคทีเรียที่สามารถใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นแหล่งของพลังงานและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตก๊าซมีเทน ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเรียกว่าแบคทีเรียที่ใช้ก๊าซไฮโดรเจน (H_2 utilizer) ปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนจากก๊าซไฮโดรเจนแสดงในสมการ (6)



แบคทีเรียชนิดนี้นอกจากสามารถใช้ก๊าซไฮโดรเจนแล้ว ยังสามารถใช้กรดฟอร์มิกเป็นสารตั้งต้นได้ ทั้งนี้เนื่องจากว่ากรดฟอร์มิกสามารถเปลี่ยนเป็นก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ง่ายดังสมการ (7)



3. แบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนจากก๊าซไฮโดรเจน หรือกรดอะซิติก (hydrogenotrophic/ acetoclastic methanogen) คือ แบคทีเรียที่สามารถใช้ทั้งกรดอะซิติกหรือก๊าซไฮโดรเจนเป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตก๊าซมีเทน แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความชอบใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นสารตั้งต้นมากกว่าใช้กรดอะซิติก (สุบัญญัติ, 2548)

โดยก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น 1 ลูกบาศก์เมตร เทียบเท่ากับ

- ก๊าซหุงต้ม (LPG) 0.46 กิโลกรัม
- น้ำมันดีเซล 0.60 ลิตร
- น้ำมันเตา 0.55 ลิตร
- ไฟฟ้า 1.20 กิโลวัตต์ ชั่วโมง

(เครือข่ายจัดการองค์ความรู้ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2550:ระบบออนไลน์)

ปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

เนื่องจากกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนประกอบไปด้วยแบคทีเรียสองกลุ่มทำงานอย่างต่อเนื่องกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องรักษาสภาวะแวดล้อมให้มีสภาพที่เหมาะสมที่ทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ด้วยกันได้เป็นอย่างดี ซึ่งนอกจากจะต้องรักษาระบบให้อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนแล้วยังต้องคำนึงถึงปัจจัยต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทน เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายครั้งนี้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมาก ดังนั้นจึงต้องระมัดระวังในการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิโดยอุณหภูมิของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบควรมีความผันแปรไม่เกิน ± 5 เฟอร์เซนต์ ตัวอย่างเช่น ถ้าย่อยสลายแบบที่ต้องใช้อุณหภูมิสูง จะต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 50 – 65 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายมากที่สุด และถ้าย่อยสลายแบบอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 30 – 35 องศาเซลเซียส (สุบัตินิต, 2548) โดยในกระบวนการหมักมีเทนของเสียที่มีแอมโมเนียสูง ที่อุณหภูมิสูงจะง่ายต่อการถูกขัดขวางมากกว่าที่อุณหภูมิปานกลาง (Hansen *et al.*, 1997)

ปฏิกิริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเกิดขึ้นได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิประมาณ 30 – 40 องศาเซลเซียส สำหรับพวก mesophile และ 45 – 55 องศาเซลเซียส สำหรับพวก thermophile (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2545)

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์จะเร็วขึ้น อัตราการเจริญเติบโตก็เพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มสูงเกินกว่าที่เซลล์ทำงานได้ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และส่วนประกอบของเซลล์หลายส่วนจะถูกทำลายจนไม่อาจกลับคืน

สภาพได้ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจึงเพิ่มการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ได้จนถึงอุณหภูมิหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านั้น การทำงานและการเจริญเติบโตของเซลล์จะลดลงเป็นศูนย์อย่างรวดเร็วมาก (กรมควบคุมมลพิษ, 2546ก) นอกจากนี้การบำบัดมูลสัตว์ที่เป็นของเหลวจะมีผลต่อการกำจัดชีโอดีที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูง (Ndegwa *et al.*, 2007)

2. พีเอช

ความเป็นกรด-ด่างหรือค่าพีเอช เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการย่อยสลายของแบคทีเรียในถังย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทน ถ้าค่าพีเอชมีค่าที่ไม่เป็นกลาง การเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทนจะถูกยับยั้งทำให้ระบบการย่อยสลายทั้งระบบล้มเหลวได้ ดังนั้นเพื่อเป็นการควบคุมพีเอชอาจจะต้องมีการเติมสารเคมี เช่น ปูนขาวหรือโซดาไฟหรือโซเดียมคาร์บอเนต (สุบัญญัติ, 2548)

จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชช่วงหนึ่ง ค่าพีเอชที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดก็อยู่ในช่วงนี้ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 5 – 10 เพราะสภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ในธรรมชาติมักมีพีเอชอยู่ในช่วง 5 – 10 จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดีที่พีเอชต่ำกว่า 5 เรียกว่า acidophiles เช่น ราและแบคทีเรียบางชนิด ส่วนพวกที่เจริญเติบโตได้ดีที่พีเอช 10 – 11 เรียกว่า alkaliphiles พีเอชที่เหมาะสมต่อกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนควรอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.2 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน ถ้าพีเอชน้อยกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว (กรมควบคุมมลพิษ, 2546ก)

3. กรดไขมันระเหยและสภาพต่าง

โดยปกติ กรดไขมันระเหย (volatile fatty acid : VFA) ในถังบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่ทำงานได้ดีควรมีค่าประมาณ 20-200 มิลลิกรัมกรดอะซิติกต่อลิตร กรดไขมันระเหยที่สะสมจนมีความเข้มข้นสูงกว่าระดับที่กล่าว แสดงว่า ระบบมีแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนน้อยเกินไปหรือแสดงว่าแบคทีเรียสร้างกรดผลิตกรดไขมันระเหยได้เร็วเกินไป กรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณว่าระบบกำลังเสียสมดุล เพราะทำให้พีเอชลดลงจนไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมของแบคทีเรียที่อยู่ในระบบไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนหรือแบคทีเรียสร้างกรด แม้ว่าแบคทีเรียสร้างกรดจะทนต่อกรดที่ผลิตขึ้นได้มากกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนก็ตาม สังเกตได้จากแบคทีเรียสร้างกรดสามารถอยู่ได้ในช่วงพีเอชที่กว้างกว่า ดังนั้นสภาพต่างจึงแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบ ซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไปกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนควรมีสภาพต่าง (alkalinity) ประมาณ

1,500 – 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับย่อยสลายหรือบำบัดน้ำเสียเข้มข้น ปริมาณสภาพด่างที่พอเพียงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซีโอไลท์ที่ย่อยสลายได้ นอกจากจะดูสภาพด่างแล้วยังต้องพิจารณาอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยในรูปกรดอะซิติกต่อสภาพด่างด้วย โดยค่าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างน้อยกว่า 0.4 ถือได้ว่าระบบยังทำงานได้ดี แต่ถ้าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างสูงกว่า 0.8 แล้ว แสดงว่าระบบมีบัฟเฟอร์ต่ำ ควรหาสาเหตุที่ทำให้อัตราส่วนสูงขึ้นและแก้ไข เพราะพีเอชมีแนวโน้มลดลงจนระบบอาจล้มเหลวได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2546ก)

การมีแอมโมเนียในระบบก็มีส่วนช่วยในการเพิ่มสภาพด่างได้สองทางคือ ทางแรกไปเพิ่มความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตในถัง โดยอยู่ในรูปเกลือแอมโมเนียมร่วมกับไบคาร์บอเนตที่เกิดจากการแตกตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ ทางที่สองความเข้มข้นของแอมโมเนียที่สูงจะขัดขวางแบคทีเรียพวก hydrolytic และ acetogenic ดังนั้นความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยได้จึงลดลงในถังหมักก๊าซมีเทน โดยทั่วไปกรดอินทรีย์จะไปยับยั้งกระบวนการหมักก๊าซมีเทน ดังนั้นจึงมีการเพิ่มค่าอัลคาไลด้วยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งจะทำให้ค่าพีเอชในถังหมักเหมาะสมต่อการหมัก (Feng *et al.*, 2007)

4. ระยะเวลาการกักขัง (hydraulic retention time)

ระยะเวลาการกักขัง (hydraulic retention time) คือ ระยะเวลาที่น้ำของระบบเป็นระยะเวลาที่แบคทีเรียสัมผัสกับน้ำเสีย การลดระยะเวลาการกักน้ำเสียจะทำให้ขนาดของถังปฏิกรณ์ลดลง แต่หากระยะเวลาน้ำน้อยเกินไป ตะกอนแบคทีเรียจะหลุดออกมาจากระบบมากเป็นผลให้ค่าอายุตะกอนลดลงและทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีลดลง (กรมควบคุมมลพิษ, 2546ก) โดย Sanchez *et al.*, (2005b) กล่าวว่า ระยะเวลาในการกักขังที่สั้นนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัด ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของน้ำเสียที่จะเติมเข้าระบบบำบัด นอกจากนี้ก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจากระบบจะมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาการบำบัดสั้นลง (Hill and Bolte, 2000) โดยทั่วไปการย่อยสลายแบบไร้อากาศในช่วง mesophilic จะใช้ระยะเวลาการเก็บประมาณ 10 – 40 วัน ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบของสารอินทรีย์ (มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2548: ระบบบอานไลน์)

5. สารพิษ (toxics)

สารพิษที่ปนเปื้อนในน้ำเสียมียาหลายชนิด ตัวอย่างเช่น ชัลไฟด์มีผลต่อการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน นอกจากนั้นพบว่ายังมีสารพิษอีกหลายชนิดที่ปนเปื้อนในน้ำเสียที่ทำให้ระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนล้มเหลวได้ และการตรวจวัดความล้มเหลวของ

ระบบดังกล่าวสามารถดูจากปริมาณก๊าซมีเทนที่ลดลง และปริมาณของกรดอินทรีย์ที่ระเหยง่ายสูงขึ้น เนื่องจากสารพิษจะทำให้จุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถเปลี่ยนสารโมเลกุลใหญ่ชนิดต่าง ๆ ในน้ำเสียไปเป็นกรดที่ระเหยง่าย (volatile acid) และเปลี่ยนจากกรดที่ระเหยง่ายเป็นกรดอะซิติก เพราะแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม (แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนและแบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวเซอร์) สามารถใช้กรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจนเป็นตัวให้อิเล็กตรอนได้ แต่ถ้ามีปริมาณกรดอะซิติกจำนวนน้อยจะทำให้แบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวเซอร์เอาชนะแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนได้ เพราะแบคทีเรียกลุ่มซัลเฟตรีดิวเซอร์มีความสามารถในการจับสารตั้งต้น หรือตัวให้อิเล็กตรอนได้ดีกว่าแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทน ดังนั้นถ้ากรดอะซิติกในระบบเกิดขึ้นในปริมาณที่น้อย ก็จะทำให้ขั้นตอนสุดท้ายในถังย่อยสลายแบบที่ไม่ใช้ออกซิเจนจะเกิดปฏิกิริยาซัลเฟตรีดิคชัน (sulfate reduction) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และทำให้ระบบล้นเหลวได้ (สุบัญญัติ, 2548) และถ้าพบว่าปริมาณสารพิษมากเกินไปจะมีผลต่อระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียลดลง (ลคบีโอดี) (เกรียงศักดิ์, 2542)

6. พิษของซัลไฟด์

ซัลไฟด์เกิดจากรีดักชันของซัลเฟตที่มีอยู่ในน้ำกระแสน้ำ และในการสลายตัวของโปรตีนปฏิกิริยาเมทาบอลิซึมของกลุ่มผลิตก๊าซมีเทนจะถูกยับยั้ง ซึ่งนำไปสู่ความล้มเหลวของระบบ (ธีระ, 2539) ถ้าปริมาณของซัลไฟด์ในระบบมีความเข้มข้นถึงระดับหนึ่ง ซัลไฟด์จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทน ไม่ว่าซัลไฟด์นั้นจะมาจากน้ำเสียที่เข้าระบบหรือการย่อยสลายของซัลเฟตก็ตาม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนในระบบด้วย เพราะถ้าในระบบมีโลหะหนัก ซัลไฟด์จะรวมตัวกับโลหะหนักแล้วตกตะกอนผลึกลงมา ทำให้ความเข้มข้นของซัลไฟด์ลดระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนลงได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2546ก)

7. อัตราการสร้างก๊าซมีเทน

อัตราการสร้างก๊าซมีเทนเป็นเครื่องวัดกิจกรรมของแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทนและเป็นสิ่งบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่มีความสำคัญมาก เพราะถ้ามีอัตราการสร้างก๊าซมีเทนลดลงจะสามารถบ่งบอกเป็นสัญญาณว่า มีความผิดปกติเกิดขึ้นกับกิจกรรมของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทน (สุบัญญัติ, 2548) ตัวอย่างเช่น การเกิดก๊าซมีเทนจะสูงถ้ามีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงซึ่งจะมีการแตกตัวไปอยู่ในรูปไบคาร์บอเนต และจะเป็นบัฟเฟอร์ในถังหมักก๊าซมีเทน (Feng *et al.*, 2007) นอกจากนี้ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาการบำบัดสั้นลง (Hill and Bolte, 2000)

8. ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์

ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน กรดอินทรีย์จะเกิดขึ้นจากขั้นตอนที่ 2 หรือขั้นตอนการทำให้เกิดกรด (acidogenesis) และเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทน (methanogenesis) ดังนั้นถ้าปริมาณของกรดอินทรีย์มีอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าปกติ จะทำให้บ่งชี้ได้ว่าขั้นตอนของปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนถูกยับยั้ง หรือสัญญาณบ่งบอกถึงการไม่สมดุลของกระบวนการย่อยสลายในระบบ ซึ่งจะทำให้ระบบบำบัดล้มเหลวได้ ปกติความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ในรูปของกรดอะซิติกในระบบที่ดีจะอยู่ในช่วง 200 – 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุब्ณจิต, 2548)

9. สารอาหารจำเป็นสำหรับการสร้างเซลล์จุลินทรีย์

ปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่จุลินทรีย์ต้องการ ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียอย่างน้อยที่สุดต้องมีอัตราส่วน BOD : N : P เท่ากับ 100 : 1.1 : 0.2 ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะให้ปริมาณจุลินทรีย์ส่วนเกินน้อยกว่าระบบที่ใช้ออกซิเจนมาก ดังนั้นจึงมีปัญหาในการจัดการตะกอนส่วนเกินน้อยกว่า (เพ็ชรพร, 2538) และในการบำบัดน้ำเสียจากสัตว์สิ่งมีชีวิตที่เหมาะสม คือ สาหร่าย เนื่องจากสาหร่ายจะสร้างอาหารเองได้ในน้ำเสียที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ โดยใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน อย่างไรก็ตามสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ยากถ้าความเป็นกรดค้างไม่เหมาะสม (Baumgarten *et al.*, 1999)

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์รูปแบบเม็ด

กระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ เป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยอาศัยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงส่งผลให้มีแก๊สพิษจำพวกแอมโมเนีย ไนโตรที่ หรือมีแบคทีเรียก่อโรคเกิดขึ้นได้ และถ้าหากไม่ได้รับการบำบัดที่ดีพอก็จะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำ เมื่อปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมจะทำให้ปลาป่วยเป็นโรคและทำให้มีการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียโดยอาศัยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียให้ดีขึ้น และช่วยให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดขั้นต่อไปได้อีกด้วย จุลินทรีย์ที่ใช้บำบัดน้ำเสียที่ใช้โดยทั่วไปและมีขายในปัจจุบันมี 2 รูปแบบ คือ จุลินทรีย์รูปแบบน้ำและจุลินทรีย์รูปแบบเม็ด ซึ่งการใช้จุลินทรีย์รูปแบบเม็ดมีความสะดวกในการเก็บรักษาและนำไปใช้งาน มีระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าจุลินทรีย์รูปแบบน้ำที่มีขายในปัจจุบัน และประหยัดต้นทุนการผลิตได้ด้วย

เนื่องจากวัสดุที่ใช้หาได้จากธรรมชาติและมีราคาถูก ซึ่งสามารถเปรียบเทียบข้อดี - ข้อดีของการใช้จุลินทรีย์ทั้งสองรูปแบบจากการนำไปใช้งาน ดังนี้

- จุลินทรีย์รูปแบบเม็ดจะมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานกว่าจุลินทรีย์น้ำ เนื่องจากจุลินทรีย์น้ำจะเป็นจุลินทรีย์สดที่สามารถนำไปใช้ได้ทันที ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่กำลังเจริญเต็มที่ แต่เมื่อสารอาหารหมดจุลินทรีย์ก็จะเริ่มตาย
- จุลินทรีย์เม็ดต้องใช้เวลาในการเจริญของเชื้อเมื่อนำไปใช้ ในขณะที่จุลินทรีย์น้ำมีประสิทธิภาพการบำบัดได้ในทันที
- การเก็บรักษาและการขนส่ง จุลินทรีย์เม็ดจะทำได้ง่ายกว่าและมีน้ำหนักเบากว่าจุลินทรีย์น้ำ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร

ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยด้านการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ซึ่งเป็นวิธีการบำบัดที่ได้รับการพัฒนามากขึ้นด้วยวิธีการการบำบัดทางชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเป็นการบำบัดน้ำเสียทางธรรมชาติที่อาศัยการทำงานของสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เพื่อช่วยให้การบำบัดน้ำเสียมีประสิทธิภาพมากขึ้น และนอกจากกระบวนการบำบัดจะทำให้มีคุณภาพดีขึ้นแล้ว ผลพลอยได้อีกประการหนึ่งคือ ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนพลังงานชนิดอื่น ได้ด้วย เป็นการช่วยลดปัญหากลิ่นเหม็นและก๊าซพิษ แหล่งเพาะเชื้อโรคและมลภาวะสิ่งแวดล้อม เป็นการจัดการปัญหามลภาวะอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน และพลังงานที่ได้สามารถใช้งานได้ภายในฟาร์ม ทำให้เกิดรายได้หมุนเวียน มีการสร้างและใช้พลังงานทดแทนได้อย่างสม่ำเสมอ ส่วนมูลสุกรที่เหลือจากการหมัก สามารถนำไปเป็นปุ๋ยได้เป็นอย่างดี หรือจำหน่ายเป็นรายได้แก่ฟาร์มได้อีกด้วย

Deng *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนและการบำบัดขั้นสุดท้ายของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรโดยใช้กระบวนการ IC-SBR (internal circulation (IC) anaerobic reactor and sequencing batch reactor (SBR)) พบว่าการใช้ระบบ IC สามารถลดชีโอดีได้ถึงร้อยละ 80 การปล่อยให้เกิดการย่อยสลายด้วยตัวเองในการบำบัดขั้นสุดท้ายสามารถลดชีโอดีได้เพียงร้อยละ 7.54 แต่เมื่อใช้ SBR ในการบำบัดขั้นสุดท้ายพบว่า น้ำเสียที่ออกจากระบบมีค่าชีโอดีน้อยกว่า 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการใช้ IC และ SBR ร่วมกันสามารถลดชีโอดี บีโอดี แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และไนโตรเจนทั้งหมด ได้ร้อยละ 95.5, 99.6, 99.4 และ 94.3 ตามลำดับ โดยใช้เวลาเพียง 5 – 6 วัน

RA *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาการลดสารที่มีองค์ประกอบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยเทคนิคทางชีววิทยา โดยในกระบวนการทดลองนี้ได้บำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยเครื่องปฏิกรณ์นิวเคลียร์ ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการลดสารอินทรีย์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในปริมาณร้อยละ 96, 97 และ 95 ตามลำดับ

Imbeah (1997) ได้ทำการศึกษาส่วนผสมต่าง ๆ ที่มีในน้ำเสียจากฟาร์มสุกร พบว่าในน้ำเสียจากฟาร์มสุกรประกอบไปด้วยมูลสุกร น้ำปัสสาวะ น้ำเสียต่าง ๆ เช่น น้ำเสียจากการล้างคอกสุกร น้ำเสียจากการล้างตัวสุกร และตะกอนจากบ่อน้ำหรือทะเลสาบ รวมไปถึงซากของสุกรด้วย ซึ่งสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ประกอบไปด้วยไนโตรเจนที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรได้

Sanchez *et al.* (2005a) ได้ศึกษาผลของการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของระบบ SBR แบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยศึกษาอัตราการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในช่วง 1.0 ถึง 8.1 กรัมชีโอดีต่อลิตรต่อวัน ซึ่งพบว่าที่อัตราการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 1 กรัมชีโอดีต่อลิตรต่อวัน ได้ค่า ชีโอดีทั้งหมด (TCOD) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (TOC) ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) และของแข็งแขวนลอยที่ระเหยได้ (VSS) คือ 1,205, 513, 306 และ 223 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่อัตราการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 2 กรัม TCOD ต่อลิตรต่อวัน พบว่าได้ค่า TCOD TOC TSS และ VSS เพิ่มขึ้นเป็น 2,141, 815, 692 และ 390 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่อัตราการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 4.1 กรัม TCOD ต่อลิตรต่อวัน พบว่าได้ค่า TCOD TOC TSS และ VSS เพิ่มขึ้นเป็น 4,941, 1,686, 990 และ 548 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และที่อัตราการไหลของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 8.1 กรัม TCOD ต่อลิตรต่อวัน พบว่าได้ค่า TCOD TOC TSS และ VSS เพิ่มขึ้นเป็น 6,611, 1,755, 1,223 และ 752 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้สรุปได้ว่าการไหลของน้ำเสียที่ช้าจะให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงขึ้นในการย่อยสลายโดยระบบ SBR แบบไม่ใช้ออกซิเจน

Sanchez *et al.* (2005b) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นที่เดิมและระยะเวลาในการกักกักขลศาสตร์ที่มีต่อการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในระบบ AFBR (anaerobic fixed bed reactors) แบบไร้ออกซิเจนในเขตร้อนชื้นโดยใช้ระยะเวลาการกักกักขลศาสตร์ 1 - 6 วัน ที่อุณหภูมิ 24.2 – 30.5 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 กรัมชีโอดีต่อลิตร ที่การกักกัก 2 วัน พบว่าที่ความเข้มข้น 2 – 8 กรัมชีโอดีต่อลิตร สามารถลดค่าชีโอดี เอสซีโอดี ของแข็งแขวนลอย และบีโอดีได้ดีกว่าที่เวลาการกักกักขลศาสตร์ที่มากกว่า 2 วัน และที่ความเข้มข้นที่ 10 และ 12 กรัมชีโอดีต่อลิตร จะต้องใช้เวลาในการกักกักขลศาสตร์มากกว่า 2 วัน จากการทดลองสรุปได้ว่า ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำเสียที่เดิมเข้าไปในระบบ AFBR และระยะเวลาในการ

กักพักชลศาสตร์นั้นก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัด ซึ่งระยะเวลาในการกักพักชลศาสตร์ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของน้ำเสียที่จะเติมเข้าระบบบำบัด

Pagilla *et al.* (2000) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรแบบสองขั้นตอน โดยขั้นแรกบำบัดแบบใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ขั้นที่สองบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนต่ออีกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 9 และ 14 วัน เปรียบเทียบกับการบำบัดแบบขั้นตอนเดียวแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6, 10 และ 15 วัน (ชุดควบคุม) พบว่าแบบสองขั้นตอนที่ระยะเวลาการบำบัด 6, 10 และ 15 วัน ลดค่าของแอมโมเนียไนโตรเจนได้ร้อยละ 46, 54, และ 61 ซึ่งดีกว่าชุดควบคุมที่ลดได้ร้อยละ 36, 45 และ 50 ลดค่าซีโอดีที่ละลายน้ำ ได้ร้อยละ 56, 61 และ 67 ขณะที่ชุดควบคุมลดได้ร้อยละ 44, 55 และ 60 และแบบสองขั้นตอนมีการผลิตก๊าซมีเทน 0.56, 0.61 และ 0.64 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัมของแอมโมเนียไนโตรเจนได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ผลิตได้ 0.47, 0.48 และ 0.51 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัมของแอมโมเนียไนโตรเจนได้ตามลำดับ

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์ในการวิจัย

การเก็บรวบรวมตัวอย่าง

1. ตัวอย่างน้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
2. ตัวอย่างของเหลวในลำไส้ของสุกรจากโรงชำแหละสุกร โครงการความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยแม่โจ้และบริษัทเบทาโกร จำนวน 3 ส่วน
3. ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติแม่ควา ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่
4. ตัวอย่างดินบริเวณฟาร์มเลี้ยงสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ระดับความลึก 5 และ 10 เซนติเมตร
5. ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงชำแหละสุกร โครงการความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยแม่โจ้และบริษัทเบทาโกร

ตัวอย่างน้ำเสียฟาร์มสุกรที่ใช้ในการทดลอง

น้ำเสียจากฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ส่วนประกอบในการผลิตแบคทีเรียรูปแบบเม็ด

1. ดินเหนียว
2. แกลบดำ

สารเคมี

1. เอทานอล
2. ชุดสีย้อมแกรม (gram's stain set) (Bio-Medical Laboratory, ไทย)
3. emulsion oil (Merck, Germany)
4. โพแทสเซียมไดโครเมต (APS, Australia)
5. กรดซัลฟิวริก (Ajax Finechem, Australia)
6. ซิลเวอร์ซัลเฟต (POCH, Poland)
7. 1,10-ฟีแนนโทรีน โมโนไฮเดรต (Ajax Finechem, Australia)
8. ไอออนซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต หรือ เฟอรัสซัลเฟต (APS, Australia)
9. เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต (APS, Australia)
10. peptone (HIMEDIA Laboratories, India)
11. beef extract (HIMEDIA Laboratories, India)
12. วุ้น (Agar)

สารเคมีที่ใช้ในการจำแนกแบคทีเรีย โดยวิธีการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ ในส่วนของยีน 16S rRNA

1. ชุดสกัด DNA สำเร็จรูป (Mobio DNA extraction kit)
2. master mix (Promega, USA)
3. 27F (forward primer) 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'
4. 520R(reverse primer) 5'-ACCGCGGCKGCTGGC-3'
5. 357F (forward primer) 5'-CTACGGGAGGCAAG-3'
6. 1080R (reverse primer) 5'-CCCAACATCTCACAC-3'
7. 920F (forward primer) 5'-AAACTCAAAGGAATGACGG-3'
8. 1522R (reverse primer) 5'-AAGGAGGTGATCCRCCGCA-3'
9. ชุดทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ (TaKaRa SUPREC™-PCR) (Takara, Japan)
10. loading dye (Fermentas LIFE SCIENCES, USA)
11. O' GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder (Fermentas LIFE SCIENCES, USA)
12. เอนไซม์ RNase (Nippon Gene, Japan)
13. absolute ethanol (Merck, Germany)
14. ผงวุ้นอะกาโรส

เครื่องมือ

1. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectronic® GENESYS™ Spectrophotometer, USA)
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (BENCH Top Refrigerated centrifuge ยี่ห้อ Sanyo GLENKAMP PLC รุ่น HARRIER 18/80, United Kingdom)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge ยี่ห้อ HETTICH รุ่น EBA 12R, Germany)
4. ตู้บ่ม (Oven, ยี่ห้อ Memmert, Germany))
5. ตู้บ่ม (Standard Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น ED240 (E2), USA)
6. ตู้อบเครื่องแก้ว (Standard Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น ED115 (E2), USA)
7. ตู้อบเครื่องแก้ว (High Performance Lab Oven, ยี่ห้อ Binder GMBH รุ่น FD240 (E2), USA)
8. ตู้แช่แข็ง – 80 องศาเซลเซียส (Chest-type Ult Freezer, ยี่ห้อ Sanyo รุ่น MDF-592, Japan)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ (Horizontal type laminar flow, ยี่ห้อ Triwork 2000 รุ่น CLEAN H2-3, ไทย)
10. กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (Olympus รุ่น UM 500, Japan)
11. พีเอชมิเตอร์ (pH/Ion/Conductivity, ยี่ห้อ WTW รุ่น PP50)
12. เครื่องฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave, ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50, Japan)
13. เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง (Digital Balance, ยี่ห้อ OHAUS)
14. ไมโครปิเปตขนาด 100, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
15. โถดูดความชื้น

วัสดุอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ
2. ฟลasks (flask) ขนาดต่าง ๆ
3. หลอดทดลอง
4. จานเพาะเชื้อ
5. แท่งแก้ว
6. ขวดแก้ว (ยี่ห้อ Duran)
7. ปิเปตแก้วขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
8. ขวดปริมาตรขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
9. หลอดไมโครทิวบ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
10. ไมโครปิเปตทิปส์
11. หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 150 มิลลิลิตร
12. ตะแกรงวางหลอดทดลอง
13. กล่องพลาสติก
14. กระดาษกรองใยแก้ว GF/C
15. หลอดแอมพูล ขนาด 20 x 150 มิลลิเมตร
16. ถ้วยกระเบื้อง (crucible)
17. สไลด์และกระจกปิดสไลด์
18. ตะเกียงแอลกอฮอล์
19. ห่วงถ่ายเชื้อ
20. เปเปอร์ดิสก์ (paper disc) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตร

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการทดลองนี้มีวิธีการดำเนินการวิจัยดังภาพ 1



ภาพ 1 ไคอะแกรมการทดลอง

โดยแบ่งเป็นขั้นตอนการทดลองได้ดังนี้

1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียและการทำเชื้อบริสุทธิ์

นำน้ำเสียจากฟาร์มสุกร น้ำเสียจากโรงชำแหละสุกร มูลสุกรในส่วนของลำไส้ดินบริเวณฟาร์มสุกร และน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ใส่ลงในน้ำกลั่น 0.9 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วทำการเจือจางเป็นลำดับขั้น (serial dilution) แล้วเลือกกระดับการเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ นำมาเกลี่ย (spread) บนอาหารแข็งสูตร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน ทำการคัดเลือกโคโลนีที่แตกต่างกัน นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยการขีด (streak) บนอาหารแข็ง NA จากนั้นเก็บเชื้อที่แยกได้บนอาหารวุ้นเอียง (slant agar) และในกลีเซอรอล (20% v/v) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร nutrient broth (NB) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 A จากนั้นปิเปตเชื้อใส่ในตัวอย่างน้ำเสียฟาร์มสุกร ปริมาตร 5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนและหลังการบำบัด โดยวัดค่าซีโอดีที่ละลายน้ำ (FCOD) ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งระเหยได้ทั้งหมด (TVS) และของแข็งแขวนลอย (SS) เป็นเวลา 7 วัน ในขั้นตอนนี้จะทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียดีที่สุด เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การทดสอบคุณสมบัติการเจริญร่วมกันของแบคทีเรียที่คัดเลือก

ทำการทดสอบคุณสมบัติการเจริญร่วมกันของแบคทีเรียที่คัดเลือก โดยใช้เทคนิค agar disc diffusion โดยการป้ายเชื้อ (swab) แต่ละไอโซเลต ลงบนอาหารแข็ง nutrient agar ในจานเลี้ยงเชื้อ และนำเปเปอร์ดิสก์ที่มีเชื้อแต่ละไอโซเลตมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกทีหนึ่ง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อดูการยับยั้งของเชื้อ ซึ่งจะทราบความสามารถในการยับยั้งได้จากบริเวณโซนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบๆ เปเปอร์ดิสก์

4. การศึกษาอัตราการเจริญ (growth rate) ของแบคทีเรียที่คัดเลือก

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ทุก 2 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างเส้นโค้งการเจริญเติบโต (growth curve)

5. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological characteristics) ของแบคทีเรียที่คัดเลือก

นำแบคทีเรียที่ได้ออกมาศึกษาลักษณะของเชื้อ โดยนำแบคทีเรียที่เก็บรักษาในกลีเซอรอลมาจืด (streak) บนอาหารแข็ง NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารแข็งมาเกลี่ย (smear) บนสไลด์และผึ่งไว้ให้แห้ง นำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 2 - 3 ครั้ง เพื่อตรึงเชื้อให้ติดกับสไลด์แน่นอน (heat fix) ทำการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) โดยย้อมด้วยสี crystal violet ให้ทั่วมรรยอเชื่อนาน 1 - 2 นาที เทสีทิ้ง และล้างสีออกด้วยน้ำประปาเบา ๆ แล้วหยดสารละลายไอโอดีนให้ทั่วมรรยอเชื่อนาน 1 นาที เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง และล้างด้วยน้ำประปาเบา ๆ ล้างสี crystal violet ออกด้วย acetone alcohol (ethyl alcohol + acetone) ประมาณ 5 - 10 วินาที และล้างด้วยน้ำประปาเบา ๆ ย้อมทับด้วยสี safranin นาน 1 นาที และล้างด้วยน้ำประปาเบา ๆ อีกครั้ง ผึ่งสไลด์ให้แห้งแล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงสุด โดยทำการศึกษารูปร่าง การจัดเรียงตัว และการติดสีแกรมของแบคทีเรีย

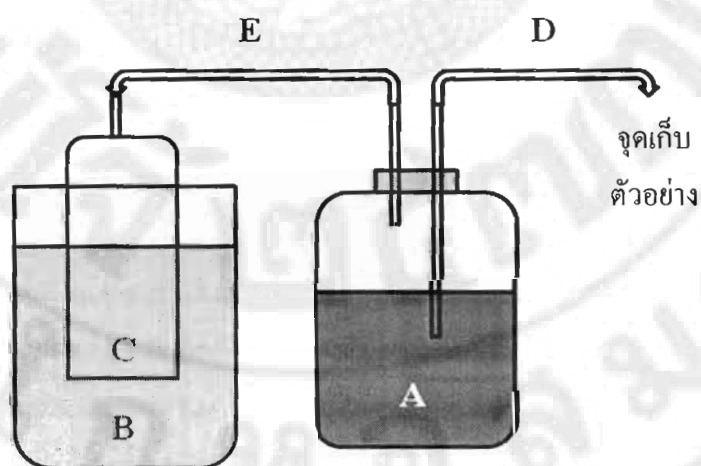
6. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 A จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ไปบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ตามชุดการทดลองดังตาราง 4 ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนและหลังการบำบัด โดยวัดค่า ซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 21 วัน

ตาราง 4 ชุดการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก

ชุดการทดลอง	แบคทีเรียที่ใช้
1	ไม่มีการเติมเชื้อ (ชุดควบคุม)
2	เชื้อที่เจริญร่วมกันได้ (เชื้อผสม)
3	ไอโซเลต 1
4	ไอโซเลต 2
5	ไอโซเลต 3
6	ไอโซเลต 4

การต่อชุดอุปกรณ์การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรแบบไร้ออกซิเจน ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก โดยก๊าซที่เกิดขึ้นจากการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรในถัง A จะเข้าไปแทนที่น้ำในถัง B ที่ต่อเข้ากับขวดพลาสติก C โดยท่อก๊าซ E ส่วนท่อ D เป็นท่อน้ำเสียที่จะนำน้ำตัวอย่างไปทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำ ดังภาพ 2



ภาพ 2 แผนภาพชุดอุปกรณ์การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร

หมายเหตุ A คือ ถังบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร, B คือ ถังบรรจุน้ำ, C คือ ถังดักก๊าซ, D คือ ท่อเก็บน้ำเสียตัวอย่าง, E คือ ท่อก๊าซ

7. การผลิตและการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด

ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากัน จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000g นาน 15 นาที นำเชื้อที่ได้ไปผสมกับวัตถุดิบ คือ แกลบคั่วและดินเหนียว ตามสูตรที่เหมาะสม โดยเติมน้ำเพื่อให้จับตัวกันเป็นก้อน แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และนำไปบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยใช้เชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร จากนั้นตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนและหลังการบำบัด โดยวัดค่าอัตราการผลิตก๊าซ ซีไอดี เอฟซีไอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน

8. การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่เหมาะสม

นำน้ำเสียจากฟาร์มสุกรใส่ในขวดโหล เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดตามชุดการทดลองดังนี้

ชุดที่ 1 ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย (ชุดควบคุม)

ชุดที่ 2 เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด 5 กรัมต่อลิตร

ชุดที่ 3 เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด 10 กรัมต่อลิตร

ชุดที่ 4 เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด 15 กรัมต่อลิตร

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนบำบัดโดยวัดค่าซีไอดี เอฟซีไอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ภายหลังการบำบัดวัดค่าอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ ซีไอดี เอฟซีไอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน

9. การศึกษาระยะเวลาในการเติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่เหมาะสม

นำน้ำเสียจากฟาร์มสุกรใส่ในขวดโหล เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดในปริมาณที่เหมาะสม (การทดลองที่ 8) ตามชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดที่ 1 ชุดควบคุม (เติมเชื้อแบคทีเรียอัดเม็ดครั้งเดียวในวันแรก)

ชุดที่ 2 เติมเชื้อแบคทีเรียอัดเม็ดทุก 7 วัน

ชุดที่ 3 เติมเชื้อแบคทีเรียอัดเม็ดทุก 14 วัน

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนบำบัดโดยวัดค่าซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ภายหลังการบำบัดวัดค่าอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ ซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน

10. การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด

นำน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 12 ลิตรใส่ในถังหมัก ขนาด 20 ลิตร เติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดในปริมาณที่ได้จากการทดลองที่ 8 และระยะเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 9 ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนบำบัดโดยวัดค่าซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย และภายหลังการบำบัดวัดค่าอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ ซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 30 วัน

11. การจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SS-2 โดยใช้เทคนิคการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน 16S rRNA

11.1 การสกัดดีเอ็นเอของแบคทีเรีย

ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบในอาหารเหลวสูตร NB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่บรรจุในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารเหลวสูตร NB ที่มีแบคทีเรียเจริญไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้งไป แล้วนำตะกอนของแบคทีเรียที่ได้มาทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Mobio DNA extraction kit) ตามขั้นตอนดังนี้

เติม bead solution ปริมาตร 300 ไมโครลิตร นำไปเขย่าแรง ๆ (vortex) เป็นเวลา 5 - 10 วินาที ขยายสารละลายนั้นใส่ลงใน bead ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เติม MD1 solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วเขย่าแรง ๆ (vortex) เป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ขยายส่วนใสด้านบนปริมาณ 350 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด microcentrifuge หลอดใหม่ เติม MD2 solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วเขย่าแรง ๆ (vortex)

เป็นเวลา 5 - 10 วินาที นำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 - 10 นาที ย้ายส่วนใสด้านบนปริมาณ 450 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด microcentrifuge หลอดใหม่ ขนาด 2 มิลลิลิตร เติมน้ำ MD3 solution ปริมาตร 900 ไมโครลิตร แล้วเขย่าแรง ๆ (vortex) เป็นเวลา 5-10 วินาที ดูดส่วนใสด้านบนปริมาณ 675 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอด filter นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติมน้ำ MD4 solution ปริมาตร 300 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้งไป ย้าย filter ใส่ลงในหลอดใหม่ จากนั้น เติมน้ำ MD5 solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และนำไปเพิ่มปริมาณขึ้น 16S rRNA ต่อไป

11.2 การเพิ่มปริมาณขึ้น 16S rRNA โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอของแบคทีเรียที่สกัดได้มาทำการเพิ่มปริมาณขึ้น 16S rRNA โดยใช้ universal primer ทั้งหมด 3 คู่ ดังนี้ คู่ที่ 1 คือ 27F (forward primer) มีลำดับเบสดังนี้ 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' และ 520R (reverse primer) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'-ACCGCGGCKGCTGGC-3' (Operon, Germany) คู่ที่ 2 คือ 357F (forward primer) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'-CTACGGGAGGCAAG-3' และ 1080R (reverse primer) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'-CCCAACATCTCACAC-3' ส่วน universal primer คู่ที่ 3 คือ 920F (forward primer) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'-AAACTCAAAGGAATGACGG-3' และ 1522R (reverse primer) ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'-AAGGAGGTGATCCRCCGCA-3' เพื่อเพิ่มปริมาณขึ้น 16S rRNA ทำการเตรียมปฏิกิริยา สำหรับการทำพีซีอาร์โดยให้มีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร ซึ่งในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย

Master mix	ปริมาตร 25 ไมโครลิตร
27F primer (ความเข้มข้น 10 พิโกโมลาร์)	ปริมาตร 2 ไมโครลิตร
520R primer (ความเข้มข้น 10 พิโกโมลาร์)	ปริมาตร 2 ไมโครลิตร
Genomic DNA (ความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	ปริมาตร 5 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	ปริมาตร 16 ไมโครลิตร

ส่วน primer อีกสองคู่ที่เหลือทำเช่นเดียวกันกับ คู่ที่ 1

ผสมส่วนประกอบต่าง ๆ ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณขึ้น 16S rRNA โดยใช้เครื่อง PCR sprint thermal cycler โดยกำหนดโปรแกรมการทำงานดังนี้

25 รอบ {	initial denaturation	94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที
	denaturation	94 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
	annealing	55 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
	extension	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
	terminating	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที
	hold	4 องศาเซลเซียส	จนกว่าจะใช้

จากนั้นนำ PCR product ที่ได้มาตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอภายใต้สนามไฟฟ้าผ่านตัวกลางชนิดวุ้น (agarose gel electrophoresis) ตามขั้นตอนดังนี้คือ เตรียมอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5% (w/v) นำไปหลอมให้ละลาย และนำเจลที่ได้มาเทใน apparatus รอให้เจลแข็งตัว และนำเจลไปวางในเครื่อง run gel เติ 1X TAE buffer ลงไปให้ท่วมเจล เตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอดังนี้คือ ใช้ DNA marker ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 4 ไมโครลิตร และ loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ปิดฝาเครื่องและตั้งค่ากระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที เมื่อเสร็จแล้วนำเจลไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (EtBr) เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนาน 10 นาที จากนั้นนำเจลไปส่องดูแถบดีเอ็นเอ โดยเครื่อง transilluminator

11. 3 การทำ PCR product ให้บริสุทธิ์

โดยใช้ชุด TaKaRa SUPREC™-PCR ตามขั้นตอนดังนี้ ปิเปิด PCR product มา ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ TE buffer (pH 7.5) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในคอลัมน์ นำคอลัมน์ใส่ลงในหลอด microcentrifuge tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 20 นาที นำของเหลวที่อยู่ในหลอด microcentrifuge tube ที่ทิ้งแล้วเติม TE buffer (พีเอช 7.5) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ ดูดขึ้นลงและขูดบริเวณเยื่อกรองในคอลัมน์ให้หลุดออกมา คว่ำคอลัมน์ลงในหลอดเข็นครีฟวี่อันใหม่ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งจะได้ PCR product บริสุทธิ์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อไปทำการหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA โดยบริษัท Frist Base Laboratories ประเทศมาเลเซีย นำลำดับเบสที่ได้ไปเทียบความคล้ายกับฐานข้อมูลใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST ของ the national center for biotechnology information; NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ซึ่งจะทำให้ทราบจีโนส และสปีชีส์ของแบคทีเรียได้

12. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้รวบรวมได้จะนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test

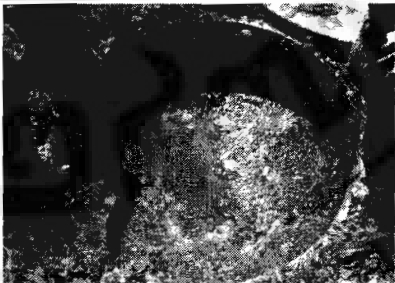
บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

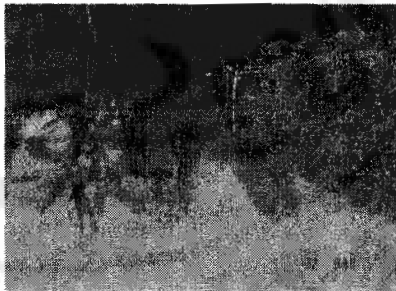
1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียและการทำเชื้อบริสุทธิ์

จากการทดลองได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ น้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเหลวในลำไส้สุกร น้ำธรรมชาติ และดิน จำนวนทั้งหมด 8 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคการเกลี่ยเชื้อ (spread) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) และนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 67 ไอโซเลต (ตาราง 5) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จะนำไปทดสอบความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในขั้นตอนต่อไป

ตาราง 5 แหล่งที่มา ลักษณะของตัวอย่าง และจำนวนไอโซเลตที่คัดแยกได้

ตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลต ที่แยกได้
1. ตัวอย่างน้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (แทนค่าเป็น NB)		13
2. ตัวอย่างของเหลวในลำไส้ของ สุกรจากโรงชำแหละสุกร โครงการความร่วมมือระหว่าง มหาวิทยาลัยแม่โจ้และบริษัทเบทา- โกร ส่วนที่ 1 (แทนค่าเป็น BP1)		8

ตาราง 5 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลต ที่แยกได้
3. ตัวอย่างของเหลวในลำไส้ของ สุกร จาก โรงชำแหละ สุกร โครงการความร่วมมือระหว่าง มหาวิทยาลัยแม่โจ้และบริษัทเบทา- โกร ส่วนที่ 2 (แทนค่าเป็น BP2)		7
4. ตัวอย่างของเหลวในลำไส้ของ สุกร จาก โรงชำแหละ สุกร โครงการความร่วมมือระหว่าง มหาวิทยาลัยแม่โจ้และบริษัทเบทา- โกร ส่วนที่ 3 (แทนค่าเป็น BP3)		7
5. ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ แม่ลาว ตำบลหนองหาร อำเภอ สันทราย จังหวัดเชียงใหม่ (แทนค่า เป็น KR)		9
6. ตัวอย่างดินในบริเวณฟาร์มเลี้ยง สุกร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ระดับ ความลึก 5 เซนติเมตร (แทนค่าเป็น S5)		6

ตาราง 5 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลต ที่แยกได้
7. ตัวอย่างดินในบริเวณฟาร์มเลี้ยง สุกร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ระดับ ความลึก 10 เซนติเมตร (แทนค่า เป็น S10)		8
8. ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงฆ่าและ สุกร โครงการความร่วมมือ ระหว่างมหาวิทยาลัยแม่โจ้และ บริษัทเบทาโกร (แทนค่าเป็น SP)		9

จากการศึกษาลักษณะการเจริญของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง NA สามารถจัดกลุ่ม
ได้ 8 กลุ่ม ตามลักษณะของโคโลนีได้ ดังนี้ (ตารางผนวก 28)

1. โคโลนีรูปร่างกลม เจริญสูงชันจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเรียบ
ไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าเรียบ จำนวน 32 ไอโซเลต
2. โคโลนีรูปร่างกลม เจริญสูงชันจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเรียบ
ไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าขรุขระ จำนวน 1 ไอโซเลต
3. โคโลนีรูปร่างกลม นูนโค้งจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเรียบ ไม่มี
รอยหยัก ผิวหน้าเรียบ จำนวน 3 ไอโซเลต
4. โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงชันจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนี
เรียบไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าเรียบ จำนวน 2 ไอโซเลต
5. โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงชันจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบเป็นคลื่น
ที่โค้งหรือเว้าเล็กน้อย ผิวหน้าเรียบ จำนวน 10 ไอโซเลต

6. โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบเป็นคลื่น ที่โค้งหรือเว้าเล็กน้อย ผิวหน้าขรุขระ จำนวน 1 ไอโซเลต

7. โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบเป็นคลื่น ที่โค้งหรือเว้าเล็กน้อย ผิวหน้าย่น จำนวน 7 ไอโซเลต

8. โคโลนีขนาดเล็ก แต่ยังเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 0.5 มิลลิเมตร เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเรียบไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าเรียบ จำนวน 11 ไอโซเลต

เมื่อทำการย้อมสีแบคทีเรียด้วยวิธี Gram's staining และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียทั้งหมด 67 ไอโซเลตที่ทำการคัดแยกได้ พบว่า สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม (ตารางผนวก 29) ดังนี้

1. รูปร่างท่อน แกรมบวก จำนวน 28 ไอโซเลต
2. รูปร่างท่อน แกรมลบ จำนวน 24 ไอโซเลต
3. รูปร่างกลม แกรมบวก จำนวน 14 ไอโซเลต
4. รูปร่างกลม แกรมลบ จำนวน 1 ไอโซเลต

โดยสัญลักษณ์ของเชื้อไอโซเลตที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นสัญลักษณ์ที่ดัดมาเฉพาะของเชื้อไอโซเลตที่คัดแยกได้จากการทดลองเท่านั้น

2. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

จากการทดลองนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 67 ไอโซเลต มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรเบื้องต้น โดยใช้ น้ำเสียจากฟาร์มสุกร ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งมีคุณลักษณะของน้ำเสีย คือ ค่าเฟชีโอดี (FCOD) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) ปริมาณของแข็งระเหย (TVS) ดังตาราง 6 และภาพ 3

ตาราง 6 คุณลักษณะของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พารามิเตอร์	ปริมาณค่าตัวแปร
เฟชีโอดี (FCOD)	2,000 - 7,360 มิลลิกรัมต่อลิตร
ของแข็งทั้งหมด (TS)	4,280 - 9,052 มิลลิกรัมต่อลิตร
ของแข็งแขวนลอย (SS)	1,360 - 2,700 มิลลิกรัมต่อลิตร
ของแข็งระเหย (TVS)	2,885 - 5,648 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเป็นด่าง (Alkalinity)	1,600 - 2,700 มิลลิกรัมต่อลิตร
พีเอช (pH)	6.7 - 7.8



ภาพ 3 ลักษณะและจุดเก็บตัวอย่างน้ำเสียฟาร์มสุกร คณะเทคโนโลยีทางสัตว มหาวิทยาลัยแม่โจ้

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรมีทั้งหมด 26 ไอโซเลต ได้แก่ SP-1, SP-4, SP-5, SP-7, SP-9, NB-4, NB-5, NB-6, NB-13, KR-4, KR-6, KR-7, BP1-1, BP1-2, BP1-7, BP2-1, BP3-1, BP3-2, BP3-4, BP3-6, BP3-9, S5-2, S5-3, S5-7.1, S10-9 และ S10-13

โดยในการทดลองนี้พิจารณาประสิทธิภาพการลดค่าของแข็งที่ระเหยได้เป็นหลัก รองลงมา คือ ค่าเอฟซีไอดี และค่าอื่น ๆ ประกอบด้วย เนื่องจากค่าของแข็งที่ระเหยได้เป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ทั้งหมดที่เชื้อแบคทีเรียจะสามารถย่อยสลายได้ ส่วนค่าเอฟซีไอดีเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่เชื้อแบคทีเรียจะสามารถย่อยสลายได้ เมื่อเอาส่วนที่เป็นของแข็งออกไป และเป็นค่าที่บ่งบอกถึงสภาวะความสกปรกของน้ำได้ด้วย

จากการทดลอง พบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 มีประสิทธิภาพการบำบัดดีที่สุด ถึงแม้ว่าการกำจัดซีไอดีของแบคทีเรียไอโซเลต BP3-6 และ NB-4 จะมีประสิทธิภาพดีกว่าไอโซเลต S5-3 และ S5-7.1 แต่การลดค่าของแข็งที่ระเหยได้ และค่าของแข็งทั้งหมดมีประสิทธิภาพดีกว่าแบคทีเรียไอโซเลต BP3-6 และ NB-4 โดยแบคทีเรียไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 สามารถลดค่าของแข็งที่ระเหยได้ (TVS) ได้ร้อยละ 84.6, 77.5, 82.2 และ 77.2 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าของแข็งทั้งหมด (TS) ได้ร้อยละ 65.4, 56.7, 60.6 และ 58.1 ตามลำดับ ลดค่าของแข็งแขวนลอย (SS) ได้ร้อยละ 95.0, 83.9, 78.5 และ 85.0 ตามลำดับ และลดค่าเอฟซีไอดี (FCOD) ได้เท่ากับร้อยละ 78.0, 58.0, 60.0 และ 70.0 ตามลำดับ ในระยะเวลา 7 วัน (ตาราง 7, ตารางผนวก 1)

ตาราง 7 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 26 ไอโซเลต

ไอโซเลต	ประสิทธิภาพการบำบัด (ร้อยละ)			
	TS	TVS	SS	FCOD
Control	51.2	69.6	85.0	50.0
SP-1	57.5	74.2	81.1	42.0
SP-4	54.1	68.0	80.9	40.0
SP-5	53.5	71.5	78.5	64.0
SP-7	55.1	76.3	86.1	38.0
SP-9	55.3	74.0	84.4	38.0
S5-2	65.4	84.6	95.0	78.0
S5-3	56.7	77.5	83.9	58.0
S5-7.1	60.6	82.2	78.5	60.0
S10-9	55.0	75.2	87.2	44.0
S10-13	52.8	72.0	83.1	42.0
NB-4	56.2	74.2	80.2	68.0
NB-5	55.0	74.4	83.3	52.0
NB-13	57.6	76.6	77.6	36.0
BP1-1	56.8	74.5	85.7	48.0
BP1-2	51.5	69.6	83.3	44.0
BP1-7	58.1	77.2	85.0	70.0
BP2-1	52.3	70.5	85.7	40.0
BP2-2	55.0	72.8	84.6	36.0
BP3-1	51.8	69.1	76.3	48.0
BP3-2	55.7	73.9	86.7	56.0
BP3-4	55.8	74.7	80.0	66.0
BP3-6	55.4	72.5	89.4	74.0
BP3-9	54.4	73.1	82.2	40.0
KR-4	52.7	66.6	84.3	68.0
KR-6	55.0	73.1	80.9	56.0
KR-7	57.8	72.6	82.6	62.0

จากการทดลองใช้เชื้อไอโซเลตที่คัดแยกได้ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ในระยะเวลา 7 วัน คัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 4 ไอโซเลต ได้แก่ S5-2, S5-7.1, S5-3 และ BP1-7 เชื้อที่คัดเลือกได้ทั้ง 4 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการกำจัดชีโอคิของน้ำเสียได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับการทดลองของ Kim *et. al.* (2004) ซึ่งใช้เชื้อ *Rhodopseudomonas palustris* ในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรที่มีการเจือจางและไม่มีการเจือจางน้ำเสีย การกำจัดชีโอคิ กำจัดได้ร้อยละ 90 ในน้ำเสียที่มีการเจือจาง และกำจัดได้เพียงร้อยละ 50 ในน้ำเสียที่ไม่มีการเจือจาง ในระยะเวลา 6 วัน ซึ่งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลตที่คัดเลือกได้จะนำไปทดสอบคุณสมบัติของเชื้อ และประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อในขั้นตอนต่อไป

3. การทดสอบคุณสมบัติในการเจริญร่วมกันของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลต

เมื่อทำการทดสอบด้วยเทคนิค agar disc diffusion โดยการนำเปปเปอร์ดิสก์ที่ชุบด้วยเชื้อแต่ละไอโซเลต มาวางทับลงบนอาหารแข็งสูตร NA ที่ทำด้วยเชื้อแต่ละไอโซเลตไว้ พบว่า เชื้อ S5-3 กับ S5-7.1 และเชื้อ S5-2 กับ BP1-7 และ S5-7.1 สามารถเจริญร่วมกันได้ เชื้อ S5-3 กับ S5-2 และ S5-3 กับ BP1-7 ไม่สามารถเจริญร่วมกันได้ เนื่องจากมีโซนใสเกิดขึ้นรอบ ๆ เปปเปอร์ดิสก์ ดังลูกศรสีแดง แสดงว่ามีการยับยั้งกันของเชื้อเกิดขึ้น ส่วนเชื้อที่สามารถเจริญร่วมกันได้จะไม่เกิดโซนใสขึ้นรอบ ๆ เปปเปอร์ดิสก์ ดังลูกศรสีเหลือง (ภาพ 4)



ภาพ 4 การทดสอบการเจริญร่วมกันของเชื้อโดยใช้เทคนิค agar disc diffusion

หมายเหตุ ลูกศรสีแดง เกิดโซนใสรอบเปปเปอร์ดิสก์
ลูกศรสีเหลือง ไม่เกิดวงใสรอบเปปเปอร์ดิสก์

ดังนั้นผลการทดสอบการเจริญร่วมกันของเชื้อด้วยเทคนิค agar disc diffusion พบว่าเชื้อไอโซเลต S5-3 กับ S5-7.1 และเชื้อ S5-2 กับ BP1-7 และ S5-7.1 สามารถเจริญร่วมกันได้ เชื้อ ไอโซเลต S5-3 กับ S5-2 และ S5-3 กับ BP1-7 ไม่สามารถเจริญร่วมกันได้ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการผลิตสารหรือเอนไซม์ของเชื้อชนิดหนึ่ง ที่ไปมีผลต่อการเจริญของเชื้ออีกชนิดหนึ่งทำให้ไม่สามารถเจริญได้ตามปกติ ซึ่ง Mellefont *et al.* (2008) ได้รายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกัน แล้วส่งผลให้เชื้อนั้นเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตซึ่งกันและกันว่า อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างที่เกิดขึ้น และอาจเกี่ยวข้องกับการสะสมของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งสารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นนี้มีผลไปยับยั้งการเจริญของเชื้ออีกสายพันธุ์หนึ่ง อย่างไรก็ตามในการเลี้ยงเชื้อร่วมกันนั้นจำเป็นต้องพิจารณาหลาย ๆ ปัจจัยด้วยกัน เช่น โคเนดิกส์ของการเจริญเติบโตของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ รวมไปถึงสภาวะการเลี้ยงที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลองด้วย (Nilsson *et al.*, 2005)

จากผลการทดลองที่ได้นำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในขั้นตอนต่อไป โดยใช้เชื้อทดสอบทั้ง 4 ไอโซเลต และเชื้อผสม คือ S5-2, S5-7.1 และ BP1-7

4. การศึกษาอัตราการเจริญ (growth rate) ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 4 ไอโซเลต

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลตมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในสภาวะไร้ออกซิเจน และวัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่า

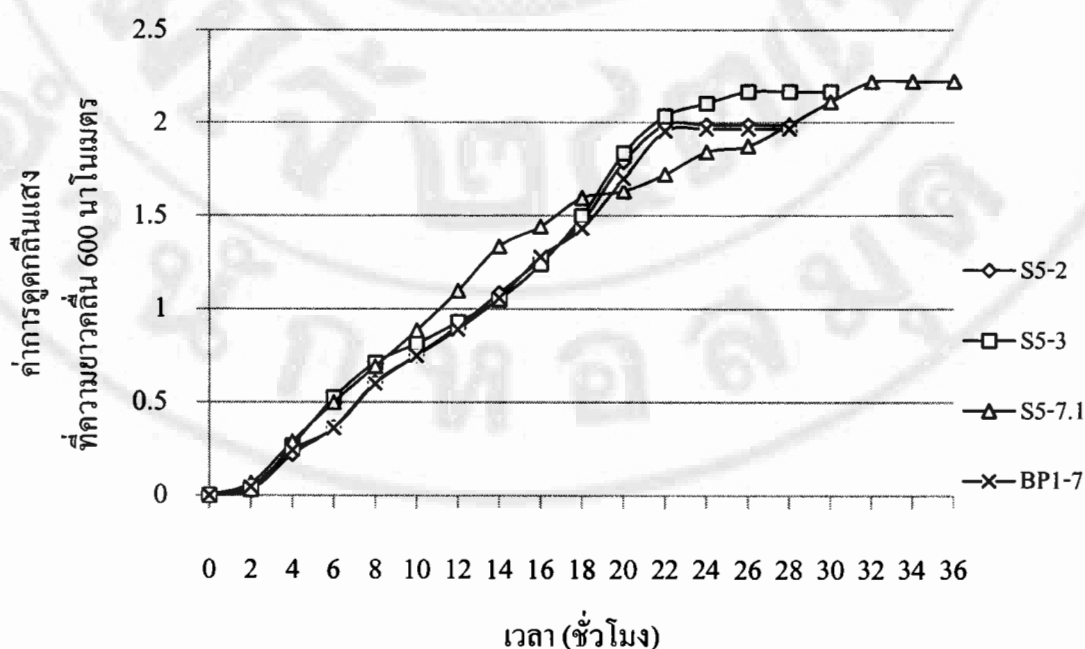
ระยะ lag phase เป็นระยะที่ยังไม่มีการแบ่งเซลล์ เชื้อแบคทีเรียใช้ระยะเวลานี้ในการปรับตัว โดยใน 2 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง เชื้อไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 ค่าการดูดกลืนแสงมีการเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ 0.028, 0.031, 0.067 และ 0.046 ตามลำดับ

ระยะ log phase หรือ exponential phase ระยะนี้เซลล์จะแบ่งตัวแต่ละครั้งพร้อมกันในอัตราคงที่ ซึ่งถือเป็นระยะที่มีการที่มีการแบ่งตัวทวีคูณมากที่สุด และมากกว่าระยะอื่น ๆ ความเข้มข้นของสับสเตรทกับอัตราการเจริญเติบโตมีความสัมพันธ์กันคือ เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรทสูงจะมีผลเล็กน้อยต่อการเจริญ แต่เมื่อใดความเข้มข้นลดต่ำลงมากอัตราการเจริญจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด (อรษา และ พิมพ์พันธุ์, 2536) โดยในชั่วโมงที่ 2 - 22 ของการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ BP1-7 ชั่วโมงที่ 2 - 26 และ 2 - 32 ของการเจริญของแบคทีเรีย

ไอโซเลต S5-3 และ S5-7.1 เป็นช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ 1.986, 1.965, 2.166 และ 2.220 ตามลำดับ ซึ่งจากภาพ 4 สังเกตเห็นว่า แบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 มีระยะ log phase กว้างกว่าไอโซเลตอื่น ซึ่งหมายความว่า มีอัตราการเจริญที่ช้าและนานกว่าเชื้อไอโซเลตอื่น

หลังจากนั้นการเจริญเข้าสู่ระยะ stationary phase เป็นระยะที่จำนวนแบคทีเรียในช่วง log phase หยุดการทวีจำนวนและอยู่ในสภาพคงที่ไปชั่วระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งอาจเนื่องมาจาก ปริมาณสารอาหารบางอย่างหมดหรือลดน้อยลง หรือมีการสร้างสารพิษระหว่างการเจริญในอาหาร เลี้ยงเชื้อ การที่จำนวนประชากรคงที่นั้นแสดงว่า ไม่มีการแบ่งตัวอีกเลย หรืออัตราการเจริญเท่ากับ อัตราการตาย หรือสมดุลกัน ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเจริญเกิดขึ้นในระยะนี้ก็ตาม แต่หน้าที่ต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น เมตาบอลิซึมและพลังงาน และขบวนการสร้างทางชีวภาพยังเกิดขึ้นอยู่ (อรษา และ พิมพ์พันธุ์, 2536) โดยระยะ stationary phase ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 คือ ชั่วโมงที่ 22, 26, 32 และ 22 (ภาพ 5, ตารางผนวก 27)

ผลการทดลองที่ได้นำไปเป็นข้อมูลของการเพาะเลี้ยงเชื้อ เพื่อทดสอบ ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองควรเป็นเชื้อที่อยู่ในระยะ log phase เพราะเป็นระยะที่เชื้อมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว ซึ่งมีสภาวะเหมาะสมที่จะนำไปใช้งาน



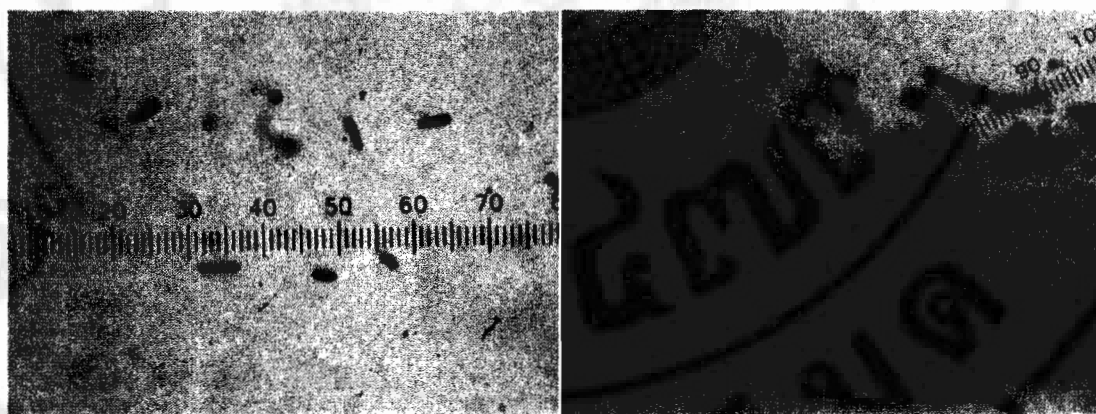
ภาพ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลตที่ระยะเวลาต่างกัน

5. การศึกษาลักษณะพื้นฐานของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก

เมื่อทำการศึกษาลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบแกรม (Gram's Staining) และลักษณะของโคโลนี พบว่ามีลักษณะดังนี้

5.1 แบคทีเรียไอโซเลต S5-2

ลักษณะของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) พบว่า เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน แกรมบวก ขนาดความยาว 3 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน และมีสปอร์อยู่ในตำแหน่งกลางเซลล์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบว่า โคโลนีของ S5-2 มีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเป็นคลื่นโค้งหรือเว้าเล็กน้อย ผิวหน้าขุ่น (ภาพ 6 และ 7) ซึ่งจากลักษณะทางสัณฐานที่พบมีลักษณะคล้ายกับ *Bacillus* sp. แต่ต้องศึกษาโดยการจัดจำแนกจากดีเอ็นเอของเชื้อต่อไป



ก.

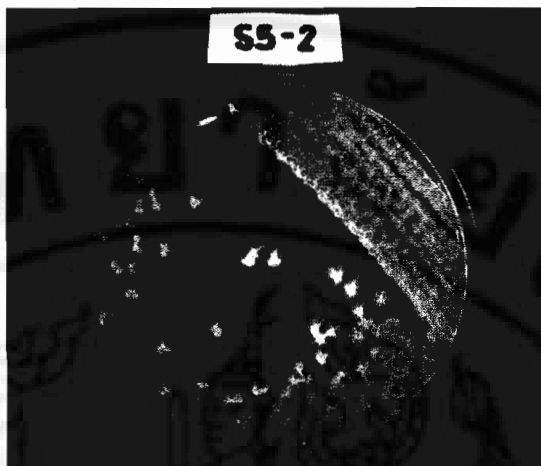
ข.

ภาพ 6 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

หมายเหตุ

ก. คือ การดัดสีแกรม

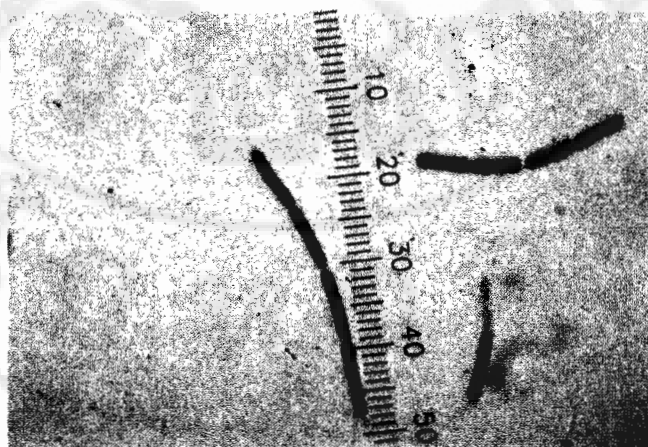
ข. คือ สปอร์ของเชื้อไอโซเลต S5-2



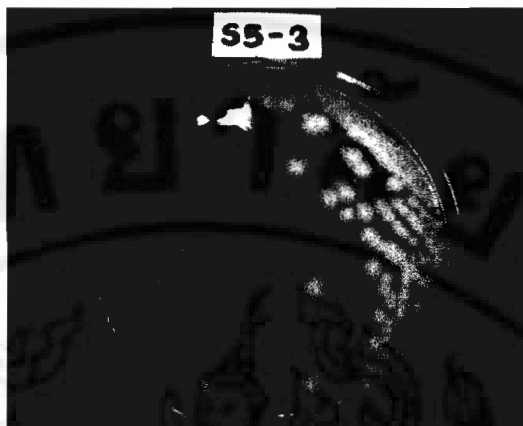
ภาพ 7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2

5.2 แบคทีเรียไอโซเลต S5-3

ลักษณะของแบคทีเรียไอโซเลต S5-3 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) พบว่าเป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน แกรมบวก ไม่มีสปอร์ ขนาดความยาวประมาณ 5 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ ไร้ออกซิเจน พบว่า โคโลนีของ S5-3 มีรูปร่างกลม เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบ โคโลนีเรียบไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าเรียบ (ภาพ 8 และ 9)



ภาพ 8 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-3 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า



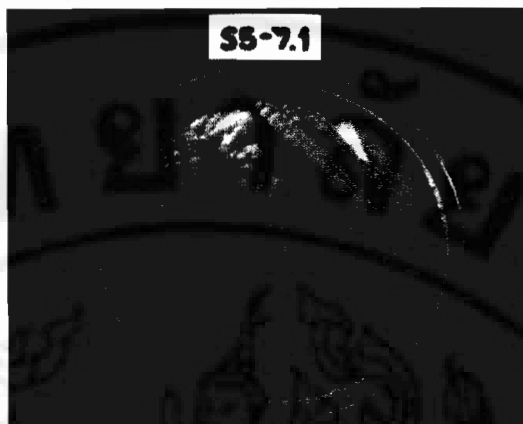
ภาพ 9 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-3

5.3 แบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1

ลักษณะของแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) พบว่าเป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน แกรมลบ ไม่มีสปอร์ ขนาดความยาวประมาณ 5 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบว่า โคโลนีของ S5-7.1 มีรูปร่างกลม เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบโคโลนีเรียบไม่มีรอยหยัก ผิวหน้าเรียบ (ภาพ 10 และ 11)



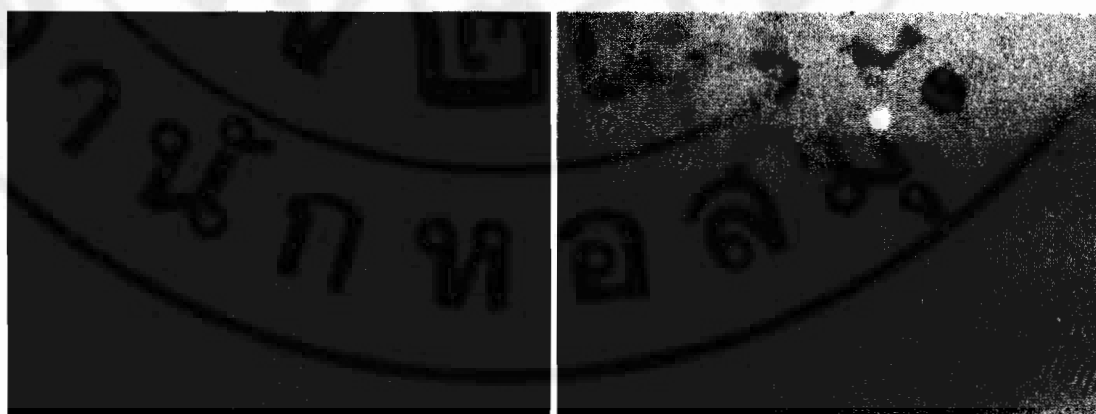
ภาพ 10 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า



ภาพ 11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1

5.4 แบคทีเรียไอโซเลต BP1-7

ลักษณะของแบคทีเรียไอโซเลต BP1-7 ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า โดยใช้เทคนิคการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) พบว่าเป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน แกรมลบ มีสปอร์อยู่ในตำแหน่งกลางเซลล์ ขนาดความยาวประมาณ 3 ไมครอน กว้าง 1 ไมครอน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบว่า โคโลนีของ BP1-7 มีรูปร่างไม่แน่นอน เจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบเป็นคลื่นที่โค้งหรือเว้าเล็กน้อย ผิวหน้าขุ่น (ภาพ 12 และ 13) จากลักษณะทางสัณฐานที่พบมีลักษณะคล้ายกับ *Bacillus* sp. แต่ต้องศึกษาโดยการจัดจำแนกจากดีเอ็นเอของเชื้อต่อไป



ก.

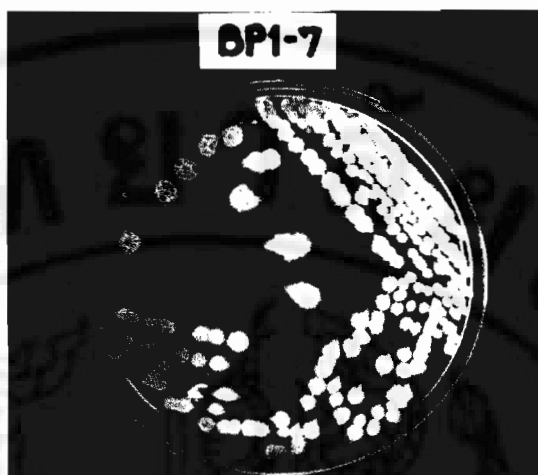
ข.

ภาพ 12 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย BP1-7 ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

หมายเหตุ

ก. คือ การติดสีแกรม

ข. คือ สปอร์ของเชื้อไอโซเลต BP1-7



ภาพ 13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต BP1-7

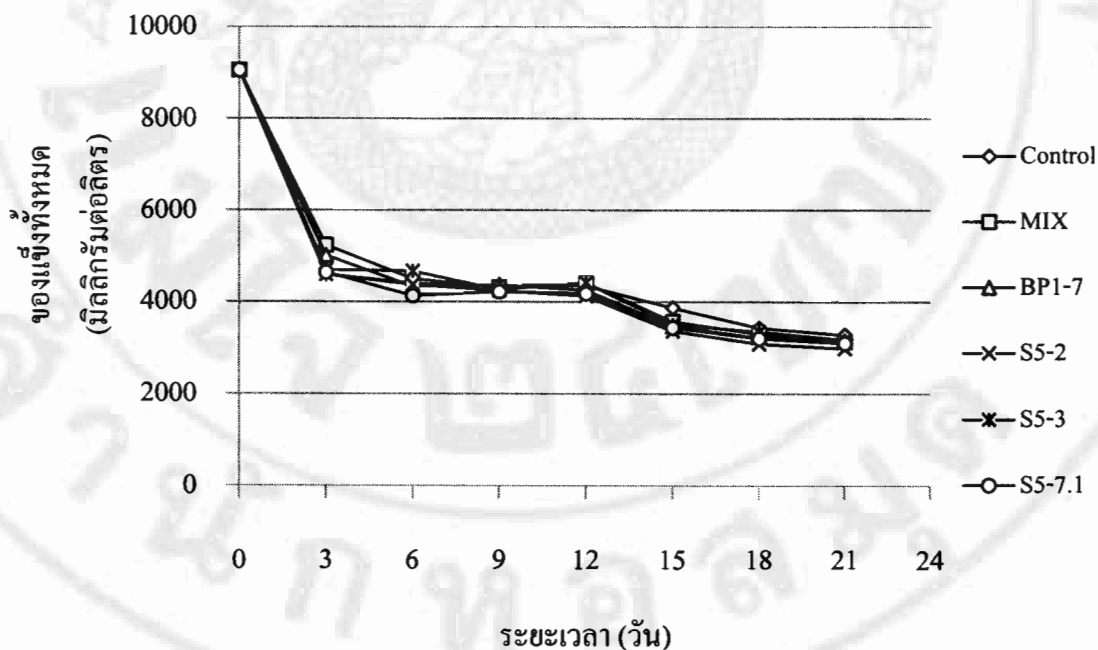
6. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต คือ เชื้อ S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 ไปบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร และทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำก่อนและหลังการบำบัด โดยวัดค่าซีโอดี เอฟซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งระเหยได้ และ ของแข็งแขวนลอย ทุก 3 วัน เป็นเวลา 21 วัน ตามชุดการทดลองในตาราง 8

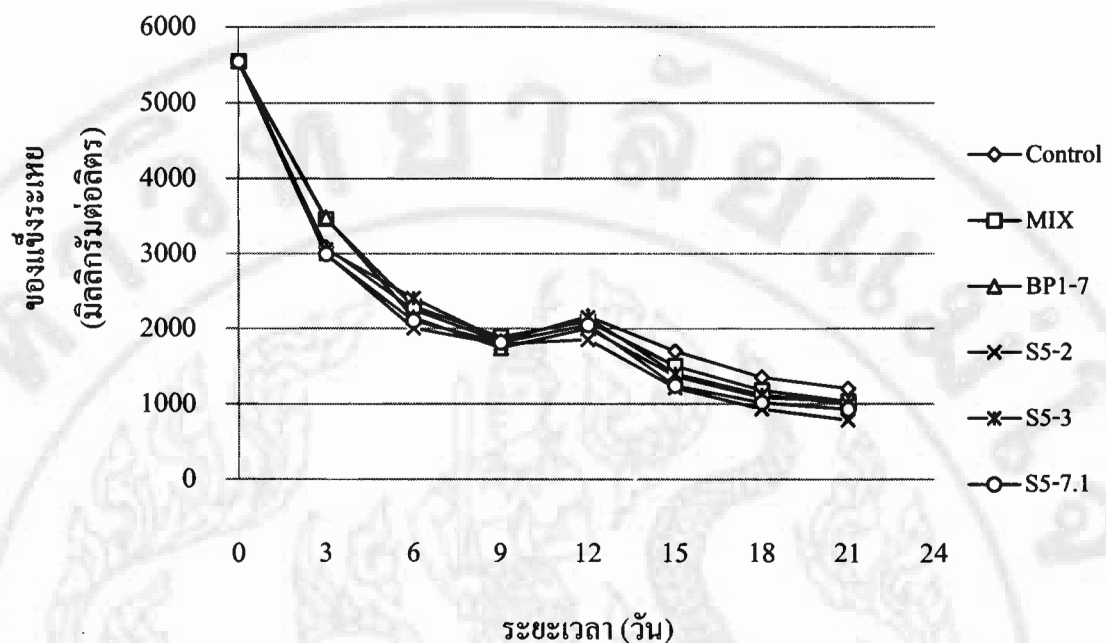
ตาราง 8 ชุดการทดลองของการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อที่คัดเลือก

ชุดการทดลองที่	แบคทีเรียที่เติม
1	ชุดควบคุม, control (ไม่มีการเติมเชื้อ)
2	MIX (S5-2+S5-7.1+BP1-7)
3	S5-2
4	S5-3
5	S5-7.1
6	BP1-7

จากการทดลอง พบว่า ค่าของแข็งทั้งหมดในทุกชุดการทดลองมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการทดลอง หลังจากวันที่ 6 ของการทดลองจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยและจะค่อย ๆ ลดลงภายหลังการทดลองในวันที่ 15 ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรีย และในวันสุดท้ายของการทดลอง เชื้อที่มีความสามารถในการลดค่าของแข็งทั้งหมดได้ดีที่สุด คือ ชุดที่ใช้เชื้อไอโซเลต S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1, BP1-7, MIX, S5-3 และชุดควบคุม โดยลดลงจาก 9,053 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 2,975, 3,090, 3,115, 3,140, 3,170 และ 3,270 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 67.1, 65.9, 65.6, 65.3, 65.0 และ 63.9 ตามลำดับ (ภาพ 14, ตารางผนวก 2) เช่นเดียวกับค่าของแข็งระเหยได้ ที่มีค่าลดลงเรื่อย ๆ ในช่วงแรกของการทดลอง และเพิ่มขึ้นในวันที่ 12 ของการทดลอง จากนั้นจะลดลงอีกครั้งจนกระทั่งในวันสุดท้ายของการทดลอง ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ มีค่าลดลงจาก 5,548 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 785, 930, 1,000, 1,030, 1,035 และ 1,205 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 85.8, 83.2, 82.0, 81.4, 81.3 และ 78.3 ตามลำดับ (ภาพ 15, ตารางผนวก 3)

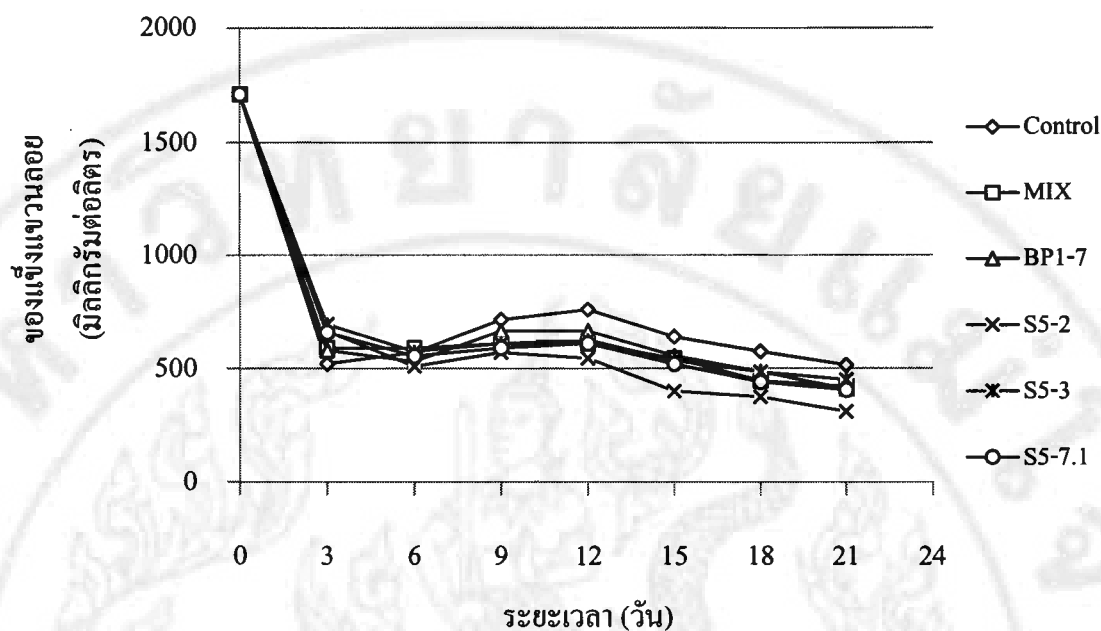


ภาพ 14 ของแข็งทั้งหมดของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย



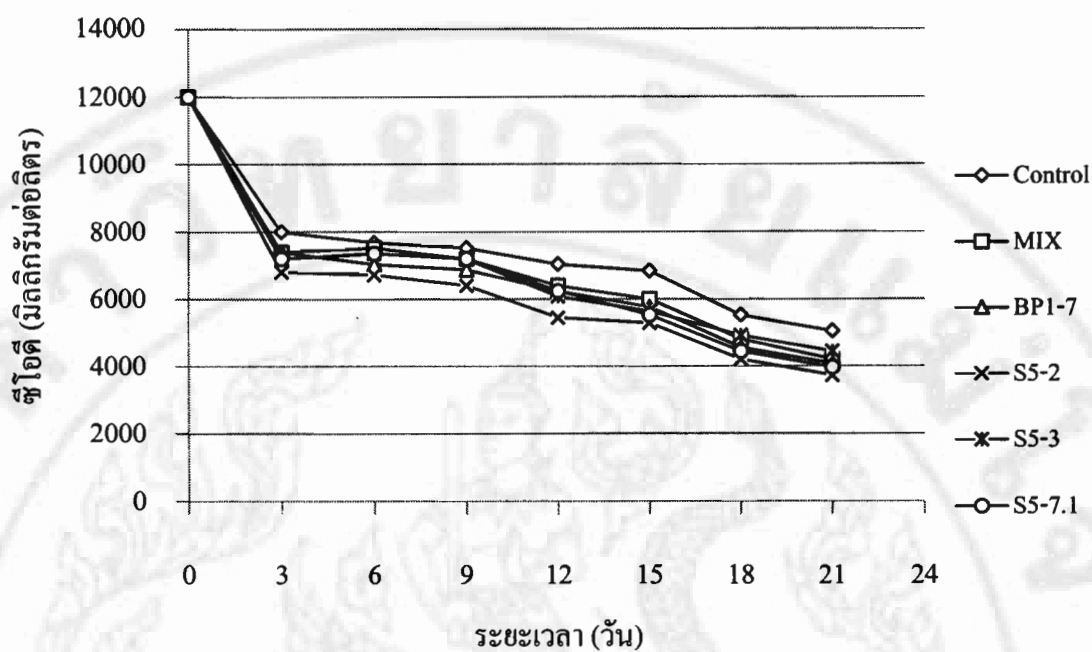
ภาพ 15 ของแรงเสียดทานของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

ในทำนองเดียวกัน ค่าของแรงแขวนลอยมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ของการทดลอง และภายหลังการทดลองวันที่ 9 จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนกระทั่งถึงวันที่ 15 ค่าของแรงแขวนลอย เริ่มลดลง และในวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดการทดลองที่สามารถลดค่าของแรงแขวนลอยได้ดีที่สุด คือชุดที่ใช้เชื้อ S5-2 รองลงมา คือ S5-7.1, BP1-7, MIX, S5-3 และ control โดยลดจาก 1,710 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 310, 405, 410, 420, 450 และ 515 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 81.9, 76.3, 76.0, 75.4, 73.7 และ 69.9 ตามลำดับ (ภาพ 16, ตารางผนวก 4)

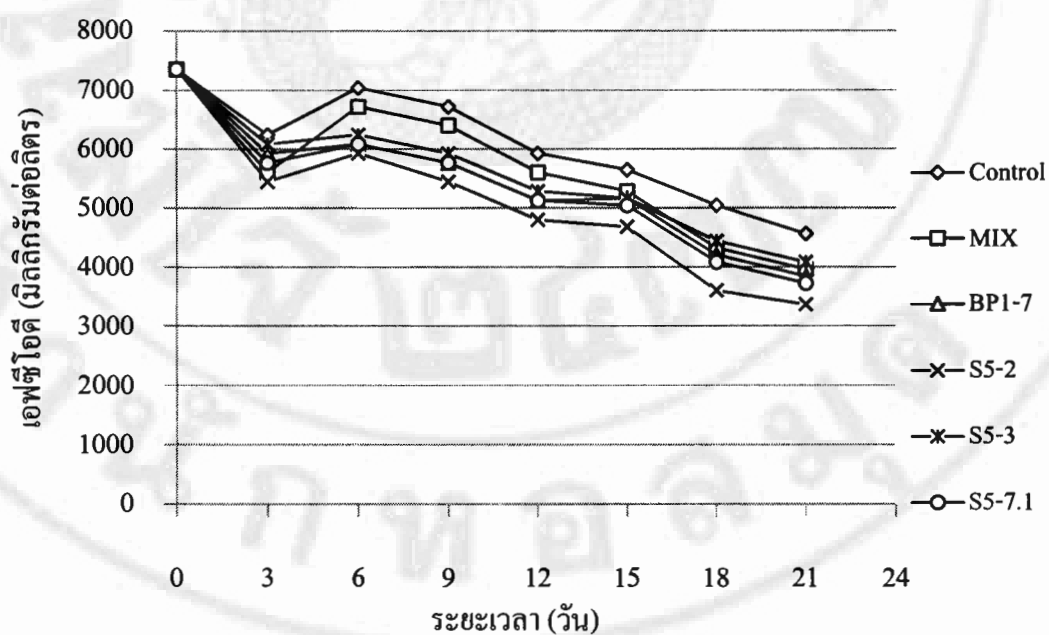


ภาพ 16 ของแข็งแขวนลอยของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของเชื้อในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน เช่นเดียวกับค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ คือใน 3 วันแรกของการทดลองค่าซีโอดีจะมีค่าลดลง จากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้น และเริ่มลดลงอีกครั้งในวันที่ 12 ของการทดลอง จนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดการทดลองที่สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ S5-2, S5-7.1, BP1-7, MIX, S5-3 และชุดควบคุม (control) โดยลดลงจาก 12,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 3,720, 3,960, 4,080, 4,200, 4,440 และ 5,040 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 69.0, 67.0, 66.0, 65.0, 63.0 และ 58.0 ตามลำดับ (ภาพที่ 17, ตารางผนวก 5) เช่นเดียวกับค่าเอฟซีโอดี โดยในวันสุดท้ายลดลงจาก 7,360 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 3,360, 3,720, 3,840, 3,960, 4,080 และ 4,560 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 72.0, 69.0, 68.0, 67.0, 66.0 และ 62.0 ตามลำดับ (ภาพ 18, ตารางผนวก 6)



ภาพ 17 ซีไอดีของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย



ภาพ 18 เอฟซีไอซีของการบำบัดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

จากการทดลองที่ได้ พบว่า การบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรที่ระยะเวลา 21 วัน เชื้อที่มีความสามารถในการลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือเชื้อไอโซเลต S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 คิดเป็นร้อยละ 69.0 และ 67.0 ลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจนได้ดีที่สุด คือเชื้อไอโซเลต S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 คิดเป็นร้อยละ 72.0 และ 69.0 ลดค่าของแข็งแขวนลอยได้ดีที่สุด คือ S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 คิดเป็นร้อยละ 81.9 และ 76.3 ลดค่าของแข็งทั้งหมดได้ดีที่สุด คือเชื้อไอโซเลต S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 คิดเป็นร้อยละ 67.1 และ 65.9 ลดค่าของแข็งระเหยได้ดีที่สุด คือ S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 คิดเป็นร้อยละ 85.8 และ 83.2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่ใช้เชื้อไอโซเลตกับชุดควบคุม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$) (ตาราง 9, ตารางผนวก 7) โดยชุดการทดลองที่เติมเชื้อมีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรดีกว่าชุดควบคุม

ตาราง 9 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของการใช้เชื้อในรูปแบบเซลล์แขวนลอย

ชุดการทดลอง	ประสิทธิภาพการบำบัด (ร้อยละ)				
	TS	TVS	SS	COD	FCOD
control	63.9 ^c	78.3 ^d	69.9 ^d	58.0 ^c	62.0 ^c
MIX	65.3 ^b	81.3 ^c	75.4 ^{bc}	65.0 ^{ab}	67.0 ^b
BP1-7	65.6 ^b	81.4 ^c	76.0 ^{bc}	66.0 ^{ab}	68.0 ^{ab}
S5-2	67.1 ^a	85.8 ^a	81.9 ^a	69.0 ^a	72.0 ^a
S5-3	65.0 ^b	82.0 ^{bc}	73.7 ^c	63.0 ^b	66.0 ^{bc}
S5-7.1	65.9 ^b	83.2 ^b	76.3 ^b	67.0 ^{ab}	69.0 ^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$)

การเติมเชื้อแบคทีเรียแบบเซลล์แขวนลอยเพิ่มเข้าไปในระบบ จะทำให้มีระบบความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ จึงทำให้ค่าความสกปรกของน้ำมีค่าลดลง โดยแบคทีเรียแบบไม่ใช้อากาศจะทำหน้าที่ย่อยสลายของเสียที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสียมีค่าลดลง (สุวิมล, 2548) ดังเช่นการทดลองของ Yang *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษากลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน ในการกำจัดคาร์บอน และไนโตรเจนจากน้ำเสียฟาร์มสุกร พบว่ากลุ่มแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการกำจัดไนโตรเจนได้ร้อยละ 95.1 และลดซีโอดี และเอฟซีโอดี ได้ร้อยละ 83.5 และ 84.1 ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพการบำบัดดีกว่าในการทดลองนี้

ดังนั้นผลการทดลองที่ได้แสดงว่า เชื้อแบคทีเรียรูปแบบเซลล์แขวนลอยที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ระยะเวลาไม่เกิน 21 วัน ได้ดีที่สุด คือ เชื้อ S5-2 รองลงมาคือเชื้อ S5-7.1 ซึ่งจะนำไปทดสอบในรูปแบบเม็ดในขั้นตอนต่อไป

7. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด

เมื่อนำแบคทีเรียไอโซเลต คือ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดไปบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรเป็นเวลา 30 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยก๊าซที่เกิดขึ้นจากการการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร จะเข้าไปแทนที่น้ำในขวดพลาสติกที่ต่อเข้ากับขวดบรรจุน้ำเสีย (ภาพ 19)

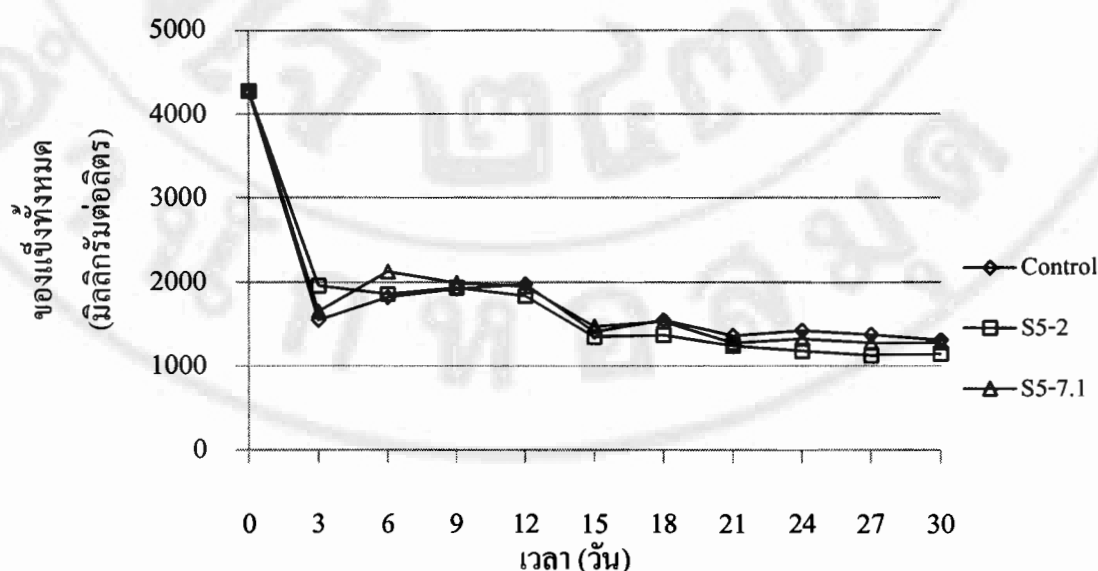


ภาพ 19 ชุดอุปกรณ์การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร

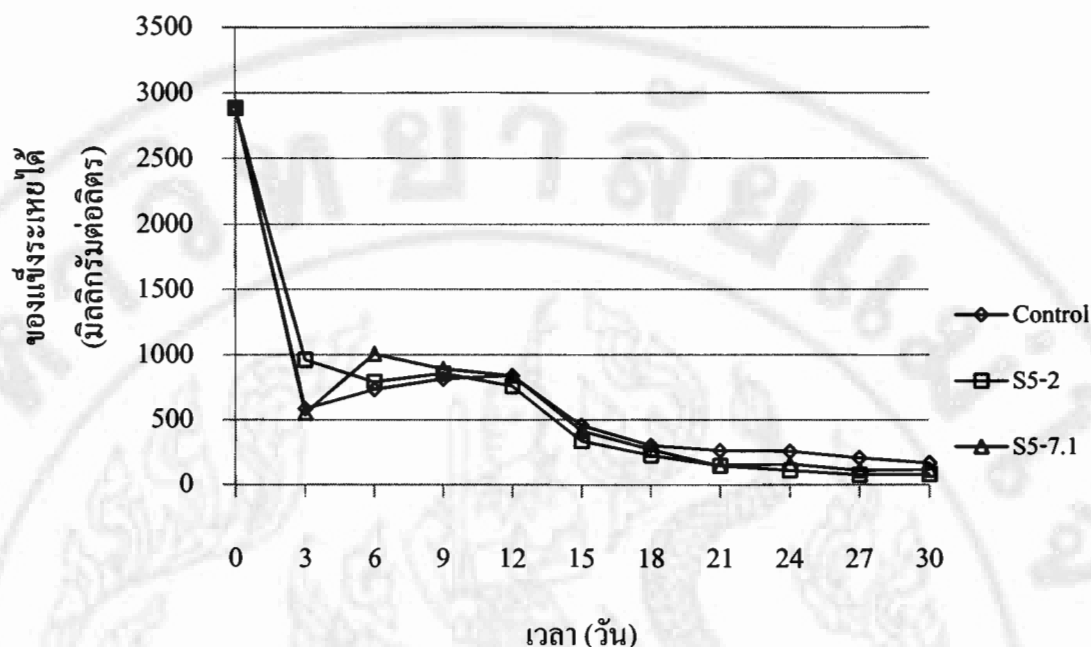
หมายเหตุ A คือ ถังบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร, B คือ ถังบรรจุน้ำ, C คือ ถังดักก๊าซ, D คือ ท่อเก็บน้ำเสียตัวอย่าง, E คือ ท่อก๊าซ

ภายหลังการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร พบว่า ภายหลังการบำบัด 3 วัน ค่าของแข็งทั้งหมด มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในทุกชุดการทดลอง เนื่องจากการตกตะกอนของสารอินทรีย์ต่าง ๆ และการย่อยสลายโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงโดยเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 6 ของการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ใช้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 มีค่าของแข็งทั้งหมดสูงสุด และเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในทุกชุดการทดลอง ซึ่งเป็นผลจากการเจริญและย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ของเชื้อ แสดงว่าในวันที่ 6 ของการทดลอง เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 สามารถย่อยสลายโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ในน้ำเสียฟาร์มสุกรได้ดีกว่าไอโซเลตอื่น และเริ่มมีค่าลดลงอีกครั้งในวันที่ 15 ของการทดลอง ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรีย ในวันสุดท้ายของการทดลองภายหลังการบำบัดเป็นระยะเวลา 30 วัน ชุดการทดลองที่มีความสามารถในการลดค่าของแข็งทั้งหมด ได้ดีที่สุดคือ S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 และชุดควบคุม โดยลดจาก 4,275 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 1,140, 1,275 และ 1,305 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 73.3, 70.2 และ 69.5 ตามลำดับ (ภาพ 20, ตารางผนวก 8)

เช่นเดียวกันค่าของแข็งระเหยได้ในชุดการทดลองที่ใช้แบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่น เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อ และในวันสุดท้ายของการทดลองชุดการทดลองที่มีความสามารถในการลดค่า ของแข็งระเหยได้ได้ดีที่สุด คือ S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 และชุดควบคุม โดยลดจาก 2,885 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 80, 115 และ 165 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 97.2, 96.0 และ 94.3 ตามลำดับ (ภาพ 21, ตารางผนวก 9)

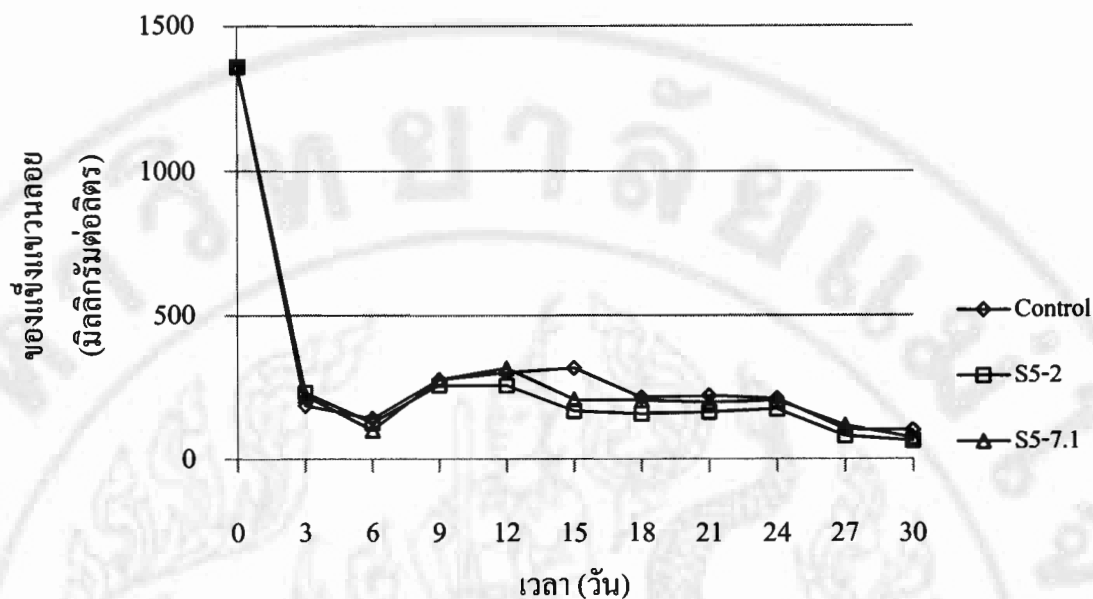


ภาพ 20 ของแข็งทั้งหมด ภายหลังการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด เป็นเวลา 30 วัน



ภาพ 21 ของแฉะระเหยได้ ภายหลังจากบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไฮโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด เป็นเวลา 30 วัน

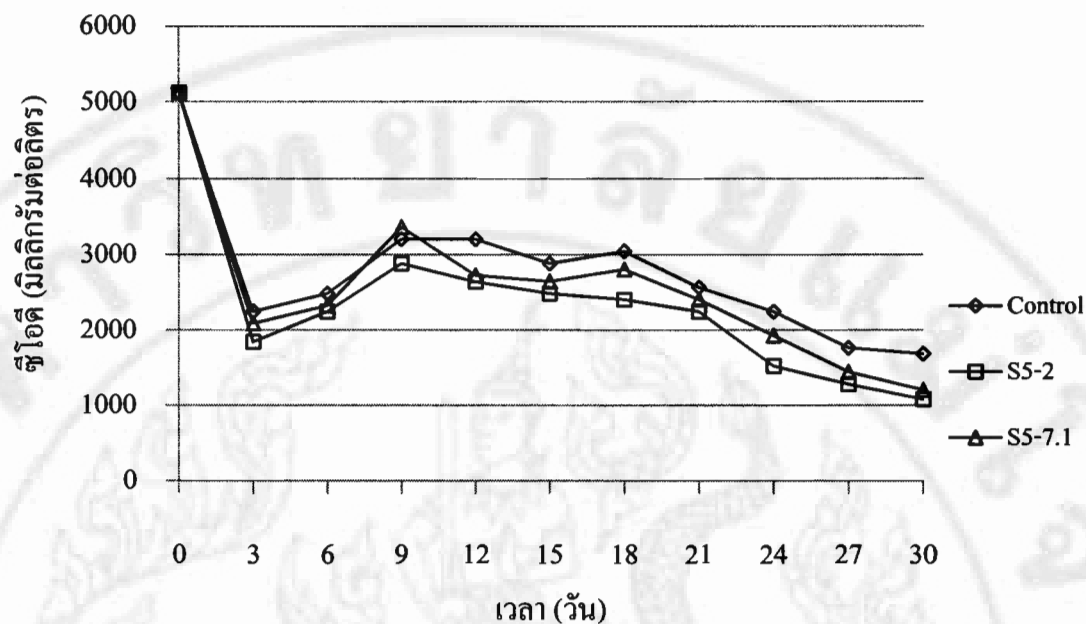
ในขณะที่ค่าของแฉะแขวนลอยมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ของการทดลอง เนื่องจากเกิดการตกตะกอนของของแฉะที่อยู่ในน้ำเสียและการย่อยสารโมเลกุลใหญ่โดยเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในวันที่ 9 ซึ่งค่าที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการเจริญของเชื้อที่แขวนลอยอยู่ในน้ำเสีย จนถึงวันที่ 15 ค่าของแฉะแขวนลอยเริ่มมีค่าลดลงในชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ แต่ในชุดควบคุมยังคงมีค่าเท่าเดิม แสดงว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อแบคทีเรียเพิ่มเข้าไปสามารถลดค่าของแฉะแขวนลอยได้เร็วกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมเชื้อ และในวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดการทดลองที่สามารถลดค่าของแฉะแขวนลอยได้ดีที่สุด คือ S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 และชุดควบคุม โดยลดจาก 1,360 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 63, 73 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 95.3, 94.6 และ 92.6 ตามลำดับ (ภาพ 22, ตารางผนวก 10)



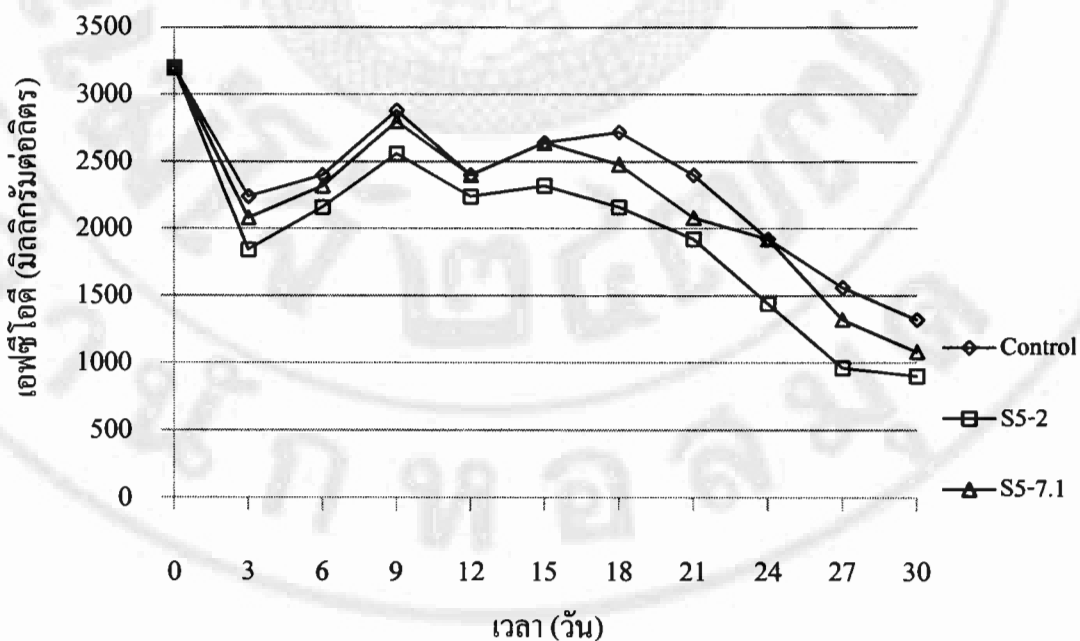
ภาพ 22 ของแข็งแขวนลอยที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไฮโซเลด S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน

ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองไฮโซเลดมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน เช่นเดียวกับค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ คือ 3 วันแรกของการทดลอง ซีโอดีจะมีค่าลดลง จากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 6 และ 9 ของการทดลอง โดยในวันที่ 9 ค่าซีโอดีของชุดการทดลองที่เติมเชื้อแบคทีเรียไฮโซเลด S5-7.1 มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่น และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 12 ของการทดลอง จากนั้นเริ่มลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 ในทุกชุดการทดลอง จนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดการทดลองที่สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ ไฮโซเลด S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 และชุดควบคุม โดยลดจาก 5,120 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 1,080, 1,200 และ 1,680 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 78.9, 76.6 และ 67.2 ตามลำดับ (ภาพที่ 23, ตารางผนวก 11)

เช่นเดียวกัน ค่าเอฟซีโอดีในวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดการทดลองที่สามารถลดค่าเอฟซีโอดีได้ดีที่สุด คือ ไฮโซเลด S5-2 รองลงมาคือ S5-7.1 และชุดควบคุม โดยลดจาก 3,200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 900, 1,080 และ 1,320 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 71.9, 66.3 และ 58.8 ตามลำดับ (ภาพ 24, ตารางผนวก 12)

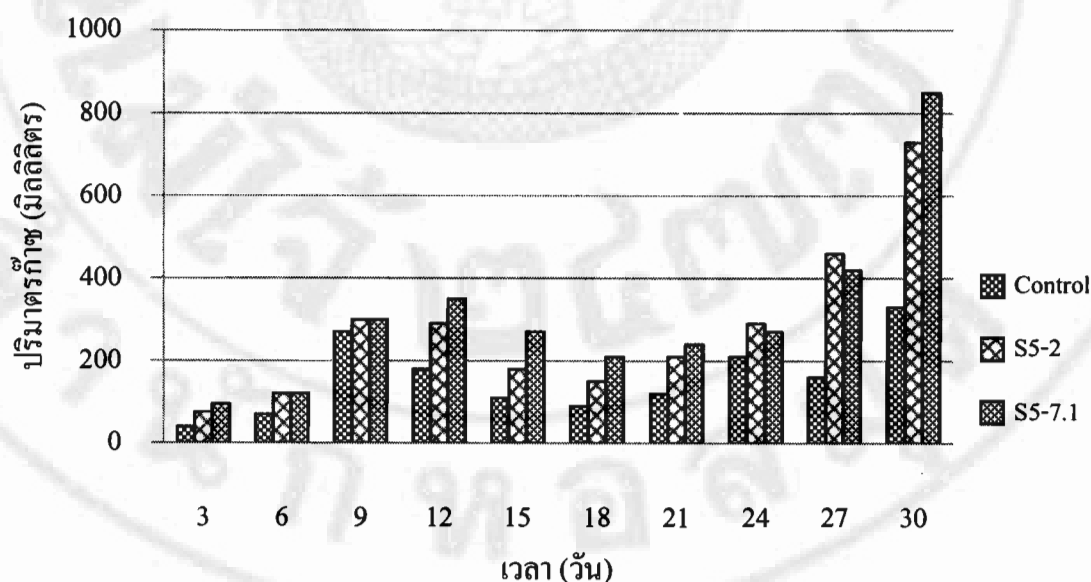


ภาพ 23 ค่าซีไอดีที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน



ภาพ 24 เอฟซีไอดีที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน

ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในการทดลองเมื่อทำการวัดปริมาณก๊าซทุก 3 วัน สรุปได้ว่า ในระยะ 9 วันแรกของการทดลอง มีปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นเล็กน้อยและมีค่าใกล้เคียงกันในทุกชุด การทดลอง และหลังจากวันที่ 12 ของการทดลอง ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นเริ่มมีค่าลดลงในอัตราที่ต่างกัน โดยชุดการทดลองที่ใช้แบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 มีปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นมากที่สุด รองลงมา คือ ไอโซเลต S5-2 และ control ตามลำดับ ภายหลังการทดลองวันที่ 21 ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างช้า ๆ และในวันที่ 24 ถึงวันที่ 30 ของการทดลอง การเกิดก๊าซเพิ่มขึ้นในอัตราที่สูงมากในชุดการทดลองที่เดิมเชื้อ โดยที่เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-7.1 เกิดก๊าซมากที่สุด รองลงมาคือ S5-2 และชุดควบคุม ตามลำดับ (ภาพ 25) เมื่อคิดเป็นปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นเทียบกับ ปริมาณการกำจัดสารอินทรีย์หรือของแข็งระเหยได้ ก๊าซที่เกิดขึ้นคิดเป็น 626.8, 555.5 และ 322.7 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ (ตาราง 10, ตารางผนวก 13) ชุดการทดลองที่เดิมเชื้อ เกิดก๊าซมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Feng *et al.* (2007) ที่ทำการหมักมูลสุกร โดย ในวันที่ 42 ของการทดลอง เกิดก๊าซ 468 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ และจากการทดลอง ผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากน้ำทิ้งฟาร์มสุกรของ จตุพรและคณะ (2548) ก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้เท่ากับ 0.217 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้



ภาพ 25 ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจากการบำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบ เม็ด ที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน

ตาราง 10 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด

ชุดการทดลอง	ประสิทธิภาพการบำบัด (ร้อยละ)				
	TS	TVS	SS	COD	FCOD
control	69.5 ^b	94.3 ^b	92.6 ^b	67.2 ^b	58.8 ^a
S5-2	73.3 ^a	97.2 ^a	95.3 ^a	78.9 ^a	71.9 ^a
S5-7.1	70.2 ^b	96.0 ^{ab}	94.6 ^a	76.6 ^a	66.3 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P < 0.05$)

จากการทดลองสรุปได้ว่า การเติมเชื้อแบคทีเรียเพิ่มเข้าไปในระบบ มีผลทำให้การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรมีประสิทธิภาพดีกว่าไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย และพบว่าแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ดมีแนวโน้มว่ามีความมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรได้ดีกว่า แต่มีก๊าซที่เกิดขึ้นน้อยกว่าแบคทีเรียโอโซเลต S5-7.1 และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้นจึงใช้แบคทีเรียโอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรต่อไป

8. การศึกษาปริมาณการเติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่เหมาะสม

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบเม็ดมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเติมเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 และ S5-7.1 ปริมาณ 5, 10 และ 15 กรัมต่อลิตร โดยใช้ตัวอย่างน้ำเสีย 6 ลิตร ในถังขนาด 10 ลิตร นาน 30 วัน พบว่า

เมื่อน้ำเสียฟาร์มสุกรผ่านการบำบัดจนถึงวันที่ 30 ประสิทธิภาพการลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสียในการลดค่าของแข็งทั้งหมด, ของแข็งระเหยได้, ของแข็งแขวนลอย, ซีไอดี และ เอฟซีไอดี มีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่เติมเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 ในปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร โดยสามารถลดได้ร้อยละ 76.1, 97.7, 98.0, 81.3 และ 73.8 ตามลำดับ ส่วนปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นสูงสุดจะเกิดในชุดการทดลองที่เติมเชื้อ S5-2 ในปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เติมน้ำ S5-2 ในปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ซึ่งเกิดก๊าซ 683.8 และ 644.2 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ (ตาราง 11, ตารางผนวก 14 - 19) และพบว่าในทุกชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อ จะมี

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรดีกว่าในชุดควบคุม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติ ($P<0.05$)

ปริมาณการเติมเชื้อแบคทีเรีย S5-2 รูปแบบเม็ดที่ต่างกัน มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร คือ เมื่อมีการเพิ่มเชื้อแบคทีเรียเข้าไปมากขึ้นจาก 5 กรัมต่อลิตร เป็น 10 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดของเชื้อดีขึ้น โดยสามารถลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้ดี แต่เมื่อเพิ่มเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดเป็น 15 กรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรลดลง ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมในการทดลองนี้ คือ การใช้เชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดเป็น 15 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อไอโซเลต S5-7.1 พบว่า ที่ปริมาณเชื้อเท่ากัน ความสามารถในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อ S5-2 จะดีกว่า ซึ่งการเติมเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มเข้าไปในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรต้องคำนึงถึงปริมาณที่เติมเข้าไป โดย Ohta และ Ikeda (อ้างโดย Zhu, 1999) ใช้แบคทีเรีย 2 กรัมในการบำบัดมูลสุกรปริมาณ 10 กรัม และจำเป็นต้องพิจารณาถึงปริมาณที่ใช้ หากมีการนำไปใช้จริงในฟาร์ม เนื่องจากต้องใช้ในปริมาณที่สูง

ตาราง 11 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ของเชื้อ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 5, 10 และ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน

ชุดการทดลอง	ประสิทธิภาพการลดค่า (ร้อยละ)				
	TS	TVS	SS	COD	FCOD
control	69.5 ^a	94.3 ^d	92.6 ^d	67.2 ^b	58.8 ^b
S5-2 5g/l	73.3 ^b	97.2 ^{ab}	95.3 ^{bc}	78.9 ^a	71.9 ^a
S5-2 10g/l	71.5 ^c	96.9 ^{abc}	96.3 ^b	77.7 ^a	70.0 ^{ab}
S5-2 15g/l	76.1 ^a	97.7 ^a	98.0 ^a	81.3 ^a	73.8 ^a
S5-7.1 5g/l	70.2 ^a	96.0 ^c	94.6 ^c	76.6 ^a	66.3 ^{ab}
S5-7.1 10g/l	72.7 ^b	96.9 ^{abc}	96.1 ^{bc}	78.9 ^a	71.9 ^a
S5-7.1 15g/l	70.2 ^a	96.2 ^{bc}	95.8 ^{bc}	80.1 ^a	71.9 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$)

จากการทดลอง พบว่า ประสิทธิภาพการลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสียมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่การเติมเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ด ในปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มว่ามีความเหมาะสมมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ในสภาวะไร้ออกซิเจน จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาระยะเวลาในการเติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดในขั้นตอนต่อไป

9. การศึกษาระยะเวลาในการเติมเชื้อแบคทีเรียอัดเม็ดที่เหมาะสม

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบเม็ดมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเติมเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 7 วัน 14 วัน และเติมเพียงครั้งเดียวหรือทุก 30 วัน ที่ระยะเวลาเก็บ 30 วัน พบว่า

เมื่อนำเสียฟาร์มสุกรผ่านการบำบัดจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ประสิทธิภาพการลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสีย คือ สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมด, ของแข็งระเหยได้, ของแข็งแขวนลอย, ซีโอดี และเอฟซีโอดี ได้สูงสุดในชุดการทดลองที่เติมเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วัน โดยสามารถลดได้ร้อยละ 71.2, 83.9, 76.9, 80.0 และ 73.9 ตามลำดับ รองลงมาคือ เติมน้ำเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร เพียงครั้งเดียวหรือทุก 30 วัน และที่เติมทุก 14 วัน โดยสามารถ ลดค่าของแข็งทั้งหมดได้ร้อยละ 69.7 และ 67.2 ลดค่าของแข็งระเหยได้ได้ร้อยละ 81.1 และ 79.2 ลดค่าของแข็งแขวนลอยได้ร้อยละ 75.7 และ 73.7 ลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 76.0 และ 77.0 และลดค่าเอฟซีโอดีได้ร้อยละ 70.7 และ 72.3 ตามลำดับ ส่วนปริมาณก๊าซจะเกิดสูงสุดในชุดการทดลองที่เติมเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 7 วัน รองลงมาคือ เติมน้ำเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วัน และสุดท้ายคือ เติมน้ำเชื้อทุก 30 วัน ซึ่งเกิดก๊าซ 916.0 และ 878.8 และ 878.3 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ ตามลำดับ (ตาราง 12, ตารางผนวก 20 - 25) และจากตาราง 15 พบว่าการเติมเชื้อที่ระยะเวลาต่างกัน มีผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตาราง 12 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรของเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน โดยเติมเชื้อเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ประสิทธิภาพการบำบัด (ร้อยละ)				
	TS	TVS	SS	COD	FCOD
7 วัน	67.2 ^c	79.2 ^c	73.7 ^a	77.0 ^b	72.3 ^a
14 วัน	71.2 ^a	83.9 ^a	76.9 ^a	80.0 ^a	73.9 ^a
30 วัน	69.7 ^b	81.1 ^b	75.7 ^a	76.0 ^b	70.7 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P<0.05$)

จากการทดลองสรุปได้ว่า การเติมเชื้อ S5-2 ในปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วัน มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรได้ดีที่สุด ถึงแม้ก๊าซที่เกิดขึ้นในระบบมีปริมาตรน้อยกว่าการเติมเชื้อทุก 7 วัน ซึ่งการเติมเชื้อที่บ่อยขึ้นเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อนั่นเอง การเติมเชื้อที่บ่อยเกินไป (ทุก 7 วัน) ในการทดลองนี้ แม้จะทำให้การเกิดก๊าซมีมากขึ้น แต่ประสิทธิภาพการลดค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ก็มีประสิทธิภาพดีกว่าการเติมทุก 14 วัน และการเติมเพียงครั้งเดียว และยังทำให้สิ้นเปลืองเพิ่มมากขึ้นด้วย

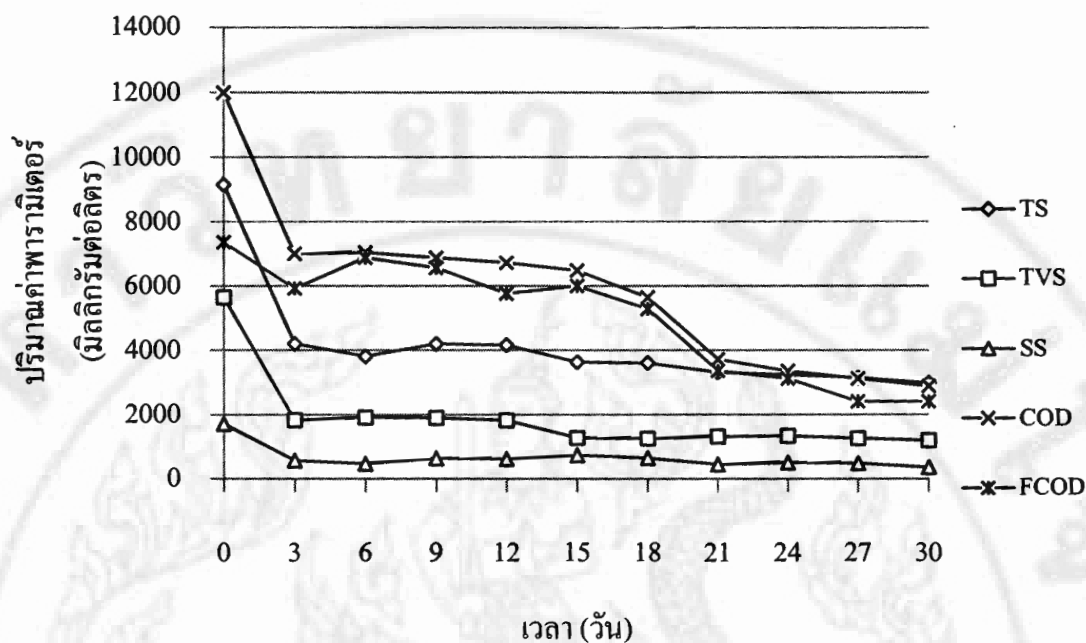
10. การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียอัดเม็ด

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเติมเชื้อ S5-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วัน ที่ระยะเวลาพักเก็บ 30 วัน โดยใช้ตัวอย่างน้ำเสีย 12 ลิตร ในถังขนาด 20 ลิตร ได้ผลดังนี้

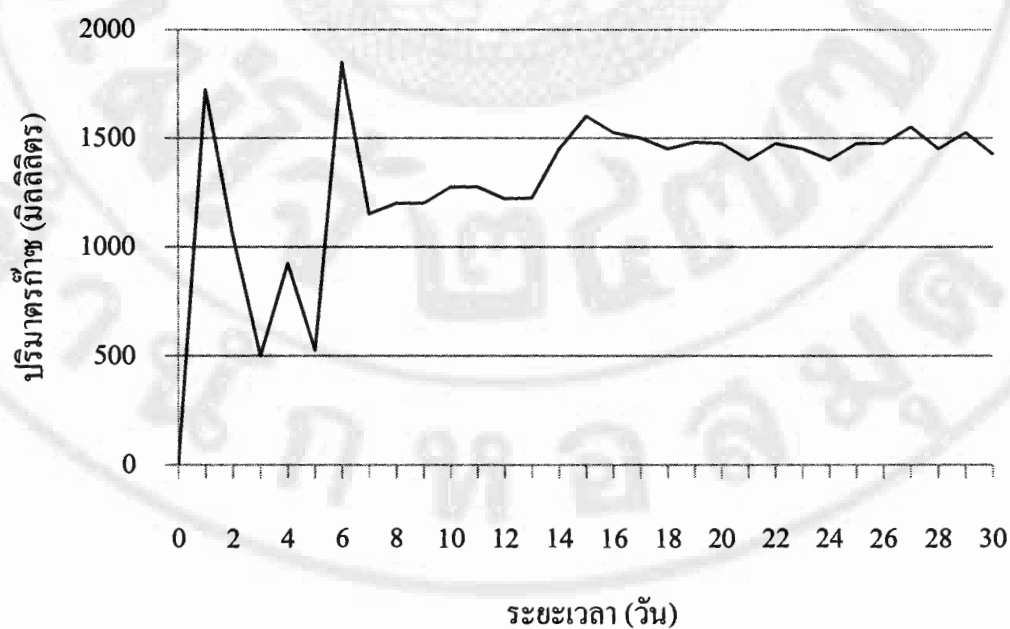
ภายหลังการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรไปแล้ว 3 วัน ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการตกตะกอนของสารอินทรีย์ที่สามารถจมตัวได้และการบำบัดของเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสีย หลังจากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ซึ่งเป็นผลจากการเจริญของเชื้อที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการย่อยสารโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสารโมเลกุลเล็กเพิ่มมากขึ้นด้วย และเริ่มมีค่าลดลงภายหลังการบำบัดในวันที่ 18 เป็นต้นไปในทุกค่าพารามิเตอร์ เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรีย โดยในกระบวนการย่อยสลาย ของแข็งแขวนลอยที่ระเหย

ได้ (VSS) จะค่อย ๆ ลดลงในขณะที่เอสซีโอดี (SCOD) จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะว่าค่าของแข็งแขวนลอยที่ระเหยได้เปลี่ยนไปเป็นเอสซีโอดี และจะเปลี่ยนรูปไปเป็นมีเทนต่อไป (Nohra *et al.*, 2002) ซึ่งการลดซีโอดีในส่วนที่เป็นน้ำใส และการลดของแข็งที่ระเหยได้จะบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในกระบวนการบำบัด การเพิ่มเอสซีโอดีเป็นการเพิ่มสารอินทรีย์ในน้ำเสีย โดยการบำบัดซีโอดีส่วนที่เป็นน้ำใส หมายถึงเอสซีโอดีส่วนที่ยังไม่ได้รับการบำบัดที่เพิ่มเข้ามาและสารอินทรีย์ที่แตกตัวไปแล้ว (Pagilla *et al.*, 2000) และเมื่อครบระยะเวลา 30 วัน สามารถลดค่า ของแข็งทั้งหมด, ของแข็งระเหยได้, ของแข็งแขวนลอย, ซีโอดี และเอฟซีโอดี ได้ร้อยละ 69.1, 82.3, 79.4, 77.5 และ 68.2 ตามลำดับ (ตาราง 13, ภาพ 26, ตารางผนวก 26-27) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตก๊าซได้ถึง 721.3 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ ในขณะที่กรมพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (จตุพรและคณะ, 2548) ที่ศึกษาศักยภาพของพลังงานชีวมวลจากข้อมูลสัตว์ พบว่า สุกรแม่พันธุ์หนึ่งตัวมีอัตราส่วนของแก๊สชีวภาพที่ผลิตได้เท่ากับ 217 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ และจากภาพ 27 จะพบว่า ในช่วงแรกของการทดลอง ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจะมีค่าแตกต่างกันมากในแต่ละวัน และภายหลังการบำบัดตั้งแต่วันที่ 15 เป็นต้นไป ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจะมีค่าค่อนข้างคงที่ อาจเนื่องมาจากการเจริญในสภาวะคงที่จึงมีการผลิตก๊าซในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรดีกว่าเมื่อเทียบกับการทดลองของ Feng *et. al.* (2007) ที่การหมักมูลสุกรในวันที่ 42 ของการทดลอง เกิดก๊าซ 468 ลิตรต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยได้ กำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 65 กำจัดของแข็งแขวนลอยระเหยได้ได้ร้อยละ 60 ซึ่งระยะเวลาที่เก็บในการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่นาน จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงขึ้นด้วย (Cheng *et. al.*, 2002) โดยทั่วไปการย่อยสลายแบบไร้อากาศจะใช้ระยะเวลากักเก็บประมาณ 10 – 40 วัน ทั้งนี้ขึ้นกับองค์ประกอบของสารอินทรีย์ (มูลนิฟลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม, 2548: ระบบออนไลน์) และในการทดลองนี้ พบว่า การเติมเชื้อ SS-2 ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วัน มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร



ภาพ 26 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการใช้เชื้อแบคทีเรียไฮโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัม ต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ในระยะเวลา 30 วัน



ภาพ 27 การเกิดก๊าซของการทดลองใช้เชื้อแบคทีเรียไฮโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัม ต่อลิตร ในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ในระยะเวลา 30 วัน

ตาราง 13 ประสิทธิภาพของการเติมเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ทุก 14 วันในการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ที่ระยะเวลาเก็บเก็บ 30 วัน

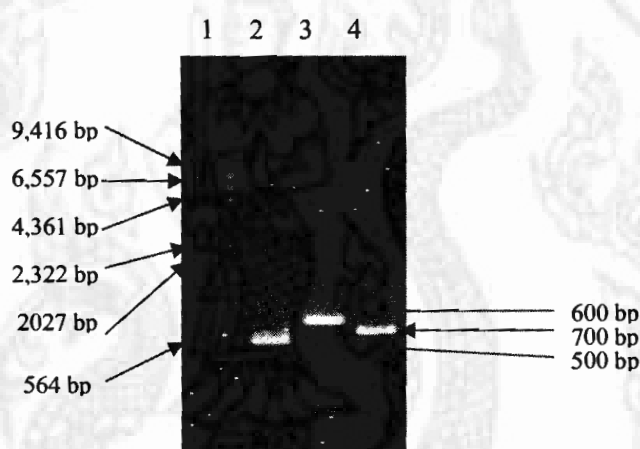
พารามิเตอร์	ประสิทธิภาพการบำบัด (ร้อยละ)
ของแข็งทั้งหมด	69.1
ของแข็งระเหยได้	82.3
ของแข็งแขวนลอย	79.4
ซีไอดี	77.5
เอฟซีไอดี	68.2

11. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยใช้เทคนิคการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ ในส่วนของยีน 16S rRNA

จากการนำแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรดีที่สุดในภาคอีสานโดยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป และนำ genomic DNA ที่ได้มาทำพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มจำนวนปริมาณยีน 16S rRNA โดยใช้ universal primer 3 คู่ คือ 27F และ 520R, 357F และ 1080R และ 920F และ 1522R จากนั้นนำมาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอของแบคทีเรีย พบว่า ดีเอ็นเอที่ได้จากการทำพีซีอาร์มีขนาดประมาณ 500, 700 และ 600 คู่เบสตามลำดับแสดงดังภาพ 28 นำ PCR product ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ TaKaRa SUPREC™-PCR แล้วนำ PCR product ที่บริสุทธิ์นี้ไปหาลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วนของยีน 16S rRNA ซึ่งได้ลำดับเบส ดังภาพภาคผนวก 1 ถึงภาคผนวก 14 จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้จาก primer ทั้ง 3 คู่ ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ไปเทียบกับในโปรแกรม BioEdit ซึ่งได้ลำดับเบสแสดงดังภาพ 29 นำลำดับเบสที่ได้ไปเทียบความคล้ายจากฐานข้อมูลลำดับเบสใน GeneBank โดยใช้โปรแกรม BLAST ได้ผลดังนี้คือแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA ที่คล้ายกับ *Bacillus Subtilis* 98 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 14 และ ภาพ 30) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Beaudet *et al.*, (1990) ได้ทำการคัดแยกเชื้อจากบ่อบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรแบบใช้อากาศ พบว่าเป็นเชื้อ *Bacillus* sp. และนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ตาราง 14 การจัดจำแนกแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยการหาลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA

ไอโซเลต	แบคทีเรีย	accession number	identities	% homology
S5-2	<i>Bacillus subtilis</i>	EF5020.1	1487/1516	98



ภาพ 28 ขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ในส่วนของยีน 16S rRNA

หมายเหตุ

Lane 1 คือ DNA marker (λ -HindIII digest (Takara, Japan))

Lane 2 คือ ขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยใช้ไพรเมอร์ชุด 27F และ 520R

Lane 3 คือ ขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยใช้ไพรเมอร์ชุด 27F และ 520R

Lane 4 คือ ขนาดของ DNA ที่ได้จากการทำ PCR ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 โดยใช้ไพรเมอร์ชุด 27F และ 520R

ACGCATGGGTAAATTGTTACTGGCGTTTTCTCGCCCCTTTAGTGACGCATCTAACGCTATAA
 GCACTCCGCCCCGCCGAGCACTAGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAAATGACGGGGGCCC
 CGCACAAGTATTTTGTITATTTTTTTTTTAATGAGAAACAACGGTGCGGGTGACCTTAACACA
 TCCAAATCGAGACTGGACCAGATGGGAGAGTTCTGCCTTCCCTGATGTTAGCGGCGGCACG
 GGTGAGTAACACGCAGGTAACCTGCCAGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCT
 AATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACT
 TACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGA
 TGCCTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCACTCC
 TACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCG
 CGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTT
 CAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG
 CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGC
 AGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAAC
 TGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
 AGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAG
 CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAG
 TGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCT
 GGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTG
 GAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAC
 AATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC
 AGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTG
 CCAGCATTCAATTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA
 TGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAAC
 AAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGC
 AGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGG
 TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCG
 AAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTG
 AAGTCGTAACAAAGGTAGCTACATATCGGAAGGTGCAGTAATGATCACCTCCTTA

ภาพ 29 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 ที่จะนำไป
 เปรียบความเหมือนใน GenBank ซึ่งได้จากการนำลำดับเบสที่ได้จาก primer 3 คู่ คือ 27F
 และ 520R, 357F และ 1080R และ 920F และ 1522R ไปเทียบกันในโปรแกรม BioEdit

>gb:EF302020.1 *Bacillus subtilis* strain EDR4 16S ribosomal RNA gene, partial
sequence
Length=1543

Sort alignments for this subject sequence by:
E value Score Percent identity
Query start position Subject start position

Score = 2550 bits (2660), Expect = 0.0
Identities = 1427/1516 (94%), Gaps = 14/1516 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query	178	TAATACATCCAAATCGAGACTGGACGAGATGGAGAGTTCTGCTTCCTTAATGTTAGCG	297
Subject	42	TAATACATCCAAATCGAGC--GAC-AGATGGAGCTTCT-----CCCTATGTTAGCG	93
Query	238	CCGCGACCGGTAGTATACACGCGAGTACCTGCGCACTAGGATACCTCGGGA	297
Subject	54	CCGCG-ACGCGTATACACGCTGGTAACTTCTGTAACTGGGATACTCGGGA	152
Query	298	CCGCGCTTAATACCGGATGGTGTCTGAAACCGCATGGTTCAGACATAAAGTGCTTCG	357
Subject	153	CCGCGCTTAATACCGGATGGTGTCTGAAACCGCATGGTTCAGACATAAAGTGCTTCG	212
Query	358	GCTACCACTTACAGATGGACCGCGCGCATTAGCTAGTGGTGGTAAAGGCTACCA	417
Subject	213	GCTACCACTTACAGATGGACCGCGCGCATTAGCTAGTGGTGGTAAAGGCTACCA	272
Query	418	AGGCGACGATCGGTACCGGACCTGAGAGCGTATCGGCGACACTGGGACTGAGACACGC	477
Subject	273	AGGCGACGATCGGTACCGGACCTGAGAGCGTATCGGCGACACTGGGACTGAGACACGC	332
Query	478	CCAGACTCTTACGAGAGGTCAGTACGGAATCTTCGCGATGGACGAAATCTGACGGA	537
Subject	333	CCAGACTCTTACGAGAGGTCAGTACGGAATCTTCGCGATGGACGAAATCTGACGGA	392
Query	538	GCAACCGCGCGTGAATGATGAAGGTTTTCGGATCTTAAAGCTCTGTTTGTAGGGAAGAC	597
Subject	393	GCAACCGCGCGTGAATGATGAAGGTTTTCGGATCTTAAAGCTCTGTTTGTAGGGAAGAC	452
Query	598	AAGTCCCTTCAATAGGCGCGCACCTTACGGTACCTTACCAAGAAAGCTACGGCTAAC	657
Subject	453	AAGTCCCTTCAATAGGCGCGCACCTTACGGTACCTTACCAAGAAAGCTACGGCTAAC	511
Query	658	TACGTCCGACGACCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAGCGTTGTCTGGAAATATTGGCGCT	717
Subject	513	TACGTCCGACGACCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAGCGTTGTCTGGAAATATTGGCGCT	571
Query	718	AAGGGCTCCGACGCGGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAGCGCCCGCTCAACCGGAGG	777
Subject	574	AAGGGCTCCGACGCGGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAGCGCCCGCTCAACCGGAGG	632
Query	778	GTCATTGGAACTGGGGAATCTGATGCGAGAGAGAGAGTGAATTCACGTGTAGCGG	837
Subject	632	GTCATTGGAACTGGGGAATCTGATGCGAGAGAGAGAGTGAATTCACGTGTAGCGG	691
Query	838	TGAATGCGTAGAGATGTGAGGAAACACAGTGGCGAGAGGCACTCTCTGTTCTGAACT	897
Subject	692	TGAATGCGTAGAGATGTGAGGAAACACAGTGGCGAGAGGCACTCTCTGTTCTGAACT	751
Query	898	GAGCTGAGGAGCGAAGCGTGGGAGCGAAGAGGATTAGATACCTGCTAGTCCACGCC	957
Subject	752	GAGCTGAGGAGCGAAGCGTGGGAGCGAAGAGGATTAGATACCTGCTAGTCCACGCC	811
Query	958	GTAAAGATGATGCTAAATGTGAGGCGGTTTCGCGCGCTTGTGCTGAGCTTACGCT	1017
Subject	812	GTAAAGATGATGCTAAATGTGAGGCGGTTTCGCGCGCTTGTGCTGAGCTTACGCT	871
Query	1018	TAAAGATGCTGAGGAGTACGCTTACGAGAGTGAATTCACGTGTAGCGG	1077
Subject	872	TAAAGATGCTGAGGAGTACGCTTACGAGAGTGAATTCACGTGTAGCGG	931
Query	1078	CCGACAGCGGTGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAAGCGAAGACCTTACAGGTC	1137
Subject	932	CCGACAGCGGTGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAAGCGAAGACCTTACAGGTC	991
Query	1138	TGACATCTCTGACATCTAGAGATAGGAGTCCCTTCGCGGCGAGAGTACAGGTG	1197
Subject	992	TGACATCTCTGACATCTAGAGATAGGAGTCCCTTCGCGGCGAGAGTACAGGTG	1051
Query	1198	GTGATGTTTGTGTCAGTCTGTGTGTCAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA	1257
Subject	1052	GTGATGTTTGTGTCAGTCTGTGTGTCAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA	1111
Query	1258	ACCTTGATCTTATGCTGAGCATTCAGTTGGGCACTTAAAGTGAATGCCGTTGACAA	1317
Subject	1112	ACCTTGATCTTATGCTGAGCATTCAGTTGGGCACTTAAAGTGAATGCCGTTGACAA	1171
Query	1318	CCGAGAGAGGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAG	1377
Subject	1174	CCGAGAGAGGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAG	1231
Query	1378	TGCTACATGAGATAGAGAGGTCAGCAAGCTGAGGTTAAGCGAATTCACAAATC	1437
Subject	1232	TGCTACATGAGATAGAGAGGTCAGCAAGCTGAGGTTAAGCGAATTCACAAATC	1291
Query	1438	TGTTCTGATGCTGAGTCTGCAACTGAGTCTGCAAGTGGGATGCTGATGCTGAT	1497
Subject	1292	TGTTCTGATGCTGAGTCTGCAACTGAGTCTGCAAGTGGGATGCTGATGCTGAT	1351
Query	1498	CCGAGATGAGCATGCGGCTTGAATACGTTTCCGCGCTTATGACACCGCGCTCACAC	1557
Subject	1352	CCGAGATGAGCATGCGGCTTGAATACGTTTCCGCGCTTATGACACCGCGCTCACAC	1411
Query	1558	CACGAGGTTTGTAAACCGGAGTGGTGGGTAACCTTTATGGAGCGAGCGCGGAG	1617
Subject	1412	CACGAGGTTTGTAAACCGGAGTGGTGGGTAACCTTTATGGAGCGAGCGCGGAG	1471
Query	1618	GTGGAGAGATGATTGGGTTGAATGCTAACAAAGTACCTACATATCGGAGGTGCAAT	1677
Subject	1472	GTGGAGAGATGATTGGGTTGAATGCTAACAAAGTACCTACATATCGGAGGTGCAAT	1531
Query	1678	AATGATCACCTCTTA 1693	
Subject	1532	CTGGATCACCTCTTA 1543	

ภาพ 30 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต S5-2

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

1. จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำเสียฟาร์มสุกร ลำไ้สุกร และดินบริเวณฟาร์มเลี้ยงสุกร ได้เชื้อทั้งหมด 67 ไอโซเลต และมีเชื้อ 26 ไอโซเลตที่มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียดีที่สุดที่คัดเลือกได้มี 4 ไอโซเลตคือ เชื้อไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7
2. เมื่อทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต S5-2, S5-3, S5-7.1 และ BP1-7 มีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 22, 26, 32, และ 22 ตามลำดับ
3. การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลต ในรูปแบบเซลล์แขวนลอย พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลา 21 วันได้ดีที่สุดคือ เชื้อไอโซเลต S5-2 รองลงมาคือ เชื้อไอโซเลต S5-7.1
4. ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรของเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด พบว่า เชื้อไอโซเลต S5-2 มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรได้ดีกว่า S5-7.1 และจากการทดลองเติมเชื้อที่ปริมาณต่างกัน คือ การเติมเชื้อที่ 5, 10 และ 15 กรัมต่อลิตร พบว่า การเติมเชื้อ S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรในสภาวะไร้ออกซิเจน และการเติมเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร โดยเติมเชื้อทุก 14 วัน มีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียดีที่สุด
5. จากการจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต S5-2 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA ที่คล้ายกับ *Bacillus Subtilis* 98 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์อัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ในสภาวะไร้ออกซิเจน มีข้อเสนอแนะที่ควรจะทำการศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้

1. ในการทดลองนี้ได้ศึกษาปริมาณการเติมเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่เหมาะสม ซึ่งใช้ปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ผลปรากฏว่า เชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่มีปริมาณมากที่สุด มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรดีที่สุด ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปจำเป็นต้องมีการเพิ่มระดับของปริมาณเชื้อที่แตกต่างกันมากขึ้น เพื่อให้ผลการทดลองที่ได้เป็นค่าที่แม่นยำและถูกต้องยิ่งขึ้น
2. การประยุกต์ใช้แบคทีเรียรูปแบบเม็ด เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกร ในขั้นตอนต่อไปควรมีการศึกษาปริมาณการรอดชีวิตของเชื้อ และระยะเวลาการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในรูปแบบเม็ด เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการนำไปประยุกต์ใช้จริง ในขั้นตอนต่อไป
3. ปริมาณการเติมแบคทีเรียรูปแบบเม็ดที่ได้ในการทดลอง เมื่อมีการนำไปใช้จริง ในฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีน้ำเสียเป็นปริมาณมาก อาจต้องใช้ในปริมาณที่สูงมาก เนื่องจากต้องเติมเชื้อถึง 15 กรัมต่อลิตร ดังนั้นควรต้องมีการศึกษาการเพิ่มปริมาณเชื้อในการผลิตเป็นเชื้อแบคทีเรียรูปแบบเม็ด โดยใช้อัตราส่วนของเชื้อในปริมาณที่เพิ่มขึ้น เพื่อจะได้ลดปริมาณการเติมลงได้
4. ในฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีปริมาณน้ำเสียเป็นจำนวนมาก มีความเป็นไปได้ในการที่จะช่วยลดปัญหาการเกิดก๊าซเรือนกระจกและปัญหาโลกร้อน เช่น การขายเครดิตคาร์บอน ซึ่งเป็นการพัฒนาที่สะอาด (Clean Development Mechanism-CDM) โดยประเทศพัฒนาแล้วที่อยู่ในกลุ่ม Annex I สามารถลงทุนพัฒนาโครงการในประเทศกำลังพัฒนา เพื่อลดปริมาณการปล่อยก๊าซเรือนกระจก ซึ่งรัฐบาลของทั้งสองประเทศจะต้องให้ความยินยอม โดยทั้งสองประเทศจะได้ประโยชน์ร่วมกัน นั่นคือ เกิดโครงการพลังงานสะอาด โครงการปลูกป่า โครงการอนุรักษ์พลังงาน หรือโครงการเปลี่ยนประเภทการใช้สารเคมี ขึ้นในประเทศกำลังพัฒนา ซึ่งเป็นโครงการที่ส่งผลให้เกิดการพัฒนาอย่างสะอาดและยั่งยืนขึ้นในประเทศนั้นๆ โดยประเทศกำลังพัฒนาจะได้รับเม็ดเงินช่วยเหลือโครงการ ในรูปของเงินลงทุนที่มาจากประเทศ Annex I หรือ เงินที่ได้จากการขายเครดิตของปริมาณก๊าซที่ลดได้ หรือ certified emission reductions (CERs) ซึ่งประเทศ Annex I สามารถนำไปนับรวมกับปริมาณก๊าซเรือนกระจกที่ลดได้ตามเป้าหมายของประเทศตน ดังนั้นโอกาสที่ในประเทศไทยจะพัฒนาโครงการด้านพลังงานหมุนเวียน หรือการอนุรักษ์พลังงานขึ้นมา โดยมุ่งหวังให้โครงการเหล่านั้นเป็นโครงการ CDM เพื่อที่จะสามารถขายคาร์บอนเครดิตในภายหลัง หรือเพื่อจะ

ได้เงินร่วมลงทุนจากต่างประเทศ ก็จะทำให้มีโครงการที่มีคุณภาพดีขึ้นจำนวนมาก โดยไม่ต้องใช้เงินอุดหนุนจากรัฐบาล ซึ่งสามารถดำเนินการลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจกลงได้จริง และปริมาณลดลงมาจนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตราย ก็จะทำให้โลกมีความเสี่ยงน้อยลงในการประสบปัญหาต่างๆ จากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ โดย

Annex I หมายถึง กลุ่มประเทศพัฒนาแล้วในกลุ่ม organization for economic co-operation and development (OECD) และประเทศในกลุ่มยุโรปกลาง ยุโรปตะวันออก และรัสเซีย ที่เรียกว่า “กลุ่มประเทศกำลังเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเศรษฐกิจเป็นระบบตลาดเสรี” หรือ EIT (economic in transition) ซึ่งมีพันธกรณีในการจำกัดและการลดปริมาณก๊าซเรือนกระจกให้อยู่ในระดับเดียวกับปี พ.ศ. 2533

Annex II หมายถึง กลุ่มประเทศ OECD ที่เป็นสมาชิกใน Annex I มีพันธะพิเศษในการกระจ่ายเงินทุนเพื่อช่วยประเทศที่กำลังพัฒนาในการรับมือกับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ด้านการถ่ายทอดเทคโนโลยีและวิธีการปฏิบัติ

Non-Annex I หมายถึง ประเทศกำลังพัฒนาทั้งหมด ไม่มีพันธกรณีในการลดก๊าซเรือนกระจก (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2551: ระบบออนไลน์)

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. 2546ก. **คู่มือการเลือกใช้และบำรุงรักษาระบบบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรตามแบบมาตรฐานกรมปศุสัตว์**. กรุงเทพฯ: สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. 33 น.
- _____. 2546ข. **คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ เล่มที่ 2**. กรุงเทพฯ: ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ กรมควบคุมมลพิษ. 195 น.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (พพ.). 2551. **กลไกการพัฒนาที่สะอาด Clean Development Mechanism (CDM)**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา www.dede.go.th/dede/index.php?id=762 (30 พฤศจิกายน 2551).
- กรมปศุสัตว์. 2533. **สรุปผลการฝึกอบรมเกษตรกร เรื่องการจัดการน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ประจำปีงบประมาณ 2532-2533**. กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์. 23 น.
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2545. **ตำราระบบบำบัดมลพิษน้ำ**. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 438 น.
- _____. 2548. **ตำราระบบบำบัดมลพิษน้ำ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม. 440 น.
- เกรียงศักดิ์ อุคมสิน โรจน์. 2539. **การบำบัดน้ำเสีย**. กรุงเทพฯ: มิตรนราการพิมพ์. 442 น.
- _____. 2542. **การบำบัดน้ำเสีย**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สยามสเตชันเนอรีซ์ปบลายส์. 442 น.
- จตุพร แก้วอ่อน, ภัคดี ชูขาว และ สัมภาส นิดเกตุ. 2548. **การผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้งฟาร์มสุกร และการประยุกต์ใช้ในครัวเรือนในจังหวัดพัทลุง**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://e-nett.sut.ac.th/download/ECI/ECI05.pdf> (30 พฤศจิกายน 2551).
- ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. **การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ**. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 703 น.
- ธีระ เกรอต. 2539. **วิศวกรรมน้ำเสียการบำบัดทางชีวภาพ**. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 606 น.
- นิพนธ์ จันทรโพธิ์. 2526. **การจัดการการเลี้ยงสุกร**. ขอนแก่น: ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 124 น.
- เพชรพร เขาวกิจเจริญ. 2538. **การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 448 น.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สถานเทคโนโลยีก๊าซชีวภาพ. 2549. **ปัญหามลภาวะในฟาร์มเลี้ยงสัตว์และการบำบัด.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://teenet.chiangmai.ac.th/btc/farmpollution03.php#0230> (30 พฤศจิกายน 2551).

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เครือข่ายจัดการองค์ความรู้. 2550. **Biogas (ก๊าซชีวภาพ).** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.agro.cmu.ac.th/office/KMnetwork/?p=98> (30 พฤศจิกายน 2551).

มันสิน คัมตุลเวศม์. 2542. **เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 1-2.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 300 น.

มูลนิธิพลังงานเพื่อสิ่งแวดล้อม. 2548. **Anaerobic digestion.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.effe.or.th/old/index.php?option=com_content&task=view&id=179&Itemid=44&limit=1&limitstart=3&PHPSESSID=16494f0b662873f167d1e4f725748ce9 (30 พฤศจิกายน 2551).

สุชาติ ทิมกุล. 2536. แนวทางการจัดการของเสียและน้ำเสียฟาร์มสุกร. น. 357-362. ใน **เทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ.** กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

สุบัณฑิต นิมรรัตน์. 2548. **จุลชีววิทยาของน้ำเสีย.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 210 น.

สุวิมล ส่วยสม. 2548. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอสบี: UASB. **เทคโนโลยีก๊าซชีวภาพ** 2(4): 6.

อรษา สุตเชียรกุล และ พิมพ์พันธุ์ เลียงพิบูลย์. 2536. **แบคทีเรียพื้นฐาน.** กรุงเทพฯ: ศิริยอด. 248 น.

Adave, S. S., D. J. Lee and J. H. Tay. 2008. Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology advances** 26: 411-423.

Baumgarten, E., M. Nagel and R. Tischner. 1999. Reduction of the nitrogen and carbon content in swine waste with algae and bacteria. **Appl Microbiol Biotechnol.** 52: 281-284.

Beaudit, R., C. Gagnon, J. G. Bisailon and M. Ishaque. 1990. Microbiological Aspects of Aerobic Thermophilic Treatment of Swine Waste. **Applied and Environmental Microbiology** 56: 971-976.

Cheng, J. and B. Liu. 2002. Swine wastewater treatment in anaerobic digesters with floating medium. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers** 45: 799-805.

Deng, L.W., P. Zheng and Z.A. Chen. 2006. Anaerobic digestion and post-treatment of swine wastewater using IC-SBR process with bypass of raw wastewater. **Process Biochemistry** 41: 965-969.

- Feng, C., S. Shimada, Z. Zhang and T. Maekawa. 2007. A pilot plant two-phase anaerobic digestion system for bioenergy recovery from swine wastes and garbage. **Waste Management** 28 (10): 1827-1834.
- Hansen, K.H., A. Irini and K. A. Birgitte. 1997. Anaerobic digestion of swine manure:inhibition by ammonia. **Water research** 32: 5-12.
- Hill, D. T. and J. P. Bolte. 2000. Methane production from low solid concentration liquid swine waste using conventional anaerobic fermentation. **Bioresource Technology** 74: 241-247.
- Imbeah M., 1997. Composting piggery waste : A review. **Bioresource Technology** 63: 97-203.
- Kim, M.K., K.M. Choi and S.T. Lee. 2004. Odorous swine wastewater treatment by purple non-sulfur bacteria, *Rhodopseudomonas palustris*, isolated from eutrophicated ponds. **Biotechnology Letters** 26: 819-822.
- Mellefont, L.A., T.A. McMeekin and T. Ross. 2008. Effect of relative inoculum concentration on *Listeria monocytogenes* growth in co-culture. **International Journal of Food Microbiology** 121: 157-168.
- Ndegwa, P. M., D. W. Hamilton, J. A. Lalman and H.J. Cumba. 2007. Effects of cycle-frequency and temperature on the performance of anaerobic sequencing batch reactors (ASBRs) treating swine waste. **Bioresource Technology** 99: 1972-1980.
- Nilsson, L., T.B. Hansen and L. A. Gravesen. 2005. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by a nonbacteriocinogenic *Carnobacterium piscicola*. **Journal of Applied Microbiology** 98: 172-183.
- Nohra, J. A., S. Barrington, J. C. Frigon and S. R. Guiot. 2002. In storage psychrophilic anaerobic digestion of swine slurry. **Resource Conservation and Recycling** 38: 23-37.
- Pagilla, K.R., H. Kim and T. Cheunbarn. 2000. Aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic treatment of swine waste. **Water Research** 34 (10): 2747-2753.
- RA, C.S., K.V. LO, J.S. OH. and B.J. Hong. 1999. Biological nutrient removal with an internal organic carbon source in piggery wastewater treatment. **Water Research** 34 (3): 965-973.

Sanchez, E.R., T. T. Borja, A. Martin and M.F. Colmenarejo. 2005a. Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. **Bioresource Technology** 96: 335–344.

_____. 2005b. Effect of influent substrate concentration and hydraulic retention time on the performance of down-flow anaerobic fixed bed reactors treating piggery wastewater in a tropical climate. **Process Biochemistry** 40: 817–829.

Yang, Y.P. and M. Kuroshima. 2000. A simple design and operation for the anaerobic treatment of highly concentrated swine waste in the tropics. **Water Research** 35: 3867–3875.

Zhu, J. 1999. A review of microbiology in swine manure odor control. **Agriculture Ecosystems and Environment** 78: 93–106.



ภาคผนวก



1. อาหารสูตร nutrient agar (NA)

- beef extract 3.0 กรัม
- peptone 5.0 กรัม
- agar (วุ้น) 15 กรัม

ชั่ง beef extract 3.0 กรัม และ peptone 5.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เติมผงวุ้น 15 กรัม ต้มให้ผงวุ้นละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. อาหารสูตร nutrient broth (NB)

- beef extract 3.0 กรัม
- peptone 5.0 กรัม

ละลายส่วนผสมข้างต้นด้วยน้ำกลั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที



สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ซีโอดี

1. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต

ละลายโปแตสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หนัก 4.913 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 167 มิลลิกรัม คนให้ละลาย ปล่อยให้เย็น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2. กรดซัลฟูริกและซิลเวอร์ซัลเฟต

ซังซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 8.8 กรัม ใส่ลงในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1,000 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 – 2 วัน เพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลายได้ทั้งหมดก่อนนำไปใช้

3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 นอร์มัล

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) 39.2 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

4. สารละลายเฟอโรอินอินดิเคเตอร์

ละลาย 1,10 – ฟีนานโทรีน โมโนไฮเดรต (1,10 – phenanthroline monohydrate, $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) 1.485 กรัม และเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate, $FeSO_4 \cdot H_2O$) 695 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

สีย้อมแบบแกรม

1. acetone alcohol (decolorizer for Gram's straining)

- 95 % ethanol 250 มิลลิลิตร
- acetone 250 มิลลิลิตร

2. crystal violet strain

- crystal violet 0.5 กรัม
- น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. gram iodine

- iodine 1.0 กรัม
- potassium Iodine 2.0 กรัม
- น้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร

4. safranin

- safranin 2.5 กรัม
- 95 % ethanol 100 มิลลิลิตร
- น้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร



ภาคผนวก ก

คำพารามิเตอร์ของการวิเคราะห์เนื้อหา และการตัดแยกเชื้อ

ตารางผนวก 1 ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสียที่ใช้จุลินทรีย์ทั้ง 26 ไอโซเลต ในการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร เป็นระยะเวลา 7 วัน

ไอโซเลต	ค่า TS		ค่า TVS		ค่า SS		ค่า COD	
	(มิลลิกรัมต่อลิตร)		(มิลลิกรัมต่อลิตร)		(มิลลิกรัมต่อลิตร)		(มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 7
Control	4,280	2,090	3,140	955	2,700	405	2,000	1,000
SP-1	4,280	1,820	3,140	810	2,700	510	2,000	1,160
SP-4	4,280	1,965	3,140	1005	2,700	515	2,000	1,200
SP-5	4,280	1,990	3,140	895	2,700	580	2,000	720
SP-7	4,280	1,920	3,140	745	2,700	375	2,000	1,240
SP-9	4,280	1,915	3,140	815	2,700	420	2,000	1,240
S5-2	4,280	1,480	3,140	485	2,700	135	2,000	440
S5-3	4,280	1,855	3,140	705	2,700	435	2,000	840
S5-7.1	4,280	1,685	3,140	560	2,700	580	2,000	800
S10-9	4,280	1,925	3,140	780	2,700	345	2,000	1,120
S10-13	4,280	2,020	3,140	880	2,700	455	2,000	1,160
NB-4	4,280	1,875	3,140	810	2,700	535	2,000	640
NB-5	4,280	1,925	3,140	805	2,700	450	2,000	960
NB-6	4,280	1,890	3,140	730	2,700	365	2,000	1,160
NB-13	4,280	1,815	3,140	735	2,700	605	2,000	1,280
BP1-1	4,280	1,850	3,140	800	2,700	385	2,000	1,040
BP1-2	4,280	2,075	3,140	955	2,700	450	2,000	1,120
BP1-7	4,280	1,795	3,140	715	2,700	405	2,000	600
BP2-1	4,280	2,040	3,140	925	2,700	385	2,000	1,200
BP2-2	4,280	1,925	3,140	855	2,700	415	2,000	1,280
BP3-1	4,280	2,065	3,140	970	2,700	640	2,000	1,040
BP3-2	4,280	1,895	3,140	820	2,700	360	2,000	880
BP3-4	4,280	1,890	3,140	795	2,700	540	2,000	680
BP3-6	4,280	1,910	3,140	865	2,700	285	2,000	520
BP3-9	4,280	1,950	3,140	845	2,700	480	2,000	1,200
KR-4	4,280	2,025	3,140	1050	2,700	425	2,000	640
KR-6	4,280	1,925	3,140	845	2,700	515	2,000	880
KR-7	4,280	1,805	3,140	860	2,700	470	2,000	760

ตารางผนวก 2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 21 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TS (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Control	9,053	4,595	4,400	4,330	4,345	3,865	3,420	3,270
MIX	9,053	5,230	4,500	4,320	4,405	3,565	3,290	3,140
BP1-7	9,053	5,005	4,330	4,370	4,250	3,460	3,215	3,115
S5-2	9,053	4,592.5	4,375	4,240	4,125	3,355	3,080	2,975
S5-3	9,053	4,697.5	4,665	4,265	4,415	3,505	3,345	3,170
S5-7.1	9,053	4,637.5	4,125	4,215	4,175	3,430	3,195	3,090

ตารางผนวก 3 ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 21 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TVS (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Control	5,548	3,082.5	2,250	1,830	2,165	1,700	1,355	1,205
MIX	5,548	3,460	2,295	1,890	2,095	1,505	1,185	1,035
BP1-7	5,548	3,482.5	2,145	1,740	2,000	1,365	1,085	1,030
S5-2	5,548	2,992.5	2,005	1,795	1,855	1,215	935	785
S5-3	5,548	3,052.5	2,400	1,845	2,150	1,400	1,125	1,000
S5-7.1	5,548	2,995	2,105	1,815	2,050	1,245	1,020	930

ตารางผนวก 4 ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า SS (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Control	1,710	520	570	715	760	640	575	515
MIX	1,710	590	590	610	610	545	445	420
BP1-7	1,710	580	530	665	665	555	485	410
S5-2	1,710	665	510	570	545	400	375	310
S5-3	1,710	695	575	610	625	535	485	450
S5-7.1	1,710	660	555	590	610	520	440	405

ตารางผนวก 5 ประสิทธิภาพการลดลงของค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Control	12,000	8,000	7,680	7,520	7,040	6,840	5,520	5,040
MIX	12,000	7,400	7,520	7,200	6,400	6,000	4,800	4,200
BP1-7	12,000	7,400	7,040	6,880	6,240	5,760	4,560	4,080
S5-2	12,000	6,800	6,720	6,400	5,440	5,280	4,200	3,720
S5-3	12,000	7,200	7,360	7,200	6,080	5,640	4,920	4,440
S5-7.1	12,000	7,200	7,360	7,200	6,240	5,520	4,440	3,960

ตารางผนวก 6 การลดค่าเอฟซีไอคิที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ในรูปเซลล์แขวนลอย ในการบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 21 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า FCOD เหลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Control	7,360	6,240	7,040	6,720	5,920	5,640	5,040	4,560
MIX	7,360	5,600	6,720	6,400	5,600	5,280	4,320	3,960
BP1-7	7,360	5,920	6,080	5,760	5,120	5,160	4,200	3,840
S5-2	7,360	5,440	5,920	5,440	4,800	4,680	3,600	3,360
S5-3	7,360	6,080	6,240	5,920	5,280	5,160	4,440	4,080
S5-7.1	7,360	5,760	6,080	5,760	5,120	5,040	4,080	3,720

ตารางผนวก 7 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	4,275	1,545	1,820	1,920	1,975	1,405	1,545	1,360	1,420	1,370	1,305
S5-2	4,275	1,955	1,855	1,933	1,832	1,340	1,365	1,235	1,175	1,120	1,140
S5-7.1	4,275	1,647	2,125	1,990	1,950	1,470	1,525	1,270	1,320	1,270	1,275

ตารางผนวก 8 ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TVS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	2,885	583	730	813	838	455	300	260	255	205	165
S5-2	2,885	960	790	855	757	335	225	145	110	75	80
S5-7.1	2,885	553	1,005	890	840	415	270	145	160	110	115

ตารางผนวก 9 ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็คน้ำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า SS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	1,360	185	140	275	300	317	213	220	210	103	100
S5-2	1,360	230	125	255	255	167	157	163	173	80	63
S5-7.1	1,360	220	100	275	315	207	203	197	203	117	73

ตารางผนวก 10 ค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็คน้ำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	5,120	2,240	2,480	3,200	3,200	2,880	3,040	2,560	2,240	1,760	1,680
S5-2	5,120	1,840	2,240	2,880	2,640	2,480	2,400	2,240	1,520	1,280	1,080
S5-7.1	5,120	2,080	2,320	3,360	2,720	2,640	2,800	2,400	1,920	1,440	1,200

ตารางผนวก 11 ค่าเอฟซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็คน้ำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า FCOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	3,200	2,240	2,400	2,880	2,400	2,640	2,720	2,400	1,920	1,560	1,320
S5-2	3,200	1,840	2,160	2,560	2,240	2,320	2,160	1,920	1,440	960	900
S5-7.1	3,200	2,080	2,320	2,800	2,400	2,640	2,480	2,080	1,920	1,320	1,080

ตารางผนวก 12 ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 ในรูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณ gas (มิลลิลิตร)									
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	40	70	270	180	110	90	120	210	160	330
S5-2	75	120	300	290	180	150	210	290	460	730
S5-7.1	95	120	300	350	270	210	240	270	420	850

ตารางผนวก 13 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	4,275	1,545	1,820	1,920	1,975	1,405	1,545	1,360	1,420	1,370	1,305
S5-2 5g	4,275	1,955	1,855	1,933	1,832	1,340	1,365	1,235	1,175	1,120	1,140
S5-2 10g	4,275	1,955	1,675	1,980	1,990	1,495	1,440	1,355	1,275	1,230	1,220
S5-2 15g	4,275	1,542	1,745	1,860	1,852	1,350	1,395	1,100	1,070	1,045	1,020
S5-7.1 5g	4,275	1,647	2,125	1,990	1,950	1,470	1,525	1,270	1,320	1,270	1,275
S5-7.1 10g	4,275	1,587	2,050	1,840	1,830	1,325	1,480	1,090	1,180	1,155	1,165
S5-7.1 15g	4,275	1,510	1,675	1,947	1,940	1,380	1,510	1,360	1,325	1,265	1,275

ตารางผนวก 14 ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TVS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	2,885	583	730	813	838	455	300	260	255	205	165
S5-2 5g	2,885	960	790	855	757	335	225	145	110	75	80
S5-2 10g	2,885	875	580	853	810	415	250	190	145	100	90
S5-2 15g	2,885	492	650	807	820	400	210	135	90	65	65
S5-7.1 5g	2,885	553	1005	890	840	415	270	145	160	110	115
S5-7.1 10g	2,885	495	960	773	765	360	255	135	105	80	90
S5-7.1 15g	2,885	475	580	882	763	320	280	160	175	105	110

ตารางผนวก 15 ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า SS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	1,360	185	140	275	300	317	213	220	210	103	100
S5-2 5g	1,360	230	125	255	255	167	157	163	173	80	63
S5-2 10g	1,360	200	115	300	270	213	150	183	170	93	50
S5-2 15g	1,360	195	80	260	280	197	167	147	150	23	27
S5-7.1 5g	1,360	220	100	275	315	207	203	197	203	117	73
S5-7.1 10g	1,360	225	75	245	285	170	193	173	193	77	53
S5-7.1 15g	1,360	190	125	280	300	177	200	190	197	90	57

ตารางผนวก 16 ค่าซีโอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	5,120	2,240	2,480	3,200	3,200	2,880	3,040	2,560	2,240	1,760	1,680
S5-2 5g	5,120	1,840	2,240	2,880	2,640	2,480	2,400	2,240	1,520	1,280	1,080
S5-2 10g	5,120	2,160	2,160	3,520	2,800	2,800	2,720	2,400	1,840	1,360	1,140
S5-2 15g	5,120	1,760	2,240	2,960	2,480	2,800	2,480	2,080	1,120	960	960
S5-7.1 5g	5,120	2,080	2,320	3,360	2,720	2,640	2,800	2,400	1,920	1,440	1,200
S5-7.1 10g	5,120	1,760	2,400	3,200	2,480	2,560	2,720	2,400	1,600	1,120	1,080
S5-7.1 15g	5,120	1,920	2,240	3,200	2,880	2,720	2,560	2,240	1,760	1,040	1,020

ตารางผนวก 17 ค่าเอฟซีโอดี ที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ดบำบัดน้ำเสีย ปริมาณต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า FCOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	3,200	2,240	2,400	2,880	2,400	2,640	2,720	2,400	1,920	1,560	1,320
S5-2 5g	3,200	1,840	2,160	2,560	2,240	2,320	2,160	1,920	1,440	960	900
S5-2 10g	3,200	2,160	2,160	3,120	2,400	2,640	2,320	2,080	1,560	1,140	960
S5-2 15g	3,200	1,760	2,080	2,880	2,240	2,400	2,240	1,920	1,080	780	840
S5-7.1 5g	3,200	2,080	2,320	2,800	2,400	2,640	2,480	2,080	1,920	1,320	1,080
S5-7.1 10g	3,200	1,760	2,320	2,720	2,480	2,400	2,480	2,240	1,500	900	900
S5-7.1 15g	3,200	1,920	2,160	3,120	2,240	2,560	2,240	2,080	1,260	900	900

ตารางผนวก 18 ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 และ S5-7.1 รูปแบบเม็ด ปริมาณต่างกันบำบัดน้ำเสียเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาตรก๊าซ (มิลลิลิตร)									
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control	40	70	270	180	110	90	120	210	160	330
S5-2 5g	75	120	300	290	180	150	210	290	460	730
S5-2 10g	85	140	490	475	300	240	250	270	420	770
S5-2 15g	70	120	450	350	320	240	210	280	450	780
S5-7.1 5g	95	120	300	350	270	210	240	270	420	850
S5-7.1 10g	105	120	290	300	240	190	270	370	520	800
S5-7.1 15g	60	60	250	120	270	180	270	430	560	800

ตารางผนวก 19 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสีย ที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
7 วัน	9,153	3,970	4,675	4,108	4,355	3,795	3,775	3,655	3,180	3,380	3,005
14 วัน	9,153	4,175	4,490	4,225	4,120	3,660	3,800	3,535	3,265	3,140	2,635
30 วัน	9,153	4,365	4,140	4,448	4,340	3,715	3,685	3,515	3,300	3,270	2,775

ตารางผนวก 20 ปริมาณของแข็งระเหยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง	ค่า TVS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
7 วัน	5,648	1,855	2,275	1,878	1,885	1,370	1,285	1,645	1,330	1,440	1,175
14 วัน	5,648	1,902	2,160	1,952	1,730	1,255	1,355	1,585	1,425	1,290	910
30 วัน	5,648	1,987	2,135	2,000	1,845	1,355	1,290	1,610	1,525	1,375	1,065

ตารางผนวก 21 ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเดิมเชื้อต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการ	ค่า SS (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
ทดลอง	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
7 วัน	1,710	610	500	640	645	770	690	485	520	550	450
14 วัน	1,710	605	540	670	590	760	615	470	495	490	395
30 วัน	1,710	650	550	720	650	735	660	570	505	535	415

ตารางผนวก 22 ค่าซีไอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเดิมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการ	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
ทดลอง	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
7 วัน	12,000	7,400	7,680	7,520	7,200	6,240	5,040	3,600	3,240	3,120	2,760
14 วัน	12,000	7,600	7,840	7,200	6,720	6,000	5,280	3,480	2,880	2,760	2,400
30 วัน	12,000	7,200	7,200	7,040	6,880	5,760	5,280	3,720	2,880	2,880	2,880

ตารางผนวก 23 ค่าเอฟซีไอดีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเดิมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ชุดการ	ค่า FCOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
ทดลอง	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
7 วัน	7,360	6,080	7,360	7,200	5,760	6,000	4,680	3,360	3,120	2,160	2,040
14 วัน	7,360	6,400	7,200	6,880	5,760	5,760	4,920	3,240	2,760	1,920	1,920
30 วัน	7,360	6,080	7,040	6,880	5,120	5,520	5,040	3,600	2,880	2,280	2,160

ตารางผนวก 24 ปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ S5-2 รูปแบบเม็ดปริมาณ 15 กรัมต่อ
 ลิตร บำบัดน้ำเสียที่ระยะเวลาการเติมเชื้อต่างกัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

วันที่	ระยะเวลาการใส่เชื้อ		
	1 ครั้ง (30 วัน)	7 วัน	14 วัน
1	800	950	900
2	700	750	700
3	400	450	400
4	550	550	600
5	650	650	550
6	750	850	650
7	650	700	550
8	550	700	550
9	600	650	600
10	700	700	650
11	700	700	600
12	750	700	600
13	800	700	630
14	800	900	750
15	800	900	800
16	750	850	900
17	650	700	850
18	600	600	600
19	750	850	800
20	650	600	650
21	750	750	800
22	1,100	1,300	1,250
23	950	1,150	1,150
24	950	950	1,050
25	1,000	1,000	1,150

ตารางผนวก 24 (ต่อ)

วันที่	ระยะเวลา		
	1 ครั้ง (30 วัน)	7 วัน	14 วัน
26	1,100	1,130	1,300
27	1,150	1,150	1,250
28	1,150	1,050	1,200
29	1,150	8,50	1,200
30	1,250	8,00	1,300

ตารางผนวก 25 ประสิทธิภาพการใช้เชื้อจุลินทรีย์ SS-2 ในรูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร ที่มีการเติมเชื้อทุก 14 วัน ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน

พารามิเตอร์	ค่าพารามิเตอร์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
TS	9,153	4,129	4,600	4,352	4,278	3,577	3,870	3,457	3,172	3,180	2,826
TVS	5,648	1,914	2,065	2,012	1,860	1,177	1,363	1,447	1,315	1,230	1,000
SS	1,710	603	480	675	637	703	665	470	488	473	353
COD	12,000	300	7,840	7,280	6,800	6,120	5,280	3,480	2,940	2,760	2,700
FCOD	7,360	6,000	6,720	7,040	6,160	5,820	4,980	3,240	2,760	2,220	2,340

ตารางผนวก 26 ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ SS-2 ในรูปแบบเม็ด ปริมาณ 15 กรัม
ต่อลิตร ที่มีการใส่เชื้อทุก 14 วัน ในการบำบัดน้ำเสีย เป็นระยะเวลา 30 วัน

วันที่	ปริมาตรก๊าซ (มิลลิลิตร)
1	1,725
2	1,050
3	500
4	925
5	525
6	1,850
7	1,150
8	1,200
9	1,200
10	1,275
11	1,275
12	1,220
13	1,225
14	1,450
15	1,600
16	1,525
17	1,500
18	1,450
19	1,480
20	1,475
21	1,400
22	1,475
23	1,450
24	1,400
25	1,475
26	1,475
27	1,550
28	1,450
29	1,525
30	1,425

ตารางผนวก 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลตที่
ระยะเวลาต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	แบคทีเรียไอโซเลต			
	S5-2	S5-3	S5-7.1	BP1-7
0	0	0	0	0
2	0.028	0.031	0.067	0.046
4	0.220	0.269	0.290	0.243
6	0.365	0.524	0.499	0.361
8	0.605	0.712	0.692	0.597
10	0.752	0.814	0.885	0.748
12	0.907	0.929	1.097	0.890
14	1.084	1.051	1.335	1.058
16	1.261	1.239	1.442	1.278
18	1.464	1.498	1.596	1.431
20	1.788	1.836	1.632	1.698
22	1.986	2.034	1.722	1.953
24	1.986	2.103	1.842	1.965
26	1.986	2.166	1.874	1.965
28	1.983	2.166	1.989	1.965
30	-	2.166	2.111	-
32	-	-	2.220	-
34	-	-	2.223	-
36	-	-	2.223	-

หมายเหตุ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง เนื่องจากเข้าสู่ระยะ stationary phase

ตารางผนวก 28 ลักษณะรูปร่างโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย

ไอโซเลต	รูปร่าง (form)	ขอบโคโลนี (margin)	ผิวหน้า (surface)
NB-1	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-2	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-3	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-4	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-5	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-6	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-7.1	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-7.2	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-8	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-9	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-10	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-11	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-12	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
NB-13	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
SP-1	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-3	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-4	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-5	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-6	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-7	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-8	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-9	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
SP-10	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
S5-2	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
S5-3	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S5-5	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S5-6	ไม่แน่นอน	ขอบเรียบ	เรียบ

ตารางผนวก 28 (ต่อ)

ไอโซเลต	รูปร่าง (form)	ขอบโคโลนี (margin)	ผิวหน้า (surface)
S5-7	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S5-8	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S10-3	กลม	ขอบเรียบ	ขรุขระ
S10-4	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
S10-7	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S10-8	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
S10-9	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
S10-11	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
S10-12	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
S10-13	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-2	ไม่แน่นอน	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-3	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-4	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-5	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
KR-6	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
KR-7	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-8	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-9	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
KR-11	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP1-1	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
BP1-2	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP1-3	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
BP1-4	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
BP1-6	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขรุขระ
BP1-7	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
BP1-8	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP2-1	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ

ตารางผนวก 28 (ต่อ)

ไอโซเลต	รูปร่าง (form)	ขอบโคโลนี (margin)	ผิวหน้า (surface)
BP2-2	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP2-3	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
BP2-4	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP2-5	ขนาดเล็ก	ขอบเรียบ	เรียบ
BP2-6	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
BP2-7	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP3-1	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP3-2	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
BP3-3	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
BP3-4	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	ขุ่น
BP3-6	กลม	ขอบเรียบ	เรียบ
BP3-9	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ
BP3-10	ไม่แน่นอน	โค้งหรือเว้า	เรียบ

ตารางผนวก 29 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยวิธี Gram's staining

ไอโซเลต	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การเรียงตัว
NB-1	กลม	บวก	เดี่ยว
NB-2	กลม	บวก	เดี่ยว
NB-3	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
NB-4	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
NB-5	ท่อนสั้น	บวก	เดี่ยว
NB-6	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
NB-7.1	ท่อนสั้น	บวก	เดี่ยว
NB-7.2	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
NB-8	กลม	บวก	คู่
NB-9	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
NB-10	กลม	บวก	เดี่ยว
NB-11	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
NB-12	กลม	ลบ	กลุ่ม
NB-13	ท่อน	บวก	เดี่ยว
SP-1	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-3	ท่อนสั้น	บวก	โซ่
SP-4	กลม	บวก	สี่
SP-5	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-6	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-7	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-8	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-9	กลม	บวก	เดี่ยว
SP-10	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
S5-2	ท่อน	บวก	เดี่ยว
S5-3	ท่อน	บวก	เดี่ยว
S5-5	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว

ตารางผนวก 29 (ต่อ)

ไอโซเลต	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การเรียงตัว
S5-6	กลม	บวก	เดี่ยว
S5-7	ท่อนยาว	ลบ	เดี่ยว
S5-8	ท่อน	บวก	เดี่ยว
S10-3	ท่อน	บวก	โซ่
S10-4	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
S10-7	กลม	บวก	เดี่ยว
S10-8	ท่อน	บวก	เดี่ยว
S10-9	ท่อน	บวก	เดี่ยว
S10-11	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
S10-12	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
S10-13	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
KR-2	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
KR-3	ท่อน	บวก	เดี่ยว
KR-4	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
KR-5	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
KR-6	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
KR-7	ท่อนสั้น	บวก	เดี่ยว
KR-8	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
KR-9	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
KR-11	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
BP1-1	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP1-2	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
BP1-3	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP1-4	ท่อน	บวก	เดี่ยว
BP1-6	ท่อน	บวก	เดี่ยว
BP1-7	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP1-8	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว

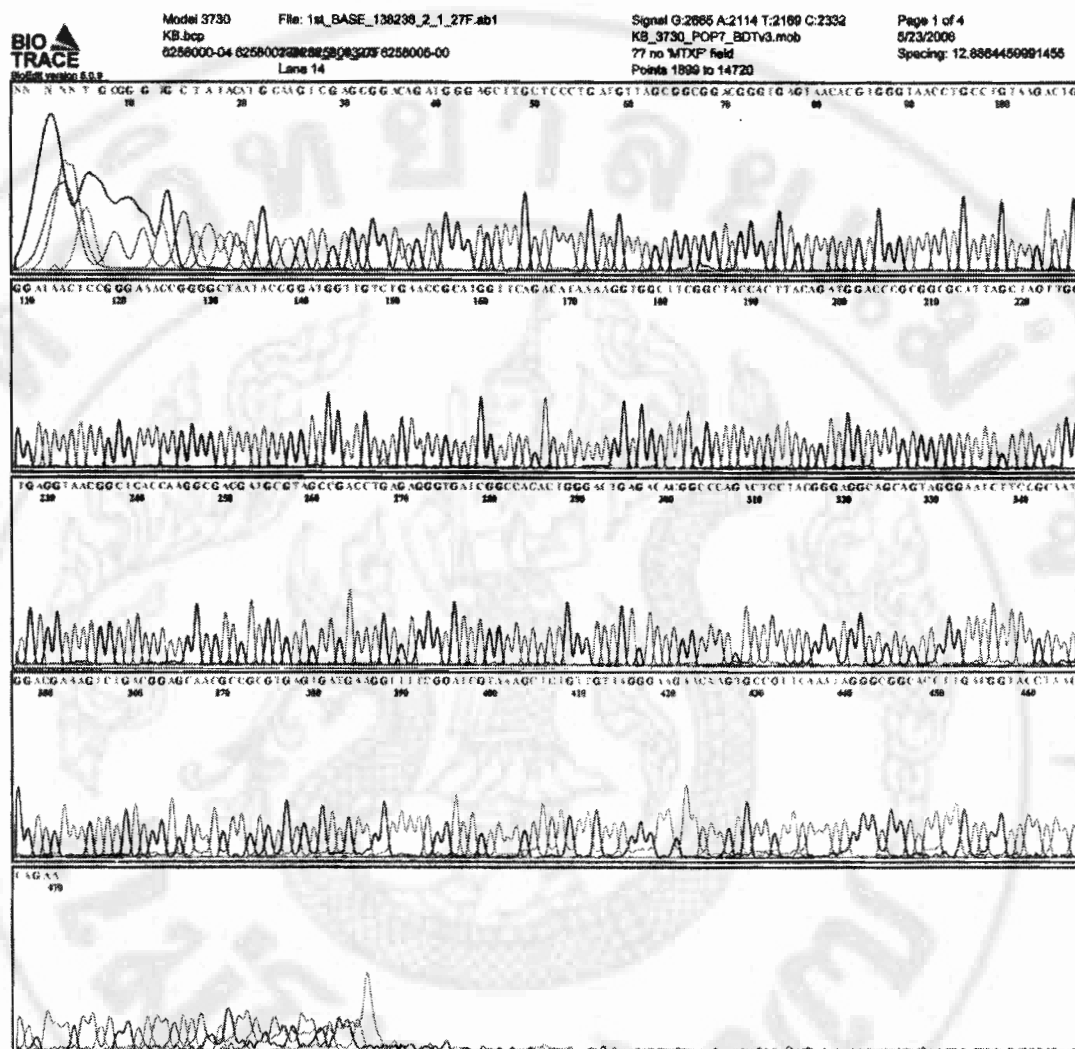
ตารางผนวก 29 (ต่อ)

ไอโซเลต	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การเรียงตัว
BP2-1	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
BP2-2	ท่อน	บวก	เดี่ยว
BP2-3	ท่อนสั้น	บวก	โซ่
BP2-4	ท่อนยาว	ลบ	เดี่ยว
BP2-5	กลม	บวก	เดี่ยว
BP2-6	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP2-7	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP3-1	ท่อนยาว	ลบ	เดี่ยว
BP3-2	ท่อนยาว	บวก	เดี่ยว
BP3-3	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
BP3-4	ท่อนสั้น	ลบ	เดี่ยว
BP3-6	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP3-9	ท่อน	ลบ	เดี่ยว
BP3-10	ท่อน	ลบ	เดี่ยว



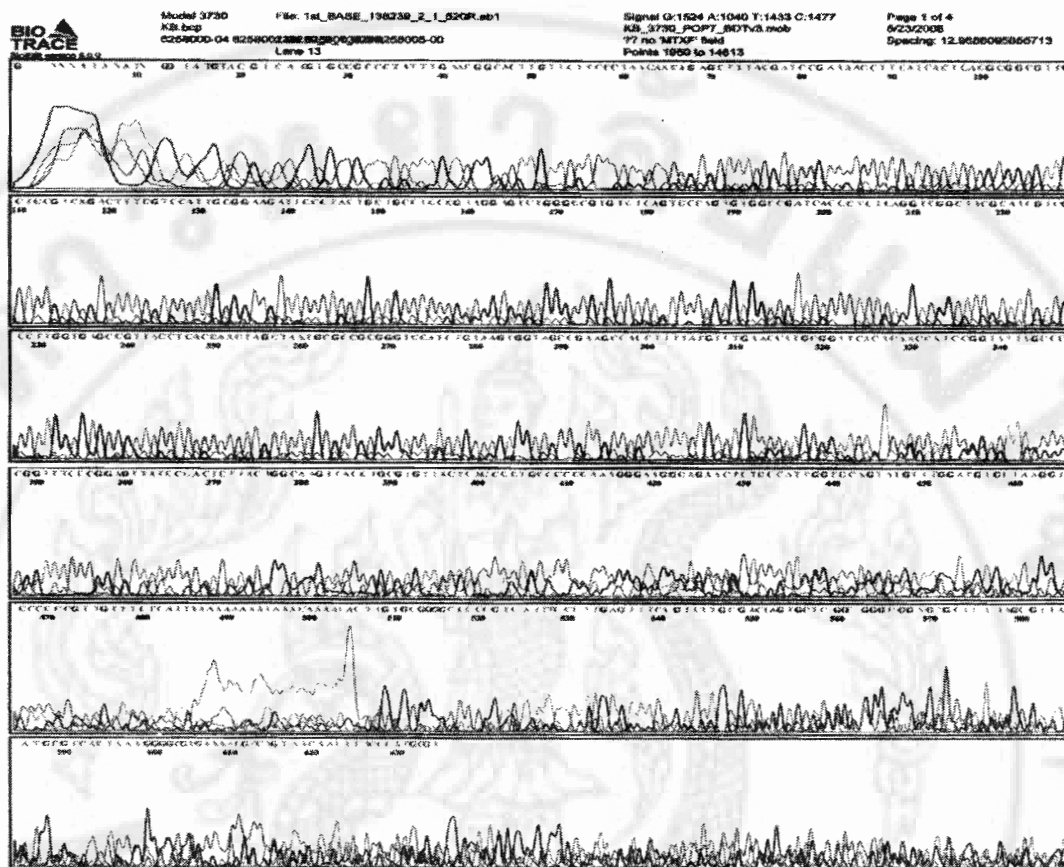
ภาคผนวก ง

ลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วน 16S rRNA



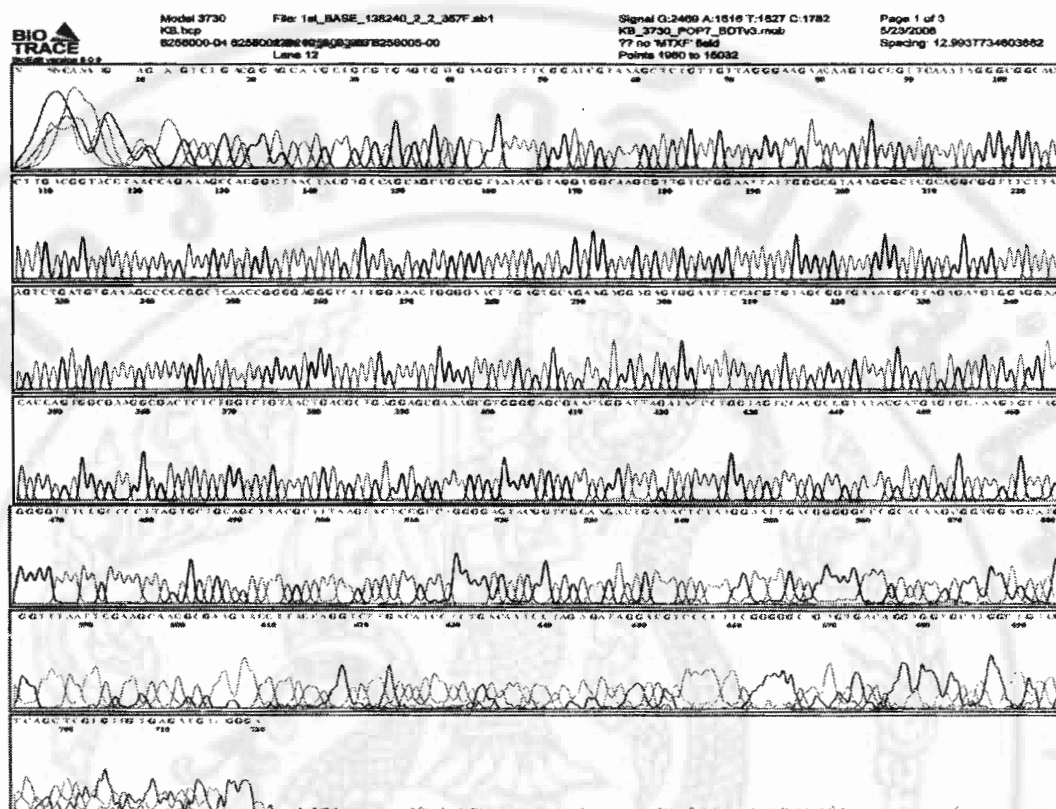
5'NNNNNTGCGGGTGCTATACATGCAAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCT
GATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGAT
AACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTCAGACA
TAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGG
TGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGC
CACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT
TCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTT
GACGGTACCTAACCAGAA3'

ภาพผนวก 1 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไฮโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 27F



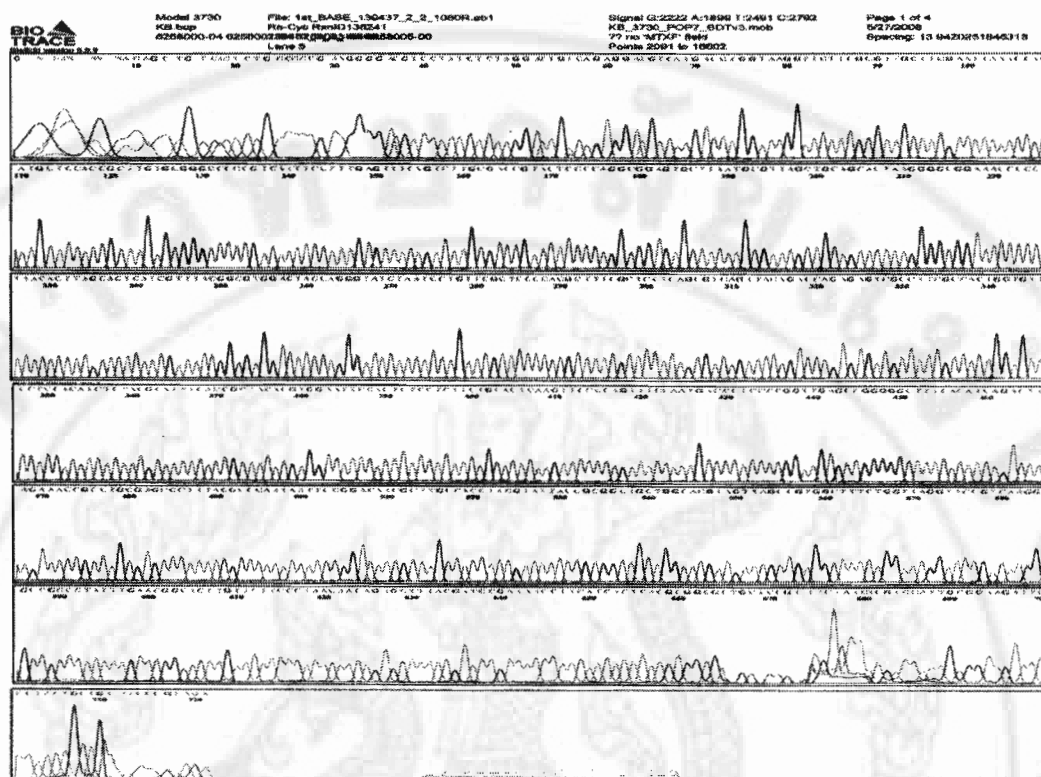
5'GNNNATANATNGGTATGTACGTCACGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTT
 CCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCC
 GTCAGACTTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGG
 CCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCTCTCAGGTCCGCTACGCATCGTCGCC
 TTGGTGAGCCGTTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGG
 TAGCCGAAGCCACCTTTTATGTCTGAACCATGCGGTTACACAACCATCCGGTATTAG
 CCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCCACTCTTACTGGCAAGTTACCTGCGTGTTACTCACC
 CCTGCCCCCAAAGGGAAGGCAGAACTCTCCCATTTGGTCCAGTATGTTTGGATGTGT
 TAAGGTCCCCCGTTGTTTCTCATTAATAAAAAAATAAACAAAATACTTGTGCGGGG
 CCCCCGTCATTTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACTAGTGCTCGGCGGGCGGAGTGCT
 TATAGCGTTAGATGCGTCACTAAAGGGGCGAGAAAACGCCAGTAACAATTTACCCAT
 GCGT3'

ภาพผนวก 2 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 520R



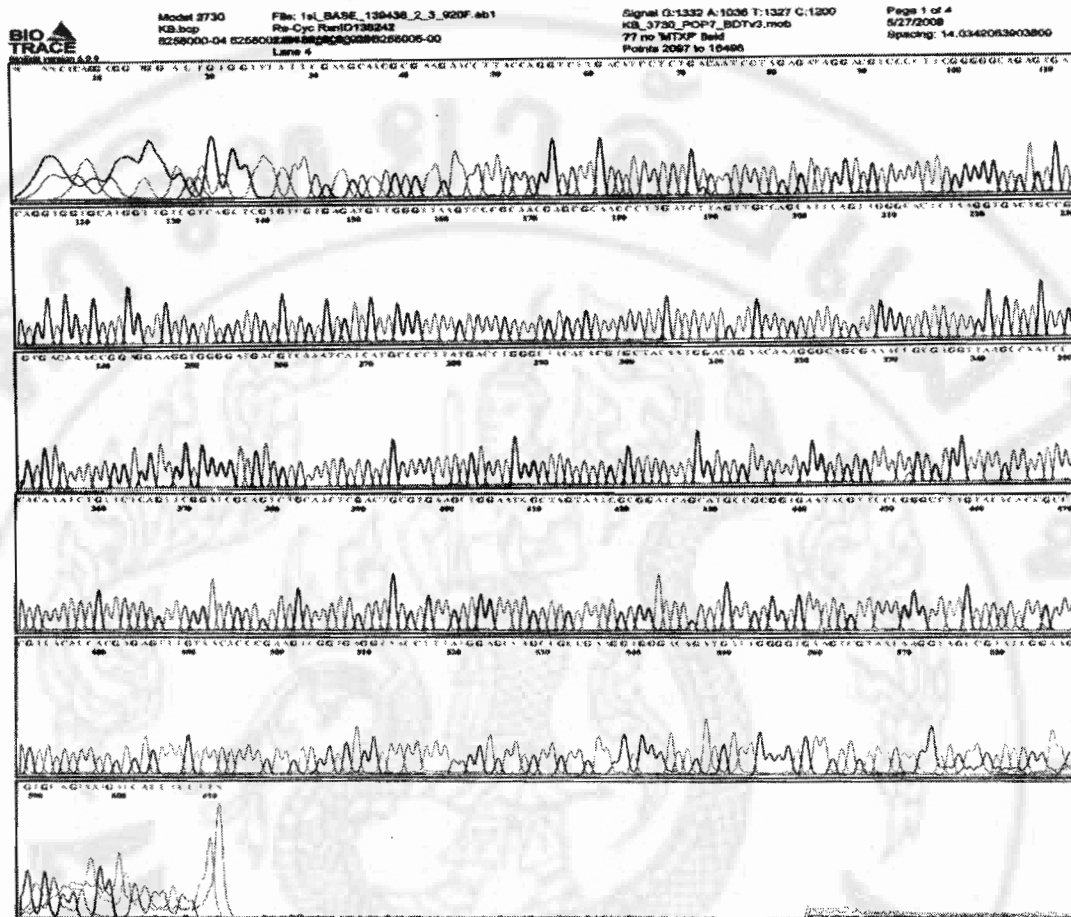
5'NNNCANATGAGAGTCTGACGGAGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATC
GTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGAC
GGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA
GGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACTT
GAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGT
GGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCG
AAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATG
AGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACT
CCGCTTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCGC
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCT
TGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGG
TGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGA3'

ภาพผนวก 3 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 357F



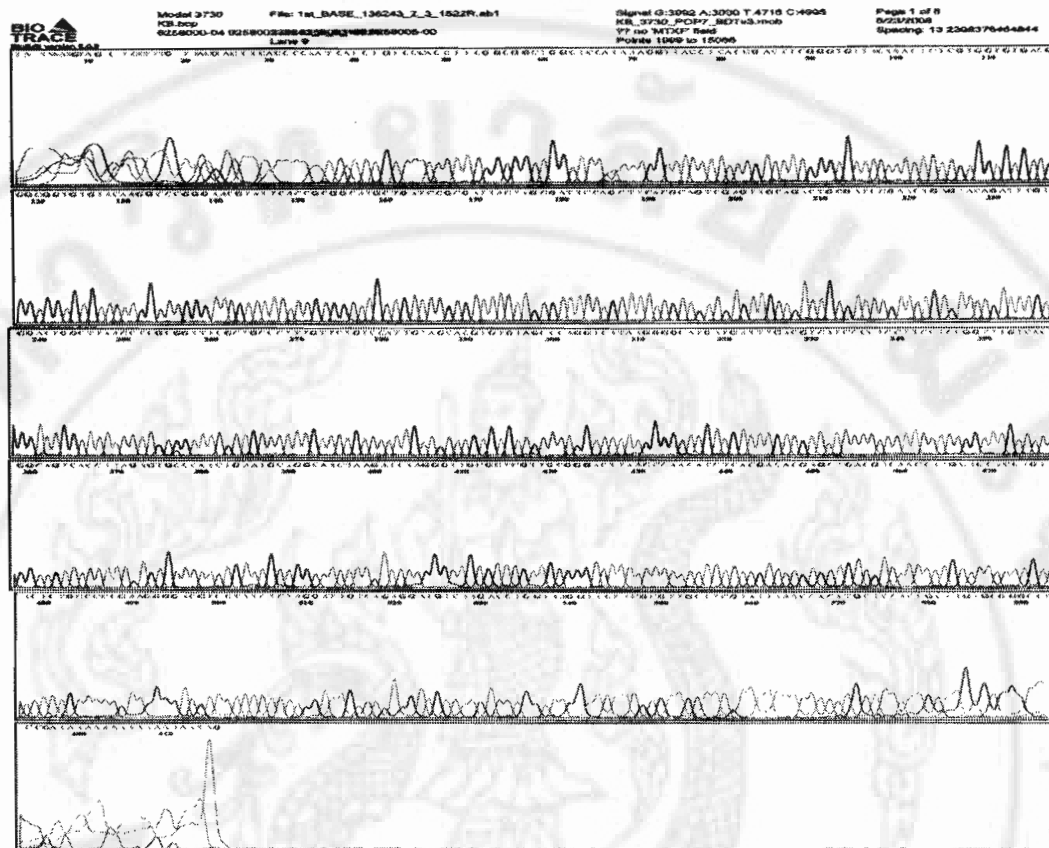
5'GNNANNNNACAGCTGTCACTCTGCCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGT
 CAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGC
 TCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACT
 CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAA
 CACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCC
 CCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTG
 TTCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCTCTCCTCTTCTGC
 ACTCAAGTTCCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCA
 GACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCC
 ACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTAGGTAC
 CGTCAAGGTGCCGCCCTATTTGAACGGCACTTGTTCTTCCTAACAACAGAGCTTTAC
 GATCCGAAAACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTTTCTAACTCGTCCATTGCG
 GAAGATTCCCTACTGCTGCTTCCCGTAGA3'

ภาพผนวก 4 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียโอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 1080R



5'NNNNCCCAGGCGGTGGACTGTGGTTTATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAG
 GTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGA
 CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCA
 ACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACT
 GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATG
 ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGG
 TTAAGCCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCG
 TGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGG
 GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAG
 GTAACCTTTATGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTA
 ACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCAGTAATGATCACCTCCTTA3'

ภาพผนวก 5 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 920F



5'TNNNNATGTAGCTCCTTTGTTACGACTTCACCCCAATCATCTGTCCCACCTTCGGCG
GCTGGCTCCATAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATT
ACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACA
GATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAG
CACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCT
CCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGAT
CAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGAC
AACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTC
AGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCT
CCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGAAAAAAAAAAAAAAAAAATAG3'

ภาพผนวก 6 ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต S5-2 ที่ได้จาก primer 1522R



ภาคผนวก จ
ประวัติผู้วิจัย