

การวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ชีโอสปี
โดยใช้เทคนิค PCR-DGGE



นางสาวศีตลา จันทรเทศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANALYSIS OF MICROBIAL DIVERSITY IN AN EGSB REACTOR
BY PCR-DGGE TECHNIQUE

Ms.Seetala Chantes



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ใน
ถังปฏิกรณ์ชีชีเอสบีโดยใช้เทคนิค PCR-DGGE

โดย

นางสาวศิตลา จันทร์เทศ

สาขาวิชา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. ขวลิต รัตนธรรมสกุล


คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้แก่นักวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต


..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เลิศนริญวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. ขวลิต รัตนธรรมสกุล)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริมา ปัญญาเมธิกุล)


..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. ปธาน บรรจงปรุ)

ศิตลา จันทร์เทศ : การวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์
 อีจีเอสบีโดยใช้เทคนิค PCR-DGGE. (Analysis of microbial diversity in an EGSB
 reactor by PCR-DGGE technique) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร.ชวลิต
 รัตนธรรมสกุล, 127 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์และความเร็วไหลขึ้นควบคู่ไปกับการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของระบบอีจีเอสบีที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ต่างกัน คือ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วันโดยใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม. ช่วงที่ 2 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของระบบอีจีเอสบีที่ความเร็วไหลขึ้นต่างกัน คือ 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม. โดยเปรียบเทียบที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน และช่วงสุดท้ายศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอันนำมาสกัดดีเอ็นเอเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณลิปหกเอสอาร์ดีเอ็นเอและหาความสัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณลิปหกเอสอาร์ดีเอ็นเอที่ได้โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีการเก็บรวบรวมผลการทดลองช่วงที่ 1 พบว่า ระบบอีจีเอสบีนี้สามารถบำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 4 ม./ชม. ซึ่งมีประสิทธิภาพบำบัดซีไอดีอยู่ในช่วง 60 - 70 เปอร์เซ็นต์ สัดส่วนการผลิตก๊าซมีเทนประมาณ 0.29 - 0.31 ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด ช่วงที่ 2 เมื่อเปลี่ยนความเร็วไหลขึ้นที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่าที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ระบบมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันโดยมีประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ สัดส่วนการผลิตก๊าซมีเทนประมาณ 0.33 ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด สำหรับการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์นั้นพบว่าเมื่อภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ความหลากหลายของจุลินทรีย์ลดลงเนื่องมาจากความเป็นพิษของระบบ แต่เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ปรากฏว่าจุลินทรีย์มีความหลากหลายมากขึ้นเนื่องจากความเร็วไหลขึ้นที่สูงช่วยเจือจางความเป็นพิษและเพิ่มสภาพต่างให้กับระบบและจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าระบบประกอบไปด้วยจุลินทรีย์กลุ่มหลัก 3 กลุ่ม คือ กลุ่มของ Uncultured Methanobacterium, Uncultured Methanobacteriales archaeon และ Uncultured archaeon

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....

ปีการศึกษา 2553.....

ลายมือชื่อนิสิต.....ศิตลา จันทร์เทศ

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

4970830021 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS : MICROBIAL DIVERSITY / ANAEROBIC PROCESS / EXPANDED GRANULAR SLUDGE BED REACTOR / POLYMERASE CHAIN REACTION DENATURING GRADIENT GEL ELECTROPHORESIS

SEETALA CHANTES: ANALYSIS OF MICROBIAL DIVERSITY IN AN EGSB REACTOR BY PCR-DGGE TECHNIQUE. THESIS ADVISOR: ASSOC.PROF. CHAWALIT RATANATAMSKUL; Ph.D., 127 pp.

This research aims to study on the effects of organic loading rate and up-flow velocity on performance of EGSB and microbial community inside the reactor. The experiment was 3 parts; the first part was a study of effect of different organic loading rates at 10, 20, 30, and 40 kg-COD/m³-day using two up-flow velocities at 3 and 4 m/hr on the EGSB reactor. The second part was a study on effect of different up-flow velocities at 3, 4, 5 and 6 m/hr at the same organic loading rate of 40 kg-COD/m³-day. The last phase was a study on microbial diversities using PCR-DGGE technique with the extraction and amplification of DNA at an area of 16SrDNA. Subsequently, nucleotide sequencing was done by comparing them to the collected database. The first part showed that the EGSB systems had the best performance to treat wastewater at the organic loading rate of 30 kg-COD/m³-day and up-flow velocity at 4 m/hr, with COD removal efficiency in a range of 60-70 percent. Methane gas production was approximately at the yield of 0.29-0.31 l/g-COD removal. For the second part, when up-flow velocity was varied at the same organic loading rate of 40 kg-COD/m³-day, it was found that at the up-flow velocity of 6 m/hr. COD removal efficiency at approximately 58 percent. Methane gas production was found to be 0.33 l/g-COD removal. For the study on microbial diversity, it was found that when organic loading rate increased with constant up-flow velocity, microbial diversity was lower probably due to toxicity of wastewater itself on the system at the moment. From analyzing nucleotides by sequencing method, the result came out that this system composed of 3 main groups of microorganisms including a group of Uncultured Methanobacterium, Uncultured Methanobacteriales archaeon and Uncultured archaeon. When increasing up-flow velocity to be 5 and 6 m/h at organic loading rate of 40 kg-COD/m³-day, the microorganisms were found to be more diverse. This was because higher up-flow velocity could help dilute toxicity and increase alkalinity of the system.

Department : Environmental Engineering.....

Field of Study : Environmental Engineering.....

Academic Year : 2010.....

Student's Signature.....

Advisor's Signature.....

Seetala Chantes

Chawalit Ratanatamskul

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชวลิต รัตนธรรมสกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือตลอดทุกขั้นตอนในการทำวิจัยและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริมา ปัญญาเมธิกุลและ ดร. ปธาน บรรจงปฐุ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาตรวจทานวิทยานิพนธ์และคำแนะนำทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้กรุณามอบความรู้อันเป็นประโยชน์ คำแนะนำ และความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มอบทุนสนับสนุนงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตรายที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือสำหรับการทำวิจัย

ขอขอบคุณนางสาวจุฑากานต์ บุญมีและนายวุฒิชัย เหมือนทองรวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับมิตรภาพ กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือทั้งในด้านการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ รวมถึงทุกคนในครอบครัวที่มอบความรัก กำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 การบำบัดแบบไร้อากาศ.....	4
2.2 กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของกระบวนการย่อยไร้อากาศ.....	4
2.2.1 หลักการ.....	4
2.2.2 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของการบำบัดแบบไร้อากาศ.....	7
2.2.3 ข้อดีและข้อเสียของระบบบำบัดแบบไร้อากาศ.....	12
2.3 ระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB).....	13
2.3.1 หลักการทำงานของระบบยูเอเอสบี.....	13
2.3.2 กระบวนการเกิดตะกอนเม็ด (Granulation Process).....	14
2.3.3 ประเภทของเม็ดสลัดจ์ (Granular Sludge) ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี.....	15
2.3.4 ระบบป้อนน้ำเข้า (Feed Inlet System).....	17
2.4 ระบบอีจีเอสบี (Expanded Granular Sludge Bed, EGSB).....	17
2.4.1 ลักษณะและหลักการทำงานของระบบอีจีเอสบี.....	18
2.4.2 สภาพทางจุลชีวของการย่อยสลายในถังปฏิกริยาอีจีเอสบี.....	20
2.4.3 การเริ่มต้นระบบอีจีเอสบี.....	20

2.4.4	ข้อกำหนดการออกแบบ.....	21
2.5	การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบอีจีเอสบี.....	21
2.5.1	หลักการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์หรือพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR).....	23
2.5.2	หลักการของดีจีจีจี (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE).....	23
2.5.3	ข้อดีและข้อเสียของเทคนิคดีจีจีจี.....	25
2.6	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	27
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	30
3.1	เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	30
3.1.1	ถังพักน้ำเสีย.....	30
3.1.2	เครื่องสูบน้ำเสียเข้าสู่ระบบและเครื่องสูบน้ำเสียหมุนเวียน.....	30
3.1.3	ถังปฏิกรณ์อีจีเอสบี.....	30
3.1.4	อุปกรณ์วัดก๊าซ.....	30
3.2	การเตรียมน้ำเสีย.....	31
3.2.1	ส่วนประกอบน้ำเสีย.....	31
3.2.2	วิธีการเตรียมน้ำเสีย.....	31
3.3	การติดตั้งเครื่องมือ หลักการทำงานของระบบและจุดเก็บตัวอย่าง.....	32
3.4	แผนการวิจัย.....	33
3.5	พารามิเตอร์ที่ทำกรวิเคราะห์.....	36
3.6	ขั้นตอนการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีโดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีจี.....	37
3.6.1	ขั้นตอนการวิเคราะห์สับหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีจี.....	39
บทที่ 4	ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	43
4.1	การดำเนินการวิจัย.....	43
4.2	การเริ่มต้นเดินระบบ (Start up).....	44
4.2.1	ผลการทดลองช่วงการเปลี่ยนแปลงภาวะบรรพบุรุษสารอินทรีย์ของระบบ อีจีเอสบี.....	45

4.2.2 ผลการทดลองช่วงการเปลี่ยนแปลงค่าความเร็วไหลขึ้นของระบบ อีจีเอสปี.....	48
4.3 สภาวะแวดล้อมของการเดินระบบ.....	50
4.3.1 อุณหภูมิ.....	50
4.3.2 พีเอช.....	50
4.3.3 โออาร์พี.....	51
4.4 สมรรถนะของระบบ.....	52
4.4.1 ซีไอดีและประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี.....	52
4.4.2 ก๊าซชีวภาพ.....	57
4.4.3 ความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์.....	63
4.4.4 ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์.....	67
4.5 การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสปี.....	73
4.5.1 ลักษณะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์.....	73
4.5.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงกลุ่ม ประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนด้วยเทคนิค พีซีอาร์ดีจีจี.....	81
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	96
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	96
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	98
รายการอ้างอิง.....	99
ภาคผนวก.....	105
ภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์.....	106
ภาคผนวก ข การทดลองและการคำนวณ.....	117
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	127

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 2.1	แสดงระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารพิษ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ไม่เป็นอันตรายต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไร้อากาศ	11
ตารางที่ 2.2	แสดงตัวอย่างของไพโรเมอร์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี	26
ตารางที่ 3.1	พารามิเตอร์ของน้ำเสียจากโรงงานผลิตเอทานอลจากกากส่า.....	31
ตารางที่ 3.2	แสดงการศึกษาผลของค่าภาระบรรทุกสารอินทรีย์ค่าต่าง ๆ ที่เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับความเร็วไหลขึ้นที่มีผลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีชุดที่ 1.....	34
ตารางที่ 3.3	แสดงการศึกษาผลของความเร็วไหลขึ้นที่เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่มีผลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีชุดที่ 2.....	35
ตารางที่ 3.4	แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ต้องทำการวิเคราะห์ ความถี่ จุดเก็บตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์.....	36
ตารางที่ 3.5	แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี.....	37
ตารางที่ 3.6	แสดงสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี.....	37
ตารางที่ 3.7	แสดงชุดไพโรเมอร์ในการทดลอง.....	40
ตารางที่ 4.1	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 ม./ชม.....	46
ตารางที่ 4.2	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 4 ม./ชม.....	47
ตารางที่ 4.3	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม. ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์คงที่ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน.....	49
ตารางที่ 4.4	คุณสมบัติของน้ำเข้าและน้ำออกจากระบบของถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีตลอดการทดลอง.....	50
ตารางที่ 4.5	ค่าไออาร์พีของน้ำออกจากระบบของถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีตลอดการทดลอง.....	51

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.6	ค่าซีไอดีเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง 53
ตารางที่ 4.7	ประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง..... 54
ตารางที่ 4.8	ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง..... 58
ตารางที่ 4.9	อัตราการผลิตก๊าซมีเทนตลอดระยะเวลาการทดลอง 58
ตารางที่ 4.9	อัตราการผลิตก๊าซมีเทนตลอดระยะเวลาการทดลอง (ต่อ)..... 59
ตารางที่ 4.10	ค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ 63
ตารางที่ 4.11	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ช่วงเริ่มเดินระบบที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม..... 68
ตารางที่ 4.12	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม..... 68
ตารางที่ 4.13	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม..... 69
ตารางที่ 4.14	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม..... 69
ตารางที่ 4.15	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม..... 70
ตารางที่ 4.16	ขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 และ 6 ม./ชม..... 70
ตารางที่ 4.17	แสดงการแปรผันปริมาตรของ ดีเอ็นเอ ไพรมเมอร์ 1100F และไพรมเมอร์ 1400R ต่อหนึ่งหลอดปฏิบัติการพีซีอาร์..... 83
ตารางที่ 4.18	การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์กับฐานข้อมูลลำดับ นิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์ที่มีการเก็บรวบรวมไว้ใน Gen Bank 92
ตารางที่ ก.1	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 3 ม./ชม..... 107
ตารางที่ ก.2	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 3 ม./ชม..... 108
ตารางที่ ก.3	ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 3 ม./ชม..... 109

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ ก.4	110
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 3 ม./ชม.....	110
ตารางที่ ก.5	111
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 4 ม./ชม.....	111
ตารางที่ ก.6	112
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 4 ม./ชม.....	112
ตารางที่ ก.7	113
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 4 ม./ชม.....	113
ตารางที่ ก.8	114
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เท่ากับ 4 ม./ชม.....	114
ตารางที่ ก.9	115
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน.....	115
ตารางที่ ก.10	116
ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน.....	116
ตารางที่ ข.1	120
เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.....	120
ตารางที่ ข.1	121
เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.(ต่อ)	121
ตารางที่ ข.2	123
อัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีไอดีที่ถูกกำจัดของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.....	123
ตารางที่ ข.3	124
ครึ่งปฏิกิริยาของระบบทางชีวภาพ.....	124
ตารางที่ ข.3	125
ครึ่งปฏิกิริยาของระบบทางชีวภาพ (ต่อ).....	125
ตารางที่ ข.4	126
ตารางการคำนวณมีเทนยี่ลด์.....	126

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 2.1	โครงสร้างของตะกอนเม็ดจุลินทรีย์	17
ภาพที่ 2.2	ลักษณะถังปฏิกรณ์อิมัลซิเอชัน	18
ภาพที่ 2.3	ขั้นตอนพีซีอาร์ดีจีจี	24
ภาพที่ 2.4	ไดอะแกรมแสดงการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอแบบที่เรียงแต่ละชนิดบนเจลดีจีจี	25
ภาพที่ 3.1	แสดงชุดถังปฏิกรณ์อิมัลซิเอชัน 4 ชุด.....	31
ภาพที่ 3.2	รายละเอียดจุดเก็บตัวอย่าง.....	32
ภาพที่ 3.3	อุปกรณ์ชุด DCode™ system ,Bio-rad สำหรับการวิเคราะห์ดีจีจี.....	38
ภาพที่ 4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะบรรทุกลำอินทรีย์กับระยะเวลาที่ทำการทดลอง ช่วงเริ่มเดินระบบ (Start up) ของถังปฏิกรณ์อิมัลซิเอชันชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.....	44
ภาพที่ 4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะบรรทุกลำอินทรีย์กับระยะเวลาที่ทำการทดลอง ช่วงเริ่มเดินระบบ (Start up) ของถังปฏิกรณ์อิมัลซิเอชันชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.....	45
ภาพที่ 4.3	ภาพรวมค่าซีไอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	55
ภาพที่ 4.4	ค่าซีไอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	56
ภาพที่ 4.5	ค่าซีไอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	56
ภาพที่ 4.6	ค่าซีไอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	56
ภาพที่ 4.7	ปริมาณก๊าซชีวภาพถังปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	61
ภาพที่ 4.8	ปริมาณก๊าซชีวภาพถังปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	61
ภาพที่ 4.9	ปริมาณก๊าซชีวภาพถังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	62
ภาพที่ 4.10	ปริมาณก๊าซชีวภาพถังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	62
ภาพที่ 4.11	ค่าความสามารถจำเพาะเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่างๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	65
ภาพที่ 4.12	ค่าความสามารถจำเพาะเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่างๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	66
ภาพที่ 4.13	ค่าความสามารถจำเพาะเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่างๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง.....	66

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 4.14	ค่าความสามารถจำเพาะเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่าง ๆ ของ ถังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง..... 67
ภาพที่ 4.15	ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 1.5 ม.จากก้นถังปฏิกรณ์กับภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 และ 4 ม./ชม..... 72
ภาพที่ 4.16	ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 1.0 ม.จากก้นถังปฏิกรณ์กับภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 และ 4 ม./ชม..... 72
ภาพที่ 4.17	ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 0.5 ม.จากก้นถังปฏิกรณ์กับภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 และ 4 ม./ชม..... 73
ภาพที่ 4.18	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ตอนเริ่มต้นเดินระบบ..... 75
ภาพที่ 4.19	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็ว ไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม..... 76
ภาพที่ 4.20	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็ว ไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม..... 77
ภาพที่ 4.21	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็ว ไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม..... 78
ภาพที่ 4.22	ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็ว ไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม..... 79

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 4.23	80
ภาพที่ 4.24	81
ภาพที่ 4.25	82
ภาพที่ 4.26	82
ภาพที่ 4.27	84

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 4.28	85
ภาพที่ 4.29	85
ภาพที่ 4.30	88
ภาพที่ 4.31	89
ภาพที่ 4.32	89
ภาพที่ 4.33	90
ภาพที่ 4.34	90
ภาพที่ 4.35	91

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 4.36	แถบ F มีความใกล้เคียงกับ Uncultured Methanobacterium sp.Clone Gram2M20 โดยมีค่า Similarity เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์.....	91
ภาพที่ 4.37	แผนภูมิต้นไม้วงศานวิวัฒนาการของจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่ตัดแยกได้..	93
ภาพที่ 4.38	แผนภูมิต้นไม้วงศานวิวัฒนาการแบบซับซ้อนโดยการแทรกรหัสพันธุกรรมของดีเอ็นเอตัวอย่างจากระบบด้วยโปรแกรม Clastal W สำหรับทำแผนภูมิต้นไม้วงศานวิวัฒนาการ.....	94
ภาพที่ ข.1	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณก๊าซมีเทนสะสม (มล.) กับ เวลา (วัน)...	119
ภาพที่ ข.2	พื้นที่ใต้กราฟของก๊าซมีเทนมาตรฐานและตัวอย่างประกอบการคำนวณเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน.....	120



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศได้นำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายๆประเภทรวมถึงน้ำเสียจากโรงงานผลิตเอทานอลที่มีความเป็นพิษและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB) เป็นระบบหนึ่งที่นิยมนำมาใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีประสิทธิภาพการบำบัดสูงได้ดีกว่าระบบบำบัดแบบใช้อากาศอื่นๆและต่อมาได้พัฒนาจากระบบยูเอเอสบีมาเป็นระบบอีจีเอสบี (Expanded Granular Sludge Bed reactor, EGSB) โดยการติดตั้งระบบหมุนเวียนน้ำทิ้งเนื่องจากระบบยูเอเอสบีมีปัญหาในเรื่องความเร็วไหลขึ้นในระบบต่ำ ทำให้การสัมผัสระหว่างตะกอนจุลินทรีย์และน้ำเสียไม่เพียงพอโดยลักษณะของถังปฏิกรณ์อีจีเอสบี มีอัตราส่วนความกว้างต่อความสูงมากกว่าถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี และใช้ความเร็วไหลขึ้นที่สูงกว่าทำให้ชั้นสลัดจ์ (Sludge) ขยายตัวส่งผลให้มีการสัมผัสระหว่างน้ำเสียกับตะกอนจุลินทรีย์มากขึ้นแต่จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบเป็นชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีพซึ่งกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศนั้นมีความสลับซับซ้อนและต้องอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมีหลายขั้นตอนโดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม ดังนั้น ประสิทธิภาพการทำงานของระบบอีจีเอสบีมักจะขึ้นอยู่กับความสมดุลของกลุ่มจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้งชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์รวมทั้งการทำงานที่มีความสัมพันธ์กันของกลุ่มจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามความรู้ความเข้าใจพื้นฐานในระบบนิเวศของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องนี้จึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง ในการควบคุมการทำงานของระบบให้มีประสิทธิภาพแต่เทคนิคที่ใช้ศึกษา ยังมีข้อจำกัดในด้านการเพาะเลี้ยงโดยที่เชื้อจุลินทรีย์อาจยากต่อการเพาะเลี้ยงหรือบางครั้งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ จึงทำให้ผลที่ได้ไม่สามารถบอกถึงประชากรจุลินทรีย์ได้อย่างแท้จริงในปัจจุบันมีเทคนิคทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลเข้ามาเพราะเป็นวิธีที่รวดเร็วและประหยัดเวลากว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการมากและมีความจำเพาะสูง

ดังนั้นงานทางระดับชีวโมเลกุลจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบี โดยเทคนิคที่นำมาใช้นี้คือ การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) ร่วมกับดีจีจีจี (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE) ซึ่งเป็นเทคนิคระดับชีวโมเลกุลที่สะดวกและง่ายต่อการศึกษาการ

เปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ และสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปี ซึ่งข้อมูลต่างๆที่ได้รับจะเป็นประโยชน์ต่อการนำมาพัฒนาประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และผลิตภัณฑ์ชีวภาพของถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปีต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรและชนิดของแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปีที่ภาระบรทุกสารอินทรีย์ต่างๆ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของความเร็วไหลขึ้นต่อความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปี

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ดำเนินการวิจัยโดยใช้แบบจำลองถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปี ซึ่งถูกออกแบบขึ้นใหม่ให้มีอุปกรณ์แยกสามสถานะ(Three phase separator) ที่ต่างกัน 2 แบบ คือสมมาตรและไม่สมมาตรโดยทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการชั้น 1 อาคารวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ และห้องปฏิบัติการทางพันธุวิศวกรรม ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้น้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตเอทานอล ทำการทดลองภายใต้สภาวะอุณหภูมิบรรยากาศภายในห้อง ทดลองและตรวจวัดปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นและใช้แบบจำลองถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.40 ซม.และสูง 75 ซม.โดยกำหนดการทดลองคือ ศึกษาชนิดและวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในช่วงค่าความเร็วไหลขึ้นและภาระบรทุกสารอินทรีย์ที่แตกต่างกัน ด้วยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอ็อกซิเอสปีในชุดการทดลองถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปี 2 ชุด ๆ ละ 2 ถัง ดังนี้

ชุดที่ 1 ใช้ถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปีที่กำหนดค่าภาระบรทุกสารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ภายใต้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. และเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 5 ม./ชม. ที่ภาระบรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน

ชุดที่ 2 ใช้ถังปฏิกรณ์อ็อกซิเอสปีที่กำหนดค่าภาระบรทุกสารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ภายใต้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. และเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 6 ม./ชม. ที่ภาระบรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซมีเทนจากการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตเอทานอลด้วยระบบอ็อกซิเอสปีเพื่อให้ได้ก๊าซมีเทนมากที่สุด

1.4.2 เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียที่เกิดขึ้น ในถังปฏิกรณ์ไอจีเอสบีที่มีความเร็วไหลขึ้นและภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ที่แตกต่างกันได้

1.4.3 สามารถนำความรู้ทางด้านแบคทีเรียที่เกิดขึ้น ในระบบมาใช้พัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตเอทานอลได้



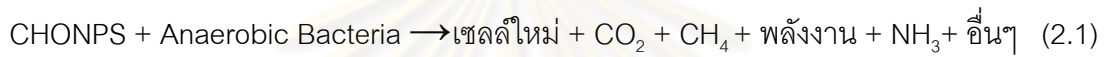
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การบำบัดแบบไร้อากาศ

การบำบัดแบบไร้อากาศ ซึ่งบางครั้งเรียก แบบแอนแอโรบิก หรือ แบบไม่ใช้อากาศเป็นการอาศัยการดำรงชีพของจุลินทรีย์ชนิดที่ดำรงชีพโดยไม่ใช้ก๊าซออกซิเจน โดยการย่อยสลายสาร (CHONPS) ให้เปลี่ยนเป็นเซลล์ใหม่ และก๊าซบางชนิดโดยอาจมีสารประกอบอินทรีย์บางชนิดเกิดขึ้นมาด้วย เช่น NH_3 เป็นต้น ดังสมการ (2.1) โดยรวมดังนี้



กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายจะได้เป็นก๊าซชีวภาพส่วนใหญ่ประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซมีเทน ปัจจุบันกระบวนการแบบไร้อากาศได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากไม่ต้องใช้พลังงานในการเติมอากาศและก๊าซมีเทนที่ได้นั้นสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้เป็นอย่างดี

2.2 กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ของกระบวนการย่อยไร้อากาศ

2.2.1 หลักการ

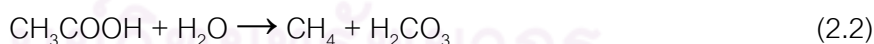
การย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียซึ่งประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันอยู่ทั้งในรูปของแข็งและสารละลายโมเลกุลใหญ่ไปเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลงเรื่อย ๆ โดยอาศัยปฏิกิริยาชีวเคมี ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นขั้นตอนการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมันชนิดยาวตามลำดับ ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นได้ภายนอกเซลล์แบคทีเรียหรือเรียกว่าการย่อยสลายภายนอกเซลล์แบคทีเรียในกระบวนการหมัก (Fermentative Bacteria)

จะปล่อยเอนไซม์ออกจากเซลล์ออกมาสู่ภายนอกเพื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อให้สารอินทรีย์อยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ได้

ขั้นตอนที่ 2 การหมักกรดอินทรีย์ระเหยและการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ระเหยเป็นกรดอะซิติก (Acidogenesis and acetogenesis) ขั้นตอนนี้สารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลเดี่ยวในขั้นตอนแรกจะถูกแบคทีเรียพวกสร้างกรด (Acidogenic bacteria) ดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่เซลล์ และใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยกระบวนการหมัก (Fermentation) ผลของปฏิกิริยาจะได้กรดอินทรีย์ระเหยที่มีคาร์บอนไม่เกิน 5 อะตอม เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดบิวทีริก (Butyric acid) กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid) กรดไอโซบิวทีริก (Isobutyric acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) กรดไอโซวาเลอริก (Isovaleric acid) เป็นต้น นอกจากนี้ยังจะได้แอลกอฮอล์ ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย จากนั้นกรดอินทรีย์ระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม จะถูกเปลี่ยนโดยแบคทีเรียสร้างอะซิติก (Acetogenic Bacteria) ให้กลายเป็นอะซิเตท (Acetate) ฟอร์มเมท (Formate) ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน ซึ่งขั้นตอนนี้ถือว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการหลีกเลี่ยงการสะสมของกรดอินทรีย์ระเหยและไฮโดรเจนในปริมาณที่สูงพอที่จะยับยั้งกระบวนการสร้างก๊าซมีเทนได้

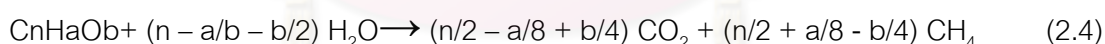
ขั้นตอนที่ 3 การสร้างมีเทน (Methanogenesis) แบคทีเรียจะใช้กรดอะซิติกและไฮโดรเจนและอื่นๆ ในการสร้างมีเทน โดยขั้นตอนนี้มีการลดค่าซีไอดีหรือบีไอดีในน้ำเสียพบว่าพลังงานเคมีที่อยู่ในรูปซีไอดี มากกว่าร้อยละ 90 จะเปลี่ยนไปเป็นมีเทนดังสมการที่ (2.2) และ (2.3) ตามลำดับ



แบคทีเรียที่สร้างมีเทนเป็นพวกที่ดำรงชีพในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้นสามารถสร้างมีเทนได้จากอะซิเตตและการรีดักชันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียเหล่านี้ สามารถเติบโตได้ในช่วงพีเอชแคบๆ เท่านั้นและทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่ำกว่าแบคทีเรียสร้างกรด แบคทีเรียกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่ Methanobacterium, Methanosarcina และ Methanococcus เป็นต้นซึ่งในการย่อยสลายแบบไร้อากาศแบบสมบูรณ์ของสารประกอบอินทรีย์ซับซ้อน (Complex Organic Compounds) เป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องหลายขั้นตอนดังที่กล่าวข้างต้น โดยทั่วไปจะมีแบคทีเรีย 3 กลุ่มที่เกี่ยวข้อง คือ กลุ่มที่ 1 คือ แบคทีเรียในกระบวนการหมัก (Hydrolytic – Fermentation

Bacteria) กลุ่มที่ 2 คือ แบคทีเรียสร้างอะซิติก (Syntrophic - Acetogenic Bacteria) และกลุ่มที่ 3 คือ แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic Bacteria) ระหว่าง 3 กลุ่มนี้ แบคทีเรียสร้างอะซิติก (Acetogenic Bacteria) และแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic Bacteria) เติบโตช้าซึ่งจะมีระยะเวลาการแบ่งตัว (Double Time) ประมาณ 3-7 วันภายใต้สภาวะอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic) กระบวนการบำบัดทางชีวภาพ ส่วนใหญ่จะรักษาแบคทีเรียที่มีชีวิตให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ เพื่อจะให้ระบบบำบัดมีประสิทธิภาพมากที่สุด (Lettinga และคณะ, 1991) โดยที่แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic Bacteria) จำแนกได้เป็น 3 ชนิด คือ แบคทีเรียที่ผลิตมีเทนได้จากอะซิเตตอย่างเดี่ยว (Obligate Acetoclastic Methanogen) แบคทีเรียที่ผลิตมีเทนได้จากไฮโดรเจนเพียงอย่างเดียว (Obligate Hydrogenotrophic Methanogen) และแบคทีเรียที่สามารถสร้างมีเทนได้จากกรดอะซิติกหรือไฮโดรเจน (Hydrogenotrophic/ Acetoclastic Methanogen)

ในปี ค.ศ. 1962 Jeris และ McCarty ได้ใช้ธาตุกำมะถันตรังสี C_{14} ทดสอบการย่อยสลายของสารอินทรีย์ พบว่าประมาณร้อยละ 70 ของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นเกิดจากการสลายตัวของกรดอะซิติก และได้สรุปการเกิดก๊าซมีเทนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศโดยเปรียบเทียบกับความเข้มข้นซีโอดีปฏิกิริยาชีวเคมี ของการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศนี้จะได้ก๊าซชีวภาพ ส่วนใหญ่ประกอบด้วย ก๊าซมีเทน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยก๊าซอื่นๆ อีกเล็กน้อย เช่น ก๊าซไข่เน่า (H_2S) และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ดังสมการการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศที่ (2.4)



ขณะที่กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศทำงานอยู่ พลังงานทั้งหมดของสารอาหารถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทนและของเหลว ซึ่งก๊าซมีเทน 1 โมล ต้องการออกซิเจน 2 โมล เพื่อใช้ในการออกซิไดซ์ให้ได้น้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ (2.5)



ในระบบการย่อยสลายแบบไร้อากาศนี้ พลังงานที่อยู่ในสารอินทรีย์ประมาณร้อยละ 90 จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของก๊าซมีเทน หรือประมาณได้ว่า 1 กิโลกรัมของค่าซีโอดีที่ถูกกำจัดจะให้

ก๊าซมีเทนประมาณ 0.31 ถึง 0.44 ลูกบาศก์เมตร โดยมีสัดส่วนมีเทนในก๊าซชีวภาพประมาณร้อยละ 60 ถึง 75

2.2.2 สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมของการบำบัดแบบไร้อากาศ

1) อุณหภูมิ (สุเมธ ชวเดช, 2529)

อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นโดยทั่วไปนิยมควบคุมอุณหภูมิในถังหมัก ให้อยู่ในช่วงการทำงานของแบคทีเรียมีโซฟิลิค (Mesophilic Bacteria) คือ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากไม่ต้องใช้พลังงานสูงเหมือนในการทำงานของแบคทีเรียเทอร์โมฟิลิค (Thermophilic Bacteria) คือ 55 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 1977 Buhr และคณะพบว่าการทำงานในช่วงอุณหภูมิสูงมีข้อดี คืออัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ 55 องศาเซลเซียส จะสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส 2-3 เท่า ทำให้เวลากักเก็บลดลง และขนาดถังหมักลดลง สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคได้สูง นอกจากนี้ การกวนผสมยังทำได้ง่ายขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิสูงทำให้ความหนืดของของเหลวลดลง อย่างไรก็ตามการทำงานของระบบหมักที่อุณหภูมิสูง ต้องการพลังงานสูงด้วย ทั้งนี้อาจแก้ไขได้โดยการใช้พลังงานจากก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบเอง หรือประยุกต์ใช้กับน้ำเสียที่มีอุณหภูมิสูงอยู่แล้ว นอกจากนี้ยังพบปัญหาอีกประการของระบบหมัก คือ แบคทีเรียที่ทำงานที่ 55 องศาเซลเซียส นี้ สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ต่ำกว่าแบคทีเรียที่ทำงานที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสทำให้ระบบที่อุณหภูมิสูงมีเสถียรภาพต่ำกว่าระบบที่อุณหภูมิลดลง

2) ความเป็นกรดต่าง (pH)

ค่าความเป็นกรดต่างนี้มีมีความสำคัญต่อการเจริญของแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปแบคทีเรียเจริญได้ดีในช่วงพีเอช 6.5-7.8 แต่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียสองกลุ่มหลัก โดยกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดสามารถทนค่าพีเอชได้ต่ำถึง 4.5 ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทน สามารถทนค่าพีเอชได้ต่ำเพียง 5.5

3) ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity)

เป็นความสามารถของน้ำในการรับอนุภาคโปรตรอน ถ้าระบบนี้มีค่าต่ำแสดงว่าในระบบเกิดการสะสมของสารอินทรีย์ในปริมาณที่สูง ซึ่งเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียในระบบจำเป็นต้อง

ระมัดระวังในการควบคุมการทำงานของระบบหมัก ค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมต่อระบบหมักมีค่าประมาณ 1,000 – 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าต่ำกว่านี้เสถียรภาพ (Buffer Capacity) ของระบบต่ำค่าความเป็นด่างอาจเพิ่มขึ้น จากการรวมตัวของแอมโมเนียที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่แบคทีเรียขับออกมาเกิดเป็นแอมโมเนียไบคาร์บอเนตดังสมการ (2.6)



4) กรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acids, VFA)

เกิดจากสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยให้เป็นโมเลกุลที่เล็กลงและสามารถละลายน้ำได้ จะถูกนำไปใช้โดยกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดและเกิดกรดอินทรีย์ ซึ่งถูกนำไปใช้ต่อโดยแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic bacteria) หรือ แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) แต่ถ้าระบบไม่อยู่ในภาวะสมดุล กล่าวคือ แบคทีเรียที่ใช้กรดไขมันระเหย ไม่สามารถใช้ได้ทันกับการผลิต จะเกิดการสะสมของกรดไขมันระเหยส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง เกิดสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนที่ผลิตได้จึงลดต่ำลง และถ้ามีการสะสมกรดไขมันระเหยในปริมาณมากก็จะทำให้ระบบล้มเหลวในที่สุด

5) สารอาหาร (Nutrients)

ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่สำคัญต่อแบคทีเรีย ซึ่งอัตราส่วนที่เหมาะสมในระบบหมักเพื่อให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์และผลิตก๊าซชีวภาพได้ดีควรมีอัตราส่วน COD : N : P เท่ากับ 350 : 5 : 1 ถ้าพบว่าปริมาณธาตุดังกล่าวไม่เพียงพอก็จำเป็นต้องเติมเพิ่ม

6) สารพิษ (Toxic Substances)

สารเคมีใดๆที่เข้าสู่ระบบ เมื่อมีค่าความเข้มข้นถึงระดับหนึ่งแล้วมีผลให้ประสิทธิภาพหรือเสถียรภาพของระบบลดลงสารนั้นจัดเป็นสารพิษ (Toxic) ความเป็นพิษต่อระบบมิได้ตั้งแต่การยับยั้งผลของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Inhibit) จนถึงการทำลายจุลินทรีย์ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมความเข้มข้นของสารใดๆ มิให้เกินขีดจำกัดที่จะมีผลต่อระบบในน้ำเสียก่อนที่จะบ่อนเข้าสู่

ระบบ ซึ่งสารที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียประเภทสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งทางชีววิทยา แบ่งออกเป็น 5 ประเภท คือ

6.1) พิษของไอออนหรือโลหะหนัก (Iron or Heavy metal Toxicity)

ระดับความเป็นพิษของไอออนหรือโลหะหนัก ถ้ามีมากเกินไปจนหนึ่งจะเกิดความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบได้ ไอออนที่สำคัญได้แก่ Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ และ S^{2-} โดยปกติไอออนบวกจะเป็นพิษมากกว่าไอออนลบ นอกจากนี้การศึกษายังพบว่า ไอออนบวกที่มีแวลูที่เท่ากับ 1 จะมีพิษต่อจุลินทรีย์น้อยกว่าไอออนที่มีแวลูที่เท่ากับ 2 ถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของไอออนบวกจะเพิ่มขึ้นเมื่อแวลูที่สูงขึ้น และน้ำหนักอะตอมมากขึ้น หากต้องการลดความเป็นพิษสามารถทำได้โดยลดความเป็นพิษของไอออนบวก กล่าวคือ การทำแอนตาโกนิซึม (Antagonism) คือเมื่อไอออนบวกอยู่รวมกันในความเข้มข้นที่พอเหมาะ พิษของไอออนบวกชนิดหนึ่งสามารถลดความเป็นพิษไอออนอีกชนิดหนึ่งได้ เช่น พิษของ Na^+ เข้มข้น 3,500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้หมดไปได้ถ้ามี Ca^{2+} และ Mg^{2+} ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 50 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในทางตรงกันข้าม ไอออนบวกบางชนิด จะไปเพิ่มพิษของไอออนอีกชนิดหนึ่งเมื่ออยู่รวมกันเรียกปรากฏการณ์เช่นนี้ว่า ซินเนอร์ยีสซึม (Synergism)

6.2) พิษของกรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acids Toxicity)

กรดไขมันระเหยเป็นพิษต่อจุลินทรีย์สร้างมีเทนเพราะการที่เกิดกรดไขมันระเหยเพิ่มมากขึ้นจะทำให้พีเอชลดลงซึ่งเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ กล่าวคือ ในสภาวะที่สารอินทรีย์หรืออาหารเข้าระบบมามาก แบคทีเรียที่ผลิตกรดจะผลิตกรดไขมันออกมา มาก ส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนได้

6.3) พิษของสารอินทรีย์ (Toxic Organic material)

สารอินทรีย์บางชนิดจะไปยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนอิสระสารพวกนี้ได้แก่ แอลกอฮอล์ (Alcohol) และกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาว (Long-chain fatty acid) เช่น เมทานอล (Methanol) ซึ่งความเป็นพิษของสารอินทรีย์เหล่านี้สามารถทำลายได้โดยการนำน้ำทิ้งที่มีสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบอย่างสม่ำเสมอ (Continuous Feed) เพื่อให้จุลินทรีย์คุ้นเคยและ

ปรับตัวได้ แม้ว่าจะมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษถึง 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ตามหรืออาจแก้ไขได้โดยการเติมสารเคมีลงไป เพื่อทำให้เกิดการตกตะกอนของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษ

6.4) พิษของก๊าซบางชนิด

พิษของแอมโมเนีย (Ammonia Toxicity) แอมโมเนียที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบไร้อากาศ จะมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนรวมอยู่ด้วยคือพวกโปรตีนหรือปุ๋ยยูเรีย (Urea) ซึ่งไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปแอมโมเนียไอออน (NH_4^+) หรือก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) โดยสารสองตัวนี้จะเปลี่ยนไปมาได้ขึ้นกับพีเอช ดังสมการที่ 2.7



ถ้าพีเอชสูงกว่า 8 ปฏิกริยาจะดำเนินไปทางขวา ซึ่ง NH_3 จะยับยั้งการทำงาน และเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ชนิดไม่ใช้ออกซิเจนมากกว่า NH_4^+ ปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งวิเคราะห์ได้ในห้องปฏิบัติการจะรวมทั้ง NH_4^+ และ NH_3 การลดพิษของแอมโมเนียไนโตรเจน ทำได้โดยการเจือจางน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดหรืออาจกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด

6.5) พิษของซัลไฟด์ (Sulfide Toxicity)

ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบไร้อากาศ จะเกิดการเป็นพิษของซัลไฟด์ต่อจุลินทรีย์เมื่อน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัด มีปริมาณของซัลไฟด์มากหรือเกิดการย่อยสลายของซัลเฟต (SO_4^{2-}) หรือเกิดการย่อยสลายโปรตีนซัลไฟด์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศอยู่ในรูปที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำ ทั้งนี้ขึ้นกับไอออนบวกที่รวมอยู่ถ้ารวมกับโลหะหนักก็จะตก ตะกอนลงมา ส่วนที่เหลือจะละลายน้ำในรูปแบบก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสามารถเปลี่ยนเป็นกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ได้จากจุลินทรีย์ชนิดที่ไร้อากาศอิสระ สามารถทนต่อซัลไฟด์ที่ละลายน้ำอันมีความเข้มข้น 50 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ความเข้มข้นที่มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ชนิดนี้ การลดพิษของซัลไฟด์ทำได้โดยการทำให้ตกตะกอนของซัลไฟด์หรือโดยการแยกซัลไฟด์ออกจากน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบ

ตารางที่ 2.1 แสดงระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารพิษ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ไม่เป็นอันตรายต่อแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบไร้อากาศ (สุเมธ ชวเดช, 2529)

สารพิษ	ความเข้มข้นสูงสุด(มิลลิกรัมต่อลิตร)
Na ²⁺	3,500
K ⁺	2,500
Ca ²⁺	1.0
Zn ²⁺	5.0
SO ₄ ²⁻	0.02
S ⁻	100
CN ⁻	1.0
Benzene	50
Chloroform	0.1

7) การเติมน้ำเสีย (Feeding Mode)

การเติมน้ำเสียเข้าระบบหมักอาจเป็นแบบเติมครั้งเดียว (Batch Feed) เติมกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous Feed) และเติมต่อเนื่อง (Continuous Feed) การเติมแบบต่อเนื่องจะมีประสิทธิภาพสูงสุด เพราะสภาวะภายในถังหมักคงที่และการเติมแบบครั้งเดียวจะมีประสิทธิภาพต่ำสุด อันเนื่องมาจากระบบมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ทำให้แบคทีเรียต้องปรับตัวอยู่ตลอดเวลา แต่ในกรณีที่น้ำเสียมีเป็นช่วง ก็จำเป็นต้องใช้วิธีการเติมแบบกึ่งต่อเนื่องแทน

8) โออาร์พี (Oxidation Reduction Potential, ORP)

เป็นพารามิเตอร์ที่แสดงถึงปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox) โดยแสดงความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากการถ่ายเทอิเล็กตรอนของที่เกิดขึ้นในระบบ โดยทั่วไปได้ค่าบวกในน้ำที่มีออกซิเจนหรือไนเตรต และวัดได้ค่าลบในน้ำที่ไร้ออกซิเจน โออาร์พีจะแสดงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนของสารละลาย ถ้าวัดได้ค่าบวกมากๆแสดงว่ามีความสามารถรับอิเล็กตรอนได้ดี สำหรับระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี ค่าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง -300 ถึง -500 มิลลิโวลท์

2.2.3 ข้อดีและข้อเสียของระบบบำบัดแบบไร้อากาศ

(ศักดิ์ชัย สุริยจันทร์พราทอง, 2542)

1) ข้อดี

- 1.1) ใช้ได้ดีกับน้ำเสียที่มีความสกปรกสูง
- 1.2) ไม่ต้องใช้พลังงานมากเมื่อเปรียบเทียบกับระบบใช้อากาศ เช่น ระบบเอเอส
- 1.3) ได้พลังงานจากก๊าซมีเทนซึ่งเป็นก๊าซหุงต้ม
- 1.4) ต้องการอาหารเสริมน้อย เช่น ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส
- 1.5) ตะกอนส่วนเกินมีน้อย ง่ายต่อการจัดการและยังนำไปทำปุ๋ยได้ด้วย

2) ข้อเสีย

- 2.1) การเดินระบบค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลานานกว่าจะเข้าสู่สภาวะคงที่ (Steady State) เนื่องจากการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์ค่อนข้างต่ำ
- 2.2) น้ำที่บำบัดแล้วยังเหลือความสกปรกสูงเกินกว่าที่จะทิ้งลงแหล่งน้ำจำเป็นต้องนำผ่านระบบอื่น ๆ เช่น ระบบแบบใช้อากาศ เป็นต้น ในภายหลังจึงจะทำให้น้ำทิ้งมีความสะอาดพอที่จะทิ้งได้
- 2.3) อาจมีกลิ่นเหม็นจากก๊าซไข่เน่ารบกวนหากควบคุมไม่ดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 ระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB)

2.3.1 หลักการทำงานของระบบยูเอเอสบี

น้ำเสียถูกสูบเข้าสู่ถังหมักทางด้านล่าง ด้วยความเร็วที่เหมาะสมเพราะความเร็วของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ลอยขึ้นสู่ด้านบน เกิดการสัมผัสกันระหว่างน้ำเสียกับตะกอนแขวนลอยและทำให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ ระบบนี้ไม่จำเป็นต้องมีการกวนผสมอย่างรุนแรงในถังหมักเพื่อให้ น้ำเสียและตะกอนแบคทีเรียสัมผัสกัน แต่อาจใช้การกวนเป็นครั้งคราวหรือการกวนเบาๆแทน ทั้งนี้เนื่องจากก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจะช่วยให้เกิดการกวนผสมกันอยู่แล้วลักษณะทั่วไปของถังปฏิกริยาแบบยูเอเอสบี จะเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมหรือทรงกระบอกก็ได้

โดยจะแบ่งเป็น 2 ส่วน ดังนี้ (ชำนาญ กายประสิทธิ์, 2538) ส่วนที่ 1 คือ ส่วนที่เป็นถังหมักพร้อมด้วยระบบป้อนน้ำเสีย อยู่ทางด้านล่างของถัง ส่วนที่ 2 คือ ส่วนที่แยกน้ำ ก๊าซ และตะกอนแขวนลอย อยู่ส่วนบนของถังหมัก โดยมีอุปกรณ์แยกเรียกว่าอุปกรณ์แยกสามสถานะ (Three phase separator) ประกอบด้วยแผ่นเอียงทำมุมประมาณ 45 ถึง 60 องศา นอกจากนี้ยังช่วยในการป้องกันมิให้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ฟุ้งกระจายโดยก๊าซชีวภาพหลุดออกไปจากถังหมัก ในถังหมักจะมีชั้นตะกอนแบคทีเรีย 2 ชั้น คือชั้นของตะกอนล่าง (Sludge Bed) เป็นตะกอนจุลินทรีย์จะรวมกันเป็นเม็ด อยู่ทางด้านล่างเป็นชั้นตะกอนจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการตกตะกอน หรือความเร็วการจมตัวสูงอีกทั้งยังมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้สูงและชั้นตะกอนแขวนลอย (Sludge Blanket) ซึ่งเป็นชั้นที่มีตะกอนจุลินทรีย์ส่วนที่มีความหนาแน่นต่ำและความเร็วการจมตัวต่ำกว่า จะลอยฟุ้งกระจาย เนื่องจากก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ถังปฏิกริยา ซึ่งกลุ่มตะกอนแบคทีเรียในถังจะถูกทำให้เกิดการฟุ้งกระจาย โดยก๊าซที่เกิดขึ้นและส่วนตะกอนที่ฟุ้งกระจายขึ้นมาจะเกิดการรวมกลุ่มและจมตัวลงบริเวณกรวยแยกซึ่งตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกแยกจะไหลเข้าสู่ส่วนแยกตะกอน และก๊าซชีวภาพจะลอยผ่านกรวยแยก และไหลไปตามท่อสู่ที่เก็บก๊าซ ทางด้านบนของถังหมัก รวบรวมเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานต่อไปส่วนน้ำเสีย ที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไหลออกทางด้านบนของถัง

2.3.2 กระบวนการเกิดตะกอนเม็ด (Granulation Process)

ประสิทธิภาพในการลดสารอินทรีย์และการผลิตก๊าซชีวภาพ ขึ้นอยู่กับปริมาณแบคทีเรียในระบบเมื่อมีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นประสิทธิภาพของระบบก็สูงขึ้นด้วย ในการควบคุมระบบยูเอเอสพีให้มีประสิทธิภาพสูง จำเป็นต้องสร้างตะกอนเม็ดแบคทีเรียที่มีคุณภาพที่ดีให้ได้เนื่องจากตะกอนเม็ดที่มีคุณภาพดีต้องมีความถ่วงจำเพาะสูง ความเร็วการจมตัวสูง ดังนั้นตะกอนเม็ดสามารถอยู่ในระบบยูเอเอสพีได้ มิฉะนั้นแล้วระบบยูเอเอสพีจะไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง ในกรณีที่ไม่มีตะกอนเม็ดแบคทีเรียอยู่แล้ว การเริ่มต้นการทำงานของระบบจะไม่ยุ่งยากมากแต่โดยทั่วไปแล้ว ไม่สามารถหาตะกอนเม็ดแบคทีเรียได้ในปริมาณมากพอในการเดินระบบ ดังนั้นการเดินระบบยูเอเอสพีจึงมักเริ่มต้นด้วยตะกอนแบคทีเรียที่ได้จากระบบหมักอื่นๆซึ่งตะกอนแบคทีเรียเหล่านี้มักอยู่ในรูปตะกอนเบาหรือตะกอนปุ๋ยกระบวนการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียจากตะกอนเบาให้เป็นตะกอนเม็ด แบ่งออกเป็น 3 ระยะดังนี้ ระยะที่ 1 ช่วงตะกอนหลุดออกจากระบบ (Wash – Out Stage) เป็นช่วงแรกของกระบวนการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มต้นเดินระบบด้วยอัตราการป้อนสารอินทรีย์ต่ำ ๆ คือ ต่ำกว่า 2 กิโลกรัมซีโอดีต่อลูกบาศก์เมตรต่อวันหรือค่าของอัตราการบำบัด (Sludge Loading Rate) ต่ำกว่า 0.3 กิโลกรัมซีโอดีต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยแขวนลอยต่อวัน ในช่วงอัตราการป้อนสารอินทรีย์ต่ำนี้จะเกิดกระบวนการสูญเสียของตะกอนแบคทีเรียขนาดเล็กที่เบา โดยลอยออกมากับน้ำล้นตลอดเมื่ออัตราการป้อนสูงขึ้นกว่าช่วงดังกล่าว จะยังคงเกิดกระบวนการหลุดออกมาพร้อมกับมีการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียในระบบ เนื่องจากมีปริมาณอาหารเข้าสู่ระบบสูงขึ้น ระยะที่ 2 ช่วงที่เริ่มเกิดแบคทีเรียชนิดเม็ด (Transition Stage) แต่ยังมีจำนวนน้อยและมีขนาดเล็ก อัตราการป้อนสารในช่วงนี้ขึ้นกับลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่ป้อนเข้าระบบ โดยทั่วไปเท่ากับ 5 กิโลกรัมซีโอดีต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน หรือค่าของอัตราการบำบัดประมาณ 0.3 ถึง 0.6 กิโลกรัมซีโอดีต่อกิโลกรัมของแข็งระเหยแขวนลอยต่อวันช่วงนี้จะเกิดฟองก๊าซชีวภาพมาก ทำให้แบคทีเรียพวกตะกอนเบาจะหลุดออกจากระบบเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นผลดีเนื่องจากตะกอนเบาที่หลุดออกไป จะไม่แย่งอาหารตะกอนแบคทีเรียที่ดีที่จะเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นรวมตัวเป็นตะกอนเม็ด แต่ต้องระวังไม่ให้อัตราการสูญเสียตะกอนเบามากกว่าอัตราการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียชนิดเม็ด ระยะที่ 3 ช่วงที่มีการเพิ่มขนาดและปริมาณของแบคทีเรียชนิดเม็ด (Progressive Granulation Stage) ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงที่ป้อนสารอินทรีย์สูงขึ้นในช่วงนี้ระบบจะมีความสามารถรับการเพิ่มของอัตราป้อนสารอินทรีย์ได้สูงและรวดเร็วขึ้น

ในปีค.ศ. 1992 Draaijer และคณะทดลองใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสพีขนาด 1200 ลูกบาศก์เมตรโดยบำบัดน้ำเสียชุมชนเริ่มไม่ใช้หัวเชื้อ เวลาเก็บกัก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่ามี

ขั้นตอนการเริ่มต้นกระบวนการหมักจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะคงที่แบ่งออกเป็น 3 ระยะกล่าวคือ ระยะที่ 1 เรียกว่า Sludge Accumulation เป็นระยะการเก็บสะสมตะกอนให้มีปริมาณสูงระยะที่ 2 เรียกว่า Sludge Improvement เป็นระยะปรับปรุงคุณภาพของตะกอนโดยการหยุดเติมน้ำเสียประมาณ 2 สัปดาห์ เพื่อให้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในถังหมักได้มีการย่อยสลายทำให้ตะกอนมีลักษณะตกตะกอนได้ดีและมีการสร้างก๊าซมีเทนด้วยและระยะที่ 3 เรียกว่า Blanket Formation เป็นระยะเพิ่มปริมาณของตะกอนให้มากขึ้น ตะกอนจะเพิ่มมากขึ้นจนชั้นของตะกอนในถังมีระดับสูงขึ้นไปในขณะเดียวกันตะกอนก็มีการปรับปรุงคุณภาพให้ดีขึ้นคือ ลักษณะที่ตกตะกอนได้ดีจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะคงที่

2.3.3 ประเภทของเม็ดสลัดจ์ (Granular Sludge) ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี

ลักษณะของเม็ดสลัดจ์ที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี ขึ้นอยู่กับชนิดของตะกอนหัวเชื้อ (Seed sludge) ส่วนประกอบของน้ำเสีย ตลอดจนการเริ่มต้นการเดินระบบบำบัดแบบไร้อากาศ และสิ่งแวดล้อมเริ่มต้น เม็ดสลัดจ์อาจมีหลายชนิดดังนี้

1) Sarcina Granules เป็นเม็ดแบคทีเรียที่ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเมธาโนซาชินาซึ่งเกิดขึ้นเมื่อระบบหมักรับปริมาณสารอินทรีย์สูงเกินไป (Over Loading) โดยทำให้เกิดสภาพการสะสมของกรดอินทรีย์มากกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีพีเอชน้อยกว่า 6 นี้พบว่า Sarcina Granules มีความสามารถในการผลิตมีเทน (Methane Production Activity) ต่ำมาก

2) Rod Granules เม็ดแบคทีเรียส่วนใหญ่ประกอบด้วยแบคทีเรียลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ จัดเป็นพวก Methanotrix โดยเม็ดแบคทีเรียนี้มีขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตรและมีพีเอชสูงถึงร้อยละ 90 ซึ่งตรวจพบในถังที่บำบัดน้ำเสียโรงงานแป้งมันและโรงงานน้ำตาล

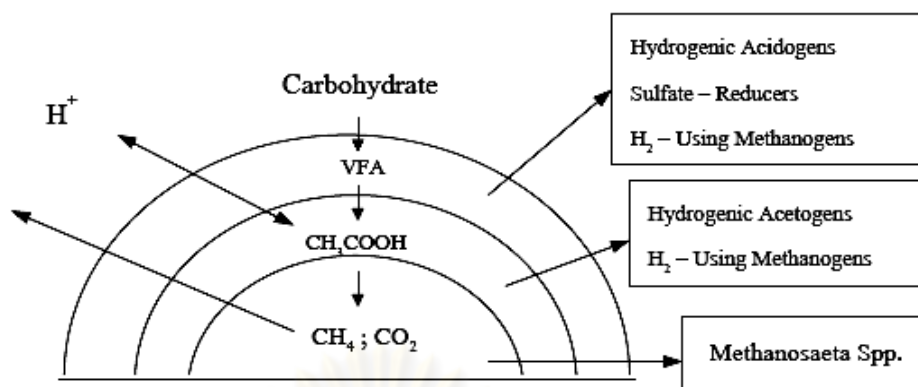
3) Filamentous Granules เป็นเม็ดแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบมีลักษณะเป็นแท่งต่อกันเป็นเส้นยาว (Filamentous Bacteria) ในระบบยูเอเอสบีที่มีเม็ดแบคทีเรียประเภทเส้นใยยาวนี้จะมีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งเป็นสภาพการถูกกำหนดความต้องการในการควบคุมระบบหมัก กล่าวคือสภาพถังหมักจะไม่มีภาวะสะสมของกรดอินทรีย์ในถังหมัก โดยกรดอินทรีย์ในถังหมักควรต่ำกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

4) Spiky Granules แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกเส้นใยสายยาวในกรณีที่มีน้ำเสียมีสารแคลเซียมสูง จึงทำให้เม็ดแบคทีเรียในระบบยูเอเอสบีประกอบด้วยสารแคลเซียมคาร์บอเนต

มากกว่าร้อยละ 60 ทำให้มีค่าความเร็วการจมตัวสูงถึง 2 ถึง 90 เมตรต่อชั่วโมงมีค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ต่ำทำให้มีปฏิริยาต่ำเนื่องจากมีสารแคลเซียมคาร์บอเนตพอกบนผิวเม็ดแบคทีเรีย

ปี ค.ศ. 1992 Guiot และคณะกล่าวว่า ความเร็วของการไหลในถังปฏิกรณ์เป็นปัจจัยสำคัญในการคัดเลือกพันธุ์ของแบคทีเรียที่สามารถรวมตัวกันเป็นเม็ดที่สามารถตกตะกอนได้ดีเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นมีข้อดี คือ มีความหนาแน่นสูงและเนื่องจากไม่มีการใช้ตัวกลางจึงไม่มีการสูญเสียพื้นที่ในถังปฏิกรณ์ นอกจากนี้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ยังมีอัตราส่วนของแบคทีเรียต่อปริมาตรที่สูงมาก อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ.1994 Fang และคณะได้ศึกษาโครงสร้างของเม็ดจุลินทรีย์ในน้ำเสียประเภทคาร์โบไฮเดรต โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscopic, SEM) พบว่ามีโครงสร้างภายในแบ่งออกเป็น 3 ชั้นดังภาพที่ 2.1 ประกอบไปด้วยชั้นนอก ประกอบด้วยแบคทีเรียหลายกลุ่ม ได้แก่ Hydrogenic Acidogens Sulfate-Reducers, Methanosarcina และ H_2 – Utilizing Methanogens ชั้นกลาง ได้แก่ Hydrogenic Acidogens และ H_2 – Utilizing Methanogens เช่น Methanosarcina, Methanococcales และ Maethanospirillum และชั้นในเป็นแบคทีเรียประเภทสร้างกรดอะซิติกซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม Methanosaeta

แบคทีเรียกลุ่ม H_2 – Utilizing Methanogens ในชั้นกลางและชั้นนอกมีความแตกต่างกัน คือ กลุ่มแบคทีเรียชั้นนอกมีความชอบที่จะใช้สับสเตรทที่ต่ำกว่ากลุ่มแบคทีเรียชั้นกลาง และแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดอะซิติกในชั้นกลาง การเกิดเม็ดจุลินทรีย์เป็นโครงสร้างในลักษณะดังกล่าวส่งผลให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยเฉพาะชั้นของเม็ดจุลินทรีย์ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนได้จากกรดอะซิติก (Aceticlastic Methanogens) เป็นส่วนสำคัญในการผลิตมีเทนโดยอาศัยสับสเตรท ได้แก่ อะซิเตท ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มชั้นนอกและชั้นกลาง โดยทั้งนี้ Methanosaeta เป็นแบคทีเรียที่มีค่าแอฟฟินิตี้มากที่สุด ในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติกกลาสติกเมธาโนเจน ซึ่งถือว่าเป็นผลดีต่อการทำปฏิริยาของกลุ่ม Methanosaeta



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของตะกอนเมื่อดิจลินทรีย์ (Liu และคณะ, 2003)

2.3.4 ระบบป้อนน้ำเข้า (Feed Inlet System)

ระบบการกระจายน้ำเข้าระบบ เป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งของถังยูเอเอสบีที่ทำให้เกิดการสัมผัสกันระหว่างน้ำเสียและตะกอนอย่างเหมาะสม และทั่วถึงในการป้อนน้ำเข้าต้องกระจายน้ำเสียได้ทั่วถึงตลอดหน้าตัด ไม่ทำให้เกิดการไหลเป็นช่องหรือลัดวงจร (Short Circuit) ของน้ำเสียในชั้นตะกอนและเกิดบริเวณจุดบอด (Dead Zone) ในถังยูเอเอสบี

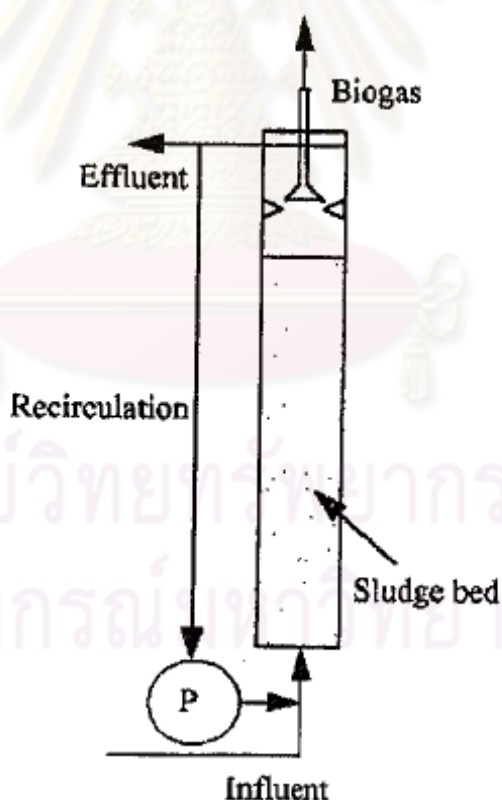
2.4 ระบบอีจีเอสบี (Expanded Granular Sludge Bed, EGSB)

ระบบอีจีเอสบีเป็นระบบบำบัดแบบไร้อากาศแบบชั้นของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (Granules) ระบบนี้พัฒนาขึ้นมาจากระบบยูเอเอสบี เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการสัมผัสกันของน้ำเสีย (Substrate) และจุลินทรีย์โดยการทำให้เกิดการขยายตัวของชั้นตะกอนจุลินทรีย์และการกวนสัมผัสที่ทั่วถึง เหตุที่ทำให้มีการพัฒนาระบบยูเอเอสบีมาเป็นระบบอีจีเอสบี เพราะในปี ค.ศ. 1994 Kato และคณะได้ศึกษาพบว่าระบบยูเอเอสบีมีปัญหาหลัก 2 ประการคือประการแรกลักษณะของน้ำเสียที่มีความเข้มข้นต่ำมาก ค่าความเข้มข้นของซีโอดีที่ต่ำมากของน้ำเสียที่เข้าระบบทำให้ระดับความเข้มข้นของสารอาหารในถังปฏิกรณ์มีค่าต่ำมากและเมื่อพิจารณาจากสมการโมนอร์ด์ พบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาของกลุ่มจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในขณะนั้นมีค่าต่ำกว่าในช่วงที่เหมาะสมมาก ได้มีการรายงานค่า K_s (Half velocity constant) ของ Acetolactic Methanogenesis ในกลุ่มเม็ดตะกอน จุลินทรีย์พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 30-200 มิลลิกรัมซีโอดีต่อลิตร ซึ่งสัมพันธ์กับค่าของความเข้มข้นของสารอาหารที่ต่ำ โดยส่งผลให้ปริมาณก๊าซที่ถูกผลิตขึ้นมีปริมาณต่ำมากและยังมีผลต่อการกวนผสมในชั้นสลัดจ์ที่ไม่เพียงพอ และการสัมผัสระหว่างน้ำเสียและจุลินทรีย์ที่ไม่ทั่วถึงดังนั้น

ปฏิกิริยาของระบบจะดำเนินไปในสภาวะที่ต่ำกว่าอัตราการผลิตปฏิกิริยาที่เหมาะสมเนื่องจากการขยายตัวของชั้นสลัดจ์และประการที่สอง คือปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเสียทั้งนี้พบว่าน้ำเสียที่มีความเข้มข้นต่ำมักจะมีค่าออกซิเจนละลายอยู่ในปริมาณหนึ่ง และอาจจะมีผลกระทบต่อแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทน

2.4.1 ลักษณะและหลักการทำงานของระบบอีจีเอสบี (วัชระ พจี, 2544)

ระบบอีจีเอสบีเป็นระบบการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนลักษณะทั่วไปของถังปฏิกรณ์เป็นถังปิด ลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นส่วนหมักอยู่ส่วนล่างของถังปฏิกรณ์ ส่วนที่สองเป็นส่วนตกตะกอนประกอบขึ้นด้วยระบบแผ่นกั้น (Baffle system) อยู่ส่วนบนของถังปฏิกรณ์เพื่อทำหน้าที่แยกของเหลว ก๊าซ และตะกอนจุลินทรีย์ออกจากกันเรียก อุปกรณ์แยกสามสถานะ (Three phase Separator) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ลักษณะถังปฏิกรณ์อีจีเอสบี (Seghezzo และคณะ, 1998)

สำหรับหลักการการทำงานของถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีมีดังนี้

1) น้ำเสียจะถูกป้อนเข้าถังปฏิกรณ์ด้านล่างโดยกระจายอย่างสม่ำเสมอ มีทิศทางไหลจากด้านล่างขึ้นด้านบนและจะสัมผัสกับชั้นตะกอนจุลินทรีย์ชั้นล่างที่มีความหนาแน่นของจุลินทรีย์เรียกชั้นตะกอนจุลินทรีย์นี้ว่า ชั้นตะกอนล่าง (Sludge bed)

2) จุลินทรีย์ที่อยู่ชั้นตะกอนล่างจะย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียทำให้เกิดเซลล์ของจุลินทรีย์ใหม่และก๊าซต่างๆ ก๊าซที่เกิดขึ้นจะเกาะอยู่ตามผิวของตะกอนจุลินทรีย์ความเร็วของน้ำเสียและฟองก๊าซที่เกิดขึ้นในถังปฏิกรณ์จะทำให้เกิดการกวนผสมและพาตะกอนจุลินทรีย์ลอยปั่นป่วนขึ้นไปยังชั้นตะกอนลอย มีการสัมผัสกันระหว่างน้ำเสียกับชั้นตะกอนจุลินทรีย์

3) น้ำจะไหลผ่านชั้นตะกอนแขวนลอย ที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าตะกอนล่างเรียกชั้นตะกอนจุลินทรีย์ที่แขวนลอยนี้ว่า ชั้นตะกอนลอย (Sludge blanket) ระหว่างที่น้ำเสียไหลขึ้นสู่ส่วนตกตะกอนทางด้านบนของถัง สารอินทรีย์ยังคงถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในชั้นตะกอนลอยเนื่องจากความเร็วไหลขึ้นภายในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีมีค่าสูง ทำให้ชั้นของตะกอนจุลินทรีย์ขยายตัวขึ้นทำให้มีตะกอนแขวนลอยจำนวนมากหลุดออกไปกับน้ำออกชั้นตะกอนลอยจึงมีน้อย

4) น้ำเสียที่มีตะกอนจุลินทรีย์และก๊าซต่างๆที่ลอยขึ้นไปชั้นบนจะกระทบกับแผ่นกั้น ซึ่งทำหน้าที่แยกก๊าซ น้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ออกจากกัน ปกติแผ่นกั้นจะมีความเอียงประมาณ 50 องศา ก๊าซที่ถูกแยกออกมาจะลอยขึ้นสู่ส่วนที่เก็บก๊าซ ส่วนตะกอนจุลินทรีย์จะตกกลับลงมา ยังชั้นล่าง และจมตัวลงสู่ส่วนที่เป็นถังหมักอีกครั้งหนึ่งโดยอาศัยแรงโน้มถ่วง ส่วนน้ำเสียจะไหลล้นออกจากถังปฏิกรณ์ไปเป็นน้ำออก นอกจากนี้ตะกอนจุลินทรีย์ยังสามารถที่จะตกตะกอนสู่ชั้นล่างโดยการเกิดลักษณะการไหลวกกลับ (Back-mix flow) ซึ่งเกิดจากการลอยขึ้นของก๊าซและการไหลขึ้นของน้ำเสีย ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ในถังหมักหลุดออกไปกับน้ำออกน้อยลง (Van der Meer, 1979)

ความสำคัญของการหมุนเวียนน้ำกลับในระบบอีจีเอสบี เนื่องจากเป็นระบบที่พัฒนามาจากระบบยูเอเอสบีซึ่ง Kato และคณะ (1994) ได้ศึกษาการหมุนเวียนน้ำกลับในการบำบัดน้ำเสีย ความเข้มข้นต่ำด้วยระบบยูเอเอสบี ว่าการหมุนเวียนน้ำกลับทำให้ความเร็วไหลขึ้นของน้ำเสียในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีเพิ่มสูงขึ้นเป็น 5-6 เมตรต่อชั่วโมง ในขณะที่ระบบยูเอเอสบีทั่วไปมีความเร็วการไหลอยู่ในช่วง 0.5-1.5 เมตรต่อชั่วโมง หรือต่ำกว่าทำให้เกิดการขยายตัวของชั้นตะกอนจุลินทรีย์ เกิดการสัมผัสกันระหว่างเม็ดตะกอนจุลินทรีย์กับน้ำเสียมากขึ้นทำให้สารอาหารสามารถแพร่เข้าไปในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งยังช่วยเจือจางน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงหรือน้ำเสียที่เป็น

พิษก่อนเข้าระบบ ทำให้ระบบมีเสถียรภาพมากขึ้น (Fongsatikul และคณะ, 1995) ใช้การหมุนเวียนน้ำกลับเพื่อฟื้นฟูระบบยูเอเอสบีที่ล้มเหลว

2.4.2 สภาพทางจุลชีวของการย่อยสลายในถังปฏิกริยาอีจีเอสบี

ลักษณะการทำงานของระบบอีจีเอสบี ทำให้สามารถเก็บกักตะกอนจุลินทรีย์ไว้ภายในถังได้มากภายใต้สภาพความเร็วไหลขึ้นของน้ำสูง ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์พัฒนาต่อไปเป็นเม็ดตะกอนที่มีขนาดประมาณ 1-6 มิลลิเมตร ซึ่งสามารถตกตะกอนได้ดีและเร็ว ส่วนตะกอนที่มีขนาดเล็กและเบาจะถูกชะล้างหลุดออกไปกับน้ำออก เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่เกาะยึดกันไว้เป็นเม็ดอย่างเห็นได้ชัดมีค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์สูง ลักษณะของเม็ดตะกอนที่เกิดขึ้นในถังปฏิกริยาอีจีเอสบีขึ้นอยู่กับชนิดของตะกอนหัวเชื้อ ส่วนประกอบของน้ำเสีย ตลอดจนการเริ่มต้นของการเดินระบบและสภาพแวดล้อมที่เริ่มต้นเม็ดตะกอนในระบบอีจีเอสบีได้พัฒนาต่อเนื่องมาจากเม็ดตะกอนของระบบยูเอเอสบีโดยมีทฤษฎีพื้นฐานเหมือนกัน

2.4.3 การเริ่มต้นระบบอีจีเอสบี

การเริ่มต้นนิยมนำตะกอนเม็ดจากระบบยูเอเอสบีมาเป็นตะกอนหัวเชื้อ ถ้าไม่มีก็จะเพาะเลี้ยงขึ้นมาใหม่เหมือนกับของระบบยูเอเอสบีทั่วไป โดยใช้ตะกอนจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic sludge) เป็นหัวเชื้อ เช่น ตะกอนจากบ่อเกรอะหรือถังหมักตะกอนแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic sludge digester) แล้วเติมน้ำเสียลงไปจนเต็มถัง ปล่อยให้ตะกอนแบบที่เรียกการปรับสภาพมีก๊าซเกิดขึ้น จึงเริ่มป้อนน้ำเสียต่อเนื่องในอัตราต่ำๆ และเพิ่มปริมาณน้ำเสียเป็นระยะๆ ขั้นตอนนี้ในระยะแรกจะมีตะกอนหัวเชื้อที่ปรับสภาพไม่ได้ถูกชะล้างหลุดออกมา กับน้ำทิ้งจะเหลือเฉพาะตะกอนที่มีลักษณะเหมาะสมเหลืออยู่ในถัง และเริ่มจับตัวเป็นเม็ดตะกอนในชั้นตะกอนล่าง เมื่อเกิดอัตราการเกิดเม็ดตะกอนมีมากกว่าอัตราการชะล้างตะกอน ก็จะมีตะกอนมากพอในการใช้บำบัดน้ำเสีย ได้ตามที่ออกแบบไว้ขั้นตอนการเริ่มระบบนี้จะใช้เวลา 2-6 เดือน ขึ้นอยู่กับชนิดของตะกอนหัวเชื้อ น้ำเสียและสภาพแวดล้อมในการเดินระบบ

2.4.4 ข้อกำหนดการออกแบบ

1) เวลาที่น้ำเสีย (Hydraulic retention time, HRT) เนื่องจากเป็นระบบที่มีความเร็วน้ำไหลขึ้นสูงจึงทำให้เวลาเก็บกักน้ำเสียต่ำกว่าระบบยูเอเอสบี ทั้งนี้เวลาเก็บกักน้ำเสียจะขึ้นอยู่กับอัตราการหมุนเวียนน้ำกลับด้วย (มันสิน ตันจุลเวศม์, 2542)

2) อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic loading rate, OLR) ระบบอีจีเอสบีเป็นระบบที่สามารถรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ได้สูงมาก คือสูงถึง 30 กิโลกรัมซีโอดีต่อลูกบาศก์เมตรวัน (Nicolella และคณะ, 2000)

3) ความเร็วไหลขึ้น (Upflow liquid velocity, ULV) Zoutberg และ Frankin (1996) กล่าวว่าความเร็วไหลขึ้นของน้ำเสียในระบบอีจีเอสบีสามารถใช้ได้สูงถึง 10-15 เมตรต่อชั่วโมง ซึ่งมากกว่าระบบยูเอเอสบีซึ่งใช้ความเร็วไหลขึ้นเพียง 0.5-1.5 เมตรต่อชั่วโมง

4) ความสูงของถังหมัก Lettinga (1983) กล่าวว่าความสูงของโชนตะกอนไม่ควรต่ำกว่า 1.5 เมตร ส่วนความสูงของโชนแยกสลายขึ้นอยู่กับความหนาของชั้นตะกอนล่างกรณีของถังอีจีเอสบีในถังที่มีความสูงมากอัตราการผลิตก๊าซที่ก้นถังจะเกิดขึ้นสูงกว่าถังที่มีความสูงน้อย

5) ความเร็วในโชนตกตะกอน (Settling velocity) Zoutberg และ Frankin (1996) ศึกษาพบว่าความเร็วในโชนตกตะกอนของตะกอนในระบบอีจีเอสบีประมาณ 60-80 เมตรต่อชั่วโมง

6) ชุดอุปกรณ์แยกสามสถานะมุลาดชั้นของผนังโชนตกตะกอนมีความลาดชันประมาณ 50 องศา กับแนวลาด (Lettinga, 1983)

7) ระบบกระจายน้ำเสียเข้าถังหมัก เนื่องจากถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีมีอัตราส่วนความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (Height : diameter ratio) อยู่ในช่วง 4-5 (Nicolella และคณะ, 2000) ซึ่งสูงกว่าระบบยูเอเอสบีที่เท่ากับ 0.2-0.5 ดังนั้นถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีโดยทั่วไปจึงมีช่วงฐานเล็กกว่าและมีลักษณะสูง จึงไม่จำเป็นต้องมีอุปกรณ์เพื่อช่วยกระจายน้ำเสีย

2.5 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบอีจีเอสบี

โดยทั่วไป ในอดีตการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์นิยมใช้การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อจนได้โคโลนีเดี่ยวที่บริสุทธิ์ แล้ววิเคราะห์ชนิดโดยการตรวจจากรูปปร่างลักษณะทางกายภาพ

ของจุลินทรีย์และวิธีการทดสอบทางชีวเคมี จนกระทั่งมีการพัฒนาเทคนิคทางชีวโมเลกุลทำให้สามารถศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ถึงระดับยีน (Gene) ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นผลมาจากวิวัฒนาการ เทคนิคระดับชีวโมเลกุลมีหลายเทคนิค เช่น เทคนิคการสร้างยีนไลบรารี (Gene Library) เทคนิคเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (DNA) โดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) ร่วมกับดีจีจีอี และเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) กับ ดีเอ็นเอโพรบส์ (DNA probes) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีวิธีการโคลนนิ่ง (Cloning) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูงแต่ใช้ระยะเวลาและต้องการบุคคลที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะด้านเป็นอย่างมาก (Sanz และคณะ, 2007) ทั้งนี้เทคนิคในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่กล่าวมาต่างก็อาศัยหลักการเดียวกันคือ วิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับเบสในอาร์เอ็นเอ (RNA) หรือ ดีเอ็นเอและจัดแบ่งความหลากหลายของประชากรออกมาเป็นกลุ่มตามความแตกต่าง (Profile หรือ Pattern) หรืออาจเรียกว่าเทคนิคการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) สามารถใช้เปรียบเทียบองค์ประกอบประชากรจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมทางธรรมชาติ รวมทั้งการติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวนของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย

ในปัจจุบันวิธีทางชีวโมเลกุลที่นิยมใช้ในการศึกษาประชากรจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย คือ เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและประหยัดเวลาประกอบด้วยขั้นตอนการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส และการแยกชิ้นของดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟเรซิส (Electrophoresis) ในปี พ.ศ. 2548 ศรีสุตา ธรรมวิฑูกร กล่าวถึงหลักการของเทคนิคดีจีจีอีดังนี้

ยีนสิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอ (16SrDNA) เป็นยีนที่มีรหัสสำหรับโมเลกุลไรโบโซม ซึ่งไรโบโซมเป็นสิ่งที่มียูในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ยีนสิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอเป็นช่วงสายดีเอ็นเอที่มีรหัสสำหรับการสร้างไรโบโซมได้ถูกเลือกนำมาใช้ร่วมกับเทคนิคดีจีจีอีเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ คือ เป็นยีนที่มีอยู่ในแบคทีเรียทุกชนิดเป็นเหมือนยีนลายเซ็น (Signature gene) ซึ่งมีความแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละชนิด และมีบางช่วงของสายไพร์เมอร์ของยีนสิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอที่เหมือนกันในแบคทีเรียทุกชนิด ในส่วนที่เหมือนกันนี้สามารถนำมาใช้เพื่อออกแบบไพร์เมอร์ (Primer) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ ยีนสิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอจะมีช่วงของสายดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสช่วงนั้นเหมือนกันในทุกแบคทีเรีย ในขณะที่เดียวกันยีนสิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอก็มีช่วงของสายดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละชนิด ช่วงที่เหมือนและช่วงที่ต่างกันของลำดับเบส ในสายดีเอ็นเอ นั้นสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย

ดังนั้นช่วงที่เหมือนกันจะนำมาใช้ออกแบบไพรเมอร์เพื่อการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (PCR amplification) การที่สายดีเอ็นเอช่วงนี้มีความเหมือนกันในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจึงสามารถนำมาใช้เป็นไพรเมอร์ที่ถือว่าเป็นสากล (Universal primers) คือ ไพรเมอร์ 1 คู่นี้ สามารถขยายหรือเพิ่มจำนวนยีนสืบหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอได้จากแบคทีเรียทุกชนิด ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ได้มาจากสิ่งแวดล้อมหรืออุตสาหกรรมที่จะนำมาศึกษา

2.5.1 หลักการของการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เอสหรือพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

ในปี 1998 Muzer และ Smalla กล่าวว่า การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคนี้ใช้หลักการในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากสายดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เอส (DNA polymerase) ซึ่งสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ในปริมาณมากโดยการใช้ไพรเมอร์ ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เอสแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนหลักดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การแยกสายดีเอ็นเอสายคู่ออกจากกัน (Denaturing) เป็นขั้นตอนการแยกดีเอ็นเอสายคู่ออกจากกันโดยใช้อุณหภูมิประมาณ 94 องศาเซลเซียส ตอนเริ่มต้นดีเอ็นเอแม่แบบจะอยู่ในลักษณะที่เป็นสายคู่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิประมาณ 94 องศาเซลเซียสจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของดีเอ็นเอถูกทำลายทำให้เส้นดีเอ็นเอขาดออกจากกัน

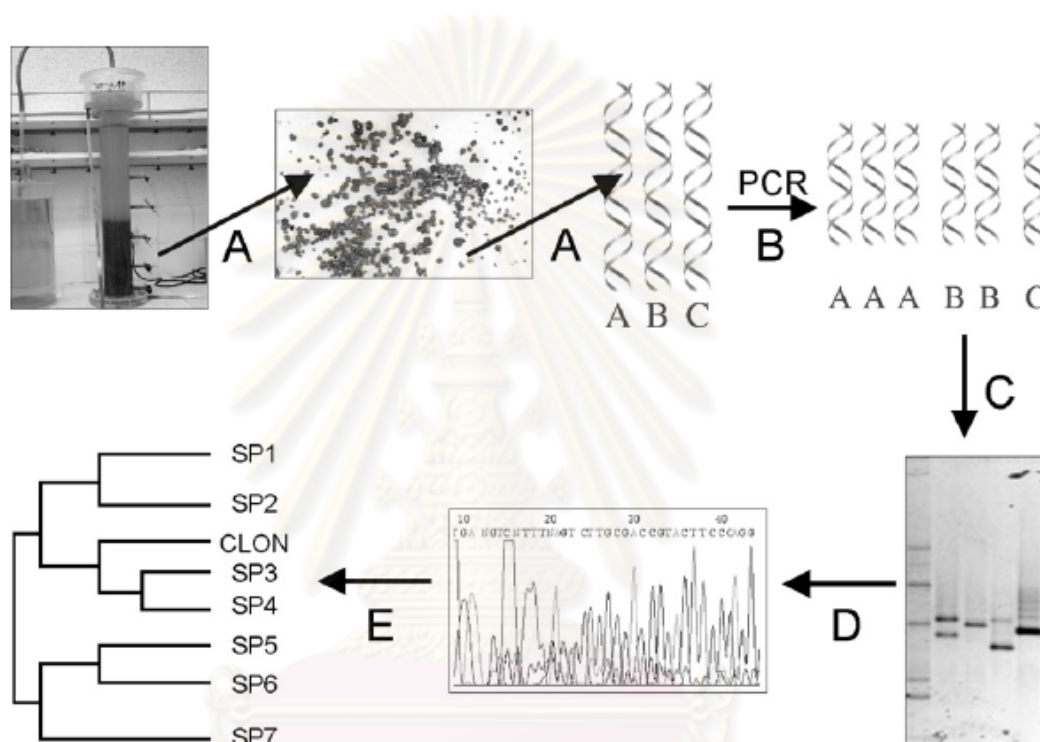
ขั้นตอนที่ 2 การจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอแม่แบบ (Annealing) ใช้อุณหภูมิประมาณ 40-62 องศาเซลเซียส เมื่อแยกสายดีเอ็นเอออกจากกันแล้วจะลดอุณหภูมิลงเพื่อให้ไพรเมอร์เข้ามาจับกับดีเอ็นเอแม่แบบบริเวณที่มีลำดับเบสคู่เหมาะสมกัน

ขั้นตอนที่ 3 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ (Extension) ใช้อุณหภูมิประมาณ 68 -72 องศาเซลเซียส โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เอสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลจากปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะทำให้ได้ดีเอ็นเอสายใหม่ซึ่งมีไพรเมอร์เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย

2.5.2 หลักการของดีจีจีอี (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)

เทคนิคดีจีจีอีได้เข้ามามีบทบาทในการวิเคราะห์ในเชิงเปรียบเทียบของโครงสร้างและรูปแบบของความหลากหลายของกลุ่มแบคทีเรียต่าง ๆ นอกจากนี้ส่วนของตัวสายดีเอ็นเอที่ถูกแยกมาจากการใช้เทคนิคดีจีจีอี คือ สายของยีนสืบหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียแต่ละชนิดนั้นสามารถนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบส และนำไปเปรียบเทียบกับสายของยีนสืบหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียที่ทราบชนิดแล้วในฐานะข้อมูลข้างต้นที่กล่าวมาแล้วเพื่อตรวจสอบว่าเป็นชนิดใดโดย

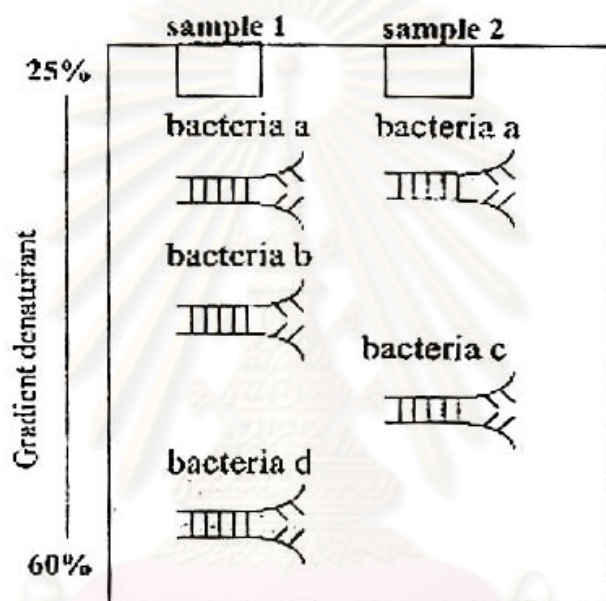
ขั้นตอนของเทคนิคดีจีจีจีมีขั้นตอนทั้งหมด 4 ขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 สกัดดีเอ็นเอทั้งหมด ขั้นตอน
ที่ 2 ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณสลิปหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ ขั้นตอนที่ 3 ทำ
การแยกสายของดีเอ็นเอจากตัวอย่างโดยใช้เทคนิคดีจีจีจี และขั้นตอนสุดท้าย คือ สายดีเอ็นเอที่
แยกได้มาจากเจลดีจีจีจีจะถูกแยกออกมาจากเจลและนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ดังภาพที่
2.3



ภาพที่ 2.3 ขั้นตอนพีซีอาร์ดีจีจีจี โดยที่ (A) สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง (B) เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
บริเวณ สลิปหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอโดยการทำให้พีซีอาร์ (C) แยกสายของดีเอ็นเอจากตัวอย่างโดยใช้
เทคนิคดีจีจีจี (D) สายดีเอ็นเอจะถูกแยกออกมาจากเจลดีจีจีจีและนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์
(Sequencing) และ (E) หาความสัมพันธ์ของลำดับเบสของสลิปหกลเอสอาร์ดีเอ็นเอที่ได้จากการ
หาลำดับนิวคลีโอไทด์และการแจกแจงชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ (Phylogenetic
Relationship) (Sanz และ คณะ, 2007)

เทคนิคดีจีจีจีได้นำมาใช้ในการบ่งบอกถึงความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ ด้วย
เทคนิคการแยกดีเอ็นเอสายคู่ (Double-stand DNA) ซึ่งมีความยาวเท่ากันแต่มีลำดับเบสต่างกัน
โดยใช้เกรเดียนท์ (Gradient) ของความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถทำลายพันธะในคู่สาย

ดีเอ็นเอ (Denaturant) ซึ่งเป็นสารผสมของยูเรียและฟอร์มามาไมด์ (Formamide) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจากน้อยไปมากในตัวกลางสำหรับการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า ความแตกต่างของลำดับเบสส่งผลให้การสลายพันธะไฮโดรเจนเกิดขึ้นไม่พร้อมกัน ในขณะที่ดีเอ็นเอเคลื่อนที่อยู่ภายในเจล ทำให้แยกแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดเท่ากัน แต่ลำดับเบสต่างกันออกจากกันได้โดยดีเอ็นเอแต่ละชิ้น การเคลื่อนที่บนเจลด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยูเรียที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามระยะทางบนเจล (Muyzer และคณะ, 1993) ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 ไดอะแกรมแสดงการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอแบคทีเรียแต่ละชนิดบนเจลดีจีจีอี (สุทธาสินี อ่วมจันทร์, 2546)

เหตุผลที่เทคนิคดีจีจีอีสามารถนำมาใช้วิเคราะห์องค์ประกอบชนิดหรือประชากร (Community) ของจุลินทรีย์ในธรรมชาติได้อย่างดีจึงมีการนำเทคนิคดีจีจีอีมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียอีจีเอสบี

2.5.3 ข้อดีและข้อเสียของเทคนิคดีจีจีอี (Sanz และคณะ, 2007)

1) ข้อดี

1.1) เป็นวิธีตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ที่รวดเร็วและง่าย

1.2) เมื่อวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคดีจีจีซีนี้จะทำให้ทราบข้อมูลถึงระดับดีจีจีซีในระบบที่กำลังศึกษาได้

1.3) สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างในระบบครั้งละมาก ๆ ได้

2) ข้อเสีย

2.1) ในขั้นตอนการสกัดและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณช่วงจำเพาะเป็นขั้นตอนที่ยากและต้องอาศัยความชำนาญสูง

2.2) ภายหลังจากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแล้วการวิเคราะห์แยกสายดีเอ็นเอบนเจลจะยากเพราะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของจุลินทรีย์และขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณลิมบิกเอสอาร์ดีเอ็นเอซึ่งเป็นบริเวณจำเพาะที่ส่งผลต่อความชัดเจนของแถบดีเอ็นเอบนเจล

ตารางที่ 2.2 แสดงตัวอย่างของไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีซี

ไพรเมอร์	ใช้สำหรับ	อ้างอิง
1100F (5'ACCCGTCGACAGT CAGGYAACGAGCGAG -3') + GC clamp (5'-CGCC CGCC GCGCG CGCGCG GCGGGGCGGGGGCACGGGGGG-3' 1400R 5'ATTACCGCGGCTGCTGG-3'	อาร์เคีย	Kudoและคณะ, 1997
341F + GC clamp (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGC GGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGC AG-3')	แบคทีเรีย	Zangและคณะ, 2000
341F + GC clamp (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')	แบคทีเรีย	Labbeและคณะ, 2003

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Shin และ คณะ (1992) ได้ทดลองใช้ระบบยูเอเอสพีบำบัดน้ำเสียความเข้มข้นสูงจากโรงกลั่นสุราจากการศึกษาชนิดแบคทีเรียในตะกอนเมธานพบว่าตะกอนเมธานในถังสร้างกรดมีลักษณะรูปร่างและสีที่แตกต่างกัน ในระยะเวลา 90 วัน และในถังสร้างมีเทนในระยะเวลา 120 วัน หลังจากเริ่มต้นเดินระบบ พบว่าตะกอนเมธานของแบคทีเรียสร้างกรดส่วนใหญ่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่มีรูปร่างอันสั้นต่อกันเป็นโซ่ยาวและพวกรูปร่างกลมหลายขนาด ขณะที่พวกแบคทีเรียสร้างมีเทนมีลักษณะเส้นใยยาวคล้าย *Methanotrrix* sp. มีแพร่หลายในตะกอนเมธานของแบคทีเรีย และยังพบว่ามีแบคทีเรียอีกหลายชนิดภายในตะกอนเมธาน

สมเกียรติ เตชกาญจนารักษ์ (2543) ศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศแบบลูกผสมโดยพบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนคือ *Acetolastic methanogen* และ *Hydrogenotrophic methanogen* เมื่อทดลองผลของซัลเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากร จุลินทรีย์เมทาโนเจนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มเมทาโนเจนลดลงในขณะที่กลุ่มรีดิวซ์ซัลเฟตเพิ่มขึ้นนอกจากนี้ความเป็นพิษของซัลเฟตเมื่อถึงระดับหนึ่งจะส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียลดลง

Gonzalez-Gil และ คณะ (2001) ศึกษาโครงสร้างเมธานจากถังปฏิกรณ์อีจีเอสพีบำบัดน้ำเสียจากโรงกลั่นสุราซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.6 ถึง 7.8 ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นระบบจากระบบยูเอเอสพีที่บำบัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันและน้ำตาลระบบบำบัดแบบรวมทุกสารอินทรีย์ที่ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่ามีประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีอยู่ในช่วง 70 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาจุลินทรีย์ภายในเมธานด้วยเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) พบกลุ่มจุลินทรีย์ดังนี้ *Methanosaeta* sp., *Methanobacterium*-like และ *Methanospirillum*-like

Maria และ คณะ (2002) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ของถังปฏิกรณ์อีจีเอสพีเพื่อบำบัดน้ำเสียกรดโอเลอิก โดยใช้ความเข้มข้นกรดโอเลอิก 6-8 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน เป็นแหล่งคาร์บอนเดินระบบถังปฏิกรณ์อีจีเอสพี 2 ถัง คือ ถังแรก (RI) ใช้หัวเชื้อเป็นตะกอนเมธานและถังที่สอง (RII) ใช้หัวเชื้อเป็นตะกอนแขวนลอย ในระหว่างการทดลองพบว่าสัณฐานของทั้ง 2 ถังตกตะกอนอยู่กันถึงและมีบางส่วนลอยอยู่ด้านบนและจากการใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีซีพบว่าในถังแรกกลุ่มแบคทีเรียอาร์เคียคองที่เมื่อเทียบกับถังที่สองซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ในกลุ่ม *Methanosaeta* ซึ่งกรดโอเลอิกที่เข้มข้น 6 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน เป็นค่าที่สูงที่สุดที่แนะนำให้ใช้ในการทดลองนี้ในขณะที่กรดโอเลอิกที่เข้มข้น 8 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ตรวจไม่พบกิจกรรมสร้างมีเทน

นิมารตี บุญอาพัทธ์เจริญ และ คณะ (2546) ทำการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ในเม็ดตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้หลักการเปรียบเทียบลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีนสิบลูกเอสอาร์ดีเอ็นเอพบว่าจุลินทรีย์อยู่หลากหลายกระจายอยู่ในหลายกลุ่ม โดยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม *Proteobacteria* 84 เปอร์เซ็นต์สำหรับโคลนของแบคทีเรีย ส่วนในโคลนของแบคทีเรียอาร์เคียที่พบไม่หลากหลายโดยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของอะซิโตลาสติกเมทาโนเจน คือ *Methanosaeta* sp. 67 เปอร์เซ็นต์ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนอะซิติกเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซมีเทนและในส่วนที่เหลือเป็นกลุ่มของไฮโดรเจนโทโรฟิคเมทาโนเจน คือ *Methabacterium* และ *Methanofollis* sp. ที่สามารถใช้ไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากจุลินทรีย์อื่นๆ ในการสร้างก๊าซมีเทน

McHugh และ คณะ (2004) ทดลองบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ ที่มีกรดไขมันระเหยง่ายและน้ำเสียสังเคราะห์น้ำตาลซูโครสลงในถังปฏิกรณ์อาร์ 1 และอาร์ 2 ตามลำดับช่วงอุณหภูมิ 16-37 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วไหลขึ้นอยู่ในช่วง 5-7.5 ม./ชม. และใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอีวิเคราะห์แบคทีเรียในระบบ พบว่าในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ถังมีแบคทีเรีย *Methanocorpusculum parvum* sp. และในถัง R1 พบ *Methanomicrobiales* sp. เป็นส่วนใหญ่

Akarsubasi และ คณะ (2005) ได้วิจัยแบคทีเรียกลุ่มสร้างก๊าซมีเทนจากกรดอะซิติกโดยใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี 2 ถัง คือ ไอยูเอเอสบีและทียูเอเอสบีปริมาตร 143 และ 476 ลบ.ม. ตามลำดับเพื่อบำบัดน้ำเสียจากโรงกลั่นสุรา พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีในถังไอยูเอเอสบีที่มีอัตราบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 6-11 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน 90 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ถังทียูเอเอสบีมีประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี 60-80 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 2.5-8.5 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อศึกษาความสามารถจำเพาะในการสร้างก๊าซมีเทนของทั้งสองถังพบว่ามีความใกล้เคียงกันคือ 350 และ 376 มล.มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน และตรวจสอบประชากรแบคทีเรียด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอีพบว่าในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีทั้งสองมี *Methanobacterium formicicum* และ *Methanosaeta soehngeni* เป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนชนิดเด่น

Keyser และ คณะ (2005) ศึกษาลักษณะของเมทาโนเจนในระบบยูเอเอสบี 3 ชนิด ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกันคือน้ำเสียจากโรงงานสุรา โรงงานผลิตไวน์และโรงงานผลไม้โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอีในการวิเคราะห์พบว่าแบคทีเรียพวกเมทาโนเจนได้แก่ *Methanosaeta concillii*, *Methanosaeta thermophila*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazei* และ *Methanobacterium formicicum*

Buzzini และ คณะ (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ ยูเอเอสพี 2 สภาวะ คือ เปรียบเทียบให้มีและไม่มีการเวียนน้ำเสียกลับเข้าในระบบเพื่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษพบว่าประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีในช่วงที่ไม่มีการเวียนน้ำเสียกลับมี 80-86 เปอร์เซ็นต์และ 75-78 เปอร์เซ็นต์ในช่วงที่มีการเวียนน้ำเสียกลับและใช้เทคนิคพีอาร์ดีจีจีอีตรวจสอบพบว่ากลุ่มแบคทีเรียหลักที่สร้างก๊าซมีเทนทั้ง 2 สภาวะเป็นพวก *Methanosarcina* sp., *Methanosaeta* sp. และ *Methanobacterium* จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเวียนน้ำเสียกลับไม่ส่งผลให้กลุ่มประชากรจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลง

Sun และ คณะ (2009) ศึกษาจุลินทรีย์ในเม็ดตะกอนจากระบบอีจีเอสพีแบบอัตราสูงโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ ใช้หัวเชื้อจากระบบยูเอเอสพีที่บำบัดน้ำเสียโรงงานแป้งมันศึกษาจุลินทรีย์ในเม็ดตะกอนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอีและเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) พบกลุ่มจุลินทรีย์ คือ *Methanocorpusculum*, *Methanobacterium* และ *Methanosaeta*

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ได้มีการติดตามการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลมากมาย เช่น พีซีอาร์ดีจีจีอีหรือการใช้ชิ้นส่วนนิวคลีโอไทด์ขนาดเล็กมาเป็นโพรบ (Probe) หรือเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) เป็นต้น และเมื่อย้อนไป 5 ปีก่อนจนถึงปัจจุบันทำให้ทราบว่าเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอียังเป็นที่ยอมรับใช้ศึกษาระบบนิเวศของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแบบไร้อากาศอยู่แต่มีการพัฒนาโดยศึกษาร่วมกับเทคนิคทางชีวโมเลกุลอื่น ๆ ควบคู่กันไป เช่น Sun และคณะ, 2009 ใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอีร่วมกับเทคนิค fluorescent in situ hybridization (FISH) พบกลุ่มจุลินทรีย์ คือ *Methanocorpusculum*, *Methanobacterium* และ *Methanosaeta* เป็นต้น

เมื่อต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงและความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ที่มีในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศชนิดต่าง ๆ พบว่าน้ำเสียแต่ละประเภทจะมีความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ที่คล้ายคลึงกันหรือแตกต่างกันไป เช่น Gonzalez-Gil และคณะ, 2001 ใช้เทคนิคฟิช (FISH) ส่วน Akarsubasi และคณะ, 2005 ใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี ศึกษาจุลินทรีย์ในน้ำเสียประเภทเดียวกัน คือ โรงกลั่นสุรา แต่พบกลุ่มจุลินทรีย์ในสายพันธุ์ที่คล้ายกัน คือ กลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทน เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นในระบบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการจะเลือกใช้เทคนิคใดนั้นอาจต้องคำนึงถึง สภาพแวดล้อมของระบบ และควรศึกษาจากหลายๆ งานวิจัยมาประกอบกันถึงเทคนิคและผลที่ได้ว่าตรงตามวัตถุประสงค์และการลงทุนหรือไม่ ซึ่งการนำความรู้ทางชีวโมเลกุลมาใช้อธิบายกลไกการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ในระบบเพราะจุลินทรีย์เป็นปัจจัยที่สำคัญในการทำงานในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอยู่ในปัจจุบัน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 ถังพักน้ำเสีย

ประกอบด้วยถังพลาสติกที่มีปริมาตร 100 ลิตร 4 ชุดและถังพักน้ำทิ้งใช้ถังพลาสติกขนาด 50 ลิตร 4 ชุด

3.1.2 เครื่องสูบน้ำเสียเข้าสู่ระบบและเครื่องสูบน้ำเสียหมุนเวียน

ถังปฏิกรณ์อ็อกซิเจน 1 ชุด ประกอบด้วยเครื่องสูบน้ำเข้าระบบ 1 ตัวและเครื่องสูบน้ำเวียนกลับเข้าระบบ 1 ตัว

3.1.3 ถังปฏิกรณ์อ็อกซิเจน

แบบจำลองถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการทำด้วยท่ออะคริลิกใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 10.40 ซม. จำนวน 4 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วยส่วนย่อยสลายสูง 210 ซม. และส่วนตกตะกอนเส้นผ่านศูนย์กลาง 36.4 ซม. และวาล์วเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนทำด้วยท่ออะคริลิกใสสูง 75 ซม.

3.1.4 อุปกรณ์วัดก๊าซ

ถังปฏิกรณ์อ็อกซิเจน 1 ชุดจะประกอบด้วยอุปกรณ์วัดก๊าซจำนวน 1 ชุด ทำงานโดยใช้หลักการแทนที่น้ำ โดยมีกระบอกแทนที่น้ำทำจากพลาสติก บรรจุน้ำเต็มกระบอก โดยทำการปรับพีเอชน้ำให้ต่ำกว่า 3 โดยใช้โซเดียมไบซัลไฟท์ (Na_2SO_3) เพื่อป้องกันการละลายน้ำของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กระบอกแทนที่น้ำจะต่อสายยางนำก๊าซออกจากถังปฏิกรณ์ โดยก๊าซจะไปแทนที่น้ำที่บรรจุอยู่ในกระบอกแทนที่น้ำปริมาณก๊าซที่วัดได้ คือก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากระบบ (มีเทน คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน) ทำการวัดต่อเนื่องตลอดการทดลอง



ภาพที่ 3.1 แสดงชุดถังปฏิกรณ์ชีวเคมี 4 ชุด

3.2 การเตรียมน้ำเสีย

3.2.1 ส่วนประกอบน้ำเสีย

น้ำเสียนำมาจากบ่อปรับเสถียร (Equalization Tank) ของโรงงานผลิตเอทานอลจากจังหวัดนครปฐมที่ใช้วัตถุดิบเป็นกากสำโดยมีข้อมูลเบื้องต้นของน้ำเสีย ณ วันที่ 1 กันยายน 2551 ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์ของน้ำเสียจากโรงงานผลิตเอทานอลจากกากสำ (ช ฎานิสฯ นุญปกครอง, 2553)

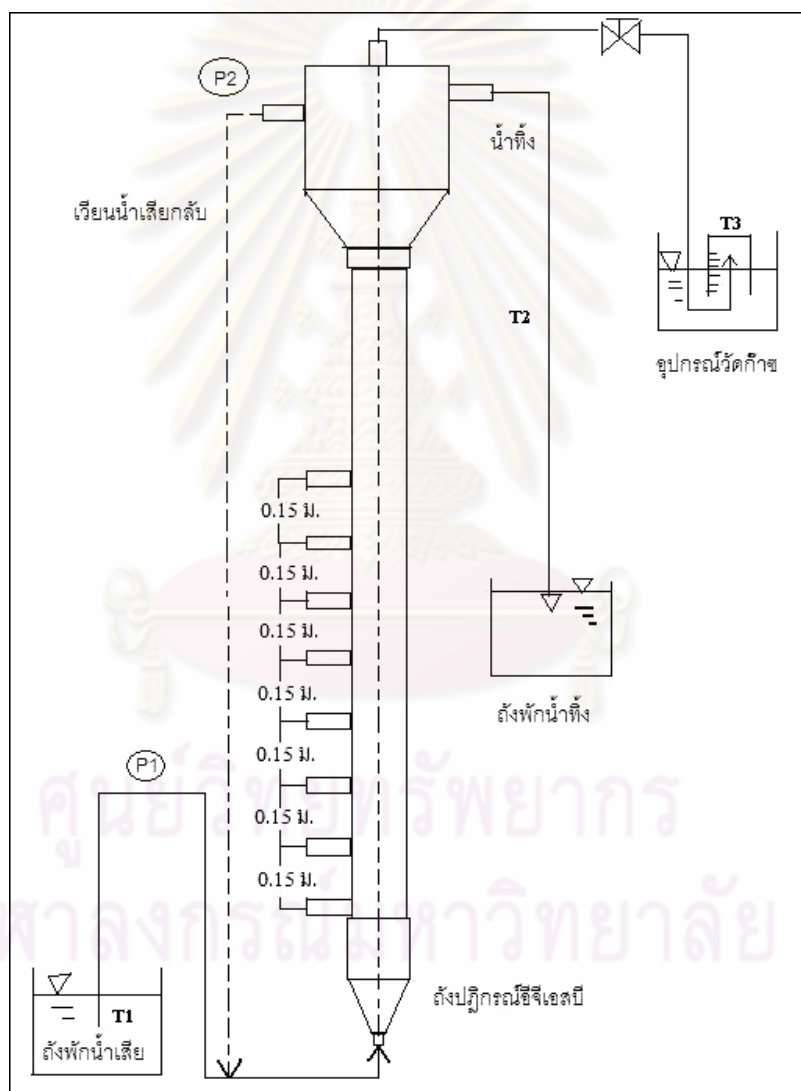
พารามิเตอร์	ค่าข้อมูล
ซีไอดี (มก./ล.)	120,000
บีไอดี (มก./ล.)	19,700
ของแข็งทั้งหมด (มก./ล.)	6,880
ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก./ล.)	2,150

3.2.2 วิธีการเตรียมน้ำเสีย

นำน้ำเสียจากโรงงานผลิตเอทานอลมาผสมกับน้ำประปาปรับอัตราส่วนเพื่อให้ค่าซีไอดีประมาณ 5,000 มก./ล. จากนั้นนำน้ำเสียที่เจือจางแล้วมาปรับค่าพีเอชให้มีค่าประมาณ 7 และมีการควบคุมอัตราส่วน COD : N : P เท่ากับ 350 : 5 : 1 เพื่อใช้ทดลองต่อไป

3.3 การติดตั้งเครื่องมือ หลักการทำงานของระบบและจุดเก็บตัวอย่าง

การติดตั้งเครื่องมือและหลักการทำงานของระบบรวมถึงจุดเก็บตัวอย่างของระบบอีจีเอสบี โดยทำการเริ่มต้นและการดำเนินระบบของถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีทั้ง 4 ถัง พร้อมกัน โดยมีขั้นตอนการทำงาน ดังนี้ เมื่อเครื่องสูบน้ำ สูบน้ำเสียเข้าระบบ P1 สูบน้ำเสียจากถังพักน้ำเสียเข้าไปยังทางเข้าของถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีและเครื่องสูบน้ำ P2 สูบน้ำเสียเวียนกลับมายังทางเข้าซึ่งเป็นจุดเดียวกัน น้ำทิ้งที่ออกจากถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีนี้จะไหลลงไปยังถังพักน้ำทิ้ง นอกจากนี้ก๊าซที่เกิดขึ้นจะผ่านอุปกรณ์แยกสามสถานะไปยังอุปกรณ์วัดก๊าซ ดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 รายละเอียดจุดเก็บตัวอย่างมี 4 จุด คือ จุดที่ 1 = T1, ถังน้ำเข้า จุดที่ 2 = T2, จุดน้ำออกจากถังปฏิกรณ์ จุดที่ 3 = ท่อเก็บตัวอย่างตามความสูงทำการเก็บ 3 จุด (จุดที่1 จากก้นถึง 0.5 ม. จุดที่ 2 ที่ความสูง 1 ม. และจุดที่ 3 ที่ความสูง 1.5 ม.) และจุดที่ 4 = T3, ถังเก็บก๊าซ

3.4 แผนการวิจัย

การทดลองในการวิจัยนี้ ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการการวิจัยของภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ และห้องปฏิบัติการทางพันธุวิศวกรรมศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมุ่งศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ชีวเคมีด้วยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลโดยนำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์จากถังปฏิกรณ์ชีวเคมีทั้ง 2 ชุดๆ ละ 2 ถัง นำมาสกัดดีเอ็นเอแล้วจึงเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณลิปทิกเอสอาร์ดีเอ็นเอ วิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ทำการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีและหาความสัมพันธ์ของลำดับเบสบริเวณลิปทิกเอสอาร์ดีเอ็นเอที่ได้โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (Database) ที่มีการเก็บรวบรวมเอาไว้ที่ระบุใน Genbank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) โดยชุดการทดลองมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ ชุดที่ 1 ใช้ถังปฏิกรณ์ชีวเคมีที่ออกแบบให้อุณหภูมิแยกสามสถานะสมมาตร (S1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ ไม่สมมาตร (NS1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 2 กำหนดค่าภาวะบรรทุksารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ภายใต้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. และเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 5 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน และชุดที่ 2 ใช้ถังปฏิกรณ์ชีวเคมีที่ออกแบบให้อุณหภูมิแยกสามสถานะสมมาตร (S2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ ไม่สมมาตร (NS2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 4 กำหนดค่าภาวะบรรทุksารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ภายใต้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. และเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 6 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน

ทำการเดินระบบทั้งสองชุดการทดลองพร้อมกัน ทำการป้อนน้ำเสียเข้าระบบกำหนดอัตราการสูบน้ำโดยใช้ข้อมูลและช่วงเวลาการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ดังตารางที่ 3.2 และ 3.3 โดยศึกษาตัวแปรอิสระและตัวแปรตามดังนี้

ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา ได้แก่

- ภาวะบรรทุksารอินทรีย์มีค่าเท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
- ความเร็วไหลขึ้นมีค่าเท่ากับ 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.

ตัวแปรตามที่ทำการศึกษา ได้แก่

- ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ โครงสร้างเม็ดตะกอน ขนาดเม็ดตะกอน และความหลากหลายของจุลินทรีย์ ในส่วนของ อุณหภูมิ พีเอช ไออาร์พี ซีไอดี ความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนอ้างอิงผลการทดลองจากชญาธิศา บุญปกครอง, 2553

ตารางที่ 3.2 แสดงการศึกษาผลของค่าภาระบรรทุกสารอินทรีย์ค่าต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับความเร็วไหลขึ้นที่มีผลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่ 1

ถังปฏิกรณ์อีจีเอสปี	ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความเร็วไหลขึ้น (ม./ชม.)	อัตราการสูบน้ำเข้า (ลิตรต่อวัน)	อัตราสูบน้ำหมุนเวียน (ลิตรต่อวัน)	วิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี (ครั้ง*)
ถังปฏิกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S1)	10	3	34	577	3
	20	3	34	577	3
	30	3	34	577	3
	40	3	34	577	3
	40	5	34	985	3
ถังปฏิกรณ์แยกสามสถานะไม่สมมาตร (NS1)	10	3	34	577	3
	20	3	34	577	3
	30	3	34	577	3
	40	3	34	577	3
	40	5	34	985	3

หมายเหตุ

ถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่ 1 ที่มีถังปฏิกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S1) คือ ถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่ 1

ถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่ 2 ที่มีถังปฏิกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (NS1) คือ ถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่ 2

* คือ วิเคราะห์ 3 ครั้งของแต่ละภาระบรรทุกสารอินทรีย์ คือ ก่อนการทดลอง กลางการทดลอง และสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 3.3 แสดงการศึกษาผลของความเร็วไหลขึ้นที่เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ที่มีผลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีชีเอสปีชุดที่ 2

ถังปฏิกรณ์อีชีเอสปี	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความเร็วไหลขึ้น (ม./ชม.)	อัตราการสูบน้ำเสียเข้า (ลิตรต่อวัน)	อัตราสูบน้ำหมุนเวียน (ลิตรต่อวัน)	วิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีอี (ครั้ง*)
อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S2)	10	4	34	781	3
	20	4	34	781	3
	30	4	34	781	3
	40	4	34	781	3
	40	6	34	1,190	3
อุปกรณ์แยกสามสถานะไม่สมมาตร (NS2)	10	4	34	781	3
	20	4	34	781	3
	30	4	34	781	3
	40	4	34	781	3
	40	6	34	1,190	3

หมายเหตุ

ถังปฏิกรณ์อีชีเอสปีที่มีอุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S2) คือ ถังปฏิกรณ์อีชีเอสปีถังที่ 3
ถังปฏิกรณ์อีชีเอสปีที่มีอุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (NS2) คือ ถังปฏิกรณ์อีชีเอสปีถังที่ 4

* คือ วิเคราะห์ 3 ครั้งของแต่ละภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ คือ ก่อนการทดลอง กลางการทดลอง และสิ้นสุดการทดลอง

3.5 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ต้องทำการวิเคราะห์ ความถี่ จุดเก็บตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง			
		ทางน้ำ เข้า	ทางน้ำ ออก	ถังเก็บ ก๊าซ	วาล์วเก็บ ตัวอย่าง ตะกอนตาม ความสูง
พีเอช	เครื่องวัดพีเอช	B	B	-	-
ไออาร์พี	เครื่องวัดไออาร์พี	B	B	-	-
อุณหภูมิ	เทอร์โมมิเตอร์	B	B	-	-
ซีไอดี	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Standard method#5220)	B	B	-	-
ความสามารถจำเพาะ ของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์	Specific Methanogenic Activity Test (คู่มือปฏิบัติการวิชา MIC452, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี พระจอมเกล้าธนบุรี)	-	-	-	D
ขนาดเม็ดตะกอน	เครื่อง Particle Size Analyser	-	-	-	D
ปริมาณก๊าซชีวภาพ	เครื่องเก็บก๊าซแทนที่น้ำ	-	-	A	-
เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน	เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี	-	-	D	-
โครงสร้างเม็ดตะกอน	เครื่อง Scanning Electron Microscope, SEM ยี่ห้อ FBI รุ่น Genesis 4000XMS600 for scanning	-	-	-	D*
ความหลากหลายของ ประชากรจุลินทรีย์	พีซีอาร์ดีจีจีอี	-	-	-	C*

หมายเหตุ วาล์วเก็บตัวอย่างตามความสูงทำการเก็บตัวอย่างตะกอน 3 จุด คือ

จุดที่ 1 = จากก้นถึง 0.5 ม. จุดที่ 2 = ที่ความสูง 1 ม. และจุดที่ 3 = ที่ความสูง 1.50 ม.

A = วันจันทร์ ถึง วันศุกร์

B = วันจันทร์ – วันพุธ – วันศุกร์

C = 3 ครั้งของแต่ละภาวะบรรทุกลบสารอินทรีย์ คือ ก่อนการทดลอง กลางการทดลอง และ
สิ้นสุดการทดลอง (C* = สุ่มเก็บในถังปฏิกรณ์)

D = หลังจากระบบคงตัว (D* = สุ่มเก็บในถังปฏิกรณ์)

- = ไม่ได้วิเคราะห์

3.6 ขั้นตอนการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อิมูบิลไลซ์โดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจี

นำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์ที่เก็บจากถังปฏิกรณ์อิมูบิลไลซ์ ที่ศึกษามาสกัดดีเอ็นเอรวมของจุลินทรีย์และทำการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของสลิปหอกเอสอาร์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์จากนั้นวิเคราะห์ความแตกต่างของยีนที่ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตามหลักการของดีจีจีจีโดยมีเครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 3.5 และ 3.6 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.5 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจี

เครื่องมือ	ยี่ห้อ/บริษัท	รุ่น
1. เครื่องผสมสาร	Scientific Industries, Inc.	Vortex-Genie2
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Kubota Japan	3700
3. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบควบคุมอุณหภูมิสำหรับทำพีซีอาร์	Thermo Electron Corporation	HB-PX-2220
4. เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า (DNA Electrophoresis Gel Boxes)	Bioactive, Inc.	-
5. เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (Autoclave)	Kakusan, Inc. Japan	-
6. เครื่องดีจีจีจี (DCode™ system)	Bio-Rad Laboratories, Inc.	-
7. เครื่องตรวจสอบเจล (Gel Documentation)	Wealtec	Gel Dolphin-DOC

ตารางที่ 3.6 แสดงสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจี

สารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอ	สารเคมีสำหรับพีซีอาร์	สารเคมีสำหรับดีจีจีจี
1. บัฟเฟอร์สกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction Buffer)	1. PCR master mix	1. อะคริลลาไมด์ต่อบิส, 37.5:1 40 เปอร์เซ็นต์ (Acrylamid/Bis)
2. ลูกแก้ว (Glass Bead, Ø 0.1-0.25 mm.)	2. ไพรเมอร์ 1100F	2. บัฟเฟอร์ทีเออี (TAE Buffer)
3. ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเฮกซิล (25:24:1)	3. ไพรเมอร์ 1400R	3. ฟอรัมาไมด์ (Formamide)
4. เอทานอลเข้มข้น 100 และ 70 เปอร์เซ็นต์	4. ดีเอ็นเอที่สกัดได้	4. ยูเรีย
5. โซเดียมอะซิเตท (Sodium Acetate)	5. น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ	5. เอพีเอส (Ammonium persulfate, APS)
6. บัฟเฟอร์ทีอี (TE buffer)		6. ทีเม็ด (Tetra-Methyl-Ethylenediamine, TEMED)
7. อาร์เอ็นเอส (Rnase)		7. เอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide)
8. บัฟเฟอร์ทีเออี (TAE Buffer)		8. สีติดตาม (Dcode dye solution)
9. อะกาโรสเจล (Agarose Gel)		
10. สีย้อม (6x -loading dye)		



ก)



ข)

ภาพที่ 3.3 อุปกรณ์ชุด DCode™ system ,Bio-rad สำหรับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอจีจีจี ก) ชุดอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเจลดีเอ็นเอจีจีจี ข) ชุดวงล้อหมุนทำเกรเดียนท์เจลดีเอ็นเอจีจีจี

3.6.1 ขั้นตอนการวิเคราะห์สับทงเอสอาร์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจี

การวิเคราะห์สับทงเอสอาร์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีมี 4 ขั้นตอนดังนี้

1) การสกัดดีเอ็นเอในเม็ดตะกอนสลัดจ์จากถังปฏิกรณ์ (Buzzini และคณะ, 2006)

นำตะกอนสลัดจ์ประมาณ 1 มล. ใส่ลงในหลอดไมโครพิวจ์เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไปจากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 8,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที ทิ้งส่วนน้ำใส่ออกให้หมดแล้วเติมบัฟเฟอร์สกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction Buffer) 300 ไมโครลิตร เติมลูกแก้ว (Glass Bead) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 - 0.25 มม. ลงไปประมาณ 0.2 - 0.4 กรัม และเติมฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิล (25:24:1) 300 ไมโครลิตร พันปากหลอดด้วยพาราฟิล์มให้แน่นแล้วนำเข้าเครื่องผสมสารนาน 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที ดูดน้ำใสส่วนบนใส่หลอด ไมโครพิวจ์หลอดใหม่เติม ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิล (25:24:1) 300 ไมโครลิตรแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที

ดูดน้ำใสด้านบนใส่ในหลอดไมโครพิวจ์หลอดใหม่เติมเอทานอลเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ 800 ไมโครลิตรจากนั้นเติมโซเดียมอะซิเตท 60 ไมโครลิตร แล้วนำไปแช่เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อนำออกมาจากตู้แช่เย็นแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบต่อนาทีนาน 15 นาที เทน้ำทิ้งและเติมเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 1 มล. แล้วปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที นำออกมาแล้วเทน้ำทิ้งออกให้หมด เหลือส่วนตะกอนก้นหลอด นำไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วละลายตะกอนด้วยบัฟเฟอร์ที่อับปริมาตร 40 ไมโครลิตร เติมอาร์เอ็นเอส (Rnase) 1 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปตรวจสอบด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (ไม่ได้ทำเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน) โดยใช้อะกาโรสเจลเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 0.2 กรัม ซึ่งผสมบัฟเฟอร์ที่เออีเข้มข้น 1 เท่า 40 มล. ละลายเจลด้วยเครื่องไมโครเวฟ แล้วเทเจลลงในถาดเสียบหวีเพื่อให้เกิดช่องใส่ตัวอย่างรอบให้เจลแข็งตัวประมาณ 15 นาที จากนั้นนำเจลออกมาใส่ไว้ในเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า (DNA Electrophoresis Gel Boxes) แล้วเทบัฟเฟอร์ที่เออีเข้มข้น 1 เท่า ให้ท่วมเจลเปิดตัวอย่างดีเอ็นเอที่ผสมสีย้อม (6x – loading dye) ลงในช่องใส่ตัวอย่างที่ทำรอไว้แล้วเดินระบบอิเล็กโทรโฟรีซิสโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นย้อมอะกาโรสเจลด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 10 นาที จากนั้นตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ด้วยเครื่องตรวจสอบเจล (Gel Documentation)

2) การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยใช้ PCR master mix ซึ่งในหนึ่งหลอดประกอบด้วย Tag DNA Polymerase 0.05 หน่วย แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) 4 มิลลิโมลาร์ dATP 0.4 มิลลิโมลาร์ dGTP 0.4 มิลลิโมลาร์ dCTP 0.4 มิลลิโมลาร์และ dTTP 0.4 มิลลิโมลาร์ ในการทดลองนี้ในหนึ่งหลอดปฏิกิริยา (Reaction Tube) มีส่วนประกอบดังนี้ คือ PCR master mix 15 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 13 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร ไพรมเมอร์ 1100F 0.5 ไมโครลิตรและ ไพรมเมอร์ 1400R 0.5 ไมโครลิตร (Kudo และคณะ, 1997) ปริมาตรรวมคิดเป็น 30 ไมโครลิตรต่อหนึ่งปฏิกิริยาโดยมีลำดับเบสของไพรมเมอร์ ดังตารางที่ 3.7 จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo Electron Corporation) โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิดังนี้

Initial denaturation	94 องศาเซลเซียส	90 วินาที	} 35 รอบ
Denaturation	94 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Annealing	55 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	90 วินาที	
Final Extension	72 องศาเซลเซียส	3 นาที	
End	4 องศาเซลเซียส		

ตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟเรซิส ด้วยอะกาโรสเจลเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วเดินระบบอิเล็กโทรโฟเรซิสโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นย้อมอะกาโรสเจลด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 10 นาที จากนั้นตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ด้วยเครื่องตรวจสอบเจล (Gel Documentation)

ตารางที่ 3.7 แสดงชุดไพรมเมอร์ในการทดลอง

ไพรมเมอร์	ลำดับเบสของไพรมเมอร์
1100F + GC clamp	5'-ACCCGTCGACAGTCAGGYAACGAGC GAG CGCC CGCCGCGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGACGGGGG -3'
1100F non GC clamp	5'-ACCCGTCGACAGTCAGGYAACGAGC GAG -3'
1400R	5'-CGGCGAATTCGTGCAAGGAGCAGGGAC-3'

3) การวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์โดยเทคนิคดีจีจีอี (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)

ใช้ชุดอุปกรณ์ของ DCode™ system, Bio-rad ในการวิเคราะห์ดังรูปที่ 3.3 โดยเตรียมพอลิอะคริลาไมด์เจลเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ที่มีเกรเดียนท์ของสารละลายดีเนเชอเรนท์ (denaturant) อยู่ 40 เปอร์เซ็นต์ ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งหมดเกิดจากการผสมสารละลาย 0 เปอร์เซ็นต์ (อะคริลาไมด์ต่อบิส 37.5:1 เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มล. บัฟเฟอร์ทีเออีเข้มข้น 50 เท่า ปริมาตร 2 มล. แล้วเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อปรับปริมาตรเป็น 100 มล.) และสารละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ (อะคริลาไมด์ต่อบิส 37.5:1 เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มล. บัฟเฟอร์ทีเออี เข้มข้น 50 เท่า ปริมาตร 2 มล. ฟออร์มาไมด์ปริมาตร 40 มล. ยูเรีย 42 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อปรับปริมาตรเป็น 100 มล.) ซึ่งสารละลาย 0 เปอร์เซ็นต์และ สารละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ดังกล่าวข้างต้นเมื่อเตรียมเก็บไว้แล้วจะนำมาเพื่อใช้เตรียมเกรเดียนท์ของสารละลายดีเนเชอเรนท์ 40 เปอร์เซ็นต์ ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ในขั้นต่อไป ดังนี้ สารละลายดีเนเชอเรนท์ 40 เปอร์เซ็นต์ มาจากสารละลาย 0 เปอร์เซ็นต์ 9 มล. ผสมกับ สารละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ 6 มล. ในส่วนของสารละลายดีเนเชอเรนท์ 60 เปอร์เซ็นต์ มาจาก สารละลาย 0 เปอร์เซ็นต์ 6 มล. ผสมกับสารละลาย 100 เปอร์เซ็นต์ 9 มล. และเติมสีติดตาม (Dcode dye solution) 40 ไมโครลิตร

ประกอบชุดเกรเดียนท์เพื่อทำแผ่นเจลสำหรับดีจีจีอีโดยนำสารละลายดีเนเชอเรนท์ 40 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายดีเนเชอเรนท์ 60 เปอร์เซ็นต์ มาเติมเอพีเอส (Ammonium persulfate, Aps) ซึ่งเตรียมโดยละลายเอพีเอส 0.1 กรัมในน้ำกลั่น 1 มล. ซึ่งเอพีเอสที่ใช้เติมนั้นมี ปริมาตร 90 ไมโครลิตร จากนั้นเติมทีเม็ด 9 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้เจลแข็งตัวต่อจากนั้น ใช้หลอดดูดยาดูดสารละลาย ดีเนเชอเรนท์ ทั้งสองชนิดมาบรรจุยังชุดเครื่องมือการทำเกรเดียนท์ แล้วหมุนวงล้อเพื่อให้เครื่องมือทำการผสมสารละลายดีเนเชอเรนท์ ทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันใน สัดส่วนตั้งแต่ 0 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เกิดอะคริลาไมด์เจลที่มีความเข้มข้นของยูเรียดีเนเชอ เรนท์ ตั้งแต่ 40 เปอร์เซ็นต์ ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเสียบหัวสำหรับเตรียมร่องบรรจุลงไประหว่าง กระจกทั้งสองแผ่นระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 5 ชั่วโมงหรือข้ามคืนเพื่อให้ เจลแข็งตัวเมื่อพบว่าแข็งตัวแล้วจึงนำชุดเจลแซนวิชที่ดึงหัวออกแล้ว ใสลงไปในแอมเบอร์ที่มี บัฟเฟอร์ทีเออีความเข้มข้น 1 เท่า ปริมาตร 7 ลิตร ที่ผ่านการให้ความร้อนจนได้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส แล้วผสมผลิตภัณฑ์ฟิซีอาร์ทั้งหมดกับสีย้อมหยอดลงในช่องวิ่ง จากนั้นเริ่ม เดินเครื่องให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่านชุดเจลแซนวิชและบัฟเฟอร์ทีเออีจากขั้วลบไปขั้วบวก โดยใช้ ความต่างศักย์ไฟฟ้า 130 โวลต์ นาน 5 ชั่วโมง เมื่อครบ 5 ชั่วโมงนำเจลออกจากกระจกและย้อม

ด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 15 นาที จากนั้น
ตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ด้วยเครื่องตรวจสอบเจล (Gel Documentation)

4) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ขั้นดีเอ็นเอเด่นจากโปรไฟล์จีจีซี

ตัดชิ้นพอลิอะคริลาไมด์เจลบริเวณแถบดีเอ็นเอเด่นในหลอดไมโครพิวจ์ เติมน้ำกลั่น
ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 20 ไมโครลิตร แช่ชิ้นเจลทิ้งไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 วัน
เพื่อให้ดีเอ็นเอละลายออกมาจากเจลให้มากที่สุด แล้วนำไปเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำพีซีอาร์
ดังข้อ 2) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ส่งวิเคราะห์ แล้วนำผลลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับ
ความเหมือนกับลำดับเบสของฐานข้อมูลที่ระบุใน Genbank ของ National Center for
Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 การดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันที่ภาวะบรรทุกลูกสารอินทรีย์และความเร็วไหลขึ้นที่แตกต่างกันโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง ได้แก่

ช่วงที่ 1 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของระบบอิมเมอร์สชันที่ภาวะบรรทุกลูกสารอินทรีย์ต่างกัน เปรียบเทียบที่ภาวะบรรทุกลูกสารอินทรีย์ เท่ากับ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน โดยใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. ในชุดที่ 1 ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และไม่สมมาตร (NS1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 2 และใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. ในชุดที่ 2 ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และไม่สมมาตร (NS2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 4

ช่วงที่ 2 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของระบบอิมเมอร์สชันที่ความเร็วไหลขึ้นต่างกัน โดยเปรียบเทียบที่ภาวะบรรทุกลูกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ซึ่งใช้ความเร็วไหลขึ้นเป็น 5 ม./ชม. ในชุดที่ 1 ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และไม่สมมาตร (NS1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 2 และใช้ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ในชุดที่ 2 ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และไม่สมมาตร (NS2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 4

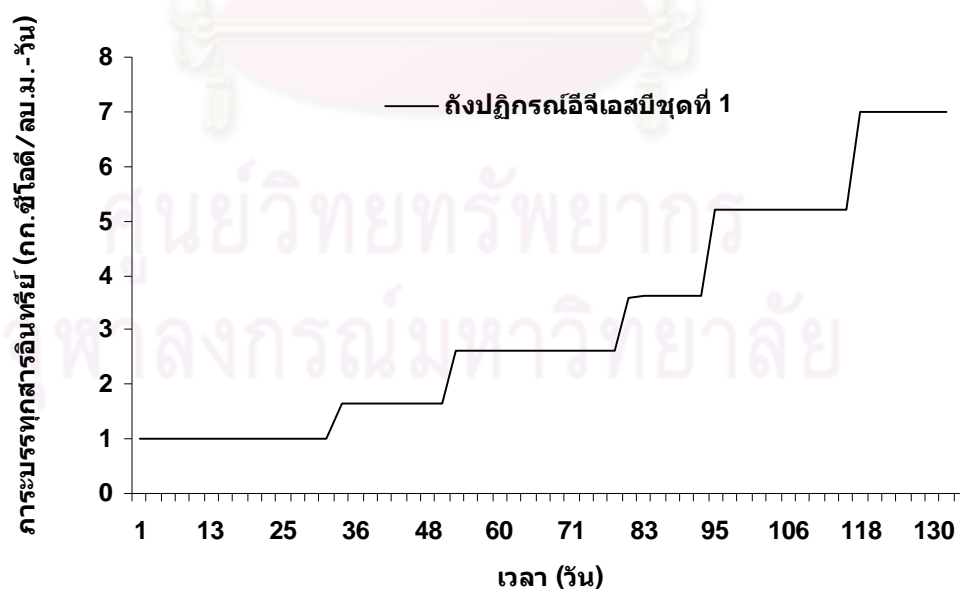
ช่วงที่ 3 ศึกษาจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันด้วยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล โดยนำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์จากถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันทั้ง 2 ชุด ๆ ละ 2 ถัง ในช่วงที่ 1 และ 2 ดังกล่าวมาสกัดดีเอ็นเอแล้วเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณสลิปหกลูเทอไรต์ดีเอ็นเอ วิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ทำการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีและหาความสัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลระบุใน Genbank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ที่มีการเก็บรวบรวมฐานข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์เอาไว้

การทดลองดำเนินการโดยติดตั้งถังปฏิกรณ์อิมเมอร์สชันขนาดความจุ 16.98 ลิตรและสูง 2.85 ม. จำนวน 4 ถัง และใช้น้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยกากส่าในเขตจังหวัดนครปฐมซึ่งมีความเข้มข้นซีไอดีประมาณ 120,000 มก./ล. และมีพีเอชเท่ากับ 4 ในส่วนของ

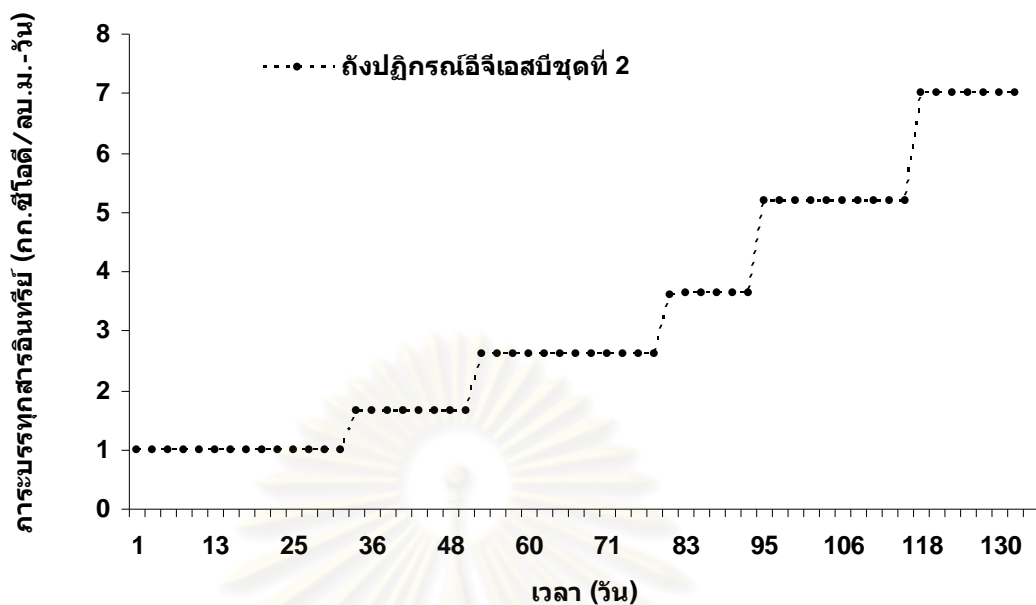
หัวเชื้อที่ใช้เป็นหัวเชื้อจากระบบยูเอเอสบีโดยได้รับการอนุเคราะห์จากบริษัทเสริมสุขจำกัดมีลักษณะเป็นเม็ดและมีตะกอนแขวนลอยปนกันขนาดเม็ดตะกอนประมาณ 1.0 – 4.0 มม. การทดลองนี้มีระยะเวลาทั้งหมดตั้งแต่เริ่มต้นเดินระบบจนถึงสิ้นสุดการทดลองประมาณ 13 เดือน โดยหยุดเดินระบบในช่วงวันที่ 336 – 353 เนื่องจากเหตุการณ์ความไม่สงบในกรุงเทพฯ

4.2 การเริ่มต้นเดินระบบ (Start up)

นำเม็ดตะกอนที่นำมาจากบ่อบำบัดแบบไม่ใช้อากาศใส่ลงไปในถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีที่ใช้ทดลองประมาณ 7 ลิตร (40 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรถัง) จากนั้นจึงเริ่มป้อนน้ำเสียใช้น้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยกากสาในเขตจังหวัดนครปฐม ซึ่งมีความเข้มข้นซีโอดีประมาณ 120,000 มก./ล. โดยน้ำเสียจะถูกเจือจางจนมีความเข้มข้นซีโอดีประมาณ 500 มก./ล. หลังจากทีระบบปรับตัวได้ จึงเพิ่มความเข้มข้นของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ถังอีจีเอสบีให้สูงขึ้นตามลำดับจนเป็น 3,500 มก./ล. และปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8 - 7.2 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความสัมพันธ์ระหว่างภาระบรรทุกสารอินทรีย์กับระยะเวลาที่ทำการทดลอง แสดงดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 กำหนดให้ ถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีชุดที่ 1 ประกอบด้วยถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และไม่สมมาตร (NS1) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 2 ถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีชุดที่ 2 ประกอบด้วยถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีที่ออกแบบให้อุปกรณ์แยกสามสถานะสมมาตร (S2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และไม่สมมาตร (NS2) คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 4



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างภาระบรรทุกสารอินทรีย์กับระยะเวลาที่ทำการทดลอง ช่วงเริ่มเดินระบบ (Start up) ของถังปฏิกรณ์อีจีเอสบีชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างการบำบัดทุกสารอินทรีย์กับระยะเวลาที่ทำการทดลอง ช่วงเริ่มเดินระบบ (Start up) ของถังปฏิกรณ์เอีชีเอสปีชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.

4.2.1 ผลการทดลองช่วงการเปลี่ยนแปลงการบำบัดทุกสารอินทรีย์ของระบบ อีชีเอสปี

ผลของการทดลองในการเปลี่ยนแปลงการบำบัดทุกสารอินทรีย์ ที่การบำบัดทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน อัตราการไหลของน้ำเสียเฉลี่ยเท่ากับ 34 ลิตร/วัน และความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม. ดังตารางที่ 4.1 และ 4.2

อ้างอิงข้อมูลของชฎานิสสา บุญปกครอง, 2553 ประกอบการวิเคราะห์ โดยมีข้อมูลของ พารามิเตอร์ต่าง ๆ อยู่ในภาคผนวก ก

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคองที่ 3 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ พารามิเตอร์ (หน่วย)	10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน			20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน			30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน			40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2
ซีไอดี (มก./ล.)	5,042	1,988	1,967	10,087	3,621	3,690	15,120	5,806	5,927	20,083	11,347	11,414
ประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี (เปอร์เซ็นต์)	-	60.6	61.0	-	64.1	63.3	-	61.6	60.8	-	56.5	56.2
พีเอช	7.41	7.82	7.82	7.26	8.05	8.01	6.96	7.85	7.85	6.66	7.41	7.41
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	28.5	28.9	28.9	27.7	28.3	28.3	29.6	30.3	30.2	31.0	31.4	31.3
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล.แคลเซียมคาร์บอเนต)	4,170	4,283	4,225	3,846	4,509	4,435	2,561	4,320	4,194	1,769	3,214	3,304
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	672	491	466	1,639	598	605	2,294	820	797	2,365	1,070	1,089
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพต่างทั้งหมด	0.16	0.11	0.11	0.43	0.13	0.14	0.90	0.20	0.19	1.34	0.33	0.33
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน)	-	49.66	49.80	-	116.82	116.31	-	165.90	170.85	-	163.85	162.50
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	52.3	52.5	-	54.3	54.0	-	55.4	55.0	-	49.3	49.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.25	0.25	-	0.29	0.29	-	0.29	0.29	-	0.27	0.27

- หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 4 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ พารามิเตอร์ (หน่วย)	10 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน			20 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน			30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน			40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4
ซีโอดี (มก./ล.)	5,066	1,788	1,773	10,070	3,206	3,114	15,088	5,160	5,054	20,175	10,873	10,918
ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (เปอร์เซ็นต์)	-	64.70	65.00	-	68.20	69.30	-	65.80	66.50	-	60.9	61.10
พีเอช	7.43	7.99	8.01	7.28	8.19	8.25	6.98	7.92	7.92	6.63	7.52	7.50
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	28.4	29.0	29.3	27.7	28.4	28.5	29.5	30.2	30.1	31.0	31.5	31.5
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล.แคลเซียมคาร์บอเนต)	4,196	4,541	4,603	3,853	4,899	4,969	2,529	4,649	4,753	1,813	3,714	3,602
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	648	457	453	1,638	531	520	2,270	826	808	2,402	976	979
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพต่างทั้งหมด	0.15	0.11	0.10	0.43	0.11	0.11	0.90	0.18	0.17	1.33	0.26	0.27
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน)	-	54.00	54.63	-	130.79	131.37	-	187.47	187.02	-	188.36	187.55
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	53.5	53.8	-	55.1	55.6	-	56.0	56.5	-	51.3	51.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.26	0.26	-	0.31	0.31	-	0.31	0.31	-	0.29	0.29

- หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

4.2.2 ผลการทดลองช่วงการเปลี่ยนแปลงค่าความเร็วไหลขึ้นของระบบอีจีเอสบี

ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงค่าความเร็วไหลขึ้นที่ 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม. โดยมีอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน และอัตราการไหลของน้ำเสียเฉลี่ยเท่ากับ 34 ลิตร/วัน คงที่ ของการทดลองชุดที่ 1 คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 การทดลองชุดที่ 2 คือ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 ตลอดจนการทดลองรายละเอียดผลการทดลองของพารามิเตอร์ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4.3



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์คงที่ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน (ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

ความเร็วไหลขึ้น พารามิเตอร์ (หน่วย)	3 ม./ชม.			4 ม./ชม.			5 ม./ชม.			6 ม./ชม.		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 1	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 2	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย เข้า	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 3	ค่าเฉลี่ย น้ำทิ้งถึง ปฏิกรณ์ ที่ 4
ซีไอดี (มก./ล.)	20,083	11,347	11,414	20,083	11,347	11,414	20,183	9,950	10,468	20,198	11,440	11,160
ประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี (เปอร์เซ็นต์)	-	56.5	56.20	-	56.5	56.20	-	63.7	63.1	-	58.4	59.8
พีเอช	6.66	7.41	7.41	6.66	7.41	7.41	6.63	7.70	7.68	6.65	7.45	7.43
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	30.9	31.4	31.3	30.9	31.4	31.3	31.0	31.3	31.4	30.9	31.4	31.5
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล.แคลเซียมคาร์บอเนต)	1,769	3,214	3,304	1,769	3,214	3,304	1,817	4,097	4,153	1,852	3,459	3,502
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,365	1,070	1,089	2,365	1,070	1,089	2,428	843	850	2,445	1,103	1,097
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพต่างทั้งหมด	1.34	0.33	0.33	1.34	0.33	0.33	1.34	0.20	0.21	1.32	0.32	0.31
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน)	-	163.85	162.50	-	163.85	162.50	-	210.85	211.22	-	206.94	206.48
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	49.3	49.0	-	49.3	49.0	-	52.8	52.0	-	50.8	50.5
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.27	0.27	-	0.27	0.27	-	0.32	0.32	-	0.33	0.33

- หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์

4.3 สภาวะแวดล้อมของระบบ

4.3.1 อุณหภูมิ

จากผลการทดลองของชญาธิศา บุญปกครอง, 2553 พบว่าอุณหภูมิของน้ำเข้าและน้ำออกมีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยอุณหภูมิส่วนใหญ่ในทุกชุดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 27-31 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 4.4 อุณหภูมิดังกล่าวอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียแบบไร้อากาศและจัดอยู่ในช่วงอุณหภูมิแบบมีโซฟิลิค (Mesophilic) คือ 25-40 องศาเซลเซียส (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2547) ถึงแม้ว่าจะมีการเวียนน้ำกลับเข้าระบบแต่ก็ไม่ส่งผลให้อุณหภูมิของน้ำเสียเข้าระบบและน้ำออกจากระบบมีค่าแตกต่างกันจนส่งผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรีย โดยวัดอุณหภูมิของน้ำเข้าและน้ำออกของระบบตั้งแต่วันที่ 118 เป็นต้นไป เนื่องจากเริ่มใส่โซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อปรับพีเอชของน้ำเข้าระบบให้อยู่ในช่วง 6.8 - 7.2

ตารางที่ 4.4 อุณหภูมิของน้ำเข้าและน้ำออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ชีโอสปีดลดการทดลอง (ชญาธิศา บุญปกครอง, 2553)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
น้ำเข้า	ถังปฏิกรณ์ที่ 1	ถังปฏิกรณ์ที่ 2	น้ำเข้า	ถังปฏิกรณ์ที่ 3	ถังปฏิกรณ์ที่ 4
	น้ำออก	น้ำออก		น้ำออก	น้ำออก
27-31	27-31	27-31	27-31	27-31	27-31
(29.06±1.31)	(29.52±1.33)	(29.49±1.31)	(29.01±1.34)	(29.59±1.33)	(29.58±1.33)

หมายเหตุ ค่าในวงเล็บเป็นค่าเฉลี่ยลดการทดลอง

4.3.2 พีเอช

พีเอชของน้ำภายในถังปฏิกรณ์ มีความสำคัญต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศมาก เนื่องจากจุลินทรีย์จะสามารถทำงานได้ดี ก็ต่อเมื่อควบคุมค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงระหว่าง 6.6 - 7.6 (McCarty, 1964) โดยค่าพีเอชของน้ำเข้าระบบมีค่าค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ในปริมาณ 6 กรัมของโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อน้ำ 1 ลิตรลดการทดลองเพื่อเพิ่มกำลังบัฟเฟอร์ให้กับระบบ และควบคุมพีเอชในถังให้อยู่ในช่วง 6.8 - 7.2 จากผลการทดลองของชญาธิศา บุญปกครอง, 2553 พบว่าพีเอชเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบในถังปฏิกรณ์ใบที่ 1 และ

2 เท่ากับ 7.07 ± 0.32 พีเอชเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบในถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 และ 4 เท่ากับ 7.06 ± 0.32 ในส่วนของน้ำทิ้งออกจากระบบพบว่าค่าพีเอชโดยเฉลี่ยของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1 เท่ากับ 7.78 ± 0.18 ถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 2 เท่ากับ 7.78 ± 0.17 ถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 เท่ากับ 7.87 ± 0.24 และถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 4 เท่ากับ 7.87 ± 0.26 ซึ่งค่าพีเอชของการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือพีเอชของน้ำทิ้งออกจากระบบมีค่ามากกว่าพีเอชของน้ำเสียเข้าระบบโดยมีค่าประมาณ $7.78 - 7.87$ แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ค่าพีเอชที่วัดได้มีค่าสูงกว่าค่าพีเอชที่จุลินทรีย์ต้องการนั้น แต่ Hulshoff และคณะ, 1986 ได้กล่าวไว้ว่าพีเอชของน้ำเสียในช่วง 6.5 - 7.8 ก็ยังเหมาะสมและไม่ทำให้ระบบล้มเหลว โดยระบุว่าค่าพีเอชไม่ใช่พารามิเตอร์เพียงอย่างเดียวที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของระบบได้แต่การควบคุมค่าพีเอชยังเป็นสิ่งจำเป็น เช่น เมื่อเกิดการเสียสมดุลระหว่างแบคทีเรียที่ผลิตกรดกับแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลงมาก ระบบจะด้อยประสิทธิภาพหรือล้มเหลวได้ ดังนั้นค่าพีเอชยังคงใช้ในการควบคุมการทำงานและตรวจสอบระบบร่วมกับพารามิเตอร์อื่น

4.3.3 ไออาร์พี

ค่าไออาร์พีที่ลดการทดลองจากผลการทดลองของชฎานิสาน บุญปกครอง, 2553 ซึ่งค่าเฉลี่ยไออาร์พีของถังปฏิกรณ์ทั้ง 4 มีค่าใกล้เคียงกันประมาณ -366 ถึง -371 มิลลิโวลต์ดังตารางที่ 4.5 โดยในถังปฏิกรณ์ในระบบบำบัดแบบไร้อากาศที่ทำงานได้ดีต้องมีค่าไออาร์พีอยู่ในช่วง -300 ถึง -500 มิลลิโวลต์ (มันสิน ตันทุลเวศม์, 2542) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนและอยู่ในช่วงที่ระบบสามารถบำบัดชีโอดีได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4.5 ค่าไออาร์พีของน้ำออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ไฮโดรไลติก-เมทาโนเจนิก (ชฎานิสาน บุญปกครอง, 2553)

ไออาร์พี(มิลลิโวลต์)			
น้ำออกจากระบบ			
ถังปฏิกรณ์ที่ 1	ถังปฏิกรณ์ที่ 2	ถังปฏิกรณ์ที่ 3	ถังปฏิกรณ์ที่ 4
-300 ถึง -470.4	-300 ถึง -471.8	-301.6 ถึง -432.7	-300 ถึง -440.1
(-368.28±41.26)	(-366.81±39.56)	(-371.16±33.73)	(-370.90±33.79)

หมายเหตุ ค่าในวงเล็บคือค่าเฉลี่ยลดการทดลอง

4.4 สมรรถนะของระบบ

4.4.1 ซีไอดีและประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี

เมื่อต้องการประเมินความสามารถของระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปสามารถพิจารณาได้จากค่าซีไอดีและประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีซึ่งงานวิจัยนี้ในช่วงแรกของการเดินระบบเริ่มสร้างความคุ้นเคยให้แก่จุลินทรีย์โดยความเข้มข้นซีไอดีเข้าระบบเริ่มต้น 500 มก./ล.แล้วปรับเพิ่มความเข้มข้นซีไอดีจนกระทั่งความเข้มข้นซีไอดีเท่ากับ 3,500 มก./ล.ตั้งแต่วันที่ 118 และเพิ่มความเข้มข้นซีไอดีเข้าระบบคงที่ 3,500 มก./ล.จนถึงวันที่ 132 โดยจัดระบบให้ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 ม./ชม. แก่ถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1 และ 2 และความเร็วไหลขึ้นคงที่ 4 ม./ชม. แก่ถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 และ 4 และเปลี่ยนภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน จากผลการทดลองของชฎานิศานา บุญปกครอง, 2553 พบว่าที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 เท่ากับ 5,042 มก./ล. ซึ่งใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 คือ 5,066 มก./ล. ในส่วนของค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำทิ้งออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 1,988, 1,967, 1,788 และ 1,773 มก./ล. ตามลำดับ ทั้งนี้คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ได้แก่ 60.60, 61.00, 64.70 และ 65.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค่าเฉลี่ย ซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1 และ 2 เท่ากับ 10,087 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 และ 4 คือ 10,070 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำทิ้งออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 3,621, 3,690 3,206 และ 3,114 มก./ล. ตามลำดับ และคิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับดังนี้ 64.10, 63.30, 68.20 และ 69.30 เปอร์เซ็นต์ ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1 และ 2 เท่ากับ 15,120 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 และ 4 คือ 15,088 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำทิ้งออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 5,806, 5,927, 5,160 และ 5,054 มก./ล. ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 61.60, 60.80, 65.80 และ 66.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1 และ 2 เท่ากับ 20,083 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำเสียเข้าระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 3 และ 4 คือ 20,175 มก./ล. ค่าเฉลี่ยซีไอดีของน้ำทิ้งออกจากระบบของถังปฏิกรณ์ไบโอที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 11,347, 11,414, 10,873 และ 10,918 มก./ล. ตามลำดับ

คิดประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีของถังปฏิกรณ์ใบที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 56.50, 56.20, 60.90 และ 61.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยซีโอดีเฉลี่ยตลอดการทดลองของถังปฏิกรณ์ที่ 1-4 แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่าซีโอดีเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง (ชญาณิศา บุญปกครอง, 2553)

ภาวะ บรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	ซีโอดี(มก./ล.)			ซีโอดี(มก./ล.)		
	ถังปฏิกรณ์ที่			ถังปฏิกรณ์ที่		
	น้ำเข้า	1	2	น้ำเข้า	3	4
10	5,042	1,988	1,967	5,066	1,788	1,773
20	10,087	3,621	3,690	10,070	3,206	3,114
30	15,120	5,806	5,927	15,088	5,160	5,054
40	20,083	11,347	11,414	20,175	10,873	10,918
ภาวะ บรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.		
	ซีโอดี(มก./ล.)			ซีโอดี(มก./ล.)		
	ถังปฏิกรณ์ที่			ถังปฏิกรณ์ที่		
	น้ำเข้า	1	2	น้ำเข้า	3	4
40	20,183	9,950	10,468	20,198	11,440	11,160

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

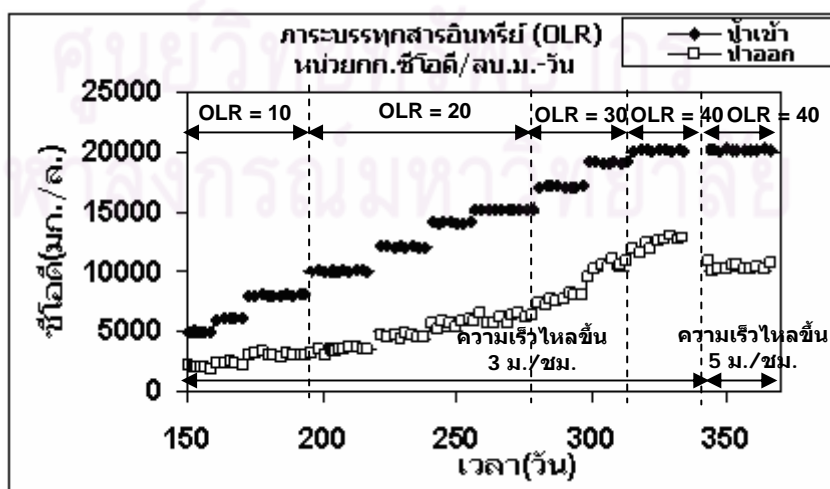
ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.	
	ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี(เปอร์เซ็นต์)		ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี(เปอร์เซ็นต์)	
	ถึงปฏิกรณ์ที่		ถึงปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
10	60.60±1.39	61.00±1.52	64.71±1.70	65.00±1.91
20	64.10±2.02	63.30±2.15	68.20±1.80	69.30±2.19
30	61.60±2.22	60.80±1.47	65.80±1.03	66.50±1.35
40	56.50±2.65	56.20±2.52	60.90±1.48	61.10±1.55
ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.	
	ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี(เปอร์เซ็นต์)		ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี(เปอร์เซ็นต์)	
	ถึงปฏิกรณ์ที่		ถึงปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
40	63.70±1.34	63.10±1.81	58.40±1.43	59.80±1.67

จากตารางที่ 4.7 เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเมื่อน้ำเสียผ่านระบบแล้วปรากฏว่าที่อัตราภาระสารอินทรีย์ 10 - 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อความเร็วไหลขึ้นคงที่มีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยอยู่ในช่วง 60.60±1.39 ถึง 69.30±2.19 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าระบบอีจีเอสบีมีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์สูงได้แต่เมื่อเพิ่มอัตราภาระสารอินทรีย์เท่ากับ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยอยู่ในช่วง 56.20±2.52 ถึง 61.10±1.55 เปอร์เซ็นต์ เป็นเพราะว่ามีปริมาณสารอินทรีย์เข้าระบบมากเกินไปจนทำให้อัตราส่วน F/M มากขึ้นจนเกินความต้องการของแบคทีเรียที่มีอยู่ในระบบทำให้แบคทีเรียย่อยสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้เพียงบางส่วนด้วยเหตุนี้ จึงทำให้สารอินทรีย์ในน้ำออกเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซีโอดีน้ำเสียเข้าระบบจึงส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียต่ำลง

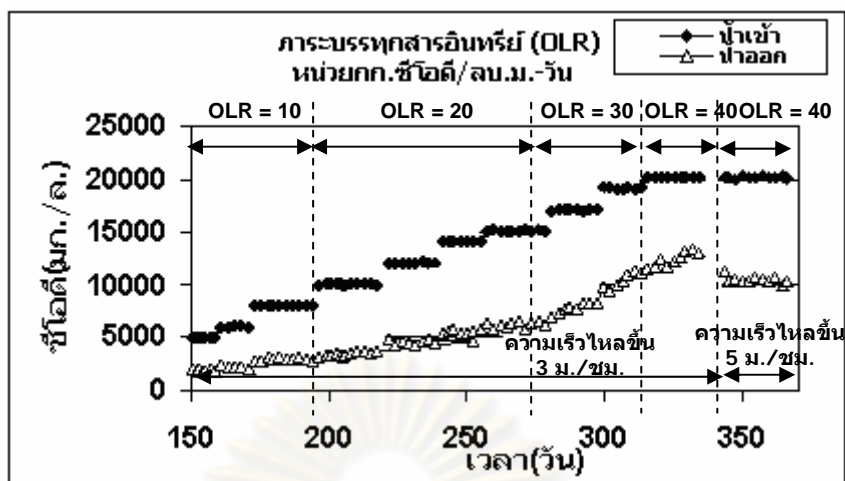
เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วันคงที่แก่ถึงปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 เป็น 5 ม./ชม. และ 6 ม./ชม.แก่ถึงปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 ค่าเฉลี่ยซีโอดีของน้ำเสียเข้าระบบและน้ำทิ้งออกจากระบบของถึงปฏิกรณ์ที่ 1 - 4 แสดงดังตารางที่ 4.7

จากตารางที่ 4.7 ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีของระบบมีค่าสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นช่วง 3 ม./ชม.ถึง 5 ม./ชม.ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน คงที่กล่าวคือ เปอร์เซ็นต์การบำบัดซีโอดีของระบบอยู่ในช่วง 56.20 ± 2.52 ถึง 63.70 ± 1.34 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องมาจากการเวียนน้ำกลับถือเป็นการเจือจางความเข้มข้นซีโอดีของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบทำให้เปอร์เซ็นต์การบำบัดซีโอดีของระบบมีค่าเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเท่ากับ 6 ม./ชม.พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีของระบบมีค่าน้อยกว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. กล่าวคือ ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.เปอร์เซ็นต์การบำบัดซีโอดีอยู่ในช่วง 58.40 ± 1.43 ถึง 59.80 ± 1.67 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. เปอร์เซ็นต์การบำบัดซีโอดีเฉลี่ย 63.40 ± 1.58 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากค่าความเร็วไหลขึ้นที่สูงมากเกินไประบบจะหมุนเวียนกรดไขมันระเหยและซีโอดีที่ยังย่อยสลายไม่หมดในน้ำที่กลับมาใหม่เป็นการเพิ่มภาระให้ระบบ (Romli และคณะ, 1994) ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.มีค่าต่ำกว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. โดยภาพรวมของค่าซีโอดีน้ำเสียเข้าและซีโอดีน้ำทิ้งออกจากระบบตลอดการทดลองทั้งหมดแสดงดังภาพที่ 4.3-4.6

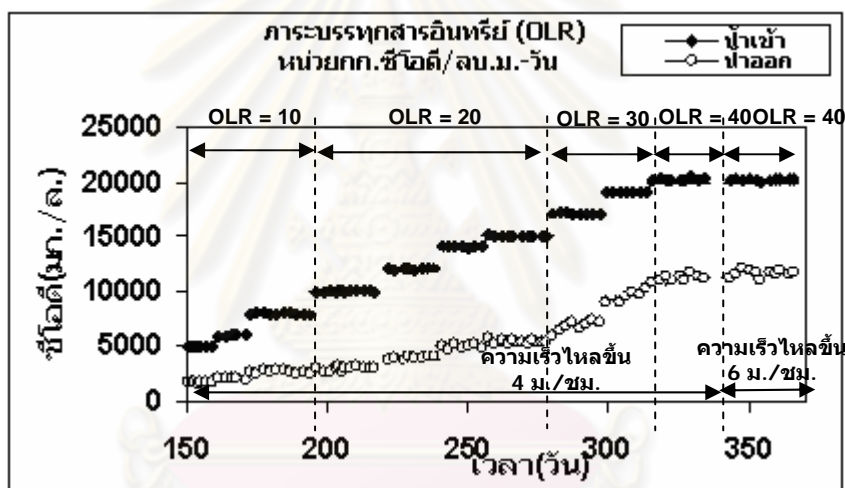
จากงานวิจัยนี้พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีตลอดการทดลองอยู่ในช่วง 56.20 – 69.30 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยของพัชรินทร์ นันทิวาวัฒน์, 2546 ศึกษาประสิทธิภาพของระบบอ็อกซิเจนในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสุราที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 5, 10 และ 15 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเฉลี่ย 50, 51 และ 53 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ



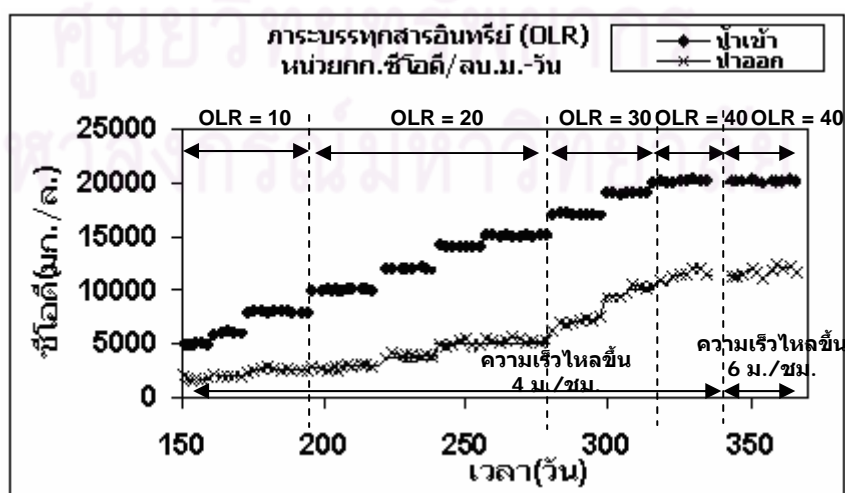
ภาพที่ 4.3 ภาพรวมค่าซีโอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.4 ภาพรวมค่าซีโอดีของถังปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.5 ภาพรวมค่าซีโอดีถังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.6 ภาพรวมค่าซีโอดีถังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง

4.4.2 ก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพที่เกิดจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศนั้นเป็นผลผลิตที่มาจากกาวย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียซึ่งก๊าซชีวภาพส่วนใหญ่ประกอบด้วยก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซอื่น ๆ จากผลการทดลองของชฎานิศา บุญปกครอง, 2553 พบว่าที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เมื่ออัตราการสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ระบบมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพที่สูงขึ้นตามลำดับ โดยที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยของถังปฏิกรณ์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 49.66, 49.80, 54.00 และ 54.63 ลิตร/วัน และมีเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน 52.30, 52.50, 53.50 และ 53.80 ตามลำดับ อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (วิธีคำนวณอยู่ในภาคผนวก ข) คิดเป็น 0.25 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด สำหรับถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 คิดเป็น 0.26 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด

ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยของถังปฏิกรณ์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 116.82, 116.31, 130.79 และ 131.37 ลิตร/วันและมีเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน 54.30, 54.00, 55.10 และ 55.60 ตามลำดับ และมีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนซึ่งคิดเป็น 0.29 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด สำหรับถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 คิดเป็น 0.31 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยของถังปฏิกรณ์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 165.90, 170.85, 187.47 และ 187.02 ลิตร/วัน และมีเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน 55.40, 55.00, 56.00 และ 56.50 ตามลำดับ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คิดอัตราการผลิตก๊าซมีเทนได้เท่ากับ 0.29 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 คิดเป็น 0.31 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยของถังปฏิกรณ์ที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 163.85, 162.50, 188.36 และ 187.55 ลิตร/วันและมีเปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทน 49.30, 49.00, 51.30 และ 51.00 ตามลำดับ ถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คิดอัตราการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 0.27 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 คิดเป็น 0.29 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ผลการทดลองแสดงที่ตาราง 4.8

ตารางที่ 4.8 ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง (ชฎานิสดา บุญปกครอง, 2553)

ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ย (ลิตร/วัน)		ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ย (ลิตร/วัน)	
	ถึงปฏิกรณ์ที่		ถึงปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
10	49.66±4.06	49.80±3.67	54.00±5.99	54.63±6.28
20	116.82±11.48	116.31±11.83	130.79±8.90	131.37±8.47
30	165.90±3.52	170.85±4.26	187.47±5.42	187.02±5.25
40	163.85±8.62	162.50±8.68	188.36±7.49	187.55±7.35
ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ย (ลิตร/วัน)		ปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ย (ลิตร/วัน)	
	ถึงปฏิกรณ์ที่		ถึงปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
40	210.85±9.29	211.22±9.10	206.94±2.45	206.48±2.46

ก๊าซชีวภาพนั้นเป็นผลมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ซึ่งความสามารถของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายอินทรีย์ที่สูงนั้น ในระบบย่อยต้องมีปริมาณอาหารที่สูงจึงจะทำให้ได้ปริมาณก๊าซชีวภาพที่สูงขึ้น โดยมีช่วงที่หยุดเดินระบบมาจากเหตุการณ์ความไม่สงบในกรุงเทพฯ ในช่วงวันที่ 336 – 353 และตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 อัตราการผลิตก๊าซมีเทนตลอดระยะเวลาการทดลอง (ชฎานิสดา บุญปกครอง, 2553)
(วิธีคำนวณอยู่ในภาคผนวก ข)

ภาวะบรรทุก สารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.	
	อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)		อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	
	ถึงปฏิกรณ์ที่		ถึงปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
10	0.25	0.25	0.26	0.26
20	0.29	0.29	0.31	0.31
30	0.29	0.29	0.31	0.31
40	0.27	0.27	0.29	0.29

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) อัตราการผลิตก๊าซมีเทนตลอดระยะเวลาการทดลอง (ชดวนิศา บุญปกครอง, 2553) (วิธีคำนวณอยู่ในภาคผนวก ข)

ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)	ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.		ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.	
	อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)		อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	
	ถังปฏิกรณ์ที่		ถังปฏิกรณ์ที่	
	1	2	3	4
40	0.32	0.32	0.33	0.33

เมื่อพิจารณาจากปริมาณก๊าซชีวภาพดังภาพที่ 4.7-4.10 เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนและอัตราการผลิตก๊าซมีเทน จะเห็นได้ว่าที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เมื่อภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นระบบมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพสูงขึ้นตามลำดับ คือ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เท่ากับ 10, 20 และ 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน มีปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยอยู่ในช่วง 49.66 ± 4.06 ถึง 187.47 ± 5.42 ลิตร/วัน ซึ่งระบบมีค่าสอดคล้องกับผลการทดลองในช่วงภาวะสารอินทรีย์ 10 -30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยอยู่ในช่วง 60.60 ± 1.39 ถึง 69.30 ± 2.19 เปอร์เซ็นต์ อัตราการผลิตก๊าซมีเทนอยู่ในช่วง 0.25 ถึง 0.31 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ดังนั้นเมื่ออัตราการสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น 10 ถึง 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ระบบมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพและอัตราการผลิตก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้นดังกล่าว

แต่อย่างไรก็ตามที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่าปริมาณก๊าซชีวภาพโดยเฉลี่ยในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คือ 163.85 ± 8.62 และ 162.50 ± 8.68 ลิตร/วัน ซึ่งน้อยลงจากที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน คือ 165.90 ± 3.52 และ 170.85 ± 4.26 ลิตร/วัน แต่ในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 ในช่วงเพิ่มภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 ถึง 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน มีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพโดยเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ที่อยู่ในช่วง 187.02 ± 5.25 ถึง 188.36 ± 7.49 ลิตร/วัน และที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตก๊าซมีเทนในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 พบว่ามีค่า 0.27 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 มีอัตราการผลิตก๊าซมีเทน 0.29 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด โดยมีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนลดลงจากที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ซึ่งถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 พบว่ามีค่า 0.29 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 มีอัตราการผลิตก๊าซมีเทน 0.31 ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัดซึ่งสอดคล้องกับผลประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีที่มีค่าลดลงในช่วง

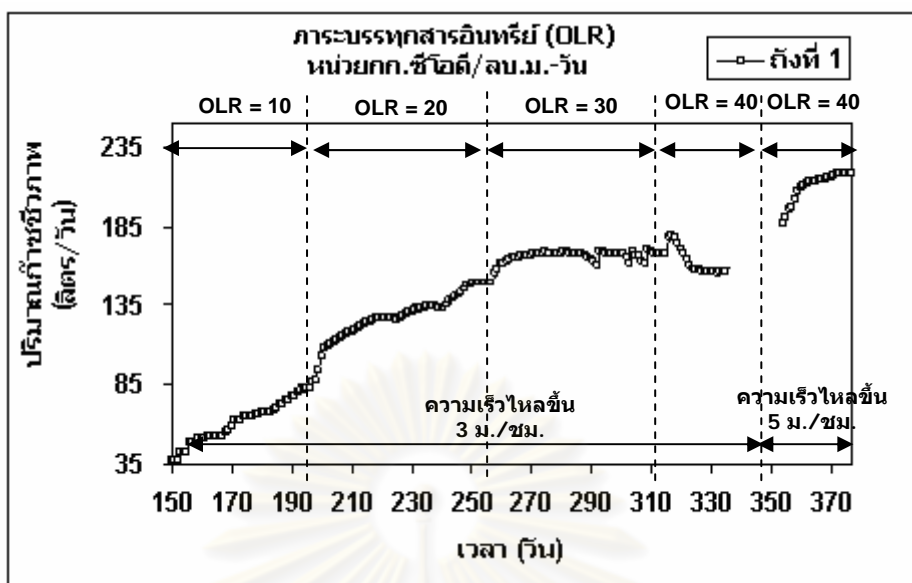
นี้ทำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ในปริมาณน้อยลงที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน

เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นจาก 3 ม./ชม.เป็น 5 ม./ชม.ให้กับถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ในส่วนของถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 เพิ่มความเร็วไหลขึ้นจาก 4 ม./ชม.เป็น 6 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วันคงที่ พบว่าระบบมีปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อความเร็วไหลขึ้นเพิ่มขึ้นและมีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.27 ถึง 0.33 ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด โดยเมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นตั้งแต่ 3 ม./ชม. ถึง 5 ม./ชม. พบว่าระบบมีปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยอยู่ในช่วง 162.50 ± 8.68 ถึง 211.22 ± 9.10 ลิตร/วัน เนื่องจากการเวียนน้ำกลับเป็นการเพิ่มภาวะให้กับระบบมากขึ้นทำให้จุลินทรีย์มีการบำบัดน้ำเสียต่อวันเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณก๊าซชีวภาพเกิดมากซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีที่เพิ่มขึ้นในช่วงนี้เช่นกัน

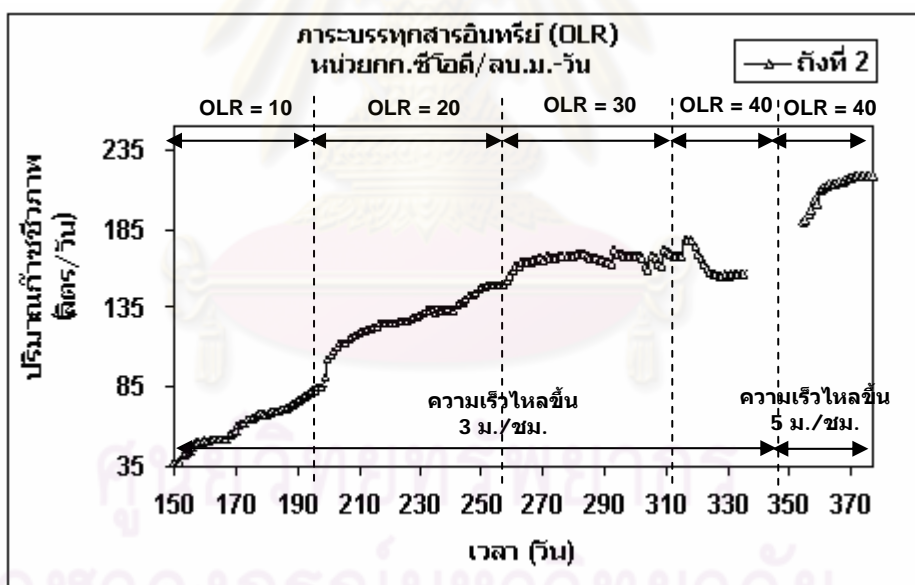
แต่เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 6 ม./ชม. ระบบมีปริมาณก๊าซชีวภาพเฉลี่ยเท่ากับ 206.71 ± 2.46 ลิตร/วัน จะเห็นได้ว่าอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. ทั้งนี้การเพิ่มความเร็วไหลขึ้นที่มากเกินไปอาจเริ่มส่งผลเสียต่อระบบเนื่องจากจะหมุนเวียนกรดไขมันระเหยและซีไอดีที่ยังย่อยสลายไม่หมดในน้ำที่กลับมาใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในเรื่องประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีที่ค่าความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. มีประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีลดลงจากที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.เช่นเดียวกัน

จากตารางที่ 4.9 การคำนวณทางทฤษฎี (วิธีคำนวณในภาคผนวก ข) ค่ามีเทนยี่ลด์ประมาณ 0.37 ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด ดังนั้นค่ามีเทนยี่ลด์จากการทดลองจึงมีความใกล้เคียงกับค่ามีเทนยี่ลด์ทางทฤษฎี นอกจากนี้ยังใกล้เคียงกับค่ามีเทนยี่ลด์จากการใช้ระบบยูเอเอสบีแบบมีถังสร้างกรดในการบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตเอทานอลจากกากสาซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.24 – 0.31 ลิตร/กรัมของซีไอดีที่ถูกกำจัด (ฤทธิชัย รัตนมุกดา, 2552)

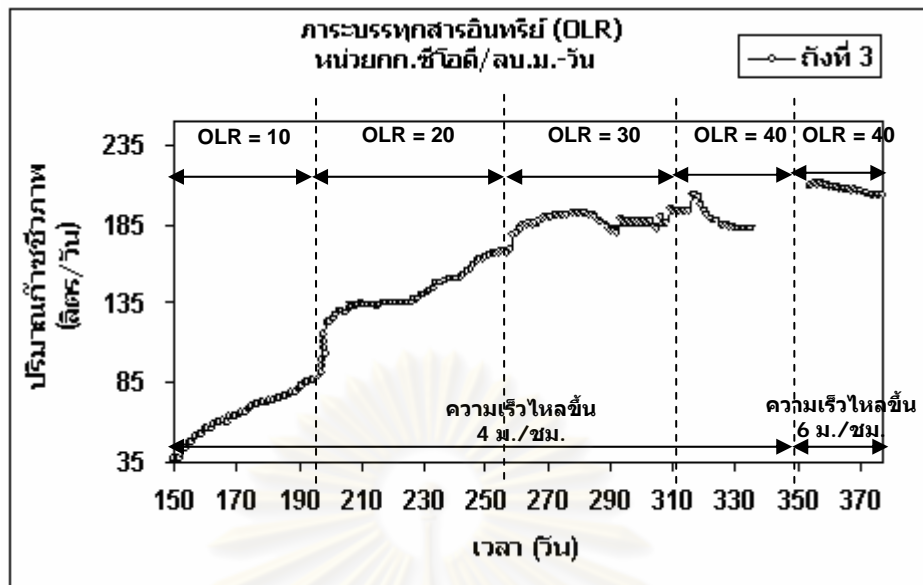
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



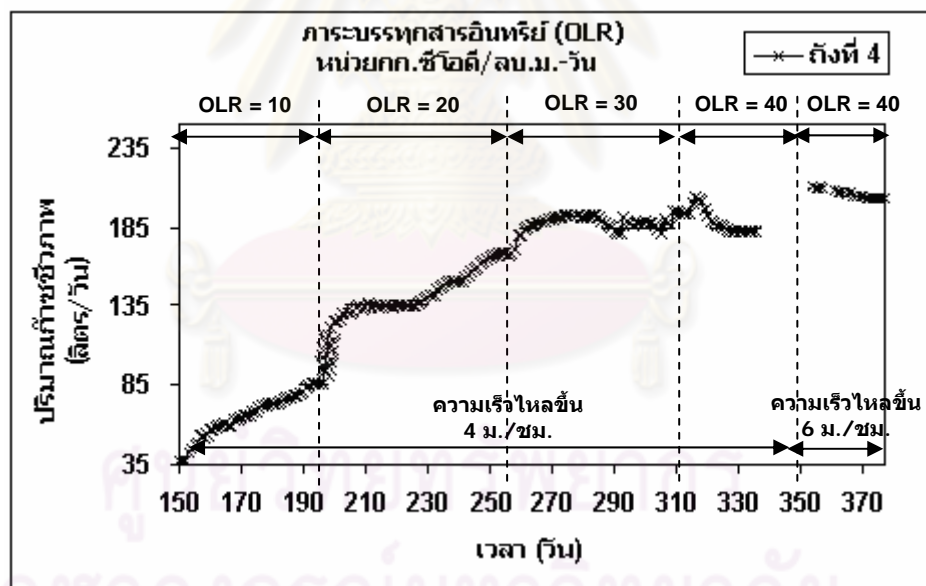
ภาพที่ 4.7 ปริมาณก๊าซชีวภาพถึงปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.8 ปริมาณก๊าซชีวภาพถึงปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.9 ปริมาณก๊าซชีวภาพดังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.10 ปริมาณก๊าซชีวภาพดังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง

4.4.3 ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์

ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทน (Specific Methanogenic Activity : SMA) เป็นค่าที่ชี้วัดว่าเมื่อดตะกอนในระบบมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์มากน้อยเพียงใดโดยในการทดลองนี้ทำการหาค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ตามความสูงของถังปฏิกรณ์ที่ระยะต่าง ๆ คือ จากก้นถังปฏิกรณ์ที่ความสูง 0.5 ม. 1.0 ม. และ 1.5 ม. แบ่งการทดลองเป็น 2 ช่วง โดยช่วงที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคองที่ 3 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคองที่ 4 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ คือ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน และช่วงที่ 2 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน แต่เพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 5 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 และ 6 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 โดยทำการทดลองช่วงสิ้นสุดการทดลองในแต่ละอัตราภาวะสารอินทรีย์ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ (ชญาณิศา บุญปกครอง, 2553)

ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอน (กรัมซีไอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน) ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.						ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอน (กรัมซีไอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน) ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.					
	ถังปฏิกรณ์ที่ 1			ถังปฏิกรณ์ที่ 2			ถังปฏิกรณ์ที่ 3			ถังปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)		
	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5
Start up	0.126	0.103	-	0.118	0.112	-	0.120	0.106	-	0.100	0.120	-
10	0.255	0.206	0.180	0.252	0.207	0.185	0.272	0.221	0.184	0.267	0.219	0.192
20	0.338	0.291	0.263	0.315	0.282	0.250	0.317	0.285	0.252	0.340	0.301	0.268
30	0.347	0.305	0.266	0.339	0.312	0.263	0.342	0.314	0.265	0.349	0.308	0.270
40	0.341	0.301	0.259	0.330	0.310	0.261	0.338	0.312	0.262	0.343	0.305	0.261
ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอน (กรัมซีไอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน) ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.						ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอน (กรัมซีไอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน) ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.					
	ถังปฏิกรณ์ที่ 1			ถังปฏิกรณ์ที่ 2			ถังปฏิกรณ์ที่ 3			ถังปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)			ที่ความสูง (ม.)		
	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5	0.5	1.0	1.5
40	0.350	0.308	0.262	0.366	0.335	0.273	0.345	0.331	0.276	0.347	0.307	0.262

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้วัดค่าเพราะชั้นตะกอนขยายตัวไม่ถึง

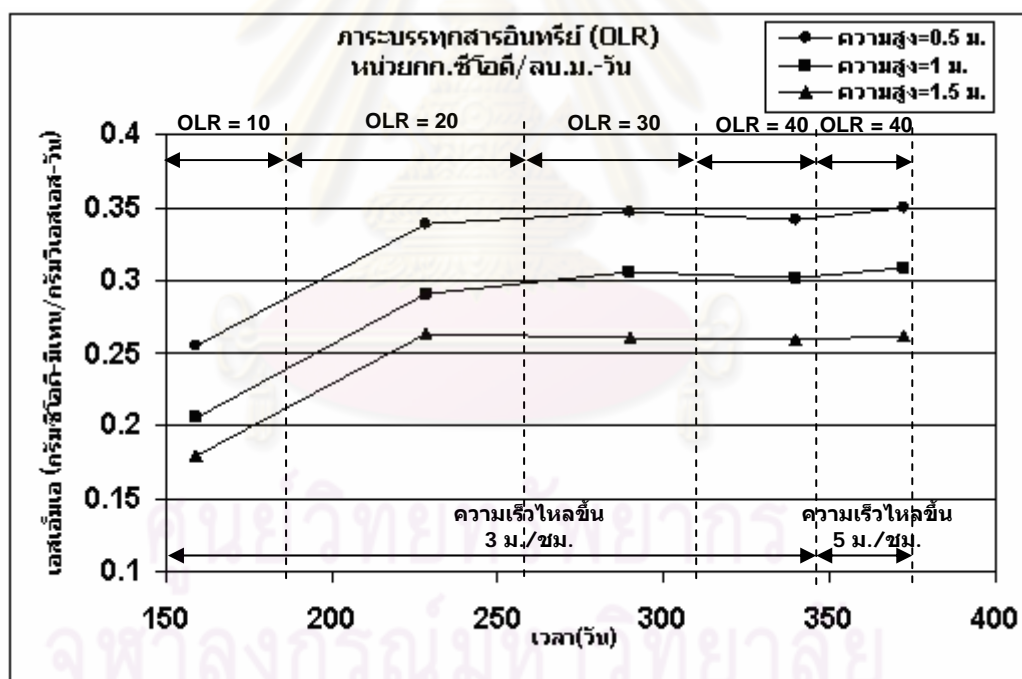
จากผลการทดลอง เมื่อพิจารณาภาพที่ 4.11 - 4.14 พบว่าที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์มากขึ้น ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20 และ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค่าความสามารถจำเพาะของ

เมื่อดตะกอนจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจะเห็นว่าในช่วงแรกนั้นถึงแม้ว่าตอนเริ่มเดินระบบมีค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์น้อยอาจเป็นเพราะว่าจุลินทรีย์ในระบบกำลังปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมภายในถังปฏิกรณ์ส่งผลให้อัตราการสร้างก๊าซมีเทนอาจยังไม่สูงมาก จนกระทั่งมีค่าสูงที่สุดที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการผลิตก๊าซมีเทนและปริมาณก๊าซชีวภาพของระบบ เมื่อเพิ่มภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เป็น 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ความเร็วไหลขึ้นคั่งที่ พบว่า ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนต่ำลง อาจเป็นเพราะจุลินทรีย์มีปฏิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้น้อยลงซึ่งสอดคล้องกับปริมาณก๊าซชีวภาพและอัตราการผลิตก๊าซมีเทนของระบบซึ่งลดลงเช่นเดียวกัน รวมทั้งน้ำเสียอาจมีปริมาณกรดไขมันระเหยจากผลการทดลองของชฎานิศา บุญปกครอง, 2553 มีค่าอยู่ในช่วง 979 – 1,089 มก./ล. (ในเทอมของกรดอะซิติก) ซึ่งปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายที่สูงนี้อาจจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทนลดลงเพราะปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 50 - 500 มก./ล. (ในเทอมของกรดอะซิติก) (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2547)

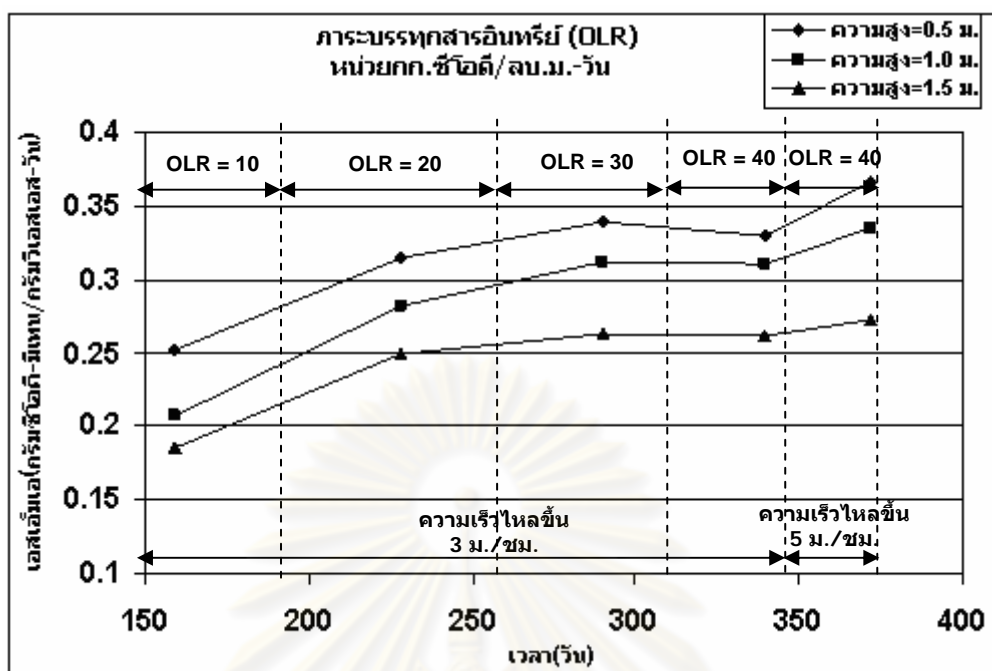
จากตารางที่ 4.10 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์คงที่ คือ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นจาก 3 ม./ชม.เป็น 5 ม./ชม.ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ในส่วนของถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 เพิ่มความเร็วไหลขึ้นจาก 4 ม./ชม.เป็น 6 ม./ชม. พบว่าค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอน จุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเร็วไหลขึ้นเพิ่มขึ้น แสดงว่าในช่วงนี้การเพิ่มความเร็วไหลขึ้นส่งผลให้ชั้นตะกอนขยายตัวเพียงพอและเปิดโอกาสให้จุลินทรีย์สัมผัสกับน้ำเสียจนเกิดการถ่ายเทสารอาหารเข้าสู่ภายในเมื่อดตะกอนได้อย่างทั่วถึง จึงทำให้ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงนี้มีค่าสูงขึ้น แต่ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. เนื่องจากอัตราการเวียนน้ำกลับที่มากเกินไปเป็นการหมุนเวียนกรดไขมันระเหยง่ายและสารอินทรีย์ที่ยังย่อยสลายไม่หมดในน้ำทิ้งกลับมาใหม่ซึ่งเป็นการเพิ่มภาระให้กับระบบมากขึ้น จนทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ จึงทำให้ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงนี้ลดลง

ค่าความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์จากการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 0.1 – 0.366 กรัมซีโอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส – วัน ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าข้อมูลของ Gonzalez-Gil และคณะ, 2001 มีค่าในช่วง 0.3 -0.6 กรัมซีโอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส – วัน ซึ่งนำเมื่อดตะกอนมาจากโรงงานกลั่นสุราและได้กล่าวไว้ว่าการลดลงของค่าความสามารถจำเพาะในการผลิตมีเทน คือ จุลินทรีย์ผลิตมีเทนได้ลดลงซึ่งอาจเป็นสัญญาณที่บ่งบอกว่าระบบกำลังล้มเหลว (สุวรรณา ขจรไพศาล, 2548 อ้างถึงใน Gonzalez-Gil และคณะ, 2001) เมื่อพิจารณาตามความ

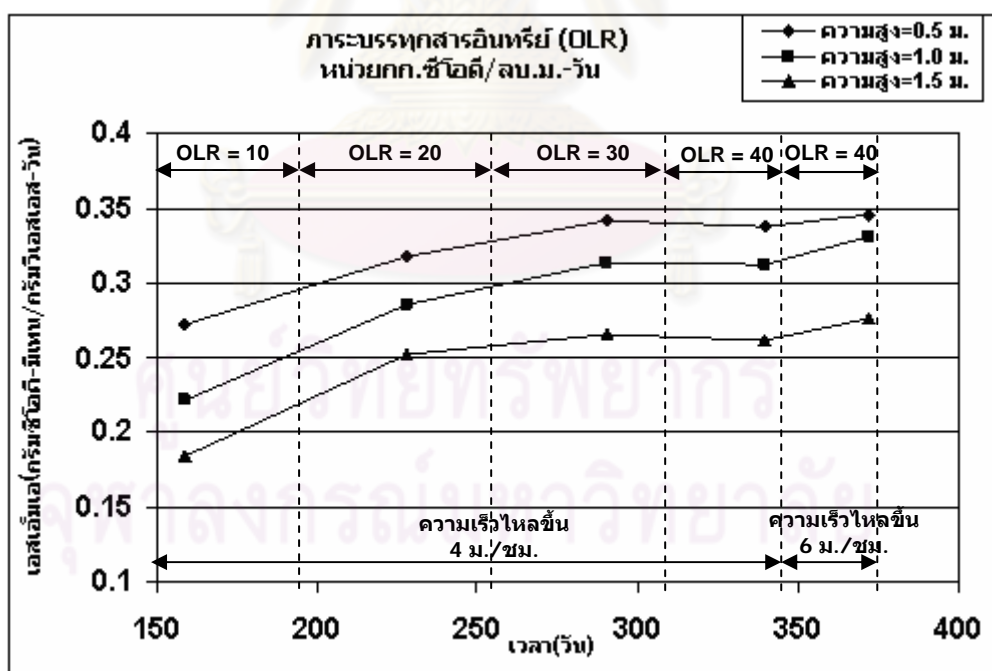
สูงของถังปฏิกรณ์จากภาพที่ 4.11 - 4.14 ปรากฏว่าที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ และในถังปฏิกรณ์ทุกใบ จะมีค่าความสามารถจำเพาะของตะกอนจุลินทรีย์สูงสุดที่ระดับความสูง 0.5 ม. จากกันถังปฏิกรณ์ เพราะการป้อนน้ำเสียเข้าระบบจะป้อนจากด้านล่างของถังปฏิกรณ์ส่งผลให้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่อยู่ระดับล่างมีโอกาสสัมผัสกับสารอินทรีย์จากน้ำเสียเข้าระบบได้ก่อนเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่อยู่ระดับบนตามความสูงของถังปฏิกรณ์ และสามารถใช้อินทรีย์ในการย่อยสลายเป็นก๊าซมีเทนได้มากกว่าเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงอื่น ๆ จึงทำให้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูง 0.5 ม. มีค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ดีกว่าที่ความสูง 1.0 ม. และ 1.5 ม. ตามลำดับซึ่งค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์นี้จะลดลงตามระดับความสูงของถังปฏิกรณ์หมายความว่าที่ระดับความสูงมากค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์น้อยกว่าที่ระดับล่างของถังปฏิกรณ์



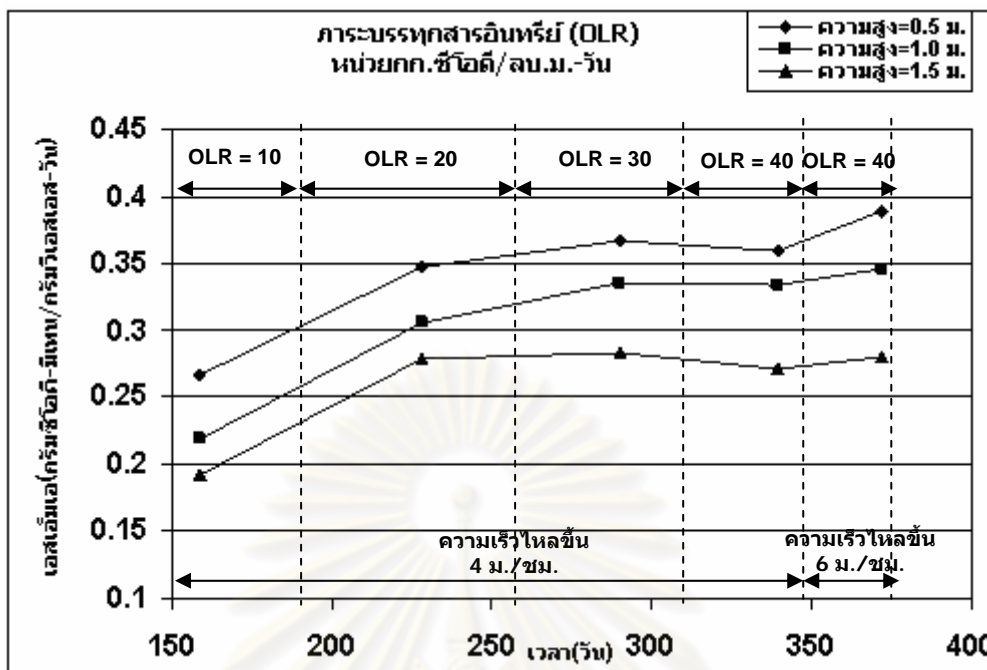
ภาพที่ 4.11 ค่าความสามารถจำเพาะเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่าง ๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 1 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.12 ค่าความสามารถจำเพาะเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่าง ๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 2 กับเวลา(วัน)ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.13 ค่าความสามารถจำเพาะเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่าง ๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 3 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.14 ค่าความสามารถจำเพาะเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ที่ความสูงต่าง ๆ ของถังปฏิกรณ์ที่ 4 กับเวลา (วัน) ตลอดการทดลอง

4.4.4 ขนาดเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์

งานวิจัยนี้ได้วัดการเปลี่ยนแปลงขนาดของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer โดยใช้โปรแกรม Hydro2004MU ซึ่งอาศัยหลักการวัดพื้นที่ผิวและปริมาตรของเมื่อดตะกอนด้วยระบบเซนเซอร์ที่แสงตกกระทบอนุภาคขณะที่เมื่อดตะกอนถูกดูดไหลผ่านเลนส์อนุภาคที่มีขนาดกลมหรือค่อนข้างกลมจะถูกวัดได้ค่าใกล้เคียงกับความเป็นจริง ข้อมูลขนาดของเมื่อดตะกอนเป็นการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงขนาดตั้งนั้นจึงได้เลือกค่าที่เป็นค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดโดยเลือกค่า D_{10} D_{50} และ D_{90} ซึ่งเป็นขนาดของเมื่อดตะกอนที่มีขนาดร้อยละ 10, 50 และ 90 ของเมื่อดตะกอนทั้งหมดตามลำดับ หากการเปลี่ยนแปลงค่า D ที่ร้อยละใด ๆ ลดลง แสดงว่ามีเมื่อดตะกอนที่มีขนาดเล็กในปริมาณสูงขึ้นหรือเมื่อดตะกอนขนาดใหญ่มีการแตกตัว ผลการเปลี่ยนแปลงขนาดเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ที่แสดงค่า D_{10} D_{50} และ D_{90} เฉลี่ยของถังปฏิกรณ์แต่ละการทดลองดังตารางที่ 4.11 - 4.16

ตารางที่ 4.11 ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์ช่วงเริ่มเดินระบบที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม.

การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	73.486	476.921	784.739	73.871	532.658	769.563
ที่ความสูง 1.0 ม.	64.712	334.657	654.320	63.489	440.290	601.398
ที่ความสูง 1.5 ม.	55.845	210.015	439.328	51.983	374.816	522.310
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	74.900	492.730	820.331	74.782	542.501	833.670
ที่ความสูง 1.0 ม.	65.595	362.001	735.300	64.391	428.560	740.387
ที่ความสูง 1.5 ม.	56.669	280.357	530.111	55.139	300.209	560.324

ตารางที่ 4.12 ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน
ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม.

การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	86.260	663.66	1,175.82	85.588	671.827	1,118.096
ที่ความสูง 1.0 ม.	59.330	570.31	1,134.52	73.546	576.443	1,092.500
ที่ความสูง 1.5 ม.	52.50	542.98	988.437	56.305	575.058	1,088.276
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจลนตรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	94.287	892.019	1,258.535	92.846	908.744	1,440.016
ที่ความสูง 1.0 ม.	85.491	688.513	1,169.314	81.953	824.273	1,265.518
ที่ความสูง 1.5 ม.	69.096	609.007	1,048.643	58.396	572.280	1,061.074

ตารางที่ 4.13 ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม.

การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	82.679	691.712	1,313.619	72.810	757.431	1,288.642
ที่ความสูง 1.0 ม.	54.204	642.582	1,253.816	63.249	631.383	1,134.046
ที่ความสูง 1.5 ม.	52.383	609.307	1,092.916	53.574	627.202	1,183.452
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	90.664	957.359	1,345.533	92.683	1,007.591	1,585.147
ที่ความสูง 1.0 ม.	84.183	737.386	1,265.276	85.515	923.000	1,417.586
ที่ความสูง 1.5 ม.	65.929	655.417	1,123.930	57.364	622.690	1,216.737

ตารางที่ 4.14 ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม.

การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	84.56	693.587	1,314.302	61.060	860.920	1,343.908
ที่ความสูง 1.0 ม.	50.409	687.919	1,136.376	53.298	673.525	1,287.230
ที่ความสูง 1.5 ม.	50.501	665.878	1,158.020	48.648	624.140	1,177.649
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	87.112	984.438	1,383.047	85.988	1,129.391	1,572.805
ที่ความสูง 1.0 ม.	80.919	759.662	1,271.278	85.235	953.899	1,486.00
ที่ความสูง 1.5 ม.	63.064	678.766	1,172.713	56.604	668.052	1,253.219

ตารางที่ 4.15 ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 และ 4 ม./ชม.

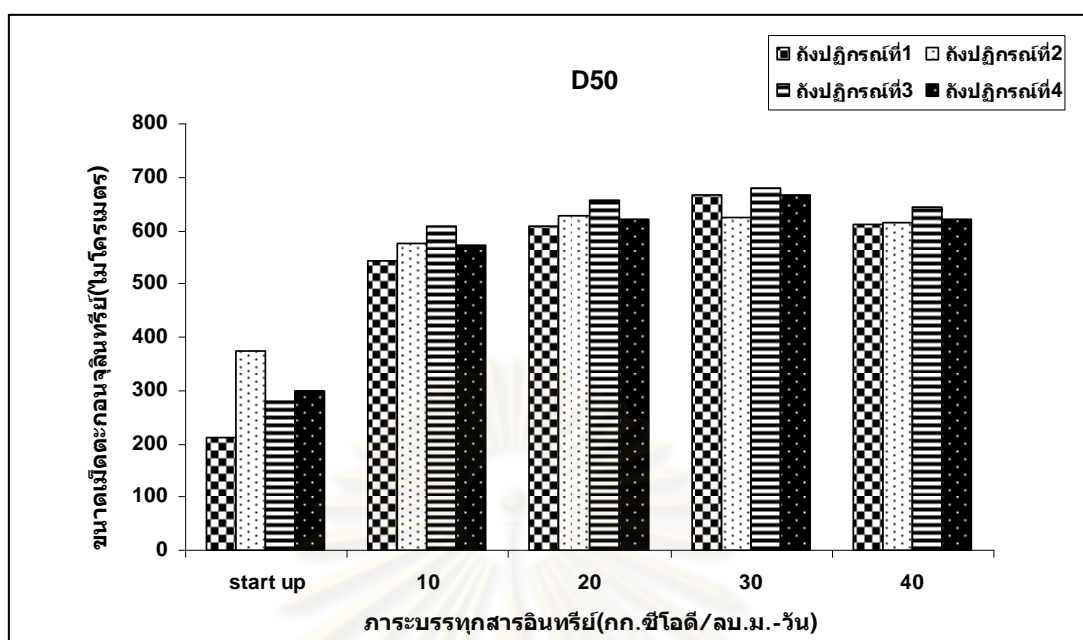
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	104.187	651.401	1,225.573	78.773	689.661	1,279.588
ที่ความสูง 1.0 ม.	54.995	634.535	1,216.212	69.901	665.412	1,265.064
ที่ความสูง 1.5 ม.	54.304	611.176	1,124.305	61.825	614.584	1,165.849
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	97.193	608.403	1,242.641	109.249	1,049.357	1,436.808
ที่ความสูง 1.0 ม.	90.130	728.546	1,362.000	110.338	872.207	1,381.836
ที่ความสูง 1.5 ม.	67.455	644.290	1,183.184	59.086	621.226	1,161.539

ตารางที่ 4.16 ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน
ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 และ 6 ม./ชม.

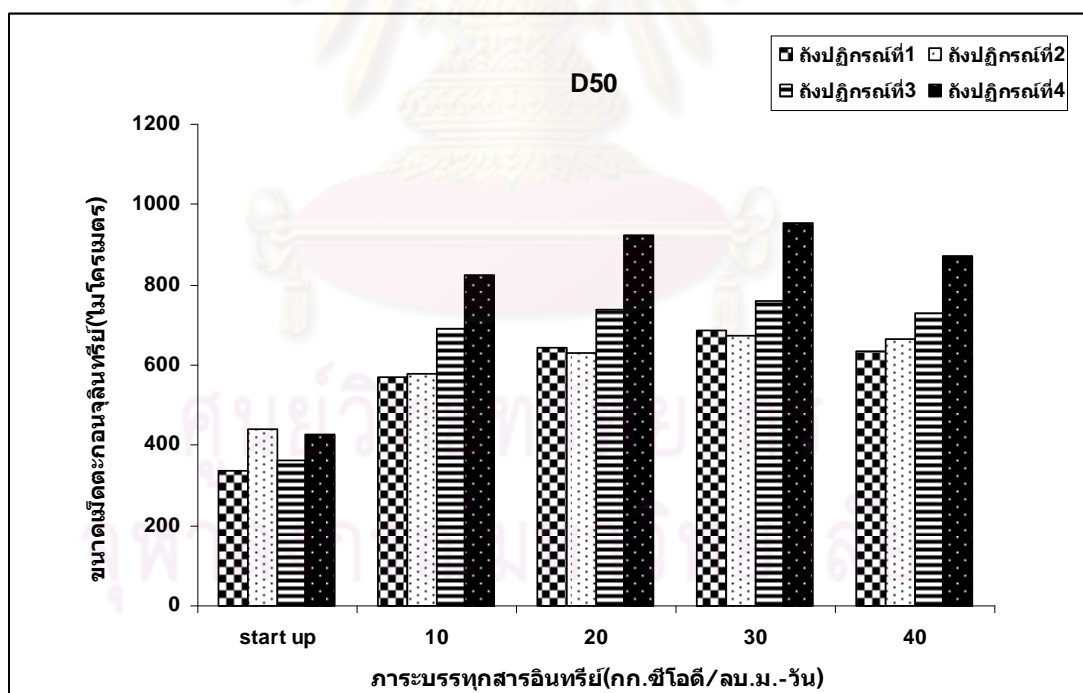
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 1			ถึงปฏิกรณ์ที่ 2		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	89.335	1,060.364	1,422.416	56.292	1,159.430	1,156.616
ที่ความสูง 1.0 ม.	47.681	885.598	1,395.78	58.417	845.622	1,395.000
ที่ความสูง 1.5 ม.	37.480	643.124	1,243.032	51.674	652.260	1,271.748
การวิเคราะห์	ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)			ขนาดเม็ดตะกอนจูลินทรีย์(ไมโครเมตร)		
	ถึงปฏิกรณ์ที่ 3			ถึงปฏิกรณ์ที่ 4		
	ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.			ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.		
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀
ที่ความสูง 0.5 ม.	95.801	995.753	1,414.580	120.749	967.230	1,379.930
ที่ความสูง 1.0 ม.	91.851	633.730	1,129.462	118.692	660.000	1,221.623
ที่ความสูง 1.5 ม.	69.633	528.253	1,044.289	64.217	539.372	1,089.000

จากภาพที่ 4.15 - 4.17 ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 10 -30 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน เม็ดตะกอนมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเทียบกับตอนเริ่มเดินระบบ โดยสังเกตจากค่า D_{10} มีค่าลดลงส่วนค่า D_{50} และ D_{90} มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแสดงว่าจุลินทรีย์ในระบบสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะในระบบได้ดีที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ค่า D_{50} และ D_{90} มีค่าลดลงแต่ถือได้ว่าเม็ดตะกอนส่วนใหญ่มีขนาดเล็กลงและเม็ดตะกอนอาจยังแตกตัวไม่มากนัก ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากน้ำเสียที่นำมาใช้ทดลองเป็นน้ำเสียจริง จึงเป็นไปได้ว่าความเป็นพิษที่เจือปนอยู่ในน้ำมีส่วนทำให้ขนาดของเม็ดตะกอนเล็กลงได้

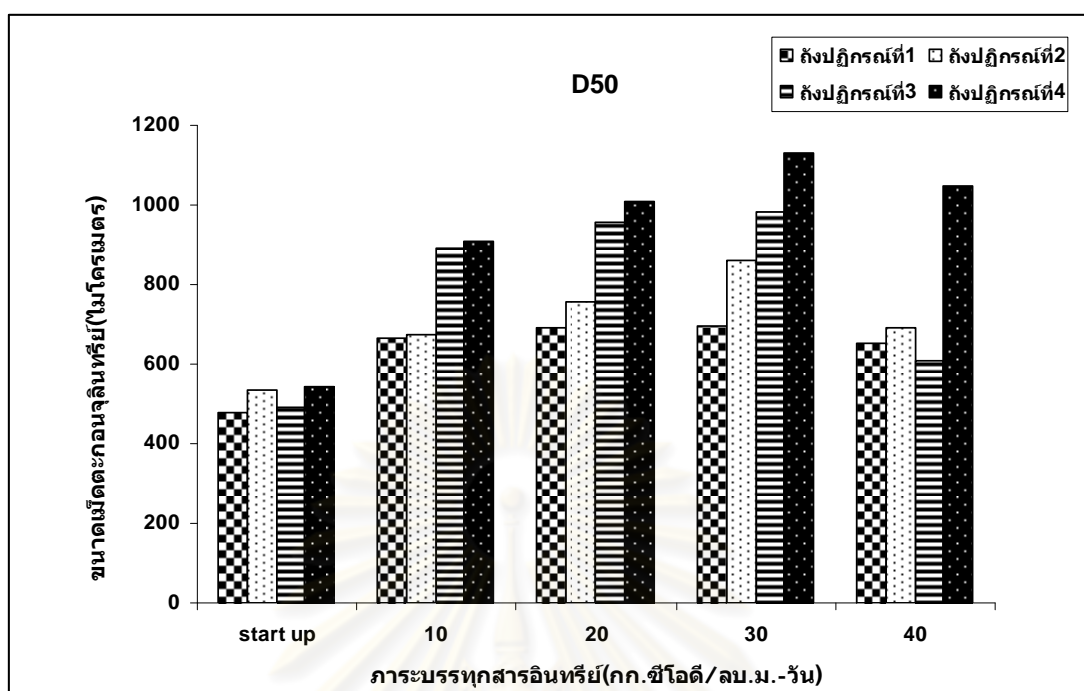
เมื่อภาวะบรรทุksารอินทรีย์คงที่ คือ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.- วัน และเปลี่ยนความเร็วไหลขึ้นของน้ำจาก 3 ม./ชม.เป็น 5 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 ปรากฏว่าค่า D_{50} และ D_{90} มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าเม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีขนาดใหญ่ขึ้น อาจเป็นเพราะความเร็วไหลขึ้นที่สูงนั้นช่วยเจือจางความเป็นพิษในน้ำเสียจึงทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารในน้ำเสียได้อย่างทั่วถึงมากขึ้นส่งผลให้เม็ดตะกอนมีขนาดใหญ่ขึ้นได้ในส่วนของถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นจาก 4 ม./ชม. เป็น 6 ม./ชม. พบว่าค่า D_{10} เพิ่มขึ้น เม็ดตะกอนมีแนวโน้มเล็กลง จากตารางที่ 4.15 และ 4.16 ค่า D_{10} ที่ความสูง 0.5, 1.0 และ 1.5 ม. ของถังปฏิกรณ์ที่ 3 ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. ตามลำดับดังนี้ 97.193, 90.130 และ 67.455 ไมโครเมตร และค่า D_{10} ที่ความสูง 0.5, 1.0 และ 1.5 ม. ของถังปฏิกรณ์ที่ 4 ตามลำดับดังนี้ 109.249, 110.338 และ 59.086 ไมโครเมตร เมื่อเปรียบเทียบกันในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 เดิม แต่ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ที่ความสูง 0.5, 1.0 และ 1.5 ม. ค่า D_{10} ของถังปฏิกรณ์ที่ 3 ตามลำดับดังนี้ 95.801, 91.851 และ 69.633 ไมโครเมตร ค่า D_{10} ของถังปฏิกรณ์ที่ 4 ตามลำดับดังนี้ 120.749, 118.692 และ 64.217 ไมโครเมตร เนื่องจากความเร็วไหลขึ้นที่สูงมากขึ้น อาจทำให้เม็ดตะกอนเกิดการเสียดสีกันจนทำให้มีขนาดเล็กลงได้ และพบว่าที่ระดับความสูง 0.5 ม. เม็ดตะกอนจะมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดตะกอนที่ระดับความสูง 1.0 ม. และ 1.5 ม. อาจเป็นเพราะเม็ดตะกอนที่ระดับต่ำได้รับความเข้มข้นของสารอาหารมากกว่าที่ระดับสูงซึ่งมีความเข้มข้นที่เจือจางกว่า ดังนั้นที่ระดับความสูง 0.5 ม.จึงมีขนาดเม็ดตะกอนใหญ่กว่า



ภาพที่ 4.15 ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 1.5 ม.จากกันถึงปฏิกรรกับการบรทุกสารอินทรีย์
ความเร็วไหลขึ้นคองที่ 3 และ 4 ม./ชม.



ภาพที่ 4.16 ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 1.0 ม.จากกันถึงปฏิกรรกับการบรทุกสารอินทรีย์
ความเร็วไหลขึ้นคองที่ 3 และ 4 ม./ชม.



ภาพที่ 4.17 ขนาดเม็ดตะกอนที่ระดับ 0.5 ม.จากกันถึงปฏิกรณ์กับภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 และ 4 ม./ชม.

4.5 การศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อิจีเอสบี

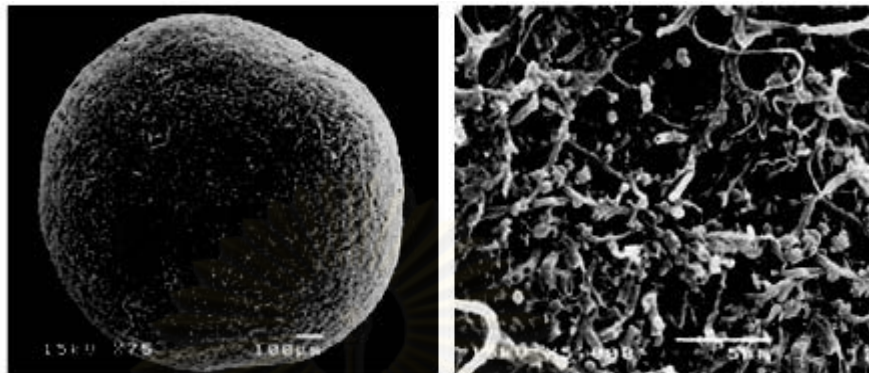
4.5.1 ลักษณะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

เม็ดตะกอนที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้นมีขนาด 1.0 – 4.0 มม. ลักษณะทางกายภาพของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีสีดำ ผิวเกลี้ยงและค่อนข้างกลม ที่ได้จากระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศจากบริษัทเสริมสุข จำกัด จากการตรวจสอบลักษณะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) โดยสุ่มเลือกเม็ดตะกอนตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของของ 2 ชุดการทดลอง คือ ถังปฏิกรณ์อิจีเอสบีชุดที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยถังปฏิกรณ์ที่ 1 และถังปฏิกรณ์ที่ 2 ในส่วนของถังปฏิกรณ์อิจีเอสบีชุดที่ 2 ได้แก่ ถังปฏิกรณ์ที่ 3 และถังปฏิกรณ์ที่ 4 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ คือ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ 3 ม./ชม.ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 และความเร็วไหลขึ้นคงที่ 4 ม./ชม.ในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 จากนั้นเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 5 ม./ชม. ในถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 และเพิ่มความเร็วไหลขึ้นเป็น 6 ม./ชม.ในถังปฏิกรณ์ที่ 3 และ 4 เพื่อดูลักษณะของเม็ดตะกอนว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.18 - 4.23 ผลการทดลองแสดงว่าเม็ด

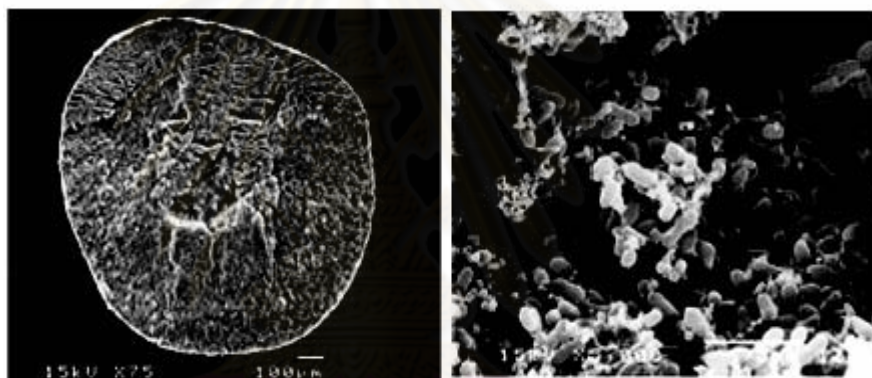
ตะกอนจุลินทรีย์ตอนเริ่มต้นระบบกับเม็ดตะกอนจากชุดการทดลอง เมื่อระบบปรับภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์มากขึ้น ลักษณะเม็ดตะกอนมีการเปลี่ยนแปลง คือ ลักษณะผิวภายนอกเริ่มขรุขระและมีรอยแยก ฉะนั้นเมื่อระบบปรับภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ที่สูงเกินไปและปริมาณกรดไขมันระเหยของระบบสะสม อ้างอิงงานวิจัยของชญาธิศา บุญปกครอง, 2553 พบว่ามีค่าสูงโดยอยู่ในช่วง 979 – 1,089 มก./ล. (ในเทอมของกรดอะซิติก) อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียในเม็ดตะกอนลดลงจนเกิดการฟุ้งร่อนและมีรอยแตกมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะเม็ดตะกอนตอนเริ่มต้นเดินระบบซึ่งสอดคล้องกับกับค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่มีค่าลดลงในช่วงเวลานี้เช่นกัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของฉัตรชัย ศักดิ์วีระสุวรรณ, 2547 ซึ่งรายงานไว้ว่าเมื่อระบบปรับภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์มากขึ้นจะทำให้เกิดก๊าซมากขึ้นจึงทำให้เกิดการเสียดสีระหว่างเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ด้วยกันมากขึ้นเพราะฉะนั้นเม็ดตะกอนจึงเกิดการฟุ้งร่อนมากขึ้นด้วยในส่วนของรอยแตกที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะเป็นโพรงเล็กๆ เกิดขึ้นนั้นคาดว่าเกิดจากกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทนผลิตก๊าซชีวภาพออกมาและไม่สามารถระบายออกสู่ภายนอกได้จึงทำให้เกิดโพรงเพื่อเป็นการระบายก๊าซและเมื่อดูโครงสร้างภายในเม็ดตะกอนนั้นพบว่ามี ความหลากหลายของจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่มีรูปร่างไปในรูปแบบเดียวกัน คือ เป็นท่อนสั้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุวรรณา ขจรไพศาล, 2548 กล่าวว่าภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์และความเร็วไหลขึ้นที่สูงขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ กลุ่มแบคทีเรีย คือ เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุลินทรีย์ที่บริเวณผิวนอกและผิวในเมื่อเริ่มต้นระบบกับสิ้นสุดการทดลองแล้วไม่มีความแตกต่างกัน

ที่ภาวะบรรทุกลสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเร็วไหลขึ้นในระบบของถังปฏิกรณ์ชีเอสปีชุดที่ 1 จากเดิม 3 ม./ชม.เป็น 5 ม./ชม.และในถังปฏิกรณ์ชีเอสปีชุดที่ 2 จากเดิม 4 ม./ชม.เป็น 6 ม./ชม. พบว่าเมื่อความเร็วไหลขึ้น ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. พบว่าผิวภายนอกมีความขรุขระและฟุ้งร่อนมากซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ที่ขนาดเม็ดตะกอนมีแนวโน้มเล็กลงและสอดคล้องกับงานวิจัยของสุวรรณา ขจรไพศาล, 2548 ซึ่งพบว่าในระบบชีเอสปีที่ใช้ความเร็วไหลขึ้นสูงจะมีผลทำให้ภายในระบบมีสภาพทางชลศาสตร์เกิดการปั่นป่วนมากซึ่งมีผลทำให้เม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีโอกาสที่จะเกิดการเสียดสีกันได้มากและเกิดการฟุ้งร่อนมาก ในส่วนของโครงสร้างภายในเม็ดตะกอนนั้น จุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายกัน คือ เป็นท่อนสั้นและมีเส้นใยกระจายอยู่ทั่วไปซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตก๊าซมีเทนและเป็นสาเหตุให้เกิดรอยแตกบนเม็ดตะกอนที่มาจากความเป็นช่องระบาย

ก๊าซชีวภาพที่เกิดจากปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่ผลิตก๊าซมีเทนที่อยู่ชั้นใน (สุวรรณา ขจรไพศาล, 2548 อ้างถึงใน ฉัตรชัย ศักดิ์วีรสสุวรรณ, 2547)



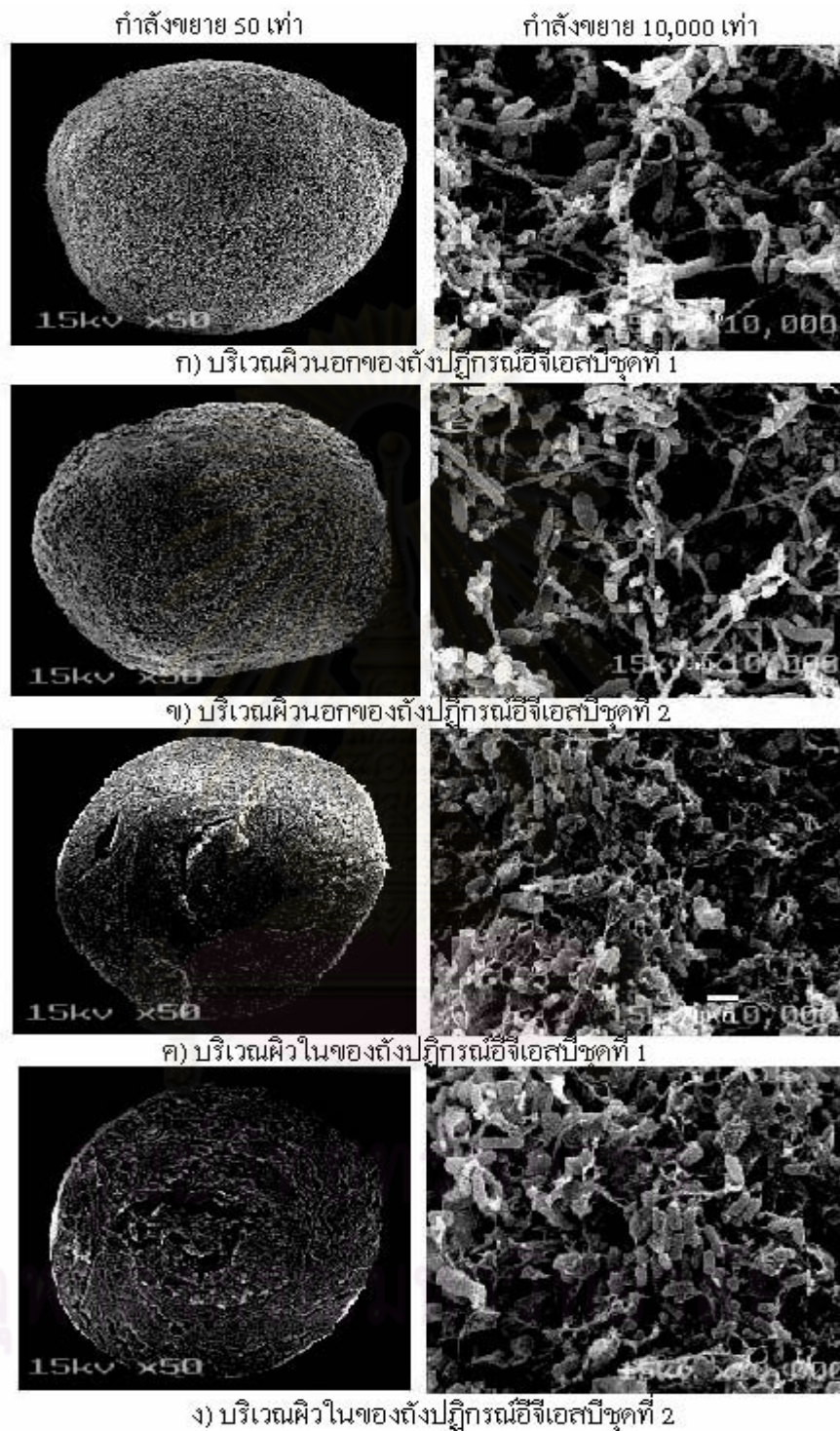
ก) ลักษณะผิวภายนอกและ โครงสร้างภายใน กำถังขยาย 75 เท่า



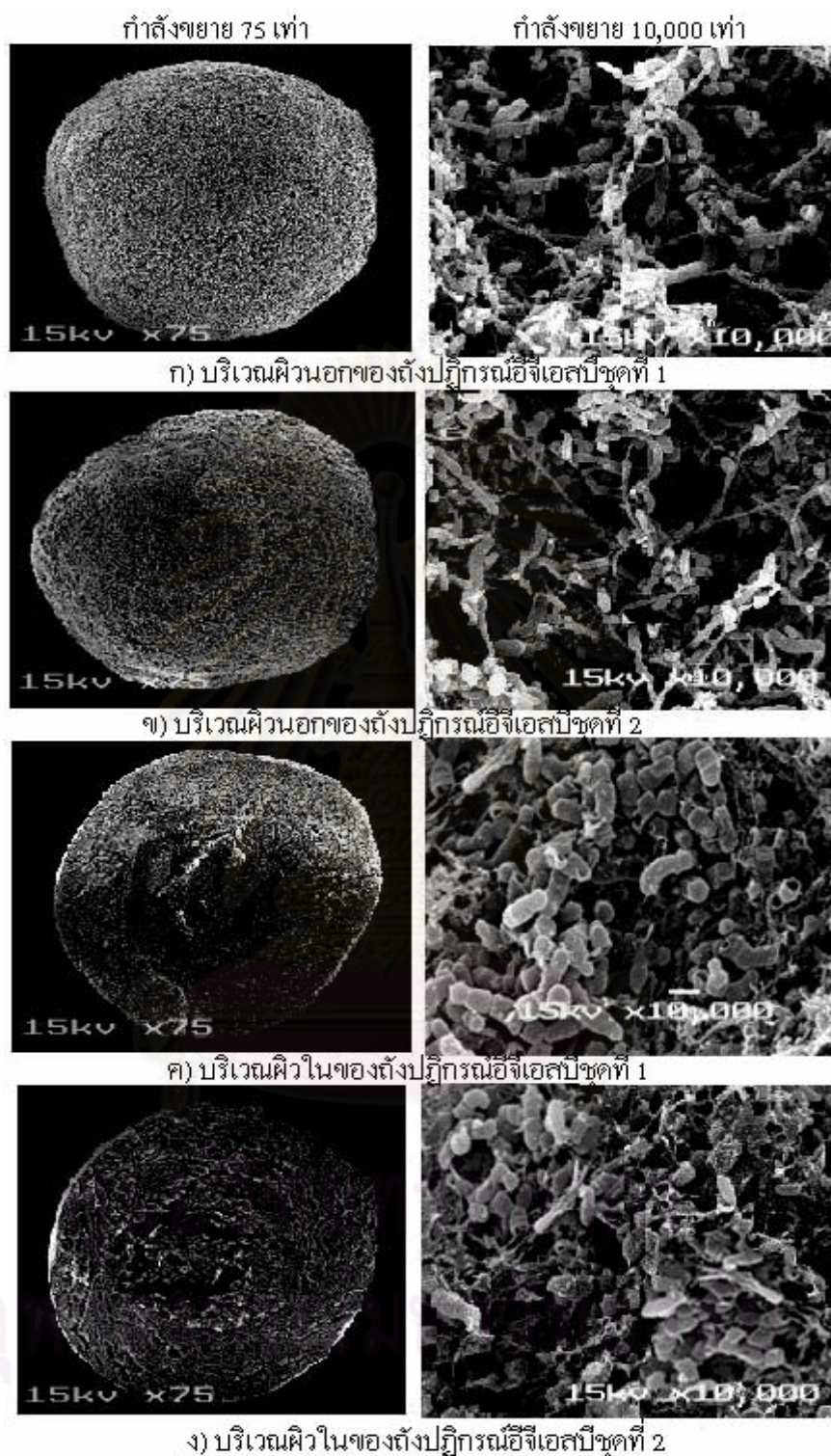
ข) ลักษณะผิวภายในและ โครงสร้างภายใน กำถังขยาย 75 เท่า

ภาพที่ 4.18 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ตอนเริ่มต้นเดินระบบ

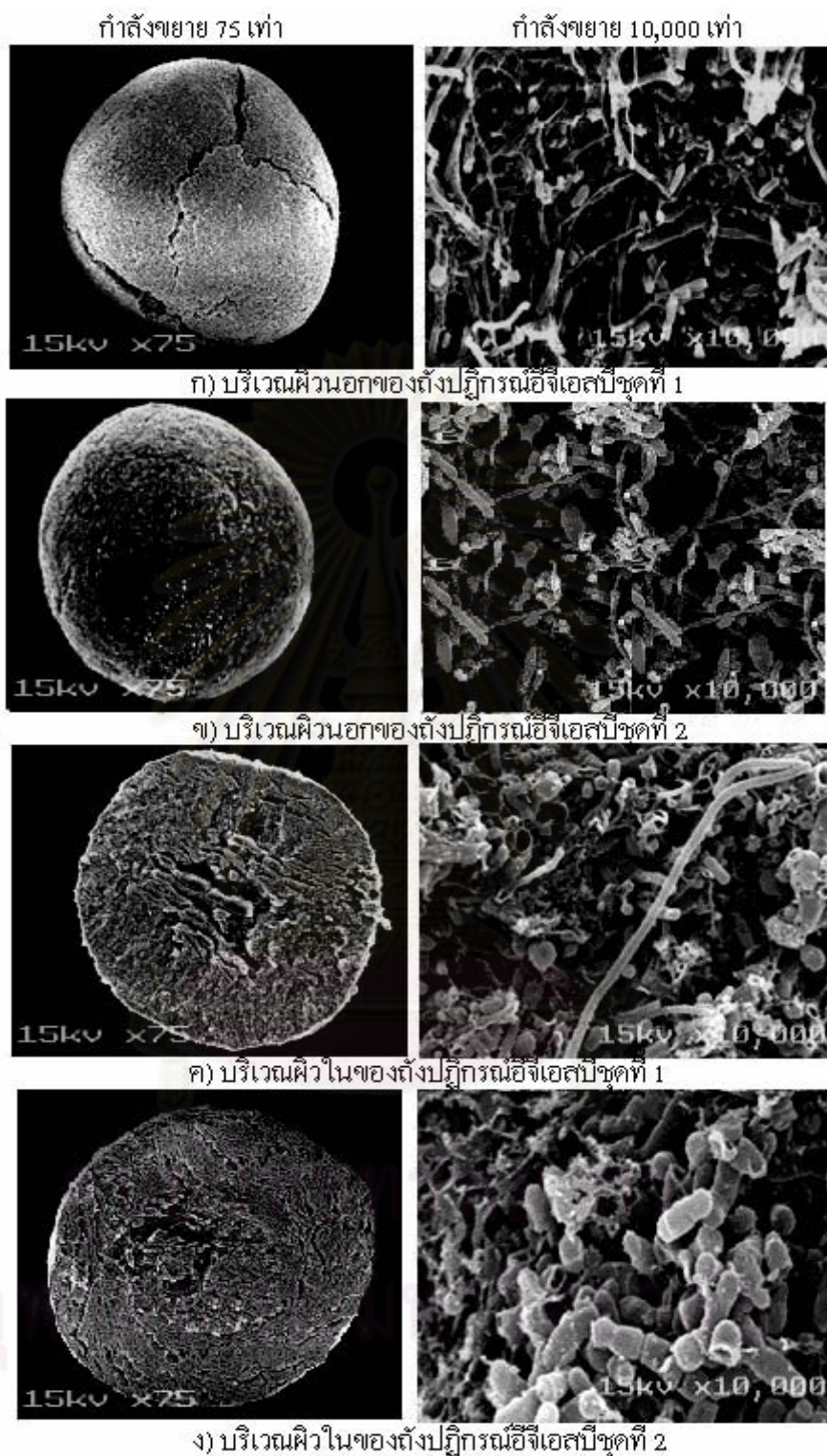
ศูนย์วิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



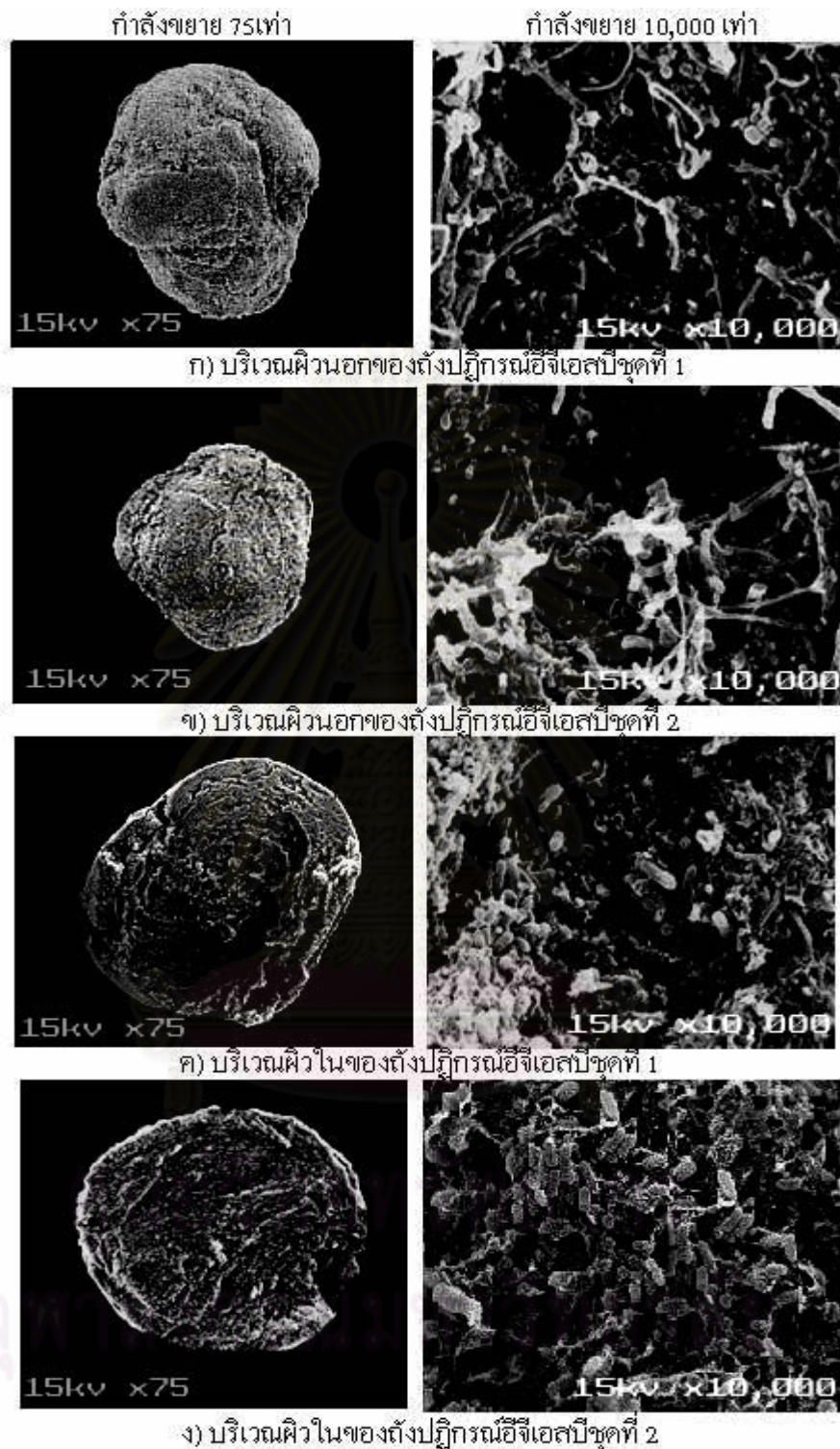
ภาพที่ 4.19 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.



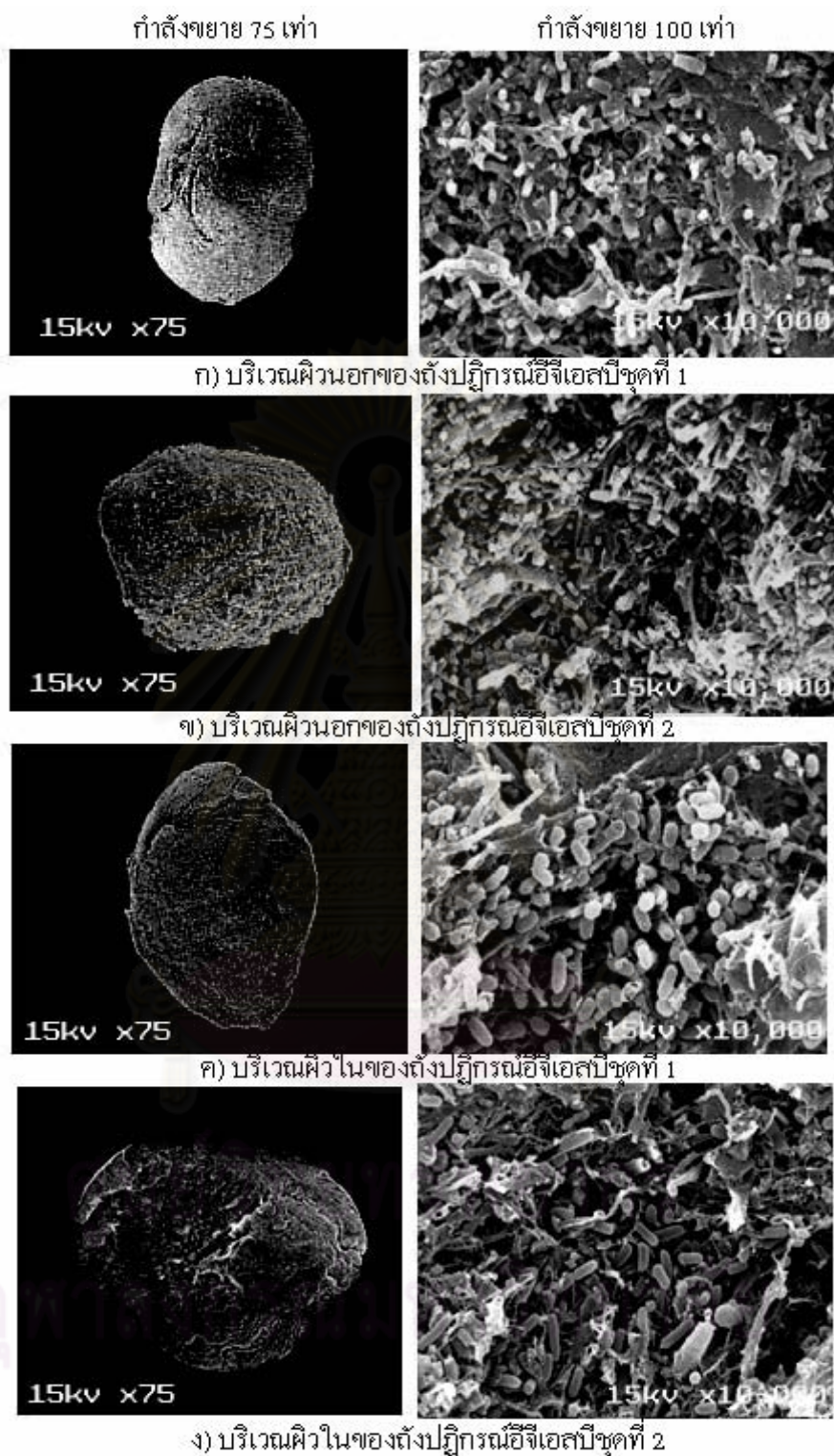
ภาพที่ 4.20 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาชนะบรรจุทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีโอดี/ลบ.ม-วัน โดยในชุดที่ 1 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.



ภาพที่ 4.21 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.



ภาพที่ 4.22 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวหนังนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่เกาะบนบรรจุภัณฑ์สารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม.



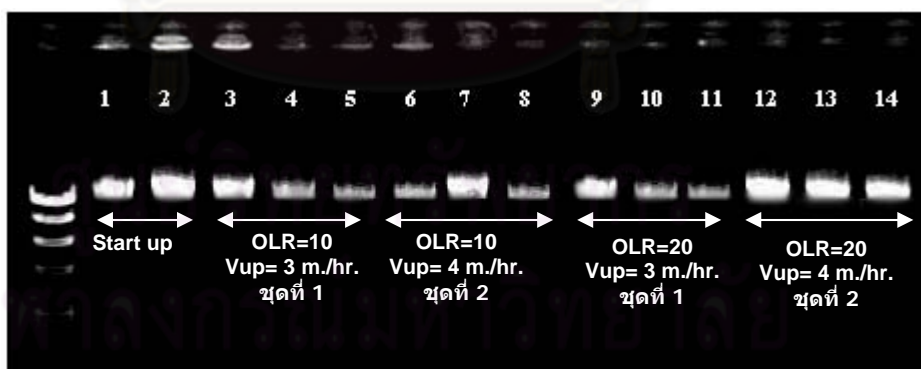
ภาพที่ 4.23 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) ลักษณะผิวภายนอกและภายในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ที่ภาชนะบรรจุทูกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม-วัน โดยชุดที่ 1 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.และชุดที่ 2 ใช้ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.

4.5.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจี

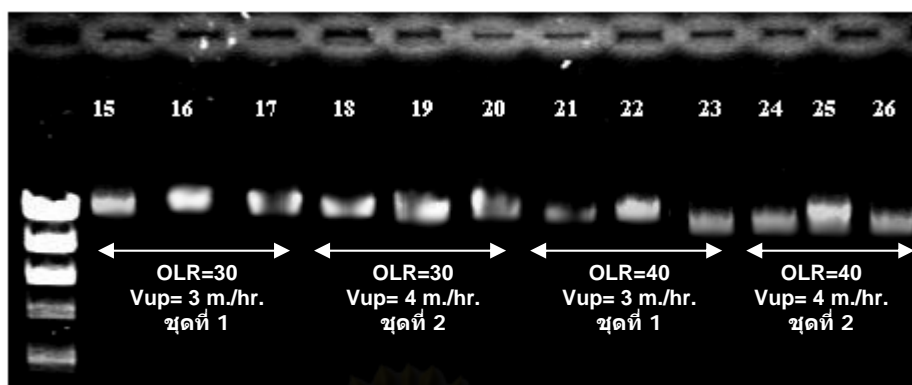
งานวิจัยนี้ศึกษาจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงในระบบที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ต่าง ๆ คือ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน และศึกษาเมื่อภาวะบรรทุksารอินทรีย์เท่ากัน คือ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน แต่เปลี่ยนแปลงความเร็วไหลขึ้นที่ 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม. โดยสุ่มเลือกเม็ดตะกอนตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของ 2 ชุดการทดลอง คือ ดังปฏิกรณ์อีจีเอสปีชุดที่ 1 ซึ่งประกอบด้วยดังปฏิกรณ์ที่ 1 และดังปฏิกรณ์ที่ 2 ในส่วนดังปฏิกรณ์อีจีเอสปีชุดที่ 2 ได้แก่ดังปฏิกรณ์ที่ 3 และดังปฏิกรณ์ที่ 4 โดยทำการทดลอง 3 ครั้ง คือ ช่วงก่อนการทดลอง ช่วงกลางการทดลอง และช่วงสิ้นสุดการทดลองของแต่ละภาวะบรรทุksารอินทรีย์ ทำการสกัดแยกดีเอ็นเอจากตัวอย่างในแต่ละชุดดังกล่าวและทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในช่วงสายของลิบหกเอสอาร์ดีเอ็นเอและจำแนกความแตกต่างของดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีซึ่งมี 3 ขั้นตอนดังนี้

1) การสกัดดีเอ็นเอในเม็ดตะกอนจากดังปฏิกรณ์

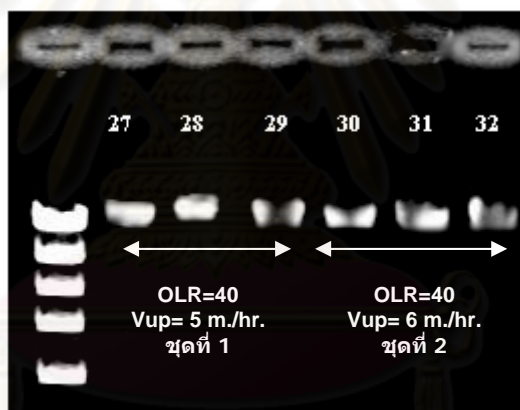
จากการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดตะกอนในดังปฏิกรณ์ โดยใช้ลูกแก้ว (Glass Bead) ร่วมกับใช้ ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิล (25:24:1) ดัดแปลงจากวิธีของ Buzzini และคณะ, 2006 สามารถสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างได้ และเห็นแถบดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับช่องวิ่งซ้ายมือสุด 1kb ladder ดังภาพที่ 4.24 – 4.26



ภาพที่ 4.24 ผลการสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ 1-14 ที่ภาวะบรรทุksารอินทรีย์ต่าง ๆ ช่องวิ่งที่ 1-2 คือ ตัวอย่างตอนเริ่มต้นเดินระบบ (Start up) ของชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 3-4-5 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 6-7-8 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 9-10-11 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 12-13-14 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2



ภาพที่ 4.25 ผลการสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ 15-26 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ ช่องวิ่งที่ 15-16-17 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 18-19-20 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 21-22-23 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 24-25-26 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2



ภาพที่ 4.26 ผลการสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ 27-32 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ เมื่อเปลี่ยนความเร็วไหลขึ้นในชุดที่ 1 เป็น 5 ม./ชม. และชุดที่ 2 เป็น 6 ม./ชม. ช่องวิ่งที่ 27-28-29 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 30-31-32 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2

จากผลการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดตะกอนในถังปฏิกรณ์นั้น พบว่าทุกตัวอย่งนั้นเมื่อสกัดดีเอ็นเอได้แล้วดังกล่าว จะนำผลการสกัดดีเอ็นเอที่ได้ไปเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในขั้นตอนต่อไปด้วยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

2) การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 1) นำไปเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคพีซีอาร์ตามวิธีของ Kudo และคณะ, 1997 ในการทดลองนี้ในหนึ่งหลอดปฏิกิริยาพีซีอาร์ประกอบด้วย PCR master mix น้ำกลั่น ดีเอ็นเอที่สกัดได้ ไพรเมอร์ 1100F และไพรเมอร์ 1400R และต้องแปรผันปริมาตรของไพรเมอร์ และดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยปรับปริมาตรในหนึ่งหลอดปฏิกิริยาด้วย PCR master mix และน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตรสุทธิ คือ 30 ไมโครลิตร ดังตารางที่ 4.17

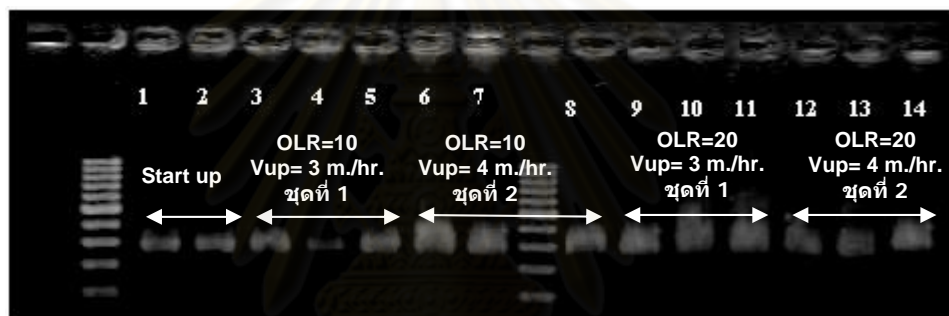
ตารางที่ 4.17 แสดงการแปรผันปริมาตรของ ดีเอ็นเอ ไพรเมอร์ 1100F และไพรเมอร์ 1400R ต่อหนึ่งหลอดปฏิกิริยาพีซีอาร์

ไพรเมอร์ 1100F (ไมโครลิตร)	ไพรเมอร์ 1400R (ไมโครลิตร)	ดีเอ็นเอ (ไมโครลิตร)
0.5	0.5	1.0
0.5	0.5	0.8
0.8	0.8	1.0
0.8	0.8	0.8

จากการแปรผันปริมาตรของดีเอ็นเอ ไพรเมอร์ 1100F และไพรเมอร์ 1400R ดังกล่าว พบว่าหนึ่งหลอดปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่เหมาะสมคือ PCR master mix 15 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 13 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ 1100F 0.5 ไมโครลิตรและไพรเมอร์ 1400R 0.5 ไมโครลิตร เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องแบบควบคุมอุณหภูมิ (Thermo Electron Corporation) โดยใช้โปรแกรมสภาวะอุณหภูมิดังนี้

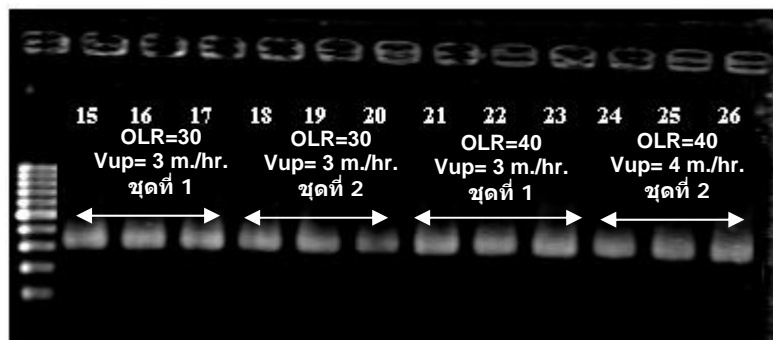
Initial denaturation	94 องศาเซลเซียส	90 วินาที	} 35 รอบ
Denaturation	94 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Annealing	55 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	90 วินาที	
Final Extension	72 องศาเซลเซียส	3 นาที	
End	4 องศาเซลเซียส		

จากสถานะที่ใช้เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดังกล่าวนี้ พบว่าสถานะนี้สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ในทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา และผลจากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรวจสอบด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแสดงให้เห็นว่าเม็ดตะกอนในแต่ละสถานะที่นำมาจากระบบอีจีเอสบี ณ ตอนนั้นมีจุลินทรีย์อยู่ในระบบจริงจึงสามารถสกัดดีเอ็นเอและนำมาเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ได้ แต่ในขั้นตอนพีซีอาร์นี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่สามารถระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ทุกตัวอย่างจะขึ้นที่ตำแหน่งเดียวกันคือ 300 bp ดังภาพที่ 4.27 - 4.29 เมื่อเทียบกับช่องวิ่งซ้ายมือสุด 100 bp DNA ladder ดังนั้นเพื่อให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษาจึงต้องใช้เทคนิคดีจีจีอีเข้ามาช่วยเพื่อระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ให้ชัดเจน

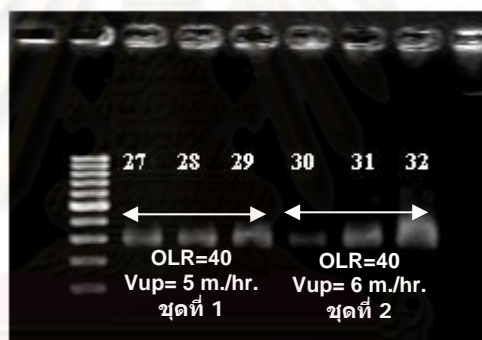


ภาพที่ 4.27 ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของตัวอย่างที่ 1-14 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ ช่องวิ่งที่ 1-2 คือ ตัวอย่างตอนเริ่มต้นเดินระบบ (Start up) ของชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 3-4-5 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 6-7-8 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 9-10-11 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลอง ของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 12-13-14 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.28 ผลิตรหัสดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ 15-26 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ ช่องวิ่งที่ 15-16-17 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 18-19-20 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2 ช่องวิ่งที่ 21-22-23 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 24-25-26 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2



ภาพที่ 4.29 ผลิตรหัสดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ 27-32 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ต่าง ๆ เมื่อเปลี่ยนความเร็วไหลขึ้นในชุดที่ 1 เป็น 5 ม./ชม. และ ชุดที่ 2 เป็น 6 ม./ชม. ช่องวิ่งที่ 27-28-29 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 1 ช่องวิ่งที่ 30-31-32 คือ ช่วงก่อน-กลาง-สิ้นสุดการทดลองของชุดที่ 2

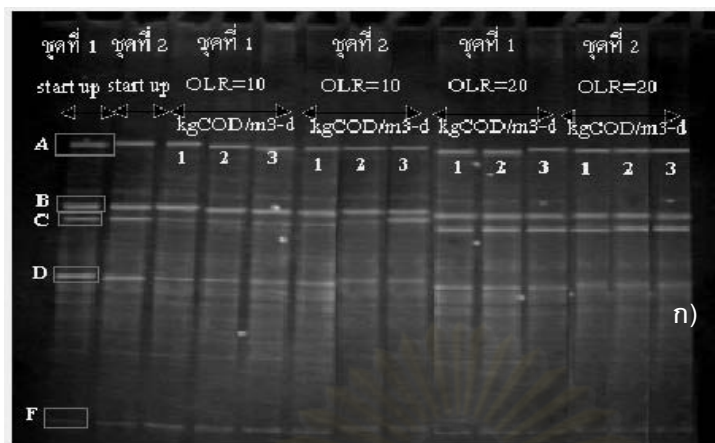
3) การวิเคราะห์ชนิดจุลินทรีย์โดยเทคนิคดีจีจีอี (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ดีเอ็นเอซึ่งเด่นจากโปรไฟล์ดีจีจีอี

ผลจากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรวจสอบด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟเรซิสและเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคดีจีจีอีในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีสารละลายดีเอ็นเอในเซอร์เรนที่ 40 – 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าจะมีจำนวนแถบเกิดขึ้นหลายแถบแต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างแต่ละตัวอย่างแล้วนั้นแถบดีเอ็นเอมีความเข้มมากน้อยแตกต่างกันไป แถบที่เข้มมากแสดงว่าแถบดีเอ็นเอนั้นเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักของชุดการทดลอง

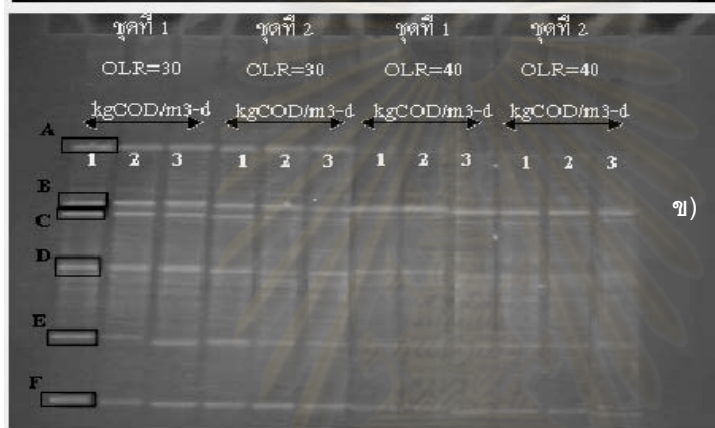
จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาจากภาพ 4.30 ก) พบว่าในตอนเริ่มเดินระบบจนถึงที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ทั้งชุดที่ 1 และชุดที่ 2 มีแถบดีเอ็นเอหลักเกิดขึ้น 5 แถบ คือ แถบ A, B, C, D, และ F ภาพที่ 4.30 ข) ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ยังคงมีแถบดีเอ็นเอหลัก คือ แถบ A, B, C, D, และ F โดยมีแถบ E เป็นแถบดีเอ็นเอหลักเพิ่มขึ้นมาอีก 1 แถบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อระบบรับภาวะบรรทุกสารอินทรีย์สูงขึ้นในช่วง 10 – 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีเฉลี่ยที่มีค่ามากขึ้นเมื่อระบบรับภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น โดยมีค่าในช่วง 60.60 ± 1.39 ถึง 69.30 ± 2.19 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับผลการทดลองในเรื่องของอัตราการผลิตก๊าซมีเทนอยู่ในช่วง 0.25 ถึง 0.31 ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด ซึ่งพบว่าเมื่ออัตราการสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น 10 - 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ระบบมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ อัตราการผลิตก๊าซมีเทนและค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่าระบบทำงานได้ดีในช่วงเวลาดังกล่าว เมื่อพิจารณาปริมาณก๊าซชีวภาพกับความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบทำให้ทราบว่ากรณีที่ปริมาณก๊าซชีวภาพเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นในช่วง 10 - 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน แสดงว่าจุลินทรีย์ในระบบอีจีเอสบีนี้สามารถย่อยสลายอินทรีย์และผลิตก๊าซชีวภาพออกมาได้สูงขณะเดียวกันระบบยังมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบมากขึ้นด้วย (ภาพที่ 4.30 ข หน้า 89) ถ้าหากปริมาณก๊าซชีวภาพในระบบต่ำ แสดงว่าจุลินทรีย์ในระบบย่อยสลายสารอินทรีย์และผลิตก๊าซชีวภาพออกมได้น้อยและยังมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบน้อยลงอีกด้วยจากภาพ 4.30 ข) เมื่อระบบรับภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เพิ่มมากขึ้นที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่าแถบ A, C, D และ E จางลงมาก โดยแถบ A, C และ D จางลงอย่างชัดเจนจนน้อยกว่าที่จะปรากฏบนเจลดีจีจีอีได้แสดงให้เห็นว่าช่วงนั้นจำนวนของจุลินทรีย์ในระบบลดลง ดังนั้นจึงเห็นแถบดีเอ็นเอจางลงซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีเฉลี่ยที่ลดลงอยู่ในช่วง 56.20 ± 2.52 ถึง 61.10 ± 1.55

เปอร์เซ็นต์ และปริมาณก๊าซชีวภาพในระบบที่ลดลง 162 ถึง 187 ลิตร/วัน และสอดคล้องกับ An-jie Li และคณะ, 2008 ได้กล่าวไว้ว่าเมื่อระบบบำบัดระบบรุกรานอินทรีย์สูงขึ้นความหลากหลายของจุลินทรีย์น้อยลงเมื่อพิจารณาภาพ 4.30 ค) ที่ภาระรุกรานอินทรีย์คงที่ 40 กก.ชีโอดี/ลบ.ม.-วัน แต่เพิ่มความเร็วไหลขึ้นในชุดที่ 1 เป็น 5 ม./ชม. และชุดที่ 2 เป็น 6 ม./ชม. พบว่า แถบ A และแถบ E ปรากฏชัดเจนขึ้นอาจเป็นเพราะเมื่อความเร็วไหลขึ้นเพิ่มมากขึ้นและระบบมีอัตราการเวียนน้ำกลับในอัตราที่สูงนั้นเป็นการเพิ่มสภาพต่างให้กับระบบซึ่งจากผลการทดลองของชฎานิศานุกฤษณ์, 2553 พบว่าสภาพต่างเพิ่มขึ้นมีค่าอยู่ในช่วง 3,304 ถึง 4,153 มก./ล. (ในเทอมของแคลเซียมคาร์บอเนต) และอยู่ในช่วงเดียวกับระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจน ทั่ว ๆ ไปที่มีค่า 2,000 ถึง 4,000 มก./ล. (ในเทอมของแคลเซียมคาร์บอเนต) (Metcalf & Eddy, 2003) ดังนั้นสภาพต่างที่เหมาะสมอีกทั้งเมื่อพิจารณาจากปริมาณก๊าซชีวภาพในระบบที่เพิ่มสูงขึ้นในช่วงนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวน จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจนมีจำนวนมากพอและกลับมาปรากฏแถบดีเอ็นเอบนเจลดีจีจีอี ดังนั้นจากภาพที่ 4.30 จึงคัดเลือกแถบ A, B, C, D, E และ F เนื่องจากเป็นแถบ ดีเอ็นเอหลักที่ปรากฏในการทดลอง จากนั้นตัดแถบดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาออกจากเจลละลายดีเอ็นเอจากชิ้นเจลด้วยน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อและนำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไปเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคพีซีอาร์และนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ใน Genbank (DNA Sequence Analysis) ด้วยโปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

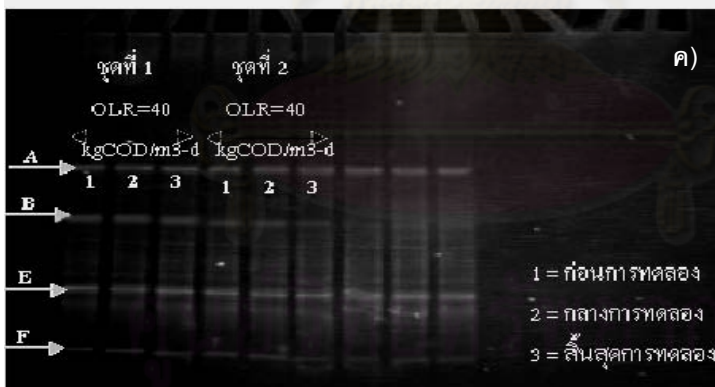
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ชุดที่ 1 $V_{up} = 3$ m./hr.
ชุดที่ 2 $V_{up} = 4$ m./hr.



ชุดที่ 1 $V_{up} = 3$ m./hr.
ชุดที่ 2 $V_{up} = 4$ m./hr.



ชุดที่ 1 $V_{up} = 5$ m./hr.
ชุดที่ 2 $V_{up} = 6$ m./hr.

ภาพที่ 4.30 การเคลื่อนที่ของแถบดีเอ็นเอบนเจลดีจีจีอีตลอดการทดลอง ก) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเม็ดตะกอนในชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. และชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 และ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ข) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเม็ดตะกอนในชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. และชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ค) แถบดีเอ็นเอที่ได้จากเม็ดตะกอนในชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม. และชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน


```

Score = 739 bits (400), Expect = 0.0
Identities = 415/422 (98%), Gaps = 2/422 (0%) Strand=Plus/Plus
  Query 1  GTGTAAAAAGCTTTGAGAATAAGAGCTGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGTAACAC 60
           |||
  Sbjct 121 GTGTAAAAAGCTTTGAGAATAAGAGCTGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGTAACAC 280

  Query 61  CGGCAGCTCAAGTGGTGGCCAGGGGGGATTGGGTCTAAAGCGTTCGTAGCCGGCTTGAT 120
           |||
  Sbjct 281  CGGCAGCTCAAGTGGTGGCCA--TTTTATTGGGTCTAAAGCGTTCGTAGCCGGCTTGAT 338

  Query 121 AAGTCTCTGGTGAATCCCATAGCTTAACTGTGGGAATTGCTGGAGATACTATTAGGCTT 180
           |||
  Sbjct 239  AAGTCTCTGGTGAATCCCATAGCTTAACTGTGGGAATTGCTGGAGATACTATTAGGCTT 298

```

ภาพที่ 4.33 แถบ C มีความใกล้เคียงกับ Uncultured archaeon sp. clone ACSAS2P1G2 โดยมีค่า Similarity เท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์

```

Score = 195 bits (105), Expect = 7e-47
Identities = 130/140 (92%), Gaps = 10/140 (7%) Strand=Plus/Plus
  Query 1  GCAGCAGGCGCGCAAACCTCCGCAATGCAGGAAAGTGCACGGGGGAAACCCAAGTGCCA 60
           |||
  Sbjct 11  GCAGCAGGCGCGCAAACCTCCGCAATGCAGGAAAGTGCACGGGGGAAACCCAAGTGCCA 70

  Query 61  --C-T--C---TGGC-TTCTTAAGTTTAAAAAGCTTTTGAATAAGAGTGGGCAAGA 110
           |||
  Sbjct 71  CTCTTAACGGGGTGGCTTTCTTAAGTTTAAAAAGCTTTTGAATAAGAGTGGGCAAGA 130

           Query 111  CCGGTGCCAGCCGCCGCGGT 130
           |||
           Sbjct 131  CCGGTGCCAGCCGCCGCGGT 150

```

ภาพที่ 4.34 แถบ D มีความใกล้เคียงกับ Uncultured Methanobacterium sp. clone SK0812-1 โดยมีค่า Similarity เท่ากับ 92 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Score = 555 bits (300), Expect = 7e-155			
Identities = 304/306 (99%), Gaps = 0/306 (0%) Strand=Plus/Plus			
Query	1	CCGCCGCTGGGAAGTACGGTCGAAGACTGAAACTTAAAGGAATTGGCGGGGAGCACC	60
Sbjct	1	CCGCCGCTGGGAAGTACGGTCGAAGACTGAAACTTAAAGGAATTGGCGGGGAGCACC	60
Query	61	ACAACGCGTGGAGCNTGCGGTTAATTGGATTCAACGCCGGACATCTCACCAGGGGCGAC	120
Sbjct	61	ACAACGCGTGGAGCNTGCGGTTAATTGGATTCAACGCCGGACATCTCACCAGGGGCGAC	120
Query	121	AGCAGAATGATGGCCAGGTTGACGACCTTGCTTGACAAGCTGAGAGGAGGTGCATGGCCG	180
Sbjct	121	AGCAGAATGATGGCCAGGTTGACGACCTTGCTTGACAAGCTGAGAGGAGGTGCATGGCCG	180

ภาพที่ 4.35 แถบ E มีความใกล้เคียงกับ Uncultured Methanobacterium sp. Clone A2 โดยมีค่า Similarity เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์

Score = 211 bits (114), Expect = 3e-51			
Identities = 114/114 (100%), Gaps = 0/114 (0%) Strand=Plus/Plus			
Query	109	CATCTCACCAGGGGCGACAGCAGAATGATAGCCAGGTCGATGACCTTGCTTGACAAGCTG	268
Sbjct	247	CATCTCACCAGGGGCGACAGCAGAATGATAGCCAGGTCGATGACCTTGCTTGACAAGCTG	306
Query	169	AGAGGAGGTGCATGGCCGCCGTCAGCTCGTACCGTGAGGCGTCTGTTAAGTCA	222
Sbjct	307	AGAGGAGGTGCATGGCCGCCGTCAGCTCGTACCGTGAGGCGTCTGTTAAGTCA	360

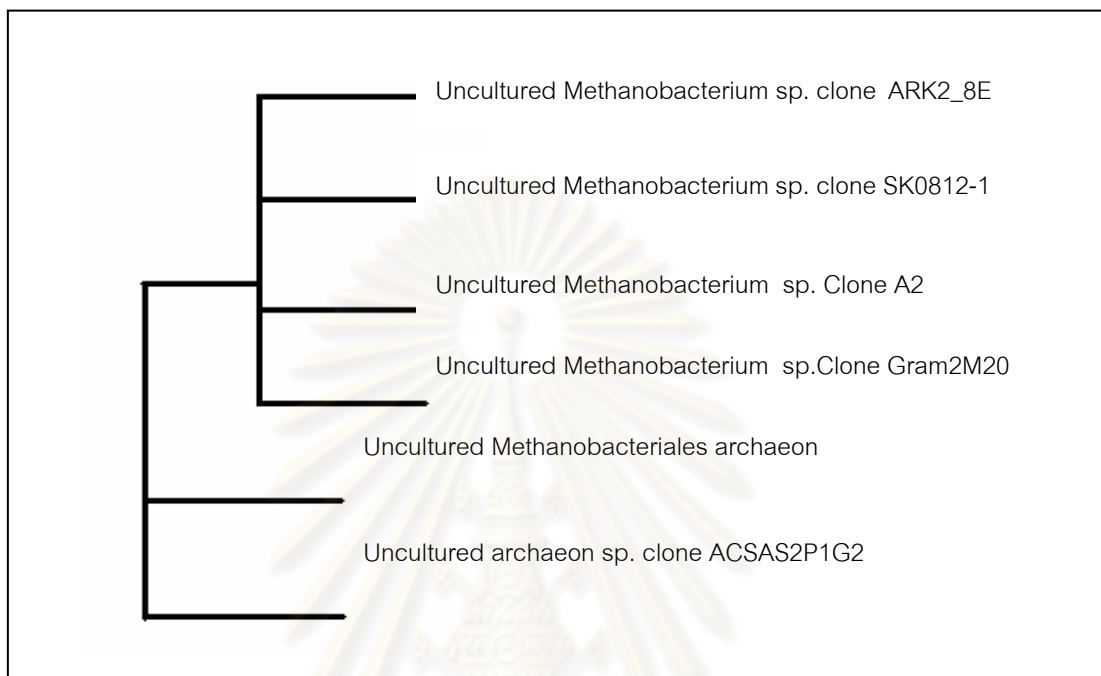
ภาพที่ 4.36 แถบ F มีความใกล้เคียงกับ Uncultured Methanobacterium sp. Clone Gram2M20 โดยมีค่า Similarity เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

แถบดีเอ็นเอทั้ง 6 แถบดังตารางที่ 4.18 ที่ได้รับการยืนยันด้วยค่าความคล้ายคลึงจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วนั้นพบว่าเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Uncultured) ทั้งหมด โดยในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีซึ่งเป็นเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่เป็นข้อได้เปรียบในด้านเป็นเทคนิคที่ไม่ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเทคนิคการศึกษาจุลินทรีย์ที่อาศัยการเพาะเลี้ยงเชื้อ (Culture dependent method) ได้รับการพิสูจน์ถึงข้อจำกัดและการเบี่ยงเบนข้อเท็จจริงของระบบนิเวศในระบบบำบัดน้ำเสีย ในขณะที่เทคนิคที่ไม่ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อได้รับการยอมรับและในปัจจุบันเทคนิคดังกล่าวนิยมใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์แพร่หลายมากขึ้น

ตารางที่ 4.18 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์กับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์ที่มีการเก็บรวบรวมไว้ใน Gen Bank

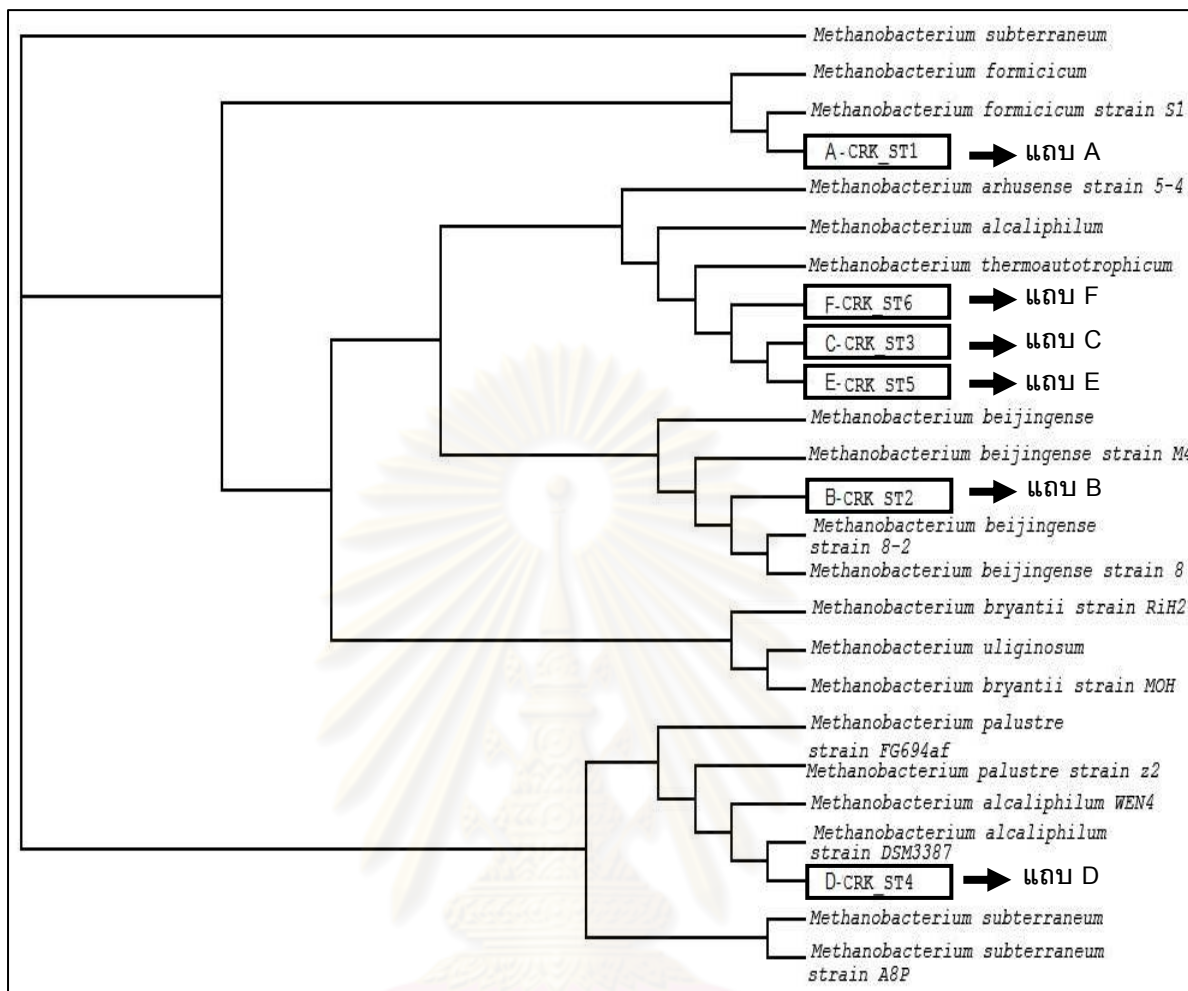
แถบ	Accession No.	Similarity (%)	รายละเอียด	แยกได้จาก	อ้างอิง
A	GQ995126.1	94	Uncultured Methanobacterium sp. Clone ARK2_8E	an anaerobic mesophilic full-scale biogas plant treating food industrial waste	Karlsson และคณะ, อยู่ในระหว่างดำเนินการตีพิมพ์
B	CU916723.1	99	Uncultured Methanobacteriales archaeon	mesophilic anaerobic digester which treats municipal wastewater sludge	Riviere และคณะ, 2009
C	FJ685742.1	98	Uncultured archaeon sp. clone ACSAS2P1G2	mangrove sample	Bhattacharya และคณะ, อยู่ในระหว่างดำเนินการตีพิมพ์
D	FJ560739.1	92	Uncultured Methanobacterium sp. clone SK0812-1	enriched methanogen community from an anaerobic wastewater digestion reactor	Jeon และคณะ, อยู่ในระหว่างดำเนินการตีพิมพ์
E	FJ428238.1	99	Uncultured Methanobacterium sp. Clone A2	anaerobic sludge	Xu และคณะ, 2009
F	AY899833.1	100	Uncultured Methanobacterium sp. Clone Gram2M20	UASB bioreactor treating brewery wastewater	Kovacik และคณะ, อยู่ในระหว่างดำเนินการตีพิมพ์

จากข้อมูลจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในระบบมีทั้งหมด 6 สายพันธุ์ สามารถนำมาเขียนเป็นแผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) แบบง่ายได้ดังภาพที่ 4.37 และแบบซับซ้อนดังภาพที่ 4.38



ภาพที่ 4.37 แผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการของจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้

จากภาพที่ 4.37 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้สามารถจัดจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ โดยกลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มของ Uncultured Methanobacterium ซึ่งประกอบด้วย 4 สายพันธุ์ย่อย คือ Uncultured Methanobacterium sp. clone ARK2_8E Uncultured Methanobacterium sp. clone SK0812-1 Uncultured Methanobacterium sp. Clone A2 และ Uncultured Methanobacterium sp. Clone Gram2M20 กลุ่มที่ 2 คือ Uncultured Methanobacteriales archaeon และกลุ่มสุดท้าย คือ Uncultured archaeon sp. clone ACSAS2P1G2



ภาพที่ 4.38 แผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการแบบซับซ้อนโดยการแทรกรหัสพันธุกรรมของดีเอ็นเอตัวอย่างจากระบบด้วยโปรแกรม Clustal W สำหรับทำแผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

ในการทำแผนภูมิต้นไม้วงศ์วานวิวัฒนาการเป็นการเปรียบเทียบจุดนิวคลีโอไทด์สายพันธุ์ที่เราคัดเลือกได้กับสายพันธุ์อ้างอิงที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ Gen Bank จากภาพที่ 4.38 นี้เป็นแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ 6 สายพันธุ์กับแบคทีเรียกลุ่มอาร์เคียในฐานข้อมูลของ Gen Bank พบว่า

แถบ A คือ Uncultured *Methanobacterium* sp. Clone ARK2_8E มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ *Methanobacterium formicicum strain S1* มากที่สุด

แถบ B คือ Uncultured Methanobacteriales archaeon มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ *Methanobacterium Beijingerse strain S-2* และ *Methanobacterium Beijingerse strain 8* มากที่สุด

แถบ C คือ Uncultured archaeon sp. clone ACSAS2P1G2 มีความสัมพันธ์กับแถบ E ซึ่งก็คือ Uncultured *Methanobacterium* sp. Clone A2 มากที่สุดและนอกจากนั้นยังพบว่าแถบ C และแถบ E ยังมีความสัมพันธ์ร่วมกลุ่มกับแถบ F ซึ่งก็คือ Uncultured *Methanobacterium* sp. Clone Gram2M20

แถบ D คือ Uncultured *Methanobacterium* sp. clone SK0812-1 มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ *Methanobacterium Alcaliphilum strain DSM3387* มากที่สุด

ซึ่งในงานวิจัยนี้กลุ่มจุลินทรีย์หลักที่พบและทราบลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอแต่ละแถบแล้ว โดยแถบดีเอ็นเอทั้ง 6 แถบนี้มีค่าความคล้ายคลึงที่ค่อนข้างสูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นค่าที่ยืนยันได้ว่าในระบบที่ทดลองนี้มีโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทนกลุ่มหลักตลอดการเดินระบบที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าภาระบรทุกสารอินทรีย์และความเร็วไหลขึ้นที่ค่าต่าง ๆ ดังที่กล่าวไปแล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาความหลากหลายของประชากร จุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อิมัลชันด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีและใช้น้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตเอทานอล โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ประกอบไปด้วยถังปฏิกรณ์อิมัลชันที่ 1 และ 2 โดยใช้ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. ในส่วนของชุดที่ 2 ประกอบไปด้วยถังปฏิกรณ์อิมัลชันที่ 3 และ 4 โดยใช้ความเร็วไหลขึ้น 4 ม./ชม. การทดลองทั้ง 2 ชุดรับภาระสารอินทรีย์ 4 ค่า ได้แก่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วันและที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน นี้ได้ทำการเปลี่ยนแปลงค่าความเร็วไหลขึ้นของทั้ง 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ 1 เป็น 5 ม./ชม. และชุดที่ 2 เป็น 6 ม./ชม. จากผลการวิจัยสรุปได้ดังนี้

1) เมื่อความเร็วไหลขึ้นคงที่ และระบบรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน พบว่าเมื่อระบบรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์มากขึ้น ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีจะเพิ่มมากขึ้นอยู่ในช่วง 60.60 – 69.30 เปอร์เซ็นต์ และที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นให้กับระบบพบว่า ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีมีแนวโน้มลดลงที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. อยู่ในช่วง 58 – 63 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากค่าความเร็วไหลขึ้นที่สูงมากเกินไประบบจะหมุนเวียนกรดไขมันระเหยและซีโอดีที่ยังย่อยสลายไม่หมดในน้ำที่กลับมาใหม่เป็นการเพิ่มภาระให้ระบบเนื่องจากน้ำทิ้งที่เวียนกลับมามีค่าซีโอดีค่อนข้างสูงคือประมาณ 10,000 มก./ล.

2) ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นตลอดการทดลองประกอบด้วยก๊าซมีเทนมีค่าค่อนข้างคงที่ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเกิดก๊าซมีเทนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.25-0.33 ลิตร/กก.ซีโอดีที่ถูกกำจัด ดังนั้นค่ามีเทนยึดจากการทดลองจึงมีความใกล้เคียงกับค่ามีเทนยึดทางทฤษฎีที่มีค่าประมาณ 0.37 ลิตร/ กก.ซีโอดีที่ถูกกำจัด

3) ในส่วนของค่าความสามารถจำเพาะในการผลิตมีเทนของจุลินทรีย์ในระบบ พบว่าที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ และระบบรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์มากขึ้นส่งผลให้ค่าความสามารถจำเพาะในการผลิตมีเทนของจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระบบรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ในขณะที่ความเร็วไหลขึ้นเพิ่มมากขึ้น พบว่าค่าความสามารถจำเพาะใน

การผลิตมีเทนของจุลินทรีย์ในระบบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเร็วน้ำไหลเพิ่มขึ้นเพิ่มขึ้นทำให้ชั้นตะกอนจุลินทรีย์ขยายตัวมากการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงเกิดได้ดี

4) ในด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบอีจีเอสบีนี้ จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning Electron Microscope, SEM) แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างภายในและโครงสร้างภายนอกของเม็ดตะกอนไม่แตกต่างกันมากนัก คือ ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ เมื่อระบบบำบัดระบบรุกรุกสารอินทรีย์มากขึ้นที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ และปริมาณกรดไขมันระเหยของระบบจากผลการทดลองของชฎานิศา บุญปกครอง, 2553 มีค่าสูงโดยอยู่ในช่วง 979 ถึง 1,089 มก./ล. (ในเทอมของกรดอะซิติก) ส่งผลให้ผิวของเม็ดตะกอนผุร่อนและมีรอยแตกแต่เมื่อความเร็วไหลขึ้นของน้ำสูงขึ้นที่การะบบรุกรุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน คงที่พบว่าเมื่อความเร็วไหลขึ้นเพิ่มขึ้นที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. พบว่าผิวภายนอกมีความขรุขระและผุร่อนมากซึ่งสอดคล้องกับผลของขนาดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. ที่ขนาดเม็ดตะกอนมีแนวโน้มเล็กลงเช่นกัน ในส่วนของโครงสร้างภายในและภายนอกเม็ดตะกอนนั้นจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายกัน คือ เป็นท่อนสั้นมีเส้นใยกระจายอยู่ทั่วไปและพบว่ารอยแตกที่เกิดขึ้นอาจเป็นช่องระบายก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการผลิตก๊าซมีเทนของกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในเม็ดตะกอน

การวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ดีจีจีซี พบว่าแถบที่ปรากฏบนเจลดีจีจีซีมีจำนวนทั้งสิ้น 6 แถบคือ แถบ A, B, C, D, E และ F เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแถบดีเอ็นเอทั้ง 6 แถบนี้ พบว่ากลุ่มแบคทีเรียสายพันธุ์หลักในระบบตลอดระยะเวลาเปลี่ยนแปลงการะบบรุกรุกสารอินทรีย์และความเร็วไหลขึ้นที่ค่าต่าง ๆ ประกอบไปด้วยแบคทีเรียกลุ่มหลัก 3 กลุ่มคือ กลุ่มของ Uncultured Methanobacterium, Uncultured Methanobacteriales archaeon และ Uncultured archaeon โดยมีการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนตามสภาวะการเดินระบบที่เปลี่ยนไปดังนี้

เมื่อระบบบำบัดระบบรุกรุกสารอินทรีย์สูงขึ้น ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่ เมื่อระยะเวลาผ่านไป ยังผลให้ความหลากหลายของจุลินทรีย์น้อยลงที่การะบบรุกรุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดไขมันระเหยของระบบจากผลการทดลองของชฎานิศา บุญปกครอง, 2553 ที่มีค่าสูงโดยอยู่ในช่วง 979 ถึง 1,089 มก./ล.(ในเทอมของกรดอะซิติก) อาจเริ่มส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทน ซึ่งส่งผลให้ในช่วงนี้แถบ A, C, D และ E จางลง โดยแถบ A, C และ D จางลงอย่างชัดเจน แต่เมื่อเพิ่มความเร็วไหลขึ้นที่การะบบรุกรุกสารอินทรีย์

40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน นั้น แถบ A และ E ปรากฏแถบดีเอ็นเอชัดเจนขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของชฎานิศา บุญปกครอง, 2553 ที่มีค่าอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยง่ายต่อสภาพต่างทั้งหมดของน้ำทิ้งมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มค่าความเร็วไหลขึ้น โดยมีค่าในช่วง 0.20 – 0.33 แสดงว่าอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยต่อสภาพต่างนี้อยู่ในเกณฑ์ที่ระบบน่าจะทำงานได้ และมีความเป็นไปได้ว่าความเร็วไหลขึ้นมีผลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบ

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลคือ พีซีอาร์ดีจีจีศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์อีจีเอสปีที่บำบัดน้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตเอทานอลด้วยกากสาโดยมีข้อเสนอแนะต่อการเดินระบบที่ได้จากการศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ของงานวิจัยนี้ดังนี้

ปกติแล้วการเริ่มต้นกระบวนการหมักในระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศต้องใช้เวลาานกว่าจะได้ตะกอนปริมาณมากพอและมีลักษณะตกตะกอนได้ดีหรือเป็นเม็ด เนื่องจากสัดส่วนของการสร้างเซลล์ใหม่กับสารอาหารที่ได้รับของแบคทีเรียสร้างมีเทนมีค่าต่ำ ทำให้เวลาการเริ่มต้นระบบช้า ดังนั้นควรเลือกใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในการเดินระบบ โดยเลือกหัวเชื้อที่มาจากระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศจะเป็นการย่นระยะเวลาในการเริ่มต้นเดินระบบและควรทราบค่าความสามารถจำเพาะการผลิตมีเทนในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ของหัวเชื้อ ถ้าค่าความสามารถจำเพาะมีค่าสูงระยะเวลาที่ใช้ในการเริ่มต้นเดินระบบจะสั้นลง ซึ่งจากงานวิจัยนี้ควรเลือกหัวเชื้อในช่วงภาะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม. และควรเก็บหัวเชื้อจากด้านล่างของถังปฏิกรณ์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ค่อนข้างดีเท่ากับ 0.347 กรัมซีไอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน และมีความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์มากที่สุด แต่เนื่องจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบเป็นชนิดที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ดังนั้นในการจะนำจุลินทรีย์ที่พบนี้มาใช้ประโยชน์อาจต้องอาศัยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเทคนิคอื่นร่วมด้วย เช่น การโคลนนิ่ง (Cloning) เป็นต้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. การออกแบบโรงบำบัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. นนทบุรี: เอส.อาร์.พรีนติ้งแมสโปรดักส์, 2547.

คู่มือปฏิบัติการวิชา MIC452(Environmental Microbiology). ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ฉัตรชัย ศักดิ์วีระสุวรรณ. สมรรถนะการบำบัดน้ำเสียโรงฆ่าสัตว์โดยถังปฏิกริยาเยวเอเอสบีภายใต้การป้อนน้ำวันละ 6 ชั่วโมง. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547.

ชฎานิสิตา บุญปกครอง. ระบบอีจีเอสบีที่ใช้อุปกรณ์แยกสภาวะแบบสมมาตรและไม่สมมาตรสำหรับบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตเอทานอล. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2553.

ชำนาญ ภายประสิทธิ์. การใช้เยวเอเอสบีในการบำบัดน้ำเสียเข้มข้นสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538.

นิมารตี บุญอาพัทธ์เจริญ.ภาวิณี ชัยประเสริฐ. และสมเกียรติ เตชกาญจนรักษ์. การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ในเม็คตะกอนจุลินทรีย์จากน้ำเสียแป้งมันสำปะหลังโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA. ในรายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 506 -513. 3-7 กุมภาพันธ์ 2546 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โปรแกรมBLASTN[online]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>[2010, June 17].

พัชรินทร์ นันทิวาวัฒน์. การประยุกต์ใช้ถังปฏิกริยาอีจีเอสบีสำหรับบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียจากโรงงานสุรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546.

มันสิน ตันฑุลเวศม์. เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม. เล่ม 2. พิมพ์ครั้งที่ 1: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.

ฤทธิชัย รัตนมุกดา. การบำบัดน้ำเสียจากการผลิตเอทานอลโดยระบบเยวเอเอสบีสองขั้นตอน. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

วัชรระ พจี. ผลของความเร็วไหลขึ้นต่อสมรรถนะของระบบอีจีเอสบีในการบำบัดน้ำเสียมูลสุกร. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544.

- ศักดิ์ชัย สุริยจันทร์ทอง. วิศวกรรมการประปาและสุขาภิบาล. เล่ม1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์เรือนแก้วการพิมพ์, 2542.
- ศรีสุดา ธรรมวิฑูกร. การวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมและ
อุตสาหกรรมโดยใช้ 16S rRNA gene ด้วยเทคนิค PCR-DGGE. 2548.
- สมเกียรติ เตชกาญจนรักษ์. โครงการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์
บำบัดน้ำเสียระบบไม่ใช้อากาศแบบลูกผสมโดยวิธี 16S rRNA Fluorescent In Situ
Hybridization. เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน หน่วยปฏิบัติการวิจัยและพัฒนา
วิศวกรรมชีวเคมีและโรงงานต้นแบบ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2543.
- สุธาสินี อ่วมจันทร์. การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในถังกรองชีวภาพแบบไนตริฟิเคชันและ
ดีไนตริฟิเคชันสำหรับเพาะเลี้ยงทางน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชา
วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546.
- สุเมธ ขวเดช. ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ. เอกสารวิชาการของห้องปฏิบัติการ
วิศวกรรมสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย,
2529.
- สุวรรณา ขจรไพศาล. ประสิทธิภาพของถังปฏิกรณ์อ็อกซิเดชันในการบำบัดเสียโรงงานแป้งมัน
สำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะ
วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2548.

ภาษาอังกฤษ

- Akarsubasi, A.T., Ince, O., Kirdar, B. and Ince, B.K. Evaluation of performance, acetolastic methanogenic activity and archaeal composition of full-scale UASB reactors treating alcohol distillery wastewaters. Process Biochemistry 41(2005): 28-35.
- An-jie L., Shu-fang Y., Xiao-gan L. and Ji-dong, G. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. Water Research 42(2008): 3552-3560
- Buhr, H. and Andrew, F. The thermophillic anaerobic digestion Process. Water Research 11(1977): 129-143.
- Buzzini, A.P., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B. and Pires, E.C. Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. Process Biochem 41(2006): 76-168.

- Draaijer, H., Mass, J. A. W., Schaapman, J. E. and Khan, A. Performance of 5 MLD UASB reactor for sewage treatment at Kanpur India. Water Science and Technology 25(1992): 123-133.
- Fang, H. H., Chui, H. K. and Li, Y. Microbial structure and activity of UASB granules Treating different wastewater. Water Science and Technology 30(1994): 87-96.
- Fongsatikul, P., Mavinic, D.S. and Lo, K.Y. A Two-Phase Anaerobic Digestion Process (UASB-UASB) : Induced Recycle Ratio (RR). Environmental Technology 16(1995): 137-146.
- Gonzalez-Gil., G., Lens., P. N. L. Van Aelst, A., Van As., H., Versprille., A., I. and Lettinga, G. Cluster structure of Anaerobic Aggregates of an Expanded Granular Sludge Bed Reactor. Applied Environmental Microbiology 67(2001): 3683-3692.
- Guiot, S.R., Pauss, A. and Corterton, J.W. A structure model of the anaerobic granule Consortium. Water Science and Technology 25(1992): 1-7.
- Hulshoff, L.W. and Lettinga, G. New Technologies for Anaerobic Wastewater Treatment. Water Science and Technology. 18(1986): 41-53.
- Jeris, J. S. and McCarty, P. L. The Biochemistry of Methane Fermentation Using C¹⁴ Traces J. WPCF 37(1962): 178-192.
- Kato, M.T., Field, J.A., Versteeg, P. and Lettinga, G. Feasibility of Expanded Granular Sludge Bed reactors for the anaerobic treatment of low-strength soluble wastewaters. Biotechnology and Bioengineering 44 (1994): 469 -479.
- Keyser, M., Witthuhn, R.C., Lamprecht, C., Coetzee, M.P.A. and Britz, T.J. PCR-based DGGE fingerprinting and identification of methanogens detected in the three Different types of UASB granules. Systematic and applied microbiology 24(2005): 552-560.
- Kudo Y., Nakajima T., Miyaki T. and Oyaizu H. Methanogen flora of paddy soils in Japan. FEMS Microbial Ecology, 22(1997) : 39-48.
- Labbe, N., Juteau, P., Parent, S. and Villemur, R. Bacterial Diversity in a Marine Methanol-Fed Denitrification Reactor at the Montreal Biodome. Microbial Ecology 46(2003): 12-21.

- Lettinga, L.G., Grin, P. and Persma, R. Anaerobic Treatment of Raw Domestic Sewage at Ambient Temperature using a Granular Bed UASB Reactor. Water Science and Technology 15(1983): 177-195.
- Lettinga, L.G. and Hulshoff, Pol., F.W. UASB - Process Design for Various Types of Wastewater. Water Science and Technology 24(1991): 87-107.
- Liu, Y., Xu, H.L., Yang, S.F. and Tay, J.H. Mechanisms and Models for Anaerobic Granulation in Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor. Water Research 37(2003): 661-673.
- Maria, A. P., Kees, R., Alfons, J. M., Stams, M., Madalena, A. and Antoon, D. L. Molecular monitoring of microbial diversity in expanded granular sludge bed (EGSB) reactors treating oleic acid. FEMS Microbiology Ecology 41(2002): 95-103.
- McCarty, P.L. Anaerobic Waste Treatment Fundamentals: Part One. Public Work, September: (1964) :107-112.
- McHugh, S., Carton, M., Collins, G. and Flaherty, V. Reactor performance and microbial community dynamics during anaerobic biological treatment of wastewaters at 16–37 °C. FEMS Microbiology Ecology 48(2004): 398-378.
- Metcalf & Eddy, Inc. Anaerobic Suspended and Attached Growth Biological Treatment Processes. Wastewater Engineering Treatment and Reuse. 4(2003): 988-989.
- Muyzer, G., Wall, E.C. and Smalla, K. Application of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TGGE) in Microbial Ecology. Antonie van Leeuwenhoek. 73(1998): 127-141.
- Muyzer, G., Wall, E.C. and Uitterlinden, A. G. Profiling of complex microbial population by DGGE analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA. Applied Environmental Microbiology 62(1993): 2676-2680.
- Nicolella, C., Van Loosdrecht, M.,C.,M. and Heijnen, J. J. Wastewater Treatment with Particulate Biofilm Reactors. Journal of Biotechnology 80(2000): 1-33.

- Raskin, L., Poulsen, L., K., Noguera, D., R., Rittmann, B. and Stahl, D. Quantification of methanogenic groups in anaerobic biological reactors by oligonucleotide probe hybridization. Applied and Environmental Microbiology 60(1994): 1241-1248.
- Riviere, D., Desvignes, V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guermazi, S., Weissenbach, J., Camacho, P., Li, T. and Sghir, A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. ISME 6(2009): 700-714.
- Romli, M., Greenfield, P.F. and Lee, P.L. Effect of Recycle on a Two-Phase High Rate Anaerobic Wastewater Treatment System. Water Science and Technology. 28(1994): 475-482.
- Sanz, J. and Köchling, T. Molecular biology techniques used in wastewater treatment: An overview. Process Biochemistry 42(2007):119-133.
- Seghezzo, L., Zeeman, G., Van Lier, J., B., Hamelers, H., V., M. and Lettinga, G. A Review: The Anaerobic Treatment of Sewage in UASB and EGSB Reactors. Bioresource Technology 65(1998): 175-190.
- Shin, H.S, Bae, B., U., Lee, J., J. and Paik, B.C. Anaerobic Digestion of Distillery Wastewater in a Two - Phase UASB System. Water Science Technology 25(1992): 361-371.
- Sun, Y., J., Xing, W., Li, J., P., Lu, Y.-Q. and Zuo, J.-E. Microbial Community in Granules from a High-Rate EGSB Reactor. Applied Biochemistry and Microbiology. 45(2009): 659-663.
- Van der Meer. Anaerobic Treatment of Wastewater Containing Fatty Acids in Upflow Reactor. Master's Thesis, Department of Engineering, Delft University of Technology, 1979.
- Xu, K., Liu, H. and Chen, J. Effect of classic methanogenic inhibitors on the quantity and diversity of archaeal community and the reductive homoacetogenic activity during the process of anaerobic sludge digestion. Bioresource Technology 8 (2009): 2600-2607.

Zang, T. and Fang, H.-H. Digitization of DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) profile and cluster analysis of microbial communities. Biotechnology Letter 22 (2000): 399-405.

Zoutberg, R., G. and Frankin, R. Anaerobic Treatment of Chemical and Brewery Wastewater with a New Type of Anaerobic Reactor; the Biobed EGSB Reactor. Water Science Technology 34(1996): 375-381.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ก
ผลการวิเคราะห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ก.1 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 3 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 1	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 2
ซีไอดี (มก./ล.) N = 7	5,042 (23.83)	1,988 (40.38)	1,967 (50.40)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 7	-	60.6 (1.34)	61.0 (1.38)
พีเอช N = 7	7.41 (0.05)	7.82 (0.04)	7.82 (0.05)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 7	28.5 (1.15)	28.9 (1.17)	28.9 (1.15)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	4,170	4,283	4,225
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	672	491	466
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.16	0.11	0.11
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 15	-	49.66 (4.06)	49.80 (3.67)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	52.3	52.5
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.25	0.25

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.2 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 3 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 1	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 2
ซีไอดี (มก./ล.) N = 12	10,087 (50.98)	3,621 (203.53)	3,690 (219.77)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 12	-	64.1 (2.02)	63.3 (2.15)
พีเอช N = 12	7.26 (0.09)	8.05 (0.13)	8.01 (0.13)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 12	27.7 (0.66)	28.3 (0.63)	28.3 (0.64)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	3,846	4,509	4,435
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	1,639	598	605
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.43	0.13	0.14
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 30	-	116.82 (11.48)	116.31 (11.83)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	54.3	54.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.29	0.29

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.3 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 3 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 1	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 2
ซีไอดี (มก./ล.) N = 10	15,120 (20.83)	5,806 (339.65)	5,927 (218.81)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 10	-	61.6 (2.22)	60.8 (1.47)
พีเอช N = 10	6.96 (0.14)	7.85 (0.07)	7.85 (0.05)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 10	29.6 (0.73)	30.3 (0.91)	30.2 (0.79)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	2,561	4,320	4,194
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,294	820	797
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.90	0.20	0.19
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 23	-	165.90 (3.52)	170.85 (4.26)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	55.4	55.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.29	0.29

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.4 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 3 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 1	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 2
ซีโอดี (มก./ล.) N = 9	20,083 (24.98)	11,347 (533.55)	11,414 (712.82)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีโอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 9	-	56.5 (2.65)	56.2 (3.52)
พีเอช N = 9	6.66 (0.08)	7.41 (0.17)	7.41 (0.17)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 9	31.0 (0.66)	31.4 (0.51)	31.3 (0.52)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	1,769	3,214	3,304
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,365	1,070	1,089
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	1.34	0.33	0.33
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 20	-	163.85 (8.62)	162.50 (8.68)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	49.3	49.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.27	0.27

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.5 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 4 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรพทุกสารอินทรีย์ 10 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 3	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 4
ซีโอดี (มก./ล.) N = 7	5,066 (25.10)	1,788 (55.50)	1,773 (76.86)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีโอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 7	-	64.70 (1.80)	65.00 (1.97)
พีเอช N = 7	7.43 (0.07)	7.99 (0.07)	8.01 (0.07)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 7	28.4 (1.09)	29.0 (1.13)	29.3 (1.05)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	4,196	4,541	4,603
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	648	457	453
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.15	0.11	0.10
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 15	-	54.00 (5.99)	54.63 (6.28)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	53.5	53.8
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.26	0.26

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.6 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 4 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 3	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 4
ซีไอดี (มก./ล.) N = 12	10,070 (56.02)	3,206 (186.34)	3,114 (226.91)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 12	-	68.20 (1.80)	69.30 (2.19)
พีเอช N = 12	7.28 (0.06)	8.19 (0.13)	8.25 (0.15)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 12	27.7 (0.68)	28.4 (0.66)	28.5 (0.66)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	3,853	4,899	4,969
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	1,638	531	520
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.43	0.11	0.11
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 30	-	130.79 (8.90)	131.37 (8.47)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	55.1	55.6
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.31	0.31

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.7 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 4 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 30 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 3	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 4
ซีไอดี (มก./ล.) N = 10	15,088 (51.89)	5,160 (159.34)	5,054 (201.53)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 10	-	65.80 (1.03)	66.50 (1.35)
พีเอช N = 10	6.98 (0.11)	7.92 (0.12)	7.92 (0.11)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 10	29.5 (0.65)	30.2 (0.84)	30.1 (0.82)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	2,529	4,649	4,753
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,270	826	808
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	0.90	0.18	0.17
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 23	-	187.47 (5.42)	187.02 (5.25)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	56.0	56.5
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.31	0.31

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.8 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ความเร็วไหลขึ้นคงที่เท่ากับ 4 ม./ชม.
(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 3	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 4
ซีไอดี (มก./ล.) N = 9	20,175 (116.96)	10,873 (437.28)	10,918 (576.87)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีไอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 9	-	60.9 (1.48)	61.10 (1.55)
พีเอช N = 9	6.63 (0.08)	7.52 (0.17)	7.50 (0.16)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 9	31.0 (0.60)	31.5 (0.55)	31.5 (0.55)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	1,813	3,714	3,602
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,402	976	979
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	1.33	0.26	0.27
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 20	-	188.36 (7.49)	187.55 (7.35)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	51.3	51.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.29	0.29

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.9 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 1 ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์
40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน (ชฎานิสาน บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ความเร็วไหลขึ้น 5 ม./ชม.		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 1	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 2
ซีโอดี (มก./ล.) N = 11	20,183 (84.10)	9,950 (269)	10,468 (356.46)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีโอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 11	-	63.7 (1.34)	63.1 (1.81)
พีเอช N = 11	6.63 (0.07)	7.70 (0.06)	7.68 (0.08)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 11	31.0 (0.32)	31.3 (0.25)	31.4 (0.18)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	1,817	4,097	4,153
กรดไขมันระเหย (มก./ล.กรดอะซิติก)	2,428	843	850
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	1.34	0.20	0.21
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 24	-	210.85 (9.29)	211.22 (9.10)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	52.8	52.0
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.32	0.32

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์

ตารางที่ ก.10 ผลการวิเคราะห์ตามการทดลองชุดที่ 2 ที่ภาระบรรทุกทุกสารอินทรีย์
40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน (ชฎานิสิตา บุญปกครอง, 2553)

พารามิเตอร์ (หน่วย)	ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.		
	ค่าเฉลี่ย น้ำเสีย ขาเข้า	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 3	ค่าเฉลี่ยของ น้ำทิ้ง ถึงปฏิกรณ์ที่ 4
ซีโอดี (มก./ล.) N = 11	20,198 (109.85)	11,440 (311.85)	11,160 (397.62)
ประสิทธิภาพการบำบัด ซีโอดี (เปอร์เซ็นต์) N = 11	-	58.4 (1.43)	59.8 (1.67)
พีเอช N = 11	6.65 (0.08)	7.45 (0.06)	7.43 (0.07)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) N = 11	30.9 (0.37)	31.4 (0.29)	31.5 (0.29)
สภาพต่างทั้งหมด (มก./ล. แคลเซียมคาร์บอเนต)	1,852	3,459	3,502
กรดไขมันระเหย (มก./ล. กรดอะซิติก)	2,445	1,103	1,097
อัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อ สภาพต่างทั้งหมด	1.32	0.32	0.31
ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน) N = 24	-	206.94 (2.45)	206.48 (2.46)
ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	-	50.8	50.5
อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)	-	0.33	0.33

N คือ จำนวนข้อมูล

ค่าที่อยู่ในเครื่องหมายวงเล็บ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- คือ ไม่ได้วิเคราะห์



ภาคผนวก ข
การทดลองและการคำนวณ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1) การทดสอบความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ (Specific Methanogenic Activity : SMA) (ชญาณิศา บุญปกครอง, 2553)

การทดสอบความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ มีวัตถุประสงค์ในการวัดปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบ โดยทำการทดลองในขวดไวอัลมีวิธีการทดลองดังนี้

1. เตรียมเมื่อดตะกอนที่ต้องการทดสอบปริมาณ 10 มล.
2. เติมหาอาหารที่ใช้กรดอะซิติกเป็นตัวแทนของค่าซีโอดี 3,000 มก./ลิตร ผสมกับอาหารเสริมสำหรับระบบบำบัดแบบไร้อากาศ โดยปรับพีเอชให้อยู่ระดับที่เป็นกลาง (6.8-7.0) โดยการเติมสารโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)
3. ใส่สารอาหารที่เตรียมไว้ในข้อ 2. แล้วตามด้วยเมื่อดตะกอนลงในขวดไวอัล
4. ใส่อากาศออกจากขวดโดยการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 30 เปอร์เซ็นต์และก๊าซไนโตรเจน 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปิดฝาขวดด้วยจุกยางและครอบด้วยฝาอะลูมิเนียมจนแน่นเพื่อป้องกันการรั่วไหลของก๊าซที่จะเกิดขึ้น
5. ทำการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธีการแทนที่น้ำ
6. นำไปหาเปอร์เซ็นต์สัดส่วนของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatograph, GC)
7. นำเมื่อดตะกอนภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดลองไปหาค่าของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย (Volatile Suspended Solid, VSS)
8. นำค่าปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณก๊าซมีเทนสะสม (มล.) กับเวลา (วัน)
9. นำค่าความชันกราฟสูงสุดไปคำนวณหาค่าความสามารถจำเพาะเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ดังนี้

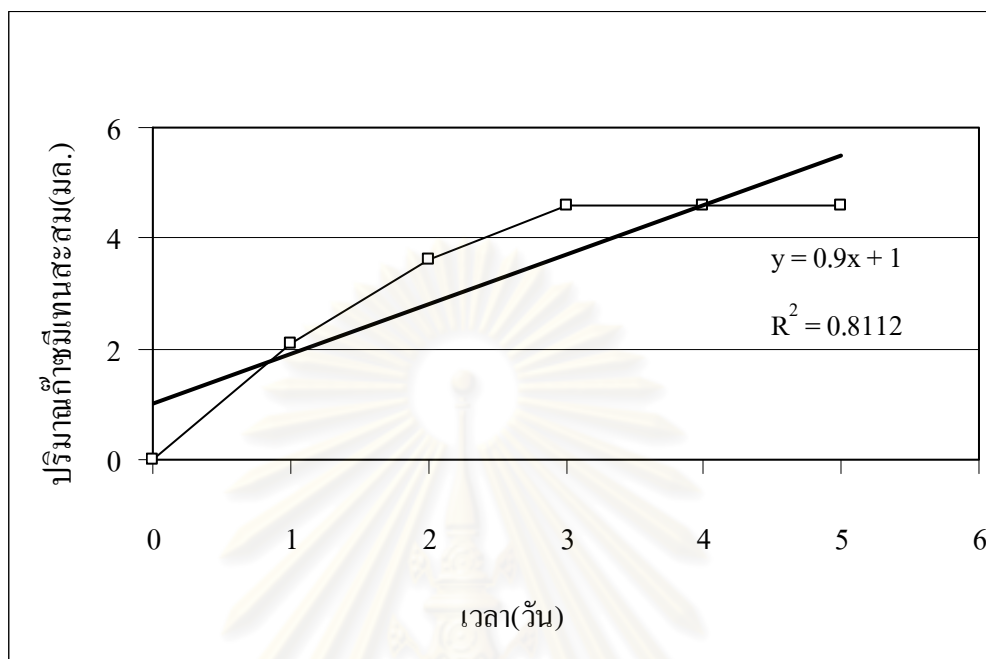
$$\text{Specific Methanogenic Activity, SMA} = \frac{\text{gCH}_4 - \text{COD}}{t \cdot B}$$

เมื่อ $\text{gCH}_4 - \text{COD}/t$ คือ ค่าความชันกราฟในช่วงสูงสุด

B คือ ปริมาณจุลินทรีย์หลังเสร็จสิ้นการทดลอง (กรัมวีเอสเอส)

ตัวอย่างการคำนวณค่าความสามารถจำเพาะเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์

จากข้อมูลการทดลองเอสเอ็มเอในช่วงเริ่มเดินระบบของถังปฏิกรณ์ที่ 1 ที่ความสูง 0.5 ม.



ภาพที่ ข.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณก๊าซมีเทนสะสม (มล.) กับ เวลา (วัน)

จากกราฟภาพที่ข.1จะได้ช่วงที่มีความชันสูงสุดเท่ากับ 0.9 มล./วัน

แต่ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ มีก๊าซมีเทนเท่ากับ 350 มล.ที่ 1 กรัมชีโอดี ดังนั้นที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส จะมีก๊าซมีเทนเท่ากับ

$$\frac{P_1 V_1}{T_1} = \frac{P_2 V_2}{T_2}$$

$$\frac{350}{273} = \frac{V_2}{273 + 29}$$

ดังนั้น $V_2 = 0.387$ มล.

$$\text{จะได้ } \frac{0.9}{387} = 0.0023 \text{ กรัมชีโอดี-มีเทน/วัน}$$

จากการทดลองใช้จุลินทรีย์ประมาณ 0.0184 กรัมวีเอสเอส

$$\text{จาก SMA} = \frac{\text{gCH}_4 - \text{COD}}{t \cdot B}$$

$$\text{ดังนั้น SMA} = 0.0023 \text{ (กรัมชีโอดี-มีเทน/วัน)} / 0.0184 \text{ กรัมวีเอสเอส}$$

$$= 0.126 \text{ กรัมชีโอดี-มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน}$$

2) วิธีคำนวณเปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทน (ชฎานิสศ นุญปกครอง, 2553)

C-R7A CHROMATOPAC CH=1 REPORT No.=27		DATA=1:@CHRM1.C00		10/06/29 09:51:54																												
<p>** CALCULATION REPORT **</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>CH</th> <th>PKNO</th> <th>TIME</th> <th>AREA</th> <th>HEIGHT</th> <th>MK</th> <th>IDNO</th> <th>CONC</th> <th>NAME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1</td> <td>0.533</td> <td>6686500</td> <td>266673</td> <td>F</td> <td></td> <td>100</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>พื้นที่ใต้กราฟของกำขี้มีเทนมาตรฐาน</p>						CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	1	1	0.533	6686500	266673	F		100										
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME																								
1	1	0.533	6686500	266673	F		100																									
<p>** CALCULATION REPORT **</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>CH</th> <th>PKNO</th> <th>TIME</th> <th>AREA</th> <th>HEIGHT</th> <th>MK</th> <th>IDNO</th> <th>CONC</th> <th>NAME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1</td> <td>0.525</td> <td>3449595</td> <td>269041</td> <td></td> <td></td> <td>100</td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="3">TOTAL</td> <td>3449595</td> <td>269041</td> <td></td> <td></td> <td>100</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง</p>						CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	1	1	0.525	3449595	269041			100		TOTAL			3449595	269041			100	
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME																								
1	1	0.525	3449595	269041			100																									
TOTAL			3449595	269041			100																									
C-R7A CHROMATOPAC CH=1 REPORT No.=52		DATA=1:@CHRM1.C00		10/06/29 10:13:40																												

ภาพที่ ข.2 พื้นที่ใต้กราฟของกำขี้มีเทนมาตรฐานและตัวอย่างประกอบการคำนวณเปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทน ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทนที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ถึงที่ 4 ที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม.

$$\begin{aligned}
 \text{เปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทน} &= \frac{\text{เปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทนมาตรฐาน} \times \text{พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของกำขี้มีเทนมาตรฐาน}} \\
 &= \frac{98.0 \% \times 3449595}{6686500} \\
 &= 50.50 \% \quad \text{มีกำขี้มีเทน 50.50 เปอร์เซ็นต์}
 \end{aligned}$$

จากตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทนของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.แสดงดังตารางที่ ข. 1

ตารางที่ ข. 1 เปอร์เซ็นต์กำขี้มีเทนของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.(ชฎานิสศ นุญปกครอง, 2553)

ถังปฏิกรณ์ที่	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความเร็วไหลขึ้น (ม./ชม.)	กำขี้มีเทนมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์)	พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง	พื้นที่ใต้กราฟมาตรฐาน	กำขี้มีเทน (เปอร์เซ็นต์)
1	10	3	98	3548738	6651508	52.3
2	10	3	98	3563308	6651508	52.5
3	10	4	98	3631556	6651508	53.5
4	10	4	98	3651510	6651508	53.8
1	20	3	98	3685478	6651508	54.3
2	20	3	98	3665116	6651508	54.0

ตารางที่ ข. 1 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์ก๊าซมีเทนของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.

ถังปฏิกรณ์ที่	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีไอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความเร็วไหลขึ้น (ม./ชม.)	ก๊าซมีเทนมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์)	พื้นที่ได้กราฟของตัวอย่าง	พื้นที่ได้กราฟมาตรฐาน	ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)
3	20	4	98	3664980	6651508	55.1
4	20	4	98	3773716	6651508	55.6
1	30	3	98	3779321	6686500	55.4
2	30	3	98	3752688	6686500	55.0
3	30	4	98	3828603	6686500	56.0
4	30	4	98	3854972	6686500	56.5
1	40	3	98	3363719	6686500	49.3
2	40	3	98	3343277	6686500	49.0
3	40	4	98	3500178	6686500	51.3
4	40	4	98	3479790	6686500	51.0
1	40	5	98	3602522	6686500	52.8
2	40	5	98	3547931	6686500	52.0
3	40	6	98	3466063	6686500	50.8
4	40	6	98	3449595	6686500	50.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3) การคำนวณอัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีโอดีที่ถูกกำจัด (ชญาณิศา บุญปกครอง, 2553)

อัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีโอดีที่ถูกกำจัด = ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้น/ปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัด

ปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้น = ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (ลิตร/วัน) x เปอร์เซนต์ก๊าซมีเทน

ปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัด = ค่าซีโอดีน้ำเข้าถัง (กรัมซีโอดี/วัน) – ค่าซีโอดีน้ำทิ้ง (กรัมซีโอดี/วัน)

ตัวอย่าง ที่ภาวะบรรทุกระบบอินทรีย์เท่ากับ 10 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ความเร็วไหลขึ้น
3 และ 4 ม./ชม.

ถังที่ 1 ความเร็วไหลขึ้น 3 ม./ชม.

ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น	49.66 ลิตร /วัน	
เปอร์เซนต์ก๊าซมีเทน	52.30 %	
ค่าซีโอดีละลายได้ของน้ำที่เข้าถังอีจีเอสปีต่อวัน	(5.042)(34)	= 171.43 กรัมซีโอดี/วัน
ค่าซีโอดีละลายได้ของน้ำทิ้งจากถังอีจีเอสปีต่อวัน	(1.988)(34)	= 67.59 กรัมซีโอดี/วัน

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น อัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีโอดีที่ถูกกำจัด} &= (49.66)(0.523) / (171.43-67.59) \\ &= 0.25 \text{ ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด} \end{aligned}$$

จากตัวอย่างการคำนวณอัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีโอดีที่ถูกกำจัดของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกระบบอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.

แสดงดังตารางที่ ข. 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข. 2 อัตราการเกิดก๊าซมีเทนต่อซีโอดีที่ถูกกำจัดของถังปฏิกรณ์ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 10, 20, 30 และ 40 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน ที่ความเร็วไหลขึ้น 3, 4, 5 และ 6 ม./ชม.

(ชฎานิศา บุญปกครอง, 2553)

ถังที่	ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ (กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)	ความเร็วไหลขึ้น (ม./ชม.)	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (ลิตร/วัน)	ก๊าซมีเทน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าซีโอดีละลายได้ของน้ำเข้า (กรัมซีโอดี/วัน)	ค่าซีโอดีละลายได้ของน้ำทิ้ง (กรัมซีโอดี/วัน)	อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (ลิตร/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)
1	10	3	49.66	52.3	171.43	67.59	0.25
2	10	3	49.80	52.5	171.43	66.88	0.25
3	10	4	54.00	53.5	172.24	60.79	0.26
4	10	4	54.63	53.8	172.24	60.28	0.26
1	20	3	116.82	54.3	342.96	123.11	0.29
2	20	3	116.31	54.0	342.96	125.46	0.29
3	20	4	130.79	55.1	342.38	109.00	0.31
4	20	4	131.37	55.6	342.38	105.88	0.31
1	30	3	165.90	55.4	514.08	197.40	0.29
2	30	3	164.98	55.0	514.08	201.52	0.29
3	30	4	187.47	56.0	513.00	175.44	0.31
4	30	4	187.02	56.5	513.00	171.84	0.31
1	40	3	163.85	49.3	682.82	385.80	0.27
2	40	3	162.50	49.0	682.82	388.08	0.27
3	40	4	188.36	51.3	685.95	369.68	0.29
4	40	4	187.54	51.0	685.95	357.95	0.29
1	40	5	210.85	52.8	685.68	338.30	0.32
2	40	5	211.22	52.0	685.68	356.00	0.32
3	40	6	206.94	50.8	686.73	376.00	0.32
4	40	6	206.47	50.5	686.73	379.00	0.32

4) การคำนวณมีเทนยีสต์ทางทฤษฎี (ชฎานิสิตา บุญปกครอง, 2553)

กำหนด ลักษณะน้ำเสียประกอบด้วยน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นจากสมการของปฏิกิริยาทางชีวภาพและตารางที่ ข.3

สมการของปฏิกิริยาทางชีวภาพ (Stoichiometry of Biological Reactions)

$$R = f_e R_a + f_s R_{cs} - R_d$$

ขณะที่ R = overall balanced reaction

f_e = fraction of electron donor used for energy

R_a = half reaction for electron acceptor

f_s = fraction of electron donor used for cell synthesis

R_{cs} = half reaction for synthesis of cell tissue

R_d = half reaction for electron donor

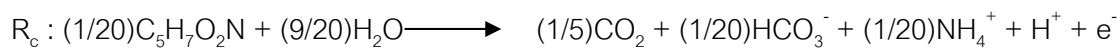
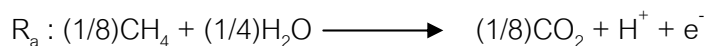
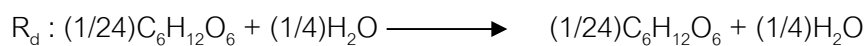
$$f_s + f_e = 1$$

ตารางที่ ข.3 ครึ่งปฏิกิริยาของระบบทางชีวภาพ (Metcalf & Eddy, 2003)

Reaction number	Half reaction	ΔG° (W), ^b kJ per electron equivalent
Reaction for bacteria cell synthesis (R_{cs})		
1.	Ammonia as nitrogen source: $(1/5)CO_2 + (1/20)HCO_3^- + (1/20)NH_4^+ + H^+ + e^- = (1/20)C_5H_7O_2N + (9/20)H_2O$	
2.	Nitrate as nitrogen source: $(1/28)NO_3^- + (5/28)CO_2 + (29/28)H^+ + e^- = (1/28)C_5H_7O_2N + (11/28)H_2O$	
Reaction for electron acceptors (R_a)		
3.	Nitrite: $(1/3)NO_2^- + (4/3)H^+ + e^- = (1/6)N_2 + (2/3)H_2O$	-93.23
4.	Oxygen: $(1/4)O_2 + H^+ + e^- = (1/2)H_2O$	-78.14
5.	Nitrate: $(1/5)NO_3^- + (6/5)H^+ + e^- = (1/10)N_2 + (3/5)H_2O$	-71.67
6.	Sulfite: $(1/6)SO_3^{2-} + (5/4)H^+ + e^- = (1/12)H_2S + (1/12)HS^- + (1/2)H_2O$	13.60
7.	Sulfate: $(1/8)SO_4^{2-} + (19/16)H^+ + e^- = (1/16)H_2S + (1/16)HS^- + (1/2)H_2O$	21.27

ตารางที่ ข.3 ครึ่งปฏิกิริยาของระบบทางชีวภาพ (ต่อ)

Reaction number	Half reaction	ΔG° (W), ^b kJ per electron equivalent
Reaction for electron donors (R_d)		
Organic donors (heterotrophic reactions)		
8.	Carbon dioxide (methane fermentation) $(1/8)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/8)\text{CH}_4 + (1/4)\text{H}_2\text{O}$	24.11
9.	Domestic wastewater: $(9/50)\text{CO}_2 + (1/50)\text{NH}_4^+ + (1/50)\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/50)\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N} + (9/25)\text{H}_2\text{O}$	31.80
10.	Protein: $(8/33)\text{CO}_2 + (2/33)\text{NH}_4^+ + (31/33)\text{H}^+ + \text{e}^- = (1/66)\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{N}_4 + (27/66)\text{H}_2\text{O}$	32.22
11.	Formate: $(1/2)\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/2)\text{HCOO}^- + (1/2)\text{H}_2\text{O}$	48.07
12.	Glucose: $(1/4)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/24)\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + (1/4)\text{H}_2\text{O}$	41.96
13.	Carbohydrate: $(1/4)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/4)\text{CH}_2\text{O} + (1/4)\text{H}_2\text{O}$	41.84
14.	Methanol: $(1/6)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/6)\text{CH}_3\text{OH} + (1/6)\text{H}_2\text{O}$	37.51
15.	Pyruvate: $(1/5)\text{CO}_2 + (1/10)\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/10)\text{CH}_3\text{COCOO}^- + (2/5)\text{H}_2\text{O}$	35.78
16.	Ethanol: $(1/6)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/12)\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + (1/4)\text{H}_2\text{O}$	31.79
17.	Propionate: $(1/7)\text{CO}_2 + (1/14)\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/14)\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + (5/14)\text{H}_2\text{O}$	27.91
18.	Acetate: $(1/8)\text{CO}_2 + (1/8)\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/8)\text{CH}_3\text{COO}^- + (3/8)\text{H}_2\text{O}$	27.68
19.	Grease: $(4/23)\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = (1/46)\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O} + (15/46)\text{H}_2\text{O}$	27.61



$$\text{และ } R = R_d - f_e R_a - f_s R_c$$

ตารางที่ ข.4 ตารางการคำนวณมีเทนยี่ลด์

รายละเอียด	$C_6H_{12}O_6$	CO_2	CH_4	e^-
R_d	0.0417	0.25	-	1
R_a	-	0.125	-0.0125	1
$-f_e R_a$	-	$-(1-f_s) 0.125$	$(1-f_s) 0.125$	$-(1-f_s)$
R_c	-	0.2	-	1
$-f_s R_c$	-	$-0.2f_s$	-	$-f_s$
$R = R_d - f_e R_a - f_s R_c$	0.0417	$0.125 - 0.075f_s$	$0.125 - 0.125f_s$	0
เมื่อแทนค่า $f_s = 0.06$ และเทียบกับ 1 โมลของ $C_6H_{12}O_6$	1	2.89	2.82	0

จากค่าตารางการคำนวณในแถว R

ทำให้

$$\text{mol } C_6H_{12}O_6 / 0.0417 = \text{mol } CH_4 / 0.1175$$

$$g (C_6H_{12}O_6) / (180)(0.0417) = \text{l of methane} / 22.4 (0.1175) \quad (\text{ที่ STP})$$

$$1.07 \text{ g COD} / (180)(0.0417) = \text{l of methane} / 22.4 (0.1175) \quad (\text{ที่ STP})$$

$$\text{l of methane} / \text{g COD} = 0.37 \text{ l/g COD removed} \quad (\text{ที่ STP})$$

หรือ 0.40 l/g COD removed ที่ อุณหภูมิห้อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศีตลา จันทร์เทศ เกิดเมื่อวันที่ 9 เดือนเมษายน พ.ศ.2526 ที่จังหวัดเพชรบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในปีการศึกษา 2548 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ.2549

การเผยแพร่วิทยานิพนธ์

ศีตลา จันทร์เทศ และ ชวลิต รัตนธรรมสกุล. บทบาทของความเร็วไหลขึ้นต่อความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบบ่อซีเอสบีโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์-ดีจีจีอี (Effect of upflow liquid velocity on microbial diversity in an EGSB reactor by PCR-DGGE technique). เอกสารประกอบการประชุมวิชาการด้านพลังงานแห่งชาติ. ครั้งที่ 1. 18-19 กุมภาพันธ์ 2553



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย